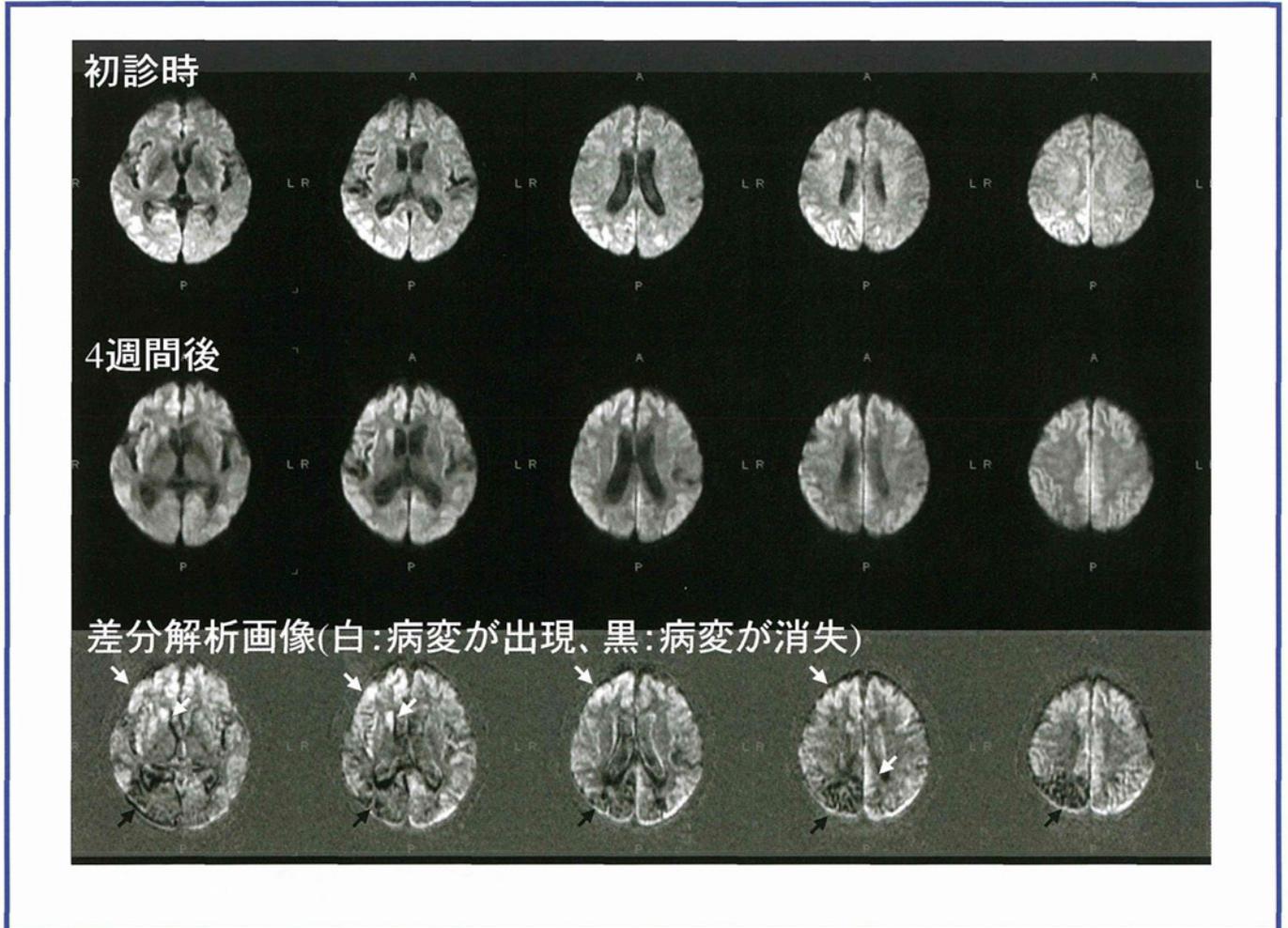


## プリオン病早期病変の経時的変化の客観的評価法の確立

研究分担者：岩手医科大学医歯薬総合研究所超高磁場MRI断・病態研究部門 佐々木真理



### 解説

1. MRI拡散強調画像(DWI)はプリオン病の早期診断に広く用いられているが、その経時的変化を客観的・定量的に評価する手法は存在しない。
2. 画像統計解析手法を応用して、DWI所見の経時的変化の客観的評価法の確立を試み、良好な結果を得た。
3. 本手法は、疾患修飾薬による早期治療介入における薬効評価のサロゲートマーカーとしても有望と考えられる。

# 手術器具を介したCJD二次感染予防リスク者のフォロー

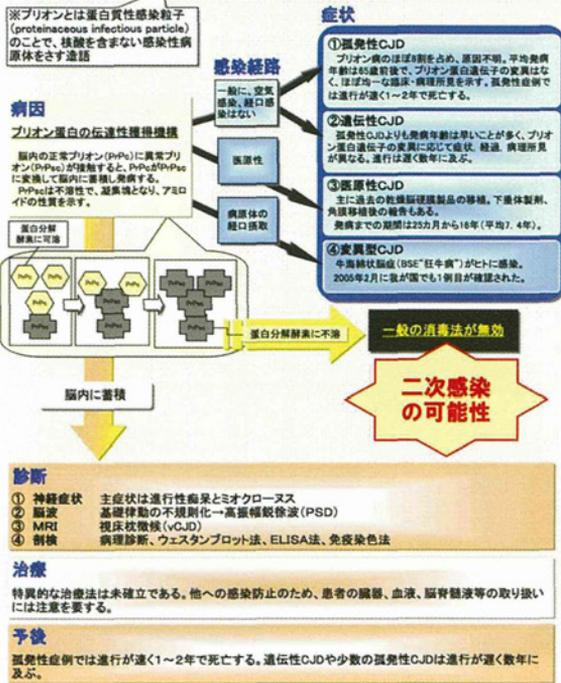
研究分担者: 東京大学脳神経外科 齊藤延人

## 説明書類の整備

### CJDについて

**クローンツェルト・ヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob disease, CJD) とは...**

- 100万人に一人の割合で孤発性又は家族性に生じ、脳組織の高熱(スポンジ)状変性を特徴とする疾患。
- 異常構造を有する異常プリオン蛋白が中枢神経系に蓄積し、不可逆的な致死性神経障害を生ずる。
- 現在では原因から、プリオン(※)病、また病理から伝達性海綿状脳症(transmissible spongiform encephalopathy, TSE)として、哺乳類の神経疾患群にひとくりにされている。牛海綿状脳症(bovine spongiform encephalopathy)がBSE。



## インシデント事例フォロー状況

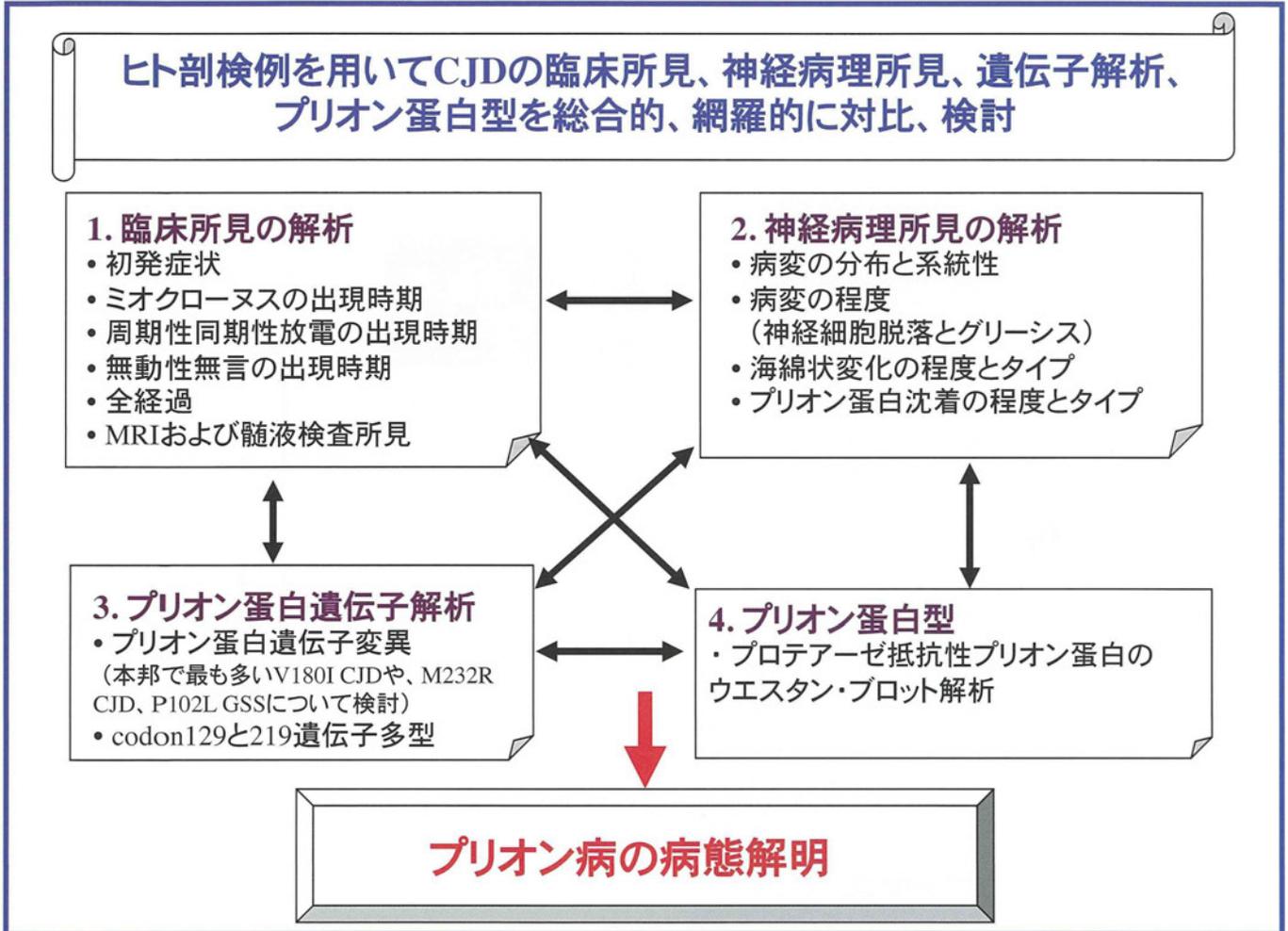
事例	CJD診断時期	告知対象者
1	平成16年6月	11名
2	平成16年8月	10名
3	平成17年10月	12名
4	平成18年10月	7名
5	平成18年9月	0名
6	平成13年6月	2名
7	平成15年3月	22名
8	平成18年3月	21名
9	平成20年1月	5名
10	平成21年7月	50
11	平成23年9月 (H24新規)	60名
12	平成24年2月 (H24新規)	58名
13	平成24年5月 (H24新規)	5名

## 解説

1. インシデント発生時の説明書類、フォローアップのための書類を整備した。
2. 過去の事案4機関の現地調査を行い結果を集計した。
3. 新規インシデント可能性事案のうち4件を現地調査の対象とし、この内3件はインシデント事例となり、フォローアップの依頼を行った。
4. 日本脳神経外科学会で、手術器具の洗浄・滅菌方法の啓発を行った。

## Creutzfeldt-Jakob病の臨床病理学的検討

研究分担者: 愛知医科大学 加齢医科学研究所 岩崎 靖



### 解説

#### 1. 剖検例を用いたCreutzfeldt-Jakob病の臨床診断、臨床経過についての検討

CJDの特徴的な臨床症候の出現時期に欧米CJD例と本邦CJD例で差はない  
本邦CJDに長期経過例が多いのは無動性無動状態に至ってからの長期延命による

#### 2. Creutzfeldt-Jakob病の病理学的所見についての検討

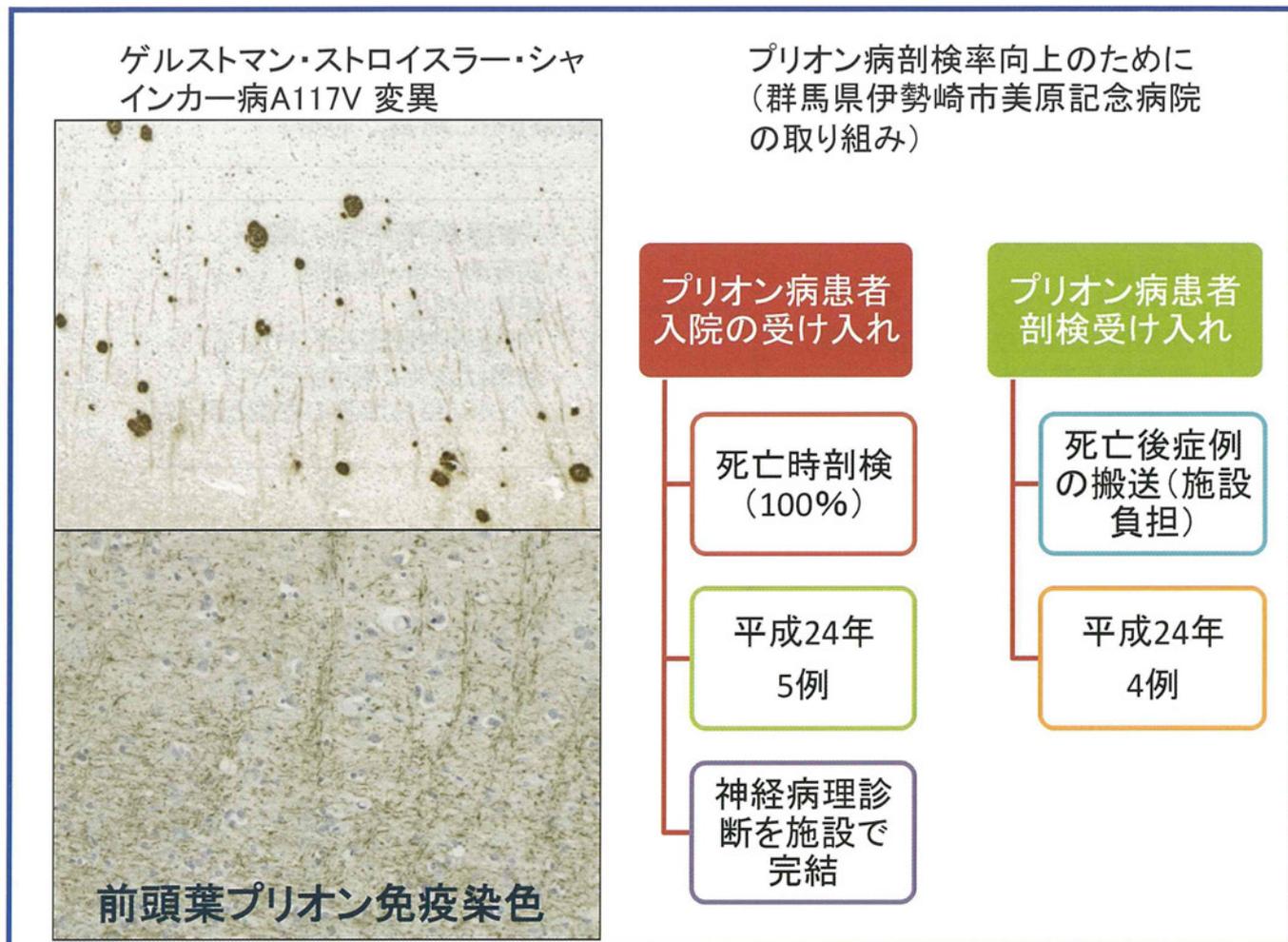
CJDの神経病理学的な表現型、病変選択性と系統性について臨床症状と対比、検討している  
PrP遺伝子解析、PrP型の検討も加えて網羅的に対比し、プリオン病の病態解明を行っている

#### 3. プリオン病ブレインバンクの構築

本邦のプリオン病剖検率は低いですが、当施設では積極的にプリオン病の剖検を行っている  
剖検例のデータや組織を多施設で利用できるブレインバンクの構築を検討している

## ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病における新規病理所見 プリオン病剖検率向上のための取り組み

研究分担者：東京都健康長寿医療センター 高尾昌樹



### 解説

1. 米国との共同研究で、GSSA117V 変異では、皮質、皮質下白質の神経線維に沿ったPrP沈着を認めることを初めて明らかにした。
2. プリオン病剖検率向上のため、美原記念病院で、プリオン病患者の受け入れと、御遺族のご理解により全例剖検を施行。剖検不可能な施設からの依頼も可能な範囲で迎えを出して剖検を施行(24年度は硬膜移植関連CJD症例の剖検に対して往復600kmの搬送をご遺族からの希望で引き受けた)。

## プリオン病に対する新規治療の試み(体内埋め込み型微量注入器具を用いたPPS脳室内持続投与療法)と今後の取り組み

研究分担者: 福岡大学医学部神経内科 坪井義夫

### 1. ペントサンポリサルフェート(PPS)脳室内投与法の結果(継続)

結果: 11例のプリオン病患者に対して施行(表)。治療開始からの経過は33(4~76)ヶ月で、11例中9例が死亡。周術期の問題はなく、手術後3ヶ月以降全例に硬膜下水腫が出現した。経過中、血算、生化学、凝固能の異常は認められなかった。

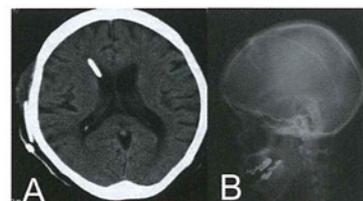


表.PPS脳室内持続投与法を施行した11例

No	Age at surgery	Gender	Diagnosis	Date of Surgery	PPS dose Initial/Final (μg/kg/day)	Duration from the onset (M)	Survival from the surgery (M)
1	67	F	sCJD	2004/11/16	1/120	9	17*
2	73	F	sCJD	2005/3/1	2/120	3	20*
3	68	F	sCJD (MM2)	2005/6/2	10/120	6	50*
4	64	F	fCJD (V180I)	2005/6/21	10/120	4	65*
5	64	F	sCJD	2005/11/14	10/120	3	26*
6	55	M	iCJD	2006/3/13	10/120	10	4*
7	66	M	iCJD	2006/6/12	20/120	3	9*
8	69	F	GSS (P102L)	2006/8/2	20/120	6	14*
9	73	F	fCJD (V180I)	2006/10/15	20/120	7	76
10	68	M	sCJD	2007/3/7	20/120	4	18*
11	39	F	sCJD	2007/4/3	20/120	20	68

### 2. 福岡-佐賀地区に集積するGSS家系の臨床的特徴と発症素因家族の研究

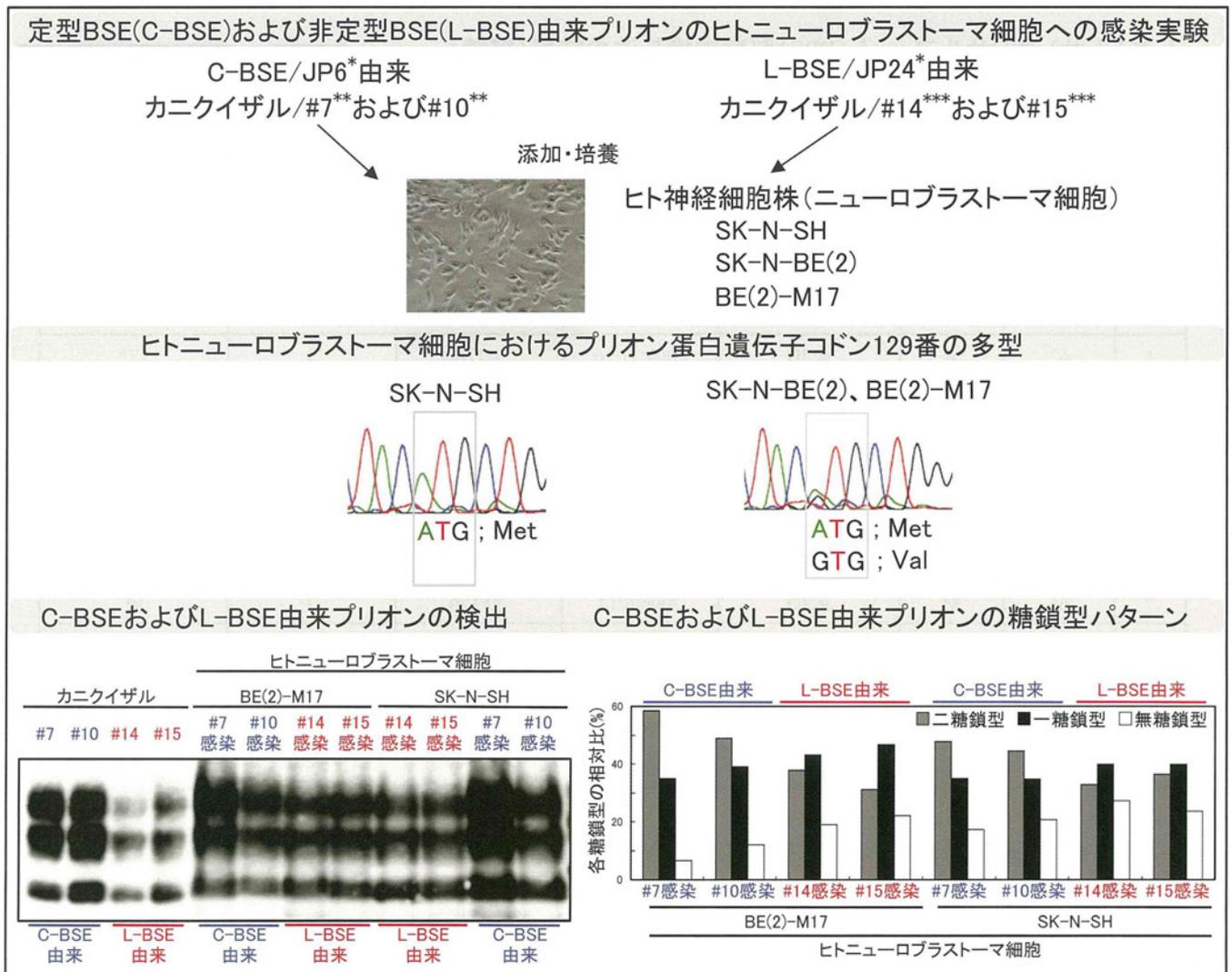
福岡-佐賀地区にGerstmann-Straussler-Scheinker病(GSS)が少なくとも20家系存在し、発症者は31例で、サーベイランスで確認された71例中実にその44%に当たる。現在その臨床症候と発症素因(at risk)家族は調査中である。

## 解説

1. プリオン病に対するペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の開発を行い、2004~2007年までに11例に同治療を施行。
2. 5例において術後2年以上の長期生存があり、うち2例はまだ治療継続中である。
3. 不溶性プリオンの定量的解析では、PPS治療を受けた剖検脳はより蓄積が少ない
4. 今後、福岡-佐賀地区のGSS家系の特徴をまとめ、その実態の把握をおこなう。

## 定型BSEおよび非定型BSEに関する研究 -ヒトニューロブラストーマ細胞を用いた解析-

研究分担者：国立感染症研究所 細胞化学部 桶本(中村)優子



### 解説

1. 定型BSE (C-BSE)および非定型BSE(L-BSE)由来プリオンは、ヒト神経細胞株(ニューロブラストーマ細胞)への感染性を有することが明らかとなった。
2. プリオン蛋白質コドン129番目のアミノ酸がMet/MetあるいはMet/Valいずれの細胞株においてもC-、L-BSEは感染性を有することが明らかとなった。また、L-BSE由来プリオンに感染させた細胞ではC-BSE由来プリオンに感染させた細胞に比べ、一糖鎖型の割合が多い傾向にあった。

参考文献 \* Hagiwara K. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2007;60:305-308.  
 \*\* Ono F. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2011;64:50-54.  
 \*\*\* Ono F. *et al.*, Jpn. J. Infect. Dis. 2011;64:81-84.

## 硬膜移植後Creutzfeldt-Jakob病症例へのアミロイドβ蛋白沈着

研究分担者: 金沢大学大学院 脳老化・神経病態学(神経内科学) 浜口 毅

### Amyloid βに対する抗体 (4G8) を用いた免疫染色

4G8

3F4

右前頭葉



右頭頂葉



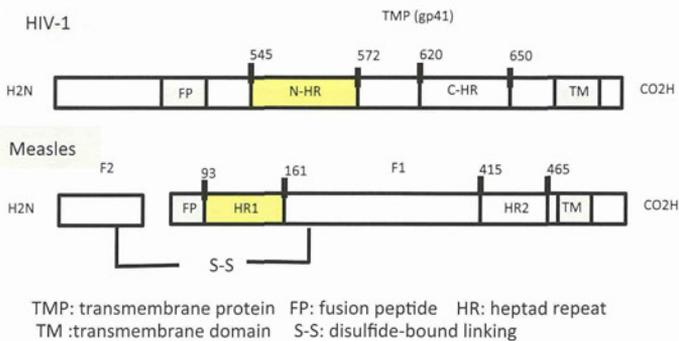
### 解 説

1. 39歳で死亡した非プラーク型のdCJD症例の脳の硬膜移植部位近傍にAβ沈着を認めた。
2. 硬膜移植によってAβ沈着が伝播している可能性が否定出来ない  
ので、今後多数例での検討を予定している。

# 膜融合蛋白を標的とした新規ペプチドによる 亜急性硬化性全脳炎の新たな治療戦略

研究分担者: 福島県立医科大学医学部小児科学講座 細矢光亮

## 1 Heptad repeat (HR)領域におけるHIV-1とmeasles virusの類似性



## 3 抗SSPE効果 (in vitro)

	EC <sub>50</sub> (nM)	CC <sub>50</sub> (μM)	Selective index (CC <sub>50</sub> /EC <sub>50</sub> )
M1	10.5±5.6	>100	>9524
M2EK	15.2±4.8	>100	>6579
Enfuvirtide	>1000	>100	-

EC<sub>50</sub>: 50% Effective concentration  
CC<sub>50</sub>: 50% Cytotoxicity concentration

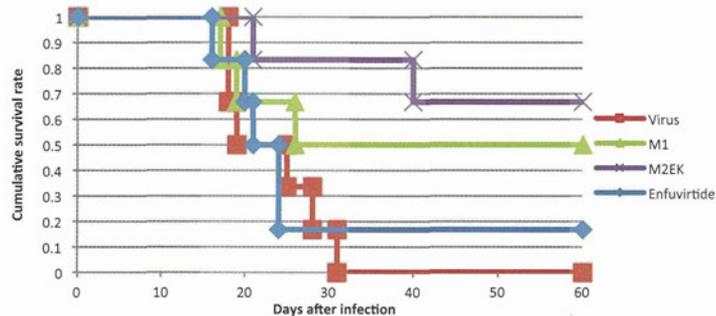
## 2 合成ペプチドのアミノ酸配列

M1 : Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996; 93: 2186-2191  
M2EK : 新規合成ペプチド  
EK配列挿入により安定性を高めた  
E: glutamate E, K: lysine

peptide	Sequence data of the measles HR2 domain (Measles Virus)
	420- IDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIKLEDAKELLESSDQLRSMKGLSST -470
M1 (Measles V) M2EK (Measles V)	ISLERLDVGTNLGNIAIKLEDAKELLESSDQLRS VEENLKKAEELKKAEEELKKSEELKKMEELSKK
Enfuvirtide (HIV-1)	YTSLIHSLEEESQNNQKEKNEQLLELDKWASLWNWF

## 4 抗SSPE効果 (in vivo)

SSPEマウスモデルでの検討



## 解説

1. 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) は麻疹ウイルスの変異株 (SSPEウイルス) の持続感染が原因であり治療法の確立が切望されている。感染拡大に膜融合蛋白 (F蛋白) が重要であり、F蛋白には2つのHeptad repeat (HR) 領域 (HR1, HR2) が存在し (図1)、これらの立体構造変化により細胞への感染が成立する。
2. 麻疹ウイルスとHIV-1のHR領域は構造的、機能的に類似している。HIV-1ではHRに相補的なペプチド (Enfuvirtide) がHRの立体構造変化を阻害し、膜融合 (感染) を阻害することが実証され、臨床で用いられている。
3. 麻疹ウイルスF蛋白のHR1領域に相補的なHR2領域由来のアミノ酸配列をモチーフにし、EK配列挿入による塩橋形成により安定性を高めた新規ペプチド (M2EK) を合成し (図2)、in vitro、in vivo (マウスモデル) で抗SSPE効果を検討した。コントロールとして抗HIV薬のEnfuvirtideを用いた。M2EKはnMオーダーで抗SSPEウイルス効果を示し、細胞毒性は認められなかった (図3)。
4. 新規ペプチド (M2EK) は既報のM1と同レベルの抗SSPE効果がin vitro、in vivoで認められた。 (図4)



## SSPEにおけるApo E遺伝子の検討

研究分担者：産業医科大学小児科 楠原浩一

(共同研究者：九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 石崎義人, 鳥巢浩幸, 原 寿郎)

Apolipoprotein (Apo) E2, E3, E4は、Apo Eのアイソフォームであり Apo E遺伝子の**C112R**と**R158C**という2つのSNPで規定されているハプロタイプでは、**CC**が**E2**、**CR**(wild type)が**E3**、**RR**が**E4**に対応

rs429358 TGC ⇒ CGC 112Cys ⇒ Arg  
のGenotypeおよびAllele頻度

	Control群	SSPE群	P値
Genotype頻度			
Cys/Cys	49 (98%)	40 (100%)	
Cys/Arg	1 (2%)	0 (0%)	
Arg/Arg	0 (0%)	0 (0%)	
Total	50	40	n.s.
Allele頻度			
Cys	99 (99%)	80 (100%)	
Arg	1 (1%)	0 (0%)	n.s.

rs7412 CGC ⇒ TGC 158Arg ⇒ Cys  
のGenotypeおよびAllele頻度

	Control群	SSPE群	P値
Genotype頻度			
Arg/Arg	41 (82%)	30 (75%)	
Arg/Cys	8 (16%)	10 (25%)	
Cys/Cys	1 (2%)	0 (0%)	
Total	50	40	n.s.
Allele頻度			
Arg	90 (90%)	70 (88%)	
Cys	10 (10%)	10 (13%)	n.s.

Apo E 遺伝子のhaplotype解析

	Control群	SSPE群	P値
haplotype頻度			
E2 (Cys/Cys)	8 (8%)	10 (13%)	
E3 (Cys/Arg)	91 (91%)	70 (88%)	
E4 (Arg/Arg)	1 (1%)	0 (0%)	
Total	100	80	n.s.

Apo E 遺伝子diplotype解析

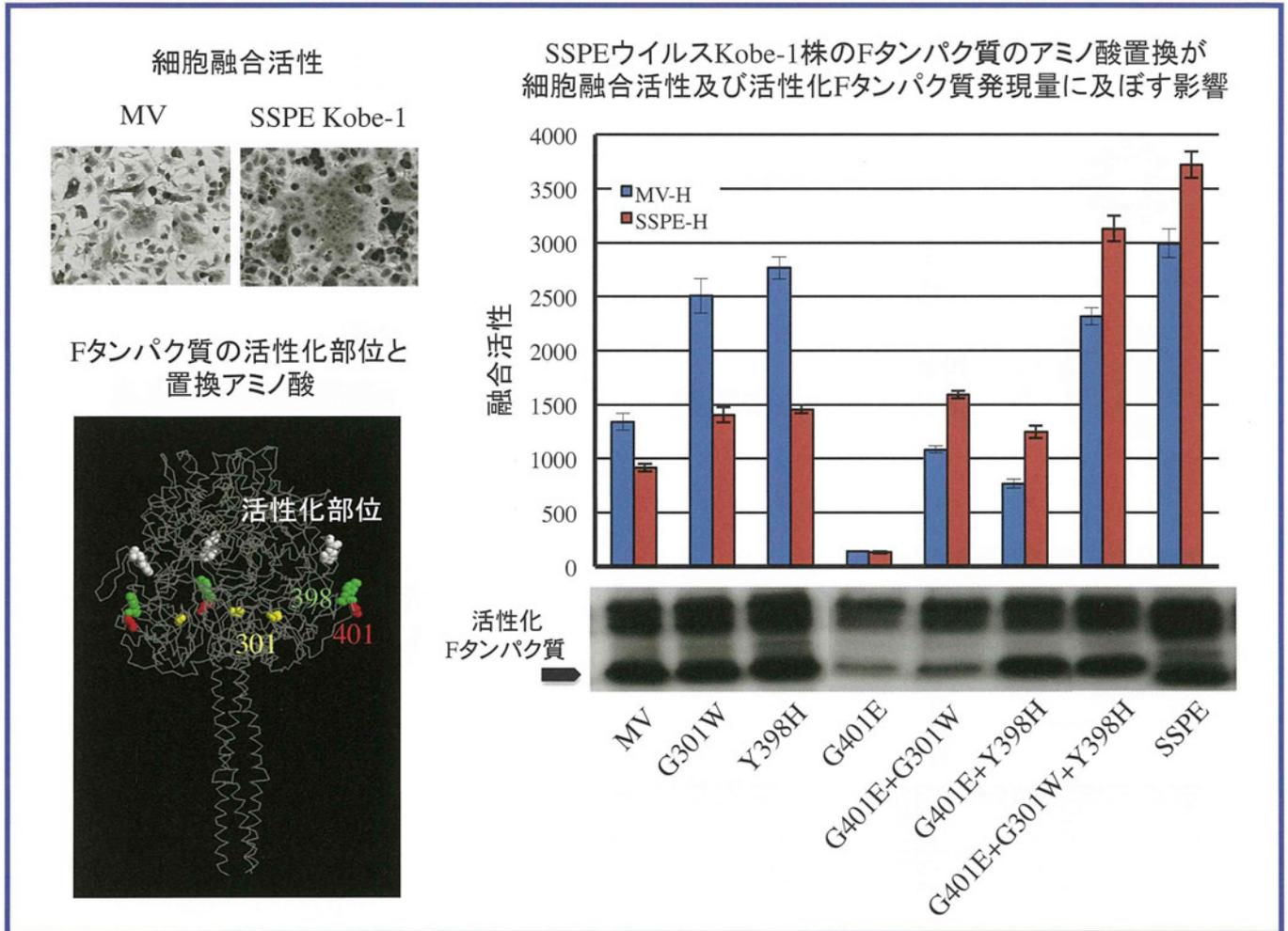
	Control群	SSPE群	P値
diplotype頻度			
E2/E2	1 (2%)	0 (0%)	
E2/E3	7 (14%)	10 (13%)	
E3/E3	41 (82%)	30 (88%)	
E2/E4	1 (2%)	0 (0%)	
Total	50	40	n.s.

### 解 説

- 山口大学小児科の市山らは、トルコ人のSSPE患者髄液においてApo E4が低下およびApo E3が上昇しており、Tau蛋白の異常リン酸化および神経原線維濃縮体の形成阻害を介してSSPEの病態に関連する可能性があるとしている。(23年度本班会議)
- しかし、genotypingを用いた本研究では、このような差は日本人のSSPE群と対照群の間にも認められなかった。これには、日本とトルコという民族の違いが影響している可能性が示唆された。

## SSPEウイルスKobe-1株Fタンパク質の細胞融合に関わる変異

研究分担者: 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野 堀田 博

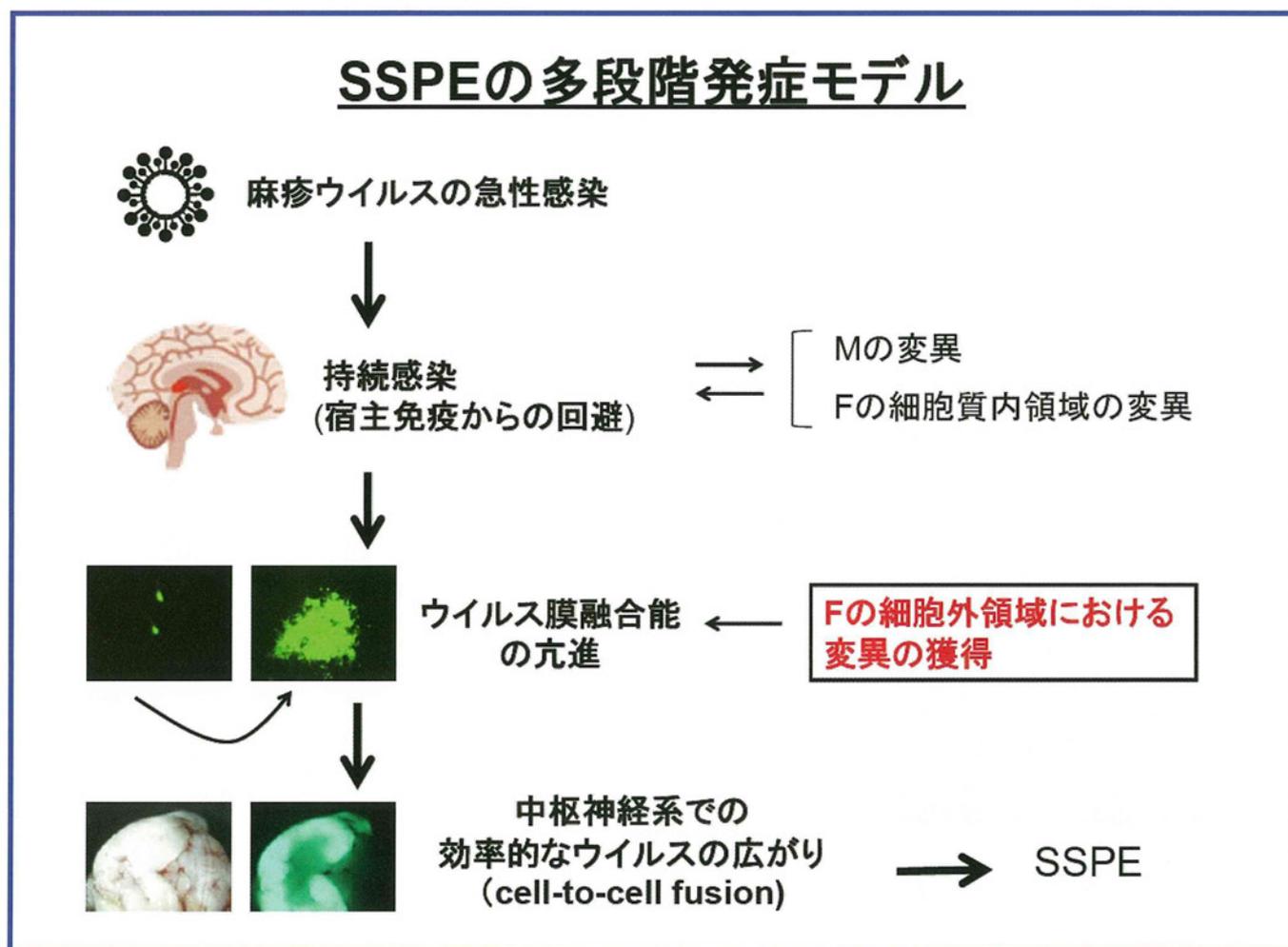


### 解説

1. SSPEウイルスKobe-1株のFタンパク質は、麻疹ウイルス(MV)野生株のFタンパク質より強い細胞融合活性を示した。
2. SSPEウイルスKobe-1株のFタンパク質に認められるアミノ酸置換について解析したところ、フリプロテアーゼによる活性化を低下させ、細胞融合活性を抑制するG401E変異を見出した。SSPEウイルスへの変異の過程でMVの増殖を制限し、潜伏感染に関連する可能性が考えられる。
3. 一方、G301WおよびY398Hの置換は、G401Eによる細胞融合活性の抑制を回復させた。これらのアミノ酸置換がSSPEの発症を誘導するか感染実験で確認したい。

## 麻疹ウイルスによるSSPE発症機構

研究分担者:九州大学大学院医学研究院 ウイルス学 柳 雄介

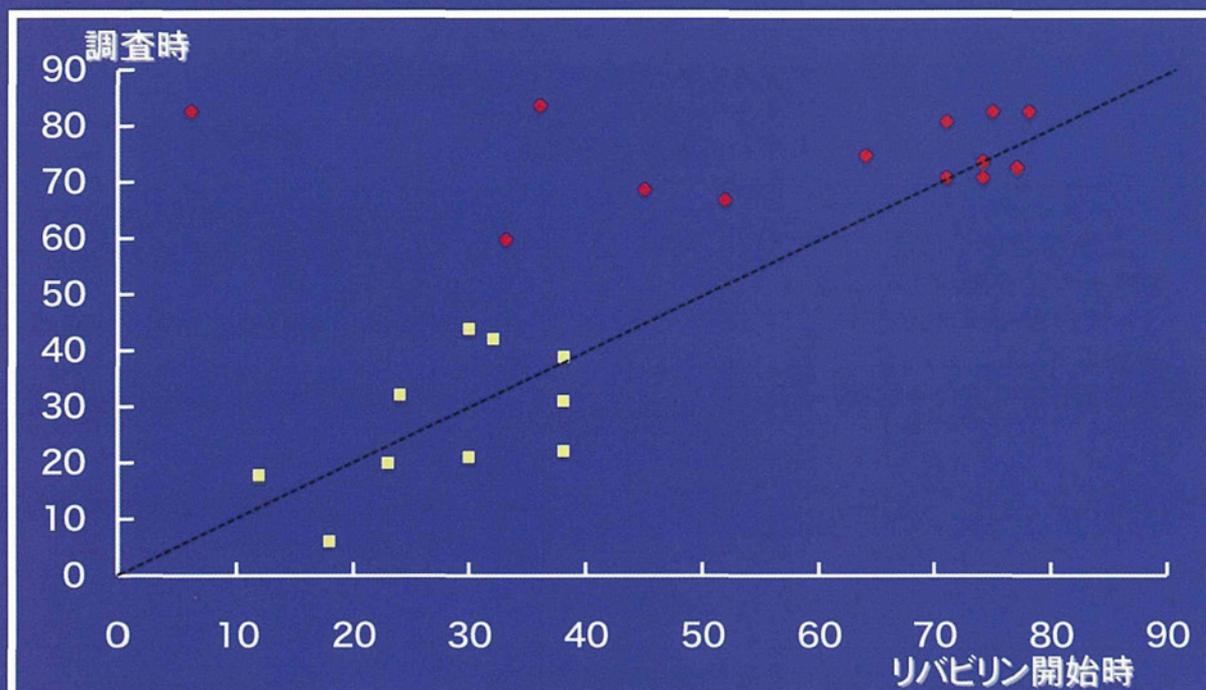


### 解説

1. 麻疹ウイルスがCNSで持続感染してSSPEを起こす機構はよく分かっていない。
2. これまで、M蛋白質の欠損によりウイルス粒子が形成されないことがSSPE発症に重要であると考えられてきた。
3. われわれの研究から、M蛋白質の欠損だけでなく、F蛋白質の膜融合能の亢進が、神経細胞のように受容体を発現していない細胞におけるウイルスの広がりに重要であることが明らかになった。
4. 一般の麻疹ウイルス株と異なり、SSPE分離株はF遺伝子に多くの変異が認められることから、F蛋白質の変化がSSPE発症に重要であることが予想される。

## SSPEに対するリバビリン治療の効果

研究分担者： 熊本大学医学部附属病院発達小児科 野村 恵子

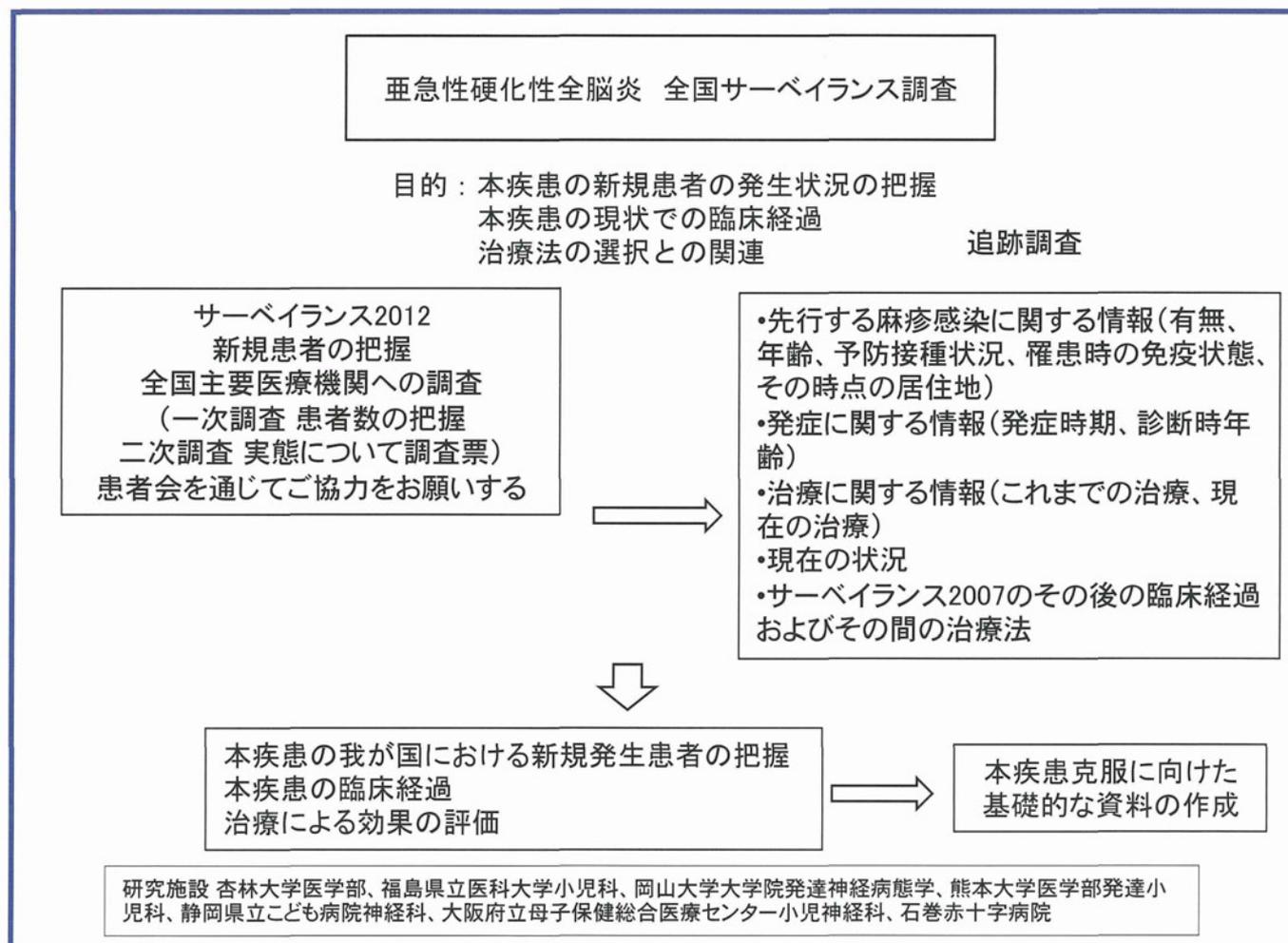


### 解説

1. リバビリン治療開始時と調査時の臨床症状スコアをグラフにした。
2. 臨床症状スコアは、高い程、病状が進行していることを意味する。
3. 黒線の下側は改善した群で、線上が不変の群、線の上側は悪化した群。
4. 早期に治療した方が改善度が大きい。

## 亜急性硬化性全脳炎の疫学調査

研究分担者: 杏林大学医学部小児科 岡 明



### 解 説

1. 我が国は依然として先進国で唯一の麻疹流行国であり、亜急性硬化性全脳炎の発生のリスクを抱えている。
2. 平成24年に本疾患のサーベイランス調査一次調査を行い、現在二次調査にて最近の発症者については麻罹患から発症にいたる状況、長期罹患患者については最近の医療的な状況などを調査している。

## 特定疾患治療研究事業データによる 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)発生状況の把握

研究分担者： 国立感染症研究所感染症情報センター 多田有希

2012年までに麻疹排除  
することが国家目標とし  
て設定されている。



SSPEは麻疹の罹患により発生  
する疾患であり、麻疹患者数に  
終わらず、その後SSPE発生の  
なくなることの確認が重要

難治性疾患である。



診療・療養に役立つ疫学状況、  
臨床情報などを把握が重要

現状は、小児慢性特定疾患治療研究事業及び特定疾患治療研究事業の対象として、情報把握が可能。しかし、申請者に限るものであること、また情報の欠落や、折角の情報の分散により、発生数を含め、必要な情報の把握が不十分な状況。

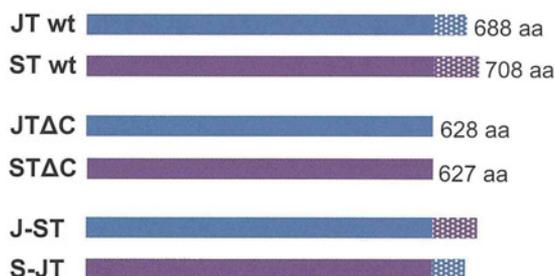
**国レベルでの一貫したサーベイランス制度の確立が必要**

SSPE発生状況を正確に把握できる制度確立の必要性を説くためにも、今年度は本研究の岡分担班によりアンケート調査を実施。

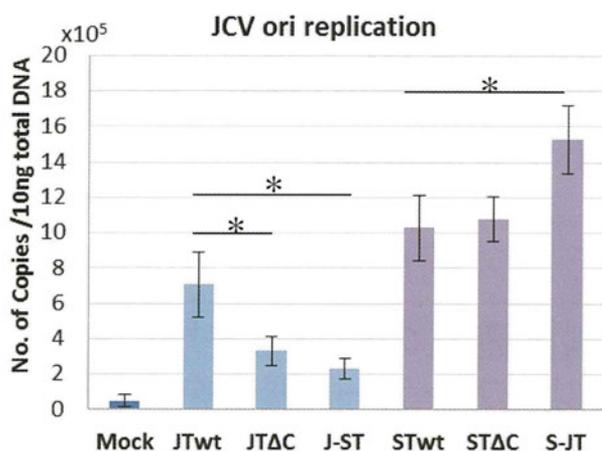
## JCウイルスT抗原C末端領域の機能解析

研究分担者: 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター 分子病態・診断部門 澤 洋文

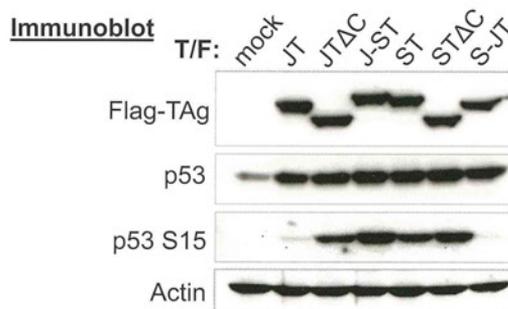
**A** JCV T抗原(JT) およびSV40 T抗原(ST)のC末端欠失またはC末端キメラタンパク質を作成



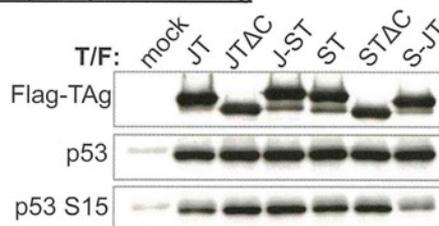
**C** 各T抗原変異体のJCVゲノム複製効率の解析  
JT野生型(wt)に比べ、JTΔC、J-STでは有意にゲノム複製量が低下した。また、SVΔCはSTwtと同等の複製効率を示すのに対し、S-JTではwtに比べ複製量が増加した。



**B** 各T抗原変異体の発現細胞におけるp53の発現およびリン酸化の解析  
JCVのC末端領域を有するT抗原(JT, S-JT)発現細胞ではp53のリン酸化(S15)レベルが低いことが判明した。各T抗原変異体とp53の結合量は野生型と変わらない。



Immunoprecipitation : Flag



JCT抗原のC末端領域は

- ①p53の過剰な修飾を抑制
- ②ウイルスゲノム複製を促進

### 解説

JCV T抗原(JT)のC末端領域はSV40T抗原(ST)の同領域と相同性が低く、その機能は不明である。本研究では、JCVおよびSV40T抗原のC末端欠失またはキメラタンパク質発現ベクターを作成し、T抗原の機能を比較解析した。

結果1. JCVのT抗原C末端領域はp53のリン酸化修飾を抑制する(図B)。

結果2. JCVのT抗原C末端領域はJCVゲノム複製を促進する(図C)。

## 脳脊髄液中のJCウイルス(JCV)の検査支援による 進行性多巣性白質脳症のサーベイランス

研究分担者： 国立感染症研究所ウイルス第一部 西條政幸

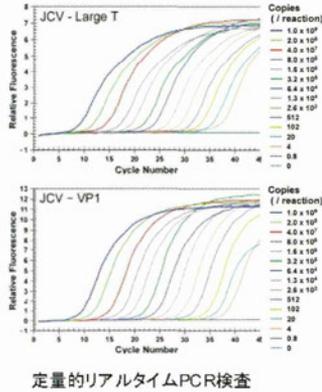
### ① インターネットを介した実験室サーベイランス

医療機関からの  
JCV検査の受付

JCウイルス検査 検索

診断・治療の支援  
情報の収集・解析

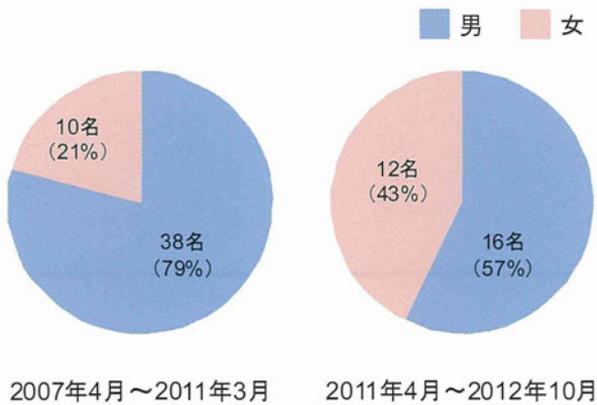
解析データの公開  
Nakamichi *et al.*  
(BMC Neurology 2012)



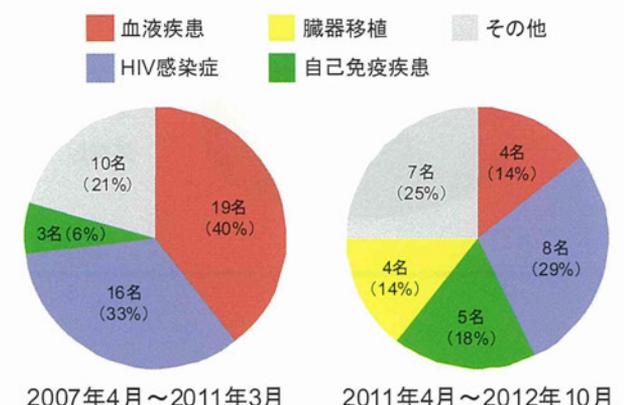
### ② JCV検査の実績

年度	受付件数	被検者数	陽性者数
2007	85	72	11
2008	95	85	7
2009	144	126	18
2010	180	139	12
2011	177	141	19
2012(~10月)	128	106	9
合計	809	669	76

### ③ 脳脊髄液JCV陽性者の男女比



### ④ 脳脊髄液JCV陽性者の基礎疾患

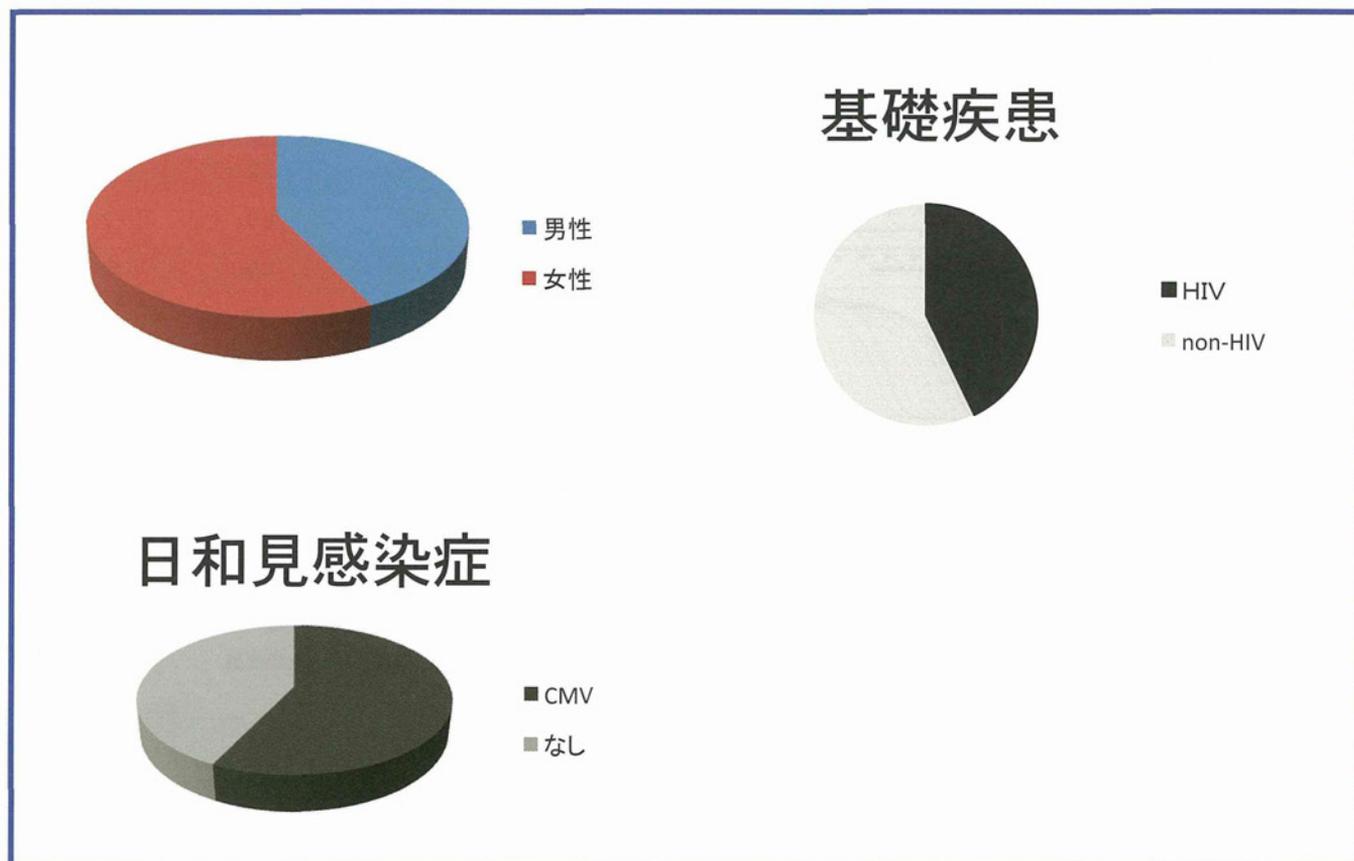


## 解 説

1. 全国の医療機関から進行性多巣性白質脳症(PML)の診断のための脳脊髄液中のJCウイルス遺伝子の検査を受け付けた。2007年4月から2012年10月現在までに809件の検査を実施し、76名が陽性を呈した。
2. 2007年からの4年間では血液疾患やHIV感染症を有する男性患者を中心として陽性者が見られたが、近年(2011年以降)では女性患者の割合が増えており、また自己免疫疾患もしくは臓器移植歴を有する患者でのPMLが増加傾向にあることが分かった。

## 最近の本邦PML臨床調査(2011-2012)

研究分担者: 都立駒込病院 三浦義治



### 解説

1. 2011年11月から2012年8月まで国立感染症研究所へ髄液JCV-PCR検査依頼のあった7症例(髄液中JCV-PCR陽性例)に関して検討した。
2. 昨年度の報告に比べて、女性が57.1%とやや多く(昨年度は女性が41.2%)、平均年齢も50.7歳(昨年度は55.9歳)とやや若い傾向があった。
3. 画像も従来の報告同様に大脳白質両側性病変で左右非対称性を示す症例が多く、また昨年報告のように大脳萎縮を示す症例が28.6%で(昨年度は29.4%)あった。
4. また髄液蛋白増加が5例(71.3%)、細胞増加が1例(33.3%)と髄液異常を示した症例が本年も多かった(昨年度はそれぞれ52.9%, 29.4%)。
5. 基礎疾患としてはHIV感染症3例(42.9%)(昨年度は23.5%)、膠原病・結合織病3例と非HIV-PMLがやや多かった。
6. また日和見感染ではサイトメガロウイルス感染合併が57.1%と目立った。

## 進行性多巣性白質脳症のPML-NBs

研究分担者: 杏林大学医学部病理学教室 宍戸-原 由紀子



PML-NBs  
2-D: リング状  
3-D: 球状殻

共焦点レーザー顕微鏡 (Leica TCS-SP) による観察

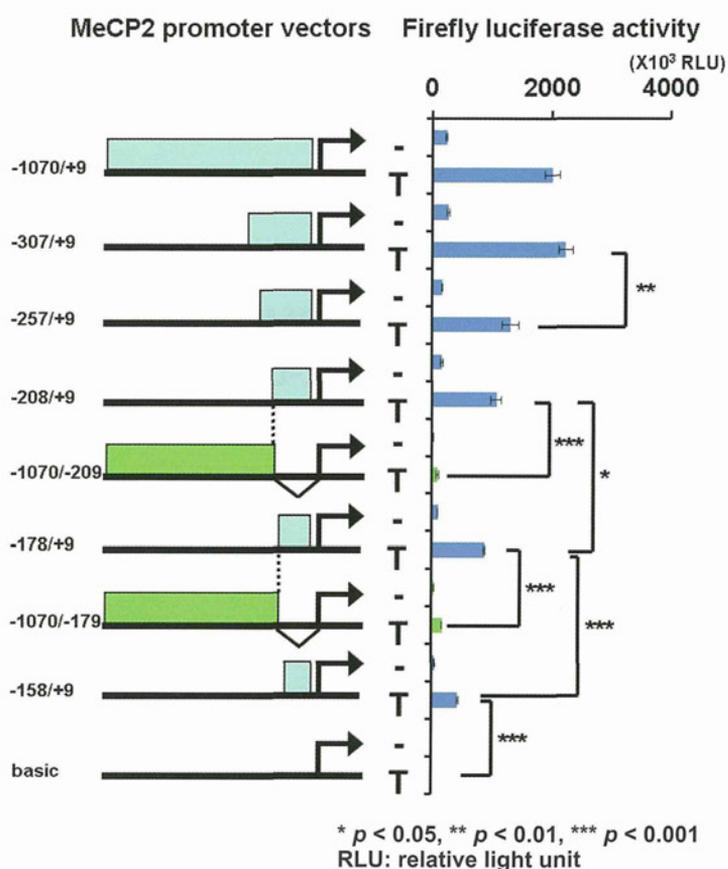
### 解説

1. 進行性多巣性白質脳症において、グリア細胞の腫大核ではPML-NBsが直径1ミクロンを越える三次元では球状殻、二次元ではリング状の形態を示すことが明らかになった。
2. 超解像蛍光顕微鏡で観察すると(N-SIM)、PML-NBsは幅300-400 nm、最外径1.2ミクロンの球状殻の形態をしていた。
3. JCウイルスカプシド蛋白は、球状殻PML-NBsのやや外側に局在し、ここ活発に子ウイルスを複製していると考えられた。

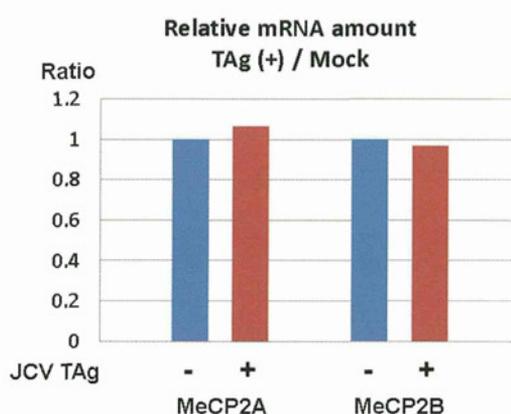
## メチル化CpG結合タンパク質MeCP2と JCウイルスタンパク質の相関に関する検討

研究分担者：北海道大学大学院医学研究科腫瘍病理学分野、札幌東徳洲会病院病理部 長嶋和郎

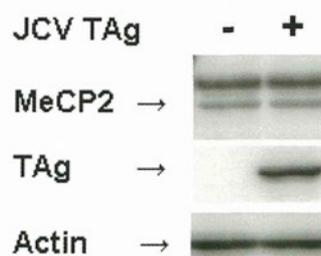
1. JCV TAgのMeCP2プロモーター活性に対する影響。  
IMR-32細胞におけるルシフェラーゼアッセイ。



2. JCV TAgのMeCP2 mRNA発現に対する影響。  
IMR-32細胞におけるリアルタイムPCR。



3. JCV TAgのMeCP2タンパク質発現に対する影響。  
IMR-32細胞におけるイムノブロットニング。



### 解 説

1. ヒト神経芽細胞腫細胞株 IMR-32細胞において、MeCP2プロモーター活性はJCV T抗原 (TAg) により著明に亢進し、MeCP2 exon 1開始塩基より307-257塩基上流と、178塩基上流からexon 1開始9塩基までの配列が重要である。
2. JCV TAgはMeCP2 mRNA発現に影響を与えない。
3. JCV TAgはMeCP2タンパク質発現に影響を与えない。