

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岩崎 靖. 特発性プリオン病(孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病) MM2-皮質型と MMW-視床型. *Clin Neurosci* 31:1052-1053, 2013.
- 2) Iwasaki Y, Yokoi F, Tatsumi S, Mimuro M, Iwai K, Kitamoto T, Yoshida M. An autopsied case of Creutzfeldt-Jakob disease with mutation in the prion protein gene codon 232 and type 1+2 prion protein. *Neuropathology* 33:568-575, 2013.
- 3) Kobayashi A, Iwasaki Y, Otsuka H, Yamada M, Yoshida M, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Deciphering the pathogenesis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with codon 129 M/V and type 2 abnormal prion protein. *Acta Neuropathol Commun* 1:74, 2013.
- 4) Fujita K, Matsui N, Takahashi Y, Iwasaki Y, Yoshida M, Yuasa T, Izumi Y, Kaji R. Increased interleukin-17 in the cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study of rapidly progressive dementia. *J Neuroinflamm* 10:135, 2013.
- 5) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, Mori K, Ito M, Kitamoto T, Yoshida M. Panencephalopathic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with circumscribed spongy foci. *Clin Neuropathol*, in press.
- 6) 岩崎 靖. 特発性プリオン病(孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病) MV2 型、VV1 型、VV2 型. 日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ 26:677-680, 2013.
- 7) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美, 他. 病的泣き笑いを呈した V180I CJD の 3 例, 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 5.29-6.1, 2013.
- 8) 岩崎 靖, 赤木明生, 辰己新水, 他. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の生存期間に影響する因子の検討. 第 32 回日本認知症学会学術集会, 松本, 11.8-10, 2013
- 9) 岩崎 靖, 辰己新水, 三室マヤ, 他. 当施設におけるプリオン病の剖検例および剖検体制についての検討. 第 18 回日本神経感染症学会総会, 宮崎, 10.11-12, 2013.
- 10) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, et al. Relation between cerebral cortical lesion progression and clinical findings in MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. 89th Annual Meeting of the American Association of Neuropathologists, Charleston, June 21-22, 2013.
- 11) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, Yoshida M. Neuropathological investigation of the olfactory bulb and olfactory tract in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.
- 12) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, et al. Relation between cerebral cortical lesion progression and clinical findings in MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. XXI World Congress of Neurology, Vienna, September 21-26, 2013.

2. 学会発表

- 1) 岩崎 靖, 辰己新水, 三室マヤ, 他. 発性 Creutzfeldt-Jakob 病の一剖検例. 第 5 回日本神経病理学会東海・北陸地方会, 富山, 9.7, 2013.
- 2) 岩崎 靖, 辰己新水, 三室マヤ, 他. 孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の大脳皮質病変の進展と臨床症状との関連についての検討. 第 54 回日本神経病理学会学術大会, 東京, 4.24-26, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

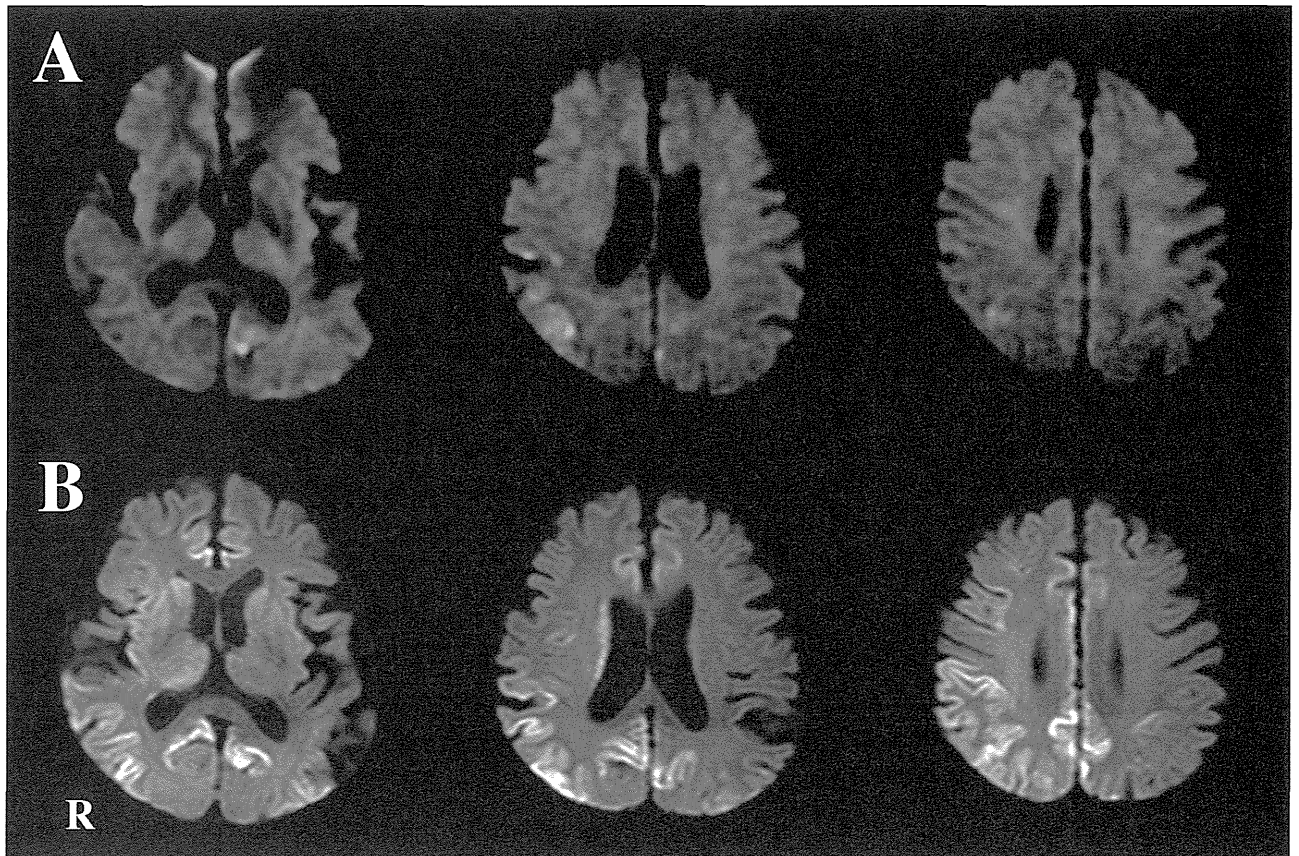


図 1. 頭部 MRI の経時的変化

(A) : 発症 8 ヶ月前の拡散強調像。右側頭頭頂葉、左後頭葉内側面に高信号域を認める。

(B) : 発症 3 ヶ月後（死亡 2 ヶ月前）の拡散強調像。大脳皮質、基底核に広範な高信号域を認める。発症前に高信号を呈していた部位や右後頭葉内側面などはより輝度が高い。

R : 右側

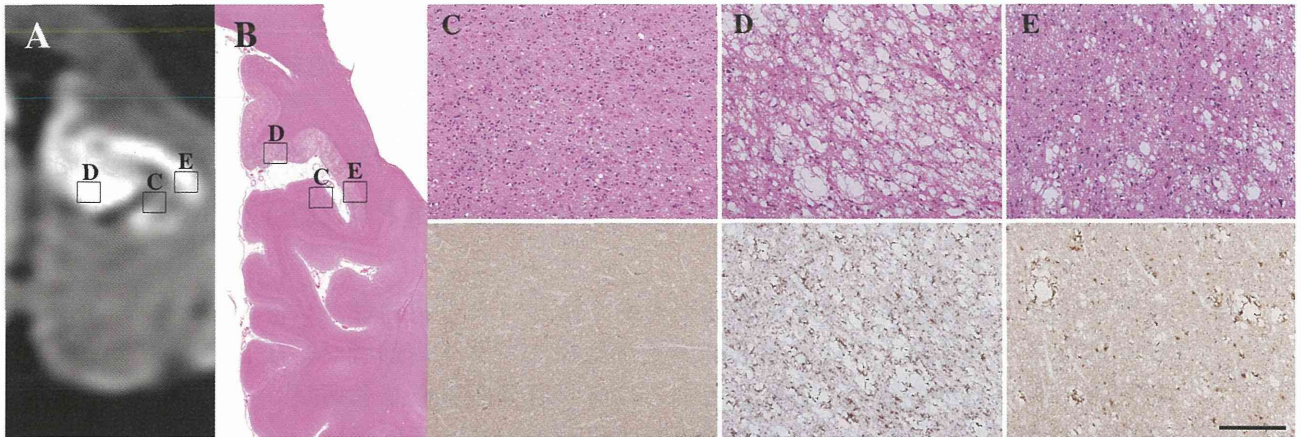


図 2. MRI 拡散強調像と病理所見の対比

(A) : 発症 3 ヶ月後の MRI 拡散強調像 (図 1B) の左後頭葉内側面の拡大。淡い高信号を呈する部位 (C)、より輝度の高い部位 (D)、両者の移行部位 (E) が混在して認められる。

(B) : ルーペ像では、拡散強調像で淡い高信号を呈した部位 (C) では肉眼的には空胞を認めないが、より高輝度を呈した部位 (D) では肉眼的に大型の空胞が観察できる。両者の移行部位 (E) でも肉眼的に大型の空胞を一部観察できる。

(C) : 拡散強調像で淡い高信号を呈し、ルーペ像で空胞を観察できない部位では、小型で境界明瞭な海綿状変化 (Fine vacuole) を認め (上段)、抗プリオン蛋白抗体を用いた免疫染色では微細顆粒状のプリオン蛋白沈着 (synaptic type) を認める (下段)。

(D) : 拡散強調像でより高輝度を呈し、ルーペ像で大型の空胞を認めた部位では、大型で癒合する海綿状変化 (large confluent vacuole) を認め (上段)、免疫染色では空胞周囲のプリオン蛋白沈着 (perivacuolar type) を認める (下段)。

(E) : ルーペ像で大型の空胞を一部観察できる C と D の移行部位では、小型で境界明瞭な海綿状変化と大型で癒合する海綿状変化が混在し (上段)、免疫染色では微細顆粒状のプリオン蛋白沈着と空胞周囲のプリオン蛋白沈着を呈する部位が混在している (下段)。

B、C 上段、D 上段、E 上段 : ヘマトキシリン・エオジン染色

C 下段、D 下段、E 下段 : 抗プリオン蛋白抗体 (3F4) を用いた免疫染色

スケールバー : 200 μ m

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

生前に施行したアミロイド PET (11C-PIB, 11C-BF-227) と神経病理所見を比較できた Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病 P102L-129M の 1 例

研究分担者：高尾昌樹	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：石井賢二	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：木村浩晃	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：中野雄太	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：野上 茜	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：内野彰子	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：隅蔵大幸	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：初田裕幸	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：村山繁雄	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：石渡喜一	東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
研究協力者：岡村信行	東北大学大学院医学研究科・病態神経学分野
研究協力者：北本哲之	東北大学大学院医学研究科・病態神経学分野
研究協力者：吉田洋二	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：美原 盤	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院

研究要旨 目的：Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病 P102L-129M (以下 GSSP102L-M) における生前のアミロイド PET と病理所見を比較検討すること。症例：56 歳より失調性歩行で発症。その後病状は進行し、寝たきりの状態となり肺炎で 59 歳で死亡。方法：神経放射線画像：3T の頭部 MRI を経過中に施行。18F fluoro-deoxy-glucose (FDG) と 11C-Pittsburgh compound B (PIB) アミロイド positron emission tomography (PET) を、それぞれ死亡 7 ヶ月前に施行。11C-BF-227 アミロイド PET を死亡 3 ヶ月前に施行。神経病理学的検索：ホルマリン固定後、ルーチンで切り出す大脳、小脳、脳幹を含めた部位の組織切片を作成した。通常の染色に加え、Congo red、チオフラビン染色を施行。プリオンに関する免疫染色としては、Ventana 自動免疫染色装置を用いて、3F4 モノクローナル抗体を用いて検討した。結果：神経放射線画像：繰り返し施行した頭部 MRI により、進行性の脳、小脳萎縮と脳室拡大を認めた。大脳皮質と基底核の拡散強調画像により高信号病変も認めた。FDG-PET では、前頭葉と側頭葉に強い、びまん性の代謝低下を認めた。視床、線状体、小脳は比較的保たれていた。11C-PIB PET は陰性でアミロイド沈着を指摘できなかった。一方、11C-BF-227 では、アミロイド沈着を示唆する陽性所見を運動野、頭頂葉、線状体、小脳に認めた。神経病理学的所見：脳重は 1150g。神経細胞脱落とグリオシスは、大脳皮質、小脳、脳幹で顕著であった。海綿状変性を大脳皮質に認めた。抗 PrP 抗体 (3F4) 陽性のアミロイド斑を広範に、特に前頭葉、頭頂葉、側頭葉、頭頂葉、尾状核、被殻、小脳に多く認めた。PrP 陽性のアミロイド血管症はなし。アミロイド β 陽性の沈着もなし。結論：11C-BF-227 は GSS P102L-M において PrP アミロイド沈着を認識する可能性を、死亡 3 ヶ月前の画像と病理所見を比較することで明らかにできた。

A. 研究目的

遺伝性プリオン病 GSS P102L-129M において、生前に施行された、アミロイド PET と神経病理所見を対比し、アミロイド PET が、プリオン蛋

白アミロイドを検出できるのかを検討する。

B. 研究方法

症例：発症時 56 歳で GSS P102L-129M が確

定した症例。

神経放射線画像：3T-MRIによる頭部画像と、死亡時に autopsy imaging を施行し、経時的観察を施行。Positron emission tomography (PET) は、死亡時 7 ヶ月前に [F-18]-fluoro-deoxy-glucose PET と [C-11]-Pittsburgh compound B (PIB) amyloid PET を同日に施行。死亡 3 ヶ月前に [C-11]-BF-227(11)C-labeled 2-(2-[2-dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole) amyloid PET を通常プロトコールで施行。

神経病理学的検討：病理解剖時に、左半球は 20% 中性ホルマリン固定、右半球はドライアイスで凍結後、 -80°C に超低温層で保存し、生化学的検査に使用。固定された左半球は、日本神経科学ブレインバンクネットワークの方法に順じ、通常通り冠状断にスライス後、プロセスを行い、以下の染色を施行した。通常染色として、HE、KB、Congo red、thioflavin-T 染色を施行した。免疫染色は、Ventana autoimmunostainer を使用して、抗 Prion 抗体として、3F4 と 1E4、アミロイドベータとして $\text{A}\beta_{11-28}$ 、タウ蛋白として AT8、アルファシヌクレインとして、P- α -synuclein、その他、ubiquitin、GFAP を使用した。

検討した解剖学的部位で、半定量的方法により、PrP 陽性のアミロイドプラークの数、神経細胞脱落、グリオシスを以下のとおり判定した。PrP (3F4)-immunoreactive amyloid plaques ($>20\ \mu\text{m}$) /100 \times microscopic field. 0 = no plaques、+ = 1-25 plaques、++ = 26-50 plaques、+++ = >51 plaques。Neuronal loss and gliosis (subjective scale). 0 = none、+ = mild、++ = moderate、+++ = severe

生化学検査：剖検時に採取して前頭葉組織をプリオン蛋白の生化学検査に供した(東北大学)。

(倫理面への配慮)

PET 画像に関しては、配偶者と姉妹に説明の上、承諾を得て施行。剖検は、死体解剖保存法により施行。遺伝子検索は前医で依頼され、承諾の上に施行されている。

C. 研究結果

症例の臨床経過

臨床情報は限られたものである。56歳で失調性歩行、排尿障害が出現した。57歳時に、吃音があることが記録されている。同時期に車いすレベルの ADL となった。58歳に経管栄養となり、当院に転院となった。その後、肺炎、敗血症で死亡。

家族歴：母がクロイツフェルトヤコブ病 (CJD) で剖検をうけたことが判明。病理組織を確認したところ、GSS P102L に矛盾しない所見であった(ただし、凍結試料は保存されておらず、遺伝子検索は施行していない)。

尿、一般血液検査には特記すべき異常を認めない。脳脊髄液は total tau 蛋白は 889 pg/ml, 14-3-3 蛋白は陰性。

遺伝子解析(生前)

PRNP 遺伝子コドン 102 に、Pro から Leu への変異を認めた。コドン 129 Met/Met, codon 219 Glu/Glu であった。

神経放射線画像

頭部 MRI (図 1) : 58歳 2ヶ月の画像では、びまん性の脳萎縮、脳室拡大、脳溝開大を認めた。拡散強調画像では、対称性に大脳皮質の高信号病変を認めるが、基底核の高信号は明らかではなかった。59歳と 4ヶ月の画像では、進行性の脳萎縮が確認できた。死亡時直後の画像では、脳萎縮と特に脳室拡大が顕著であった。

[F-18]-fluoro-deoxy-glucose PET (図 2) : 死亡時 7ヶ月前に施行され、大脳皮質(前頭葉、側頭葉)、基底核においてびまん性の糖代謝低下を認めた。一方、小脳と頭頂葉、後頭葉では比較的保たれていた。PIB アミロイド PET は陰性であった。一方、BF-227 によるアミロイド PET は、小脳、頭頂葉、線条体で正常コントロールに比し、陽性所見を認めた(図 3)。

神経病理所見：脳重は 1,150 グラムで、前頭葉と小脳に萎縮を認めた。尾状核、被殻、淡蒼球に萎縮を認め、側脳室の開大を認めた。終末期の敗血症に伴い、脳表の点状出血を認めた。大脳皮質では、神経細胞の脱落とグリオシスは強かった。海綿状変性を認めるが、比較的軽度であった。皮質には、HE でもプラークを認め、抗プリオン抗体で陽性。小脳では、皮質の神経細胞脱落とグリオシスは顕著で、多数の

プラークを認め、抗プリオン抗体で陽性であった。基底核にも多数のプラークを認めた。プラークは、Congo red、thioflavin T 染色で、アミロイドであることを確認した(図 4-5)。また抗プリオン抗体で、微細な沈着(シナプス型)の所見も認めた。

アミロイド PET と病理変化の比較(表 1) : BF-227 アミロイド PET が陽性を呈した、運動野、頭頂葉、尾状核、被殻、小脳では、多数の PrP アミロイド沈着を認めた。こういった部位では、比較的 FDG-PET での糖代謝が比較的保たれている部位もあった。A β 11-28 陽性の沈着はなく、AT8 陽性の神経原線維変化の分布は軽く、Braak stage I-II であった。P- α -synuclein 陽性の沈着はなかった。

生化学的検索 : ウェスタンブロットの解析では、CJD にみられる type 1 とほぼ一致した。8kD に一致するバンドは検出されなかった。

D. 考察

GSSP102L-129M において、[C-11]-BF-227 と [C-11]-PIB によるアミロイド PET と病理所見とを同一症例で比較検討した。本例では、死亡 7 ヶ月と 3 ヶ月前にアミロイド PET を施行し、病理所見と比較できたので、生前の画像変化は剖検による病理変化をよく反映しているものと考えられる。さらに、アミロイド β 、 α -シヌクレインの沈着は組織学的にはなかった。よって、多数の PrP アミロイドプラークが、[C-11]-BF-227 アミロイド PET の陽性所見を反映し、かつ一定のプラークの数が必要と考えられた。一部の GSS においては、2-(1-{6-[(2-[F-18]fluoroethyl)-(methyl)amino]-2-naphthyl}ethylidene)malononitrile[18F]FDDNP アミロイド PET が陽性となること、病理学的対応をふまえ確認されている(1)。
[C-11]-BF-227 は GSS における PrP アミロイドプラークを認識すると考えられた。

E. 結論

GSS P102L-129M では、[C-11]-BF-227 アミロイド PET により、PrP アミロイドプラークを認識できる。GSS の確定診断がされた症例において、PrP アミロイド沈着を辞去するような治療法を検討するときなど、アミロイド PET は脳内

PrP アミロイド沈着の状態を把握する画像マーカーとして使用できる可能性がある。

[参考文献]

1) Kepe V, et al. PET of brain prion protein amyloid in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Brain Pathol* 20 419-430, 2010.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 高尾昌樹, Bonnin JM, Ghetti B. MV2, VV1, VV2, および Variably protease sensitive proteinopathy (VPSPr). *Clin Neurosci* 31:1054-1056, 2013.
- 2) 高尾昌樹. 分子標的薬と PML. モノクローナル抗体療法時代の PML. *Brain and Nerve* 65:1363-1374, 2013.
- 3) 高尾昌樹. その他各種検査. 中島健二, 天野直二, 下濱 俊, 富本秀和, 三村 将・編 認知症ハンドブック, 医学書院, 東京, pp156-166, 2013.

2. 学会発表

- 1) Takao M, Ishii K, Mihara B, Kimura H, Ishiwata K, Okamura N, Kitamoto T, Yoshida Y. Amyloid PET images and neuropathology in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease associated with the PRNP P102L-129M mutation. The 89th Annual meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc., June 20-23, Charleston, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. 頭部 MRI：進行性の脳萎縮。拡散強調画像で皮質高信号を認めた。

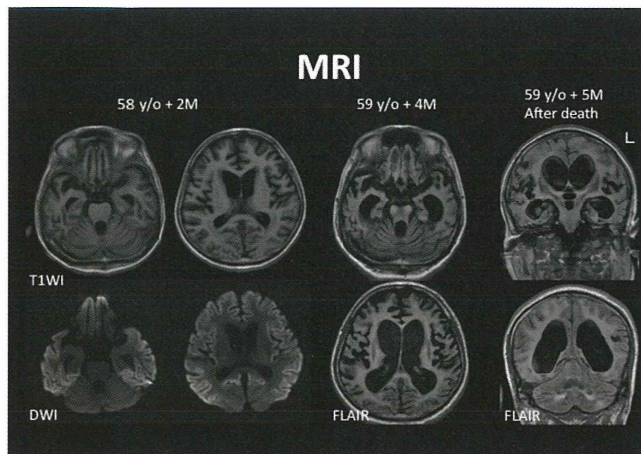


図 2. FDG-PET。大脳皮質（前頭葉、側頭葉）、基底核においてびまん性の糖代謝低下を認めた。小脳と頭頂葉、後頭葉は比較的保たれていた。

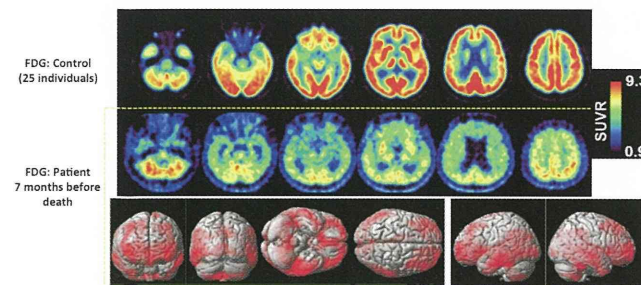


図 3. PIB アミロイド PET は陰性であった。BF-227 アミロイド PET は、小脳、頭頂葉、線条体で陽性所見を認めた

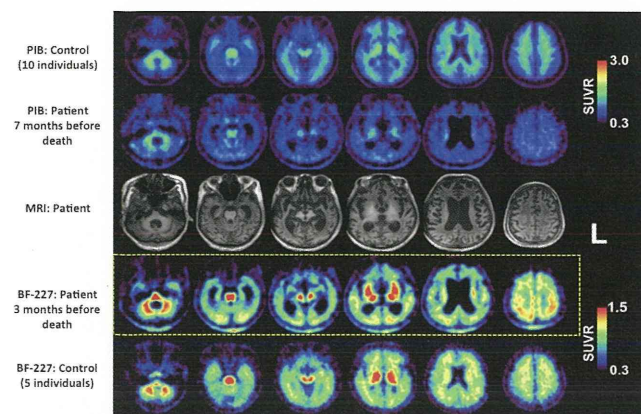


図 4. 小脳皮質のプリオンアミロイド斑（3F4免疫染色と thioflavin-S 染色）

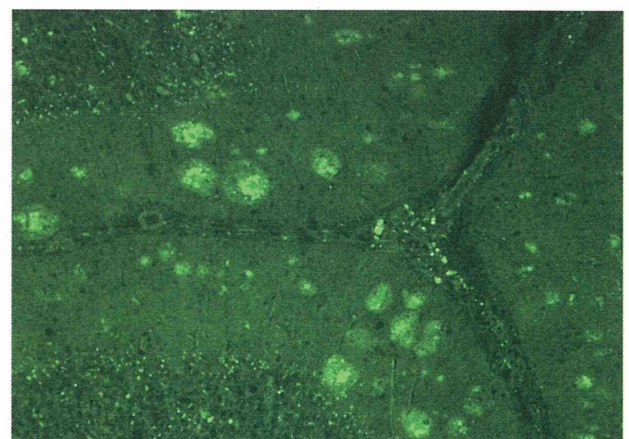
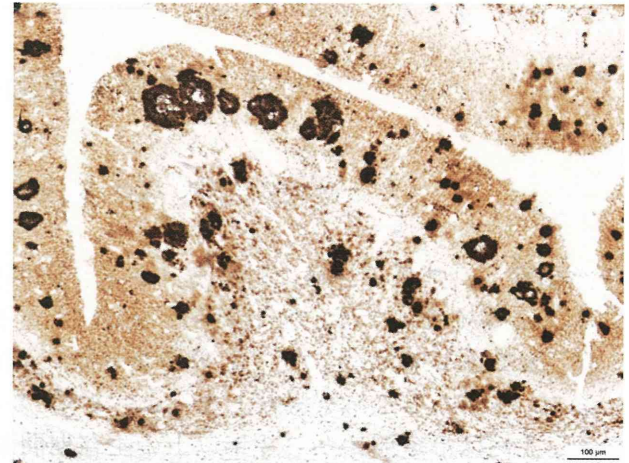


表 1. 神経病理所見の部位別の病理変化の程度と PET の比較。

	PrP ^{Sc} plaques (>20 μm)	Neuronal loss/Gliosis
Frontal cortex	+	++/++
Cingulate cortex	++	++/++
Temporal cortex	++	+++/+++
Insular cortex	++	+++/+++
Motor cortex	+++ (BF-227 positive)	++/++ (FDG relatively spared)
Parietal cortex	+++ (BF-227 positive)	++/++ (FDG relatively spared)
Visual cortex	+	+/+
Hippocampus	+	+/+ (presence of NFTs & pretangles)
parahippocampus	+	+++ (presence of NFTs & pretangles)
Caudate nucleus	++ (BF-227 positive)	++/++
Putamen	+++ (BF-227 positive)	++/+++
Globus pallidus	+	+/+
Thalamus	+	++/++
Cerebellar cortex	+++ (BF-227 positive)	+++ (FDG relatively spared)
	0 = no plaques/100x + = 1-25 plaques/100x ++ = 26-50 plaques/100x +++ = >51 plaques/100x	0: none +: mild ++: moderate +++: severe

表の中に、アミロイド PET BF-227 の陽性部位と、FDG-PET で比較的代謝が保たれた部位を示した。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

プリオン病の新規治療薬に関する臨床研究

研究分担者：坪井 義夫 福岡大学医学部神経内科学

研究要旨 「プリオン病に対するペントサンポリサルフェート(PPS)の脳室内持続投与法の評価」に関する継続研究では、同治療を行っていたプリオン病の11例(孤発性CJD 6例、硬膜移植後CJD 2例、家族性CJD/GSS3例)で、昨年剖検新たに亡くなり剖検されたV180I家族性CJDを含め10例が死亡、1例のみの治療継続となった。平均38ヶ月(4~77ヶ月)で、治療中も症状の進行は見られなかったが、4例は治療開始から3年以上の生存期間を示した。副作用は周術期、血液データ上、治療に関連する異常は見られなかった。6例で剖検が得られ、1例の詳細な解析において不溶性プリオンタンパク量がコントロールの脳に比べ少ないことが示され、4例の剖検報告では不溶性プリオン蛋白/全プリオン蛋白比の低い症例があり、異常プリオン蛋白の定量を含め治療による影響の可能性が示唆された。PPS脳室内持続投与は、安全で長期治療にも耐えうる治療法である。次世代プリオン病治療に向けて、福岡・佐賀地区に集積するGSS家系の調査では、その発症リスクを有する家族は20家系の30名を超える発症リスク(at risk)家族が存在し、予防的治療の候補薬剤の探索、開発が課題である。

A. 研究目的

プリオン病に対する新規治療薬の候補と治療対象に関するプロトコルの作成を研究目的とする。

進行中のペントサンポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与法のプリオン病患者に対する安全性と患者の生命予後改善への効果を明らかにする。現在PPS脳室内持続投与療法は11例のエントリー症例のうち10例が死亡、うち7例が剖検になった。臨床、病理からの解析から、同治療のプリオン病に対する有効性、疾患修飾効果の検討を行う。

また福岡、佐賀地区に多い Gerstmann-Sträussler-Scheinker(GSS)病家系の発症リスク(at risk)家族に関する調査、および家族の発症前遺伝子診断への倫理的コンセンサスの確立をめざす。

B. 研究方法

PPS 脳室内持続投与法は、昨年度の報告書に記載したとおりである。簡単に記載すると、体内埋め込み型微量注入器具は Archimedes® 20ml reservoir, Flow rate 0.5 ml/24h, Codman Inc., Germany を使用および脳室内カテーテルの留置

手術を施行。PPS 投与は低濃度で開始。その後、漸増し維持量に到達させる。最終維持濃度は120µg/kg/dayとして、4週間毎に腹部皮下の微量注入器具中に、経皮的に薬液を交換充填した。薬剤効果の評価は神経学的所見、日常生活動作、画像所見および脳波所見のフォローを行った。副作用は血算、生化学、凝固能を定期的に検討した。

GSS 家系調査は福岡、佐賀地区のサーベイランスより個々の家系を匿名で調査した。

(倫理面への配慮)

本研究の対象患者および患者家族に対して十分に説明を行い、理解を得た上で文書による同意が得られた患者にのみ本治療研究は実施された。本治療研究に対して同意を得る場合は人権保護の立場から慎重に検討し、安全の確保に充分配慮し、対象患者のプライバシー保護には十全の配慮を行われた。同意が得られない場合でも何ら差別なく疾患に対して必要な治療を行うことを原則とし、患者の個人情報については慎重に対応した。

C. 研究結果

PPS 治療は 11 例のプリオン病患者に行われ、今年 1 例が亡くなり生存患者は 1 例となった。患者の経過は表に示す。病型別では、孤発性 CJD が 6 例、硬膜移植後医原性 CJD が 2 例、家族性 CJD (GSS 1 例を含む) が 3 例であった。11 例の治療開始からの経過は平均 38 ヶ月 (4~77 ヶ月) で、治療中も症状の進行は見られたが、緩徐進行型孤発性 CJD 2 例と家族性で V180I 遺伝子変異の 2 例の計 4 例は治療開始から 3 年以上の生存期間を示した。副作用は周術期、血液データ上、治療に関連する異常は見られなかった。6 例で剖検所見の総括的な解析はできていないが、1 例の検討において不溶性プリオンタンパク量がコントロールの脳に比べ少ないことが示され、4 例の剖検報告では不溶性プリオン蛋白/全プリオン蛋白比の低い症例があり、異常プリオン蛋白の定量を含め治療による影響の可能性が示唆された。副作用は周術期において問題はみられなかったが、手術後 3 ヶ月以降、硬膜下水腫が全例に認められた。血液データ上、治療に関連する異常は見られなかった。6 例で剖検が得られ、1 例の詳細な解析において不溶性プリオンタンパク量がコントロールの脳に比べ少ないことが示され、4 例のまとまった剖検報告では不溶性プリオン蛋白/全プリオン蛋白比が低く、脳内異常プリオン蛋白蓄積という観点から PPS 治療による疾患修飾作用の可能性を示唆した、

福岡・佐賀地区のサーベイランスの結果から全国 GSS 症例の福岡・佐賀地区の患者数は 43.7% と非常に高く、この地区に GSS の集積が確認された。今回 20 家系において臨床疫学的に検討を行った。家系の居住地は佐賀市を中心として、福岡県の佐賀市近隣に居住地の集積がみられた。発端者の発症年齢は 28~68 歳まで多様で、発症者の子供を発症素因 (at risk) 家族と定義すると、確認されただけで 34 名が該当し、将来の発症が危惧される。臨床症状は発症年齢の多様性があるものの、多くは GSS 型であったが、進行が急速で MRI 拡散強調画像で異常信号がみられる CJD 型表現型が少数含まれた。初発症状は歩行時ふらつきが最も多く、その後、認知機能障害、振戦、書字障害、排尿障害、下肢の異常感覚、腱反射の低下が多くみられた。

D. 考察

プリオン病に対する PPS 脳室内持続投与療法は、臨床的に機能的改善を示した症例はみられなかったが、生存期間が長く、生命予後の改善が示唆された。病理的にも異常プリオン蛋白蓄積に対修飾効果の可能性を示唆した。

福岡・佐賀に集積する GSS 家系は、臨床的に GSS 型と CJD 型が混在しており、その遺伝的背景の検討が今後の課題である。居住地が比較的近いことから、遺伝学的に創始者効果の有無の検討も望まれる。また発症素因 (at risk) 家族が多く、今後は将来の新規治療介入を念頭に、発症前遺伝子診断の可能性を追求することが望まれる

E. 結論

プリオン病に対する PPS 脳室内持続投与療法は、生命予後の改善、脳内異常プリオン蛋白の蓄積を抑制する可能性が示唆されたが、治療効果としての機能的改善は示されなかった。今後の治療戦略を再度確立する方向で検討を進めるべきである。

福岡—佐賀地区には強い GSS 家系の集積がある。今後は新たな治療法の確立を模索する上で、基礎と臨床の統合研究で候補薬の新たな割り出しと治療対象の検討を進める必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 坪井義夫. プリオン病の治療：現状と研究の最前線. *臨床神経学* 53:1255-1257, 2013.
- 2) 坪井義夫. プリオン病の治療法開発. *Neuroinfection* 18:44-47, 2013.
- 3) 坪井義夫. 獲得性(感染性)プリオン病 変異型 Creutzfeldt-Jakob 病. *Clin Neurosci* 31:1074-1076, 2013.
- 4) 坪井義夫. 家族性 Creutzfeldt-Jakob 病. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 24:788-791, 2013.
- 5) 木村 聡、坪井義夫. ゲルストマン・シュトライスラー・シャインカー病. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 26:687-691, 2013.

2. 学会発表

なし

2. 実用新案登録

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

3. その他

なし

表. PPS 脳室内持続投与法を施行したプリオン病 11 例の経過と予後

No	Age at surgery	Sex	Diagnosis	Date of Surgery	PPS dose (μ g/kg/day)	Survival from the surgery (M)	mRS at Surgery	mRS at Present
1	67	F	sCJD	2004/11/16	120	17*	5	6
2	73	F	sCJD	2005/3/1	120	20*	4	6
3	68	F	sCJD (MM2)	2005/6/2	120	50*	3	6
4	64	F	fCJD (V180I)	2005/6/21	120	65*	3	6
5	64	F	sCJD	2005/11/14	120	26*	5	6
6	55	M	iCJD	2006/3/13	120	4*	4	6
7	66	M	iCJD	2006/6/12	120	9*	4	6
8	69	F	GSS (P102L)	2006/8/2	120	14*	2	6
9	73	F	fCJD (V180I)	2006/10/15	120	77*	2	6
10	68	M	sCJD	2007/3/7	120	18*	2	6
11	39	F	sCJD	2007/4/3	120	77	4	5

*: dead

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病剖検脳におけるアミロイドβ蛋白の沈着

研究分担者：浜口 毅	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）
研究協力者：北本哲之	東北大学大学院プリオン蛋白研究部門
研究分担者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所
研究協力者：吉田眞理	愛知医科大学加齢医科学研究所
研究分担者：高尾昌樹	東京都健康長寿医療センター研究所神経病理学 公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：村山繁雄	東京都健康長寿医療センター研究所神経病理学
研究協力者：内木宏延	福井大学医学部病因病態医学講座分子病理学領域
研究協力者：清水 宏	新潟大学脳研究所病態神経学部門病理学分野
研究協力者：柿田明美	新潟大学脳研究所病態神経学部門病理学分野
研究協力者：高橋 均	新潟大学脳研究所病態神経学部門病理学分野
研究協力者：鈴木博義	国立病院機構仙台医療センター
研究協力者：坂井健二	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）
研究協力者：三條伸夫	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学（神経内科学）
研究分担者：水澤英洋	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学（神経内科学）
研究代表者：山田正仁	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）

研究要旨 [目的]プリオン病での異常プリオン蛋白と同様に、硬膜移植で脳βアミロイドーシスが伝播する可能性を検討する。

[方法] 硬膜移植後 CJD と病理学的に診断した 16 症例の剖検脳の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、後頭葉、基底核、視床、小脳、橋における、異常プリオン蛋白およびアミロイドβの沈着を免疫染色によって検討する。

[結果]16 例の硬膜移植後 CJD 剖検例の死亡時年齢は 63.1±14.1 歳 (35-81 歳) であった。硬膜移植から死亡までの期間の平均値は 18.7±6.0 年 (9-29 年) であった。16 例中 13 例に脳実質または脳血管に Aβ沈着を認めた。16 例の中には、50 歳未満に死亡した若年症例が 3 例含まれていたが (35 歳、39 歳、41 歳)、全例で Aβ沈着を認めた。脳実質より脳血管への Aβ沈着が目立つ症例が多かった。

[結論]以上の結果からは、硬膜移植によって脳βアミロイドーシスの発症が促進された可能性を否定出来ない。今後、孤発性 CJD や脳外科手術後で硬膜移植歴がなくプリオン病を発症しなかった症例などをコントロールとした検討が必要である。

A. 研究目的

プリオン病は同種間あるいは異種間で伝播するという特徴を有し、変異型 Creutzfeldt-Jakob 病 (Creutzfeldt-Jakob disease: CJD) や医原性 CJD といった症例の出現は、しばしば大きな社会問題となっている。近年、Alzheimer 病 (Alzheimer's disease: AD) の代表的な病理学的所見の 1 つである脳へのアミロイドβ蛋白 (amyloid β: Aβ) の沈着 (脳βアミロイドーシス) も、異常プリオン

蛋白と同様に個体間を伝播するという動物実験が報告されている¹⁾。現時点では、ヒトにおいて脳βアミロイドーシスが伝播したという報告はないが、硬膜移植 21 年後に硬膜移植後 CJD を発症した死亡時 28 歳の症例の脳に Aβ沈着を多く認めたという報告があり²⁾、硬膜移植によって脳βアミロイドーシスが伝播した可能性が否定出来ない。硬膜移植によって脳βアミロイドーシスの発症が促進されるかについて硬膜

移植後 CJD 剖検脳を用いて検討する。

B. 研究方法

硬膜移植後 CJD と病理学的に診断した 16 症例の剖検脳の前頭葉、側頭葉、頭頂葉、後頭葉、基底核、視床、小脳、橋における、異常プリオン蛋白およびアミロイドβの沈着を免疫染色によって検討する。

(倫理面への配慮)

硬膜移植後 CJD 剖検脳の標本の使用については金沢大学および研究協力者の所属施設の医学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

今回検討した16例の硬膜移植後CJDを表1に示す。16例の硬膜移植後CJD剖検例の死亡時年齢は63.1±14.1歳(35-81歳)で、9例が女性であった。硬膜移植から死亡までの期間の平均値は18.7±6.0年(9-29年)であった。11例が非プラーク型で、5例がプラーク型の硬膜移植後CJDであった。

16例中13例に脳実質または脳血管にAβ沈着を認めた。16例の中には、50歳未満に死亡した若年症例が3例含まれていたが(35歳、39歳、41歳)、全例でAβ沈着を認めた。脳実質より脳血管へのAβ沈着が目立つ症例が多かった。脳実質および脳血管へのAβ沈着の程度は、硬膜移植から死亡までの期間が長くなるに従って増加している印象があった。軟膜下へのAβ沈着が目立つ症例が複数存在した。

D. 考察

50歳未満の症例の脳へのAβ沈着やAβの沈着程度が硬膜移植から死亡までの期間が長くなるに従って増加することは、硬膜移植によって脳βアミロイドーシスの発症が促進された可能性を否定出来ない。また、脳血管へのAβ沈着が目立つ印象があり、更に脳血管へのAβ沈着と関連すると報告されている軟膜下へのAβ沈着³⁾を認めた症例が複数存在したことは、硬膜移植に伴う脳βアミロイドーシスの特徴を示している可能性がある。しかし、プリオン病や脳外科手術が脳βアミロイドーシスを促進した可能性も否定出来ないため、今後、孤発性CJDや

脳外科手術後で硬膜移植歴がなくプリオン病を発症しなかった症例などをコントロールとした検討が必要である。また、Aβ沈着について定量的な評価も行えておらず、今後定量的な評価も必要と考える。

E. 結論

死亡時50歳未満の3例を含めた硬膜移植後CJD16例中13例の剖検脳にAβの沈着を認めた。今後、硬膜移植が脳へのAβ沈着を促進したかを調べるために、孤発性CJDや脳外科手術後で硬膜移植歴がなくプリオン病を発症しなかった症例などをコントロールとした検討を行う予定である。

[参考文献]

- 1) Meyer-Luehmann M, Coomaraswamy J, Bolmont T, Kaeser S, Schaefer C, Kilger E, Neuenschwander A, Abramowski D, Frey P, Jaton AL, Vigouret JM, Paganetti P, Walsh DM, Mathews PM, Ghiso J, Staufenbiel M, Walker LC, Jucker M. Exogenous induction of cerebral β-amyloidosis is governed by agent and host. *Science* 313:1781-1784, 2006.
- 2) Preusser M, Strobel T, Gelpi E, Eiler M, Broessner G, Schmtzhard E, Budka H. Alzheimer-type neuropathology in a 28 year old patient with iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease after dural grafting. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:413-416, 2006.
- 3) Itoh Y, Yamada M, Hayakawa M, Otomo E, Miyatake T. Subpial beta/A4 peptide deposits are closely associated with amyloid angiopathy in the elderly. *Neurosci Lett* 155:144-147, 1993.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kobayashi A, Iwasaki Y, Otsuka H, Yamada M, Yoshida M, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Deciphering the pathogenesis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with codon 129 M/V and type 2 abnormal prion protein. *Acta Neuropathol*

Commun 1:74, 2013.

2) Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Graft-related disease progression in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: a cross-sectional study. *BMJ Open* 3:e003400, 2013.

3) Hamaguchi T, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Sadakane A, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Insight into the frequent occurrence of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:1171-1175, 2013;

4) Higuma M, Sanjo N, Satoh K, Shiga Y, Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Shirabe S, Murayama S, Yamada M, Tateishi J, Mizusawa H. Relationships between clinicopathological features and cerebrospinal fluid biomarkers in Japanese patients with genetic prion diseases. *PLoS One* 8:e60003, 2013.

5) 浜口 毅, 山田正仁. 感染性(獲得性)プリオン病 硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 26:703-706, 2013.

6) 浜口 毅, 山田正仁. 特発性プリオン病(孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病) MM2 視床型と皮質型. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 26:671-676, 2013.

7) 山田正仁. プリオン病. *日本医師会雑誌特別号(2)* 142:S173-S174, 2013.

8) 野崎一朗, 浜口 毅, 山田正仁. 古典型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病. *Clin Neurosci* 31:1048-1051, 2013.

9) 浜口 毅, 山田正仁. 硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病. *Clin Neurosci* 31:1071-1073, 2013.

10) 野崎一朗, 浜口 毅, 山田正仁. プリオン病: 概論. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 24:777-782, 2013.

11) 浜口 毅, 山田正仁. 医原性 Creutzfeldt-Jakob 病. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 24:807-811, 2013.

2. 学会発表

1) Mizusawa H, Nakamura Y, Takumi I, Yamada M. CJD Surveillance in Japan. European CJD Surveillance Network, Oslo, June 6-7, 2013

2) Fujita K, Harada M, Uyama N, Sasaki M, Iwasaki Y, Satoh K, Sanjo N, Takao M, Hamaguchi T, Mizusawa H, Yamada M. Thin-slice diffusion-weighted imaging and arterial spin labeling for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

3) Hamaguchi T, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Comparison of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease between Japan and Other countries. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

4) 山田正仁: プリオン病の臨床と病理. 第 54 回日本神経病理学会総会学術研究会 第 9 回神経病理コアカリキュラム教育セミナー, 東京, 4.24, 2013.

5) 浜口 毅, 山田正仁. プリオン病の臨床像と疫学, 特に硬膜移植後 CJD. 第 54 回日本神経学会学術大会 シンポジウム: プリオン病の最新情報, 東京, 5.29-6.1, 2013.

6) 浜口 毅, 坂井健二, 篠原もえ子, 野崎一朗, 太組一朗, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 齊藤延人, 水澤英洋, 山田正仁. わが国の硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病の特徴: 海外例との比較. 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 5.29-6.1, 2013.

7) 浜口 毅, 坂井健二, 篠原もえ子, 野崎一朗, 太組一朗, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 齊藤延人, 水澤英洋, 山田正仁. わが国と海外の硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病の比較. 第 18 回日本神経感染症学会総会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 本研究で検討した硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病症例

症例	性別	死亡時年齢 (歳)	潜伏期間 (年)	CJD 病型	コドン 129	コドン 219	硬膜移植時疾患
1	男性	35	21	非ブランク	Met/Met	Glu/Lys	硬膜下血腫
2	男性	39	20	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	外傷
3	男性	41	25	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	硬膜下血腫
4	女性	56	9	非ブランク			Arnold-Chiari 奇形
5	男性	58	16	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	脊髄腫瘍
6	男性	62	26	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	動静脈奇形
7	女性	66	18	ブランク	Met/Met	Glu/Glu	くも膜下出血
8	女性	67	16	ブランク	Met/Met	Glu/Glu	小脳橋角部腫瘍
9	女性	68	10	ブランク			髄膜腫
10	女性	68	16	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	くも膜下出血
11	男性	68	26	ブランク	Met/Met	Glu/Glu	くも膜下出血
12	男性	70	12	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	髄膜腫
13	女性	73	19	ブランク	Met/Met	Glu/Glu	髄膜腫
14	女性	77	13	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	神経鞘腫
15	女性	80	23	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	片側顔面攣縮
16	女性	81	29	非ブランク	Met/Met	Glu/Glu	動脈瘤

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

拡散強調画像によるプリオン病早期病変の診断能向上に関する研究

研究分担者：佐々木真理 岩手医科大学医歯薬総合研究所

研究協力者：山下 典生 岩手医科大学医歯薬総合研究所

研究要旨 我々は拡散強調画像 (DWI) におけるプリオン病早期病変の診断能向上法を提唱してきたが、早期病変の経時的変化の定量的判定法は存在しない。そこで、独自の信号正規化法と画像統計解析手法を用いた経時的変化の自動検出プログラムを新たに開発した。本手法によって、DWI 異常信号域の出現と消退を客観的に評価することが可能となった。本法は今後の早期治療介入における薬効サロゲートマーカーとして有望と考えられた。

A. 研究目的

MRI 拡散強調画像 (diffusion weighted image: DWI) はプリオン病の早期診断に広く用いられている。我々は正常脳実質信号強度を用いた表示条件正規化法[1]を本症に適用し、1.5 Tesla 装置における早期病変診断能向上が得られることを多施設読影実験によって明らかにした[2]。また、3 Tesla MRI や薄切スライスにおける診断能を明らかにするため、プリオン病班・サーベイランス班合同画像委員会を設置し、前向き多施設読影実験を実施中である。

一方で、プリオン病に対する疾患修飾薬による早期治療介入が検討されており、薬効評価のためのサロゲートマーカーの確立が急務とされている。DWI が最も有望と考えられるが、拡散異常域の経時的変化を客観的・定量的に評価する手法は現時点で存在しない。そこで、我々は、独自の信号正規化法と画像統計解析法を用いて、DWI 所見の経時的変化の客観的評価法の確立を試みた。

B. 研究方法

DWI を経時的に複数回撮像することができた早期 Creutzfeldt-Jakob (CJD) 病患者 3 名 (42-75 歳) を後方視的に検討した。MRI は 1.5 Tesla 装置 (Signa HDxt, GE Healthcare) または 3 Tesla 装置 (Discovery MR750, GE Healthcare) を用い、DWI は $b=1000\text{s/mm}^2$, matrix 128x128, FOV 22cm, 4-6mm 厚で撮像した。撮像間隔は 1-2 か月であった。

DWI 画像、b0 画像を匿名化 DICOM 形式ファイルで収集し、NifTI 形式に変換後、同一患者の 2 時点のデータを SPM (Statistical Parametric Mapping) を用いて灰白質・白質・脳脊髄液オブジェクト抽出およびリアライメントを行い、b0 画像の脳脊髄液オブジェクトで信号輝度を正規化した後に、差分画像を作成した。さらに、信号上昇部位および低下部位のカラー表示や体積算出を行った。

(倫理面への配慮)

画像データは匿名化を行った後に画像処理に供した。

C. 研究結果

全例で 2 点間の差分画像を自動生成することが可能であった (図)。差分画像では、新たな病変の出現域は高信号域として、病変の消退域は低信号域として描出することができた。また、信号上昇域・低下域のカラー表示 (前者を赤、後者を青) や体積の自動算出をすることができた。

一部の画像にミスレジストレーションが認められたが、部分容積効果および萎縮の進行が原因と考えられた。

D. 考察

本研究によって、独自の信号正規化法と画像統計解析手法を確立し、プリオン病の DWI 早期病変の経時的変化を客観的・定量的に評価可

能であることを示すことができた。しかしながら、本手法を薬効評価指標などに用いるには、さらなる精度向上が不可欠であり、そのためには、1)薄切スライス(3mm厚ギャップレス)の撮像、2)出現/消退域抽出のための閾値の自動最適化、3)萎縮や磁化率アーティファクトによるエラーの除去 などが必要と考えられる。現在、解析アルゴリズムの更なる改良を行っており、今後他施設の協力を得ながら精度検証を進める予定である。

E. 結論

独自の信号正規化法と画像統計解析手法を応用することで、早期CJDにおけるDWI異常域の経時的変化を客観的・定量的に評価することが可能となった。

[参考文献]

- 1) Sasaki M, Ida M, Yamada K, et al. Standardizing display conditions of diffusion-weighted images using concurrent b0 images: A multi-vendor multi-institutional study. *Magn Reson Med Sci* 6:133-137, 2007.
- 2) Fujita K, Harada M, Sasaki M, et al. Multicentre multiobserver study of diffusion-weighted and fluid-attenuated inversion recovery MRI for the diagnosis of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A reliability and agreement study. *BMJ Open* 2:e000649, 2012.

F. 健康危険情報

撮像は体内・体外金属が無いことを確認の上、1.5T 以下は通常操作モード、3T は第一水準管理操作モードで行われており、安全性に問題はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Sasaki M. Current concepts in MR imaging of prion diseases. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

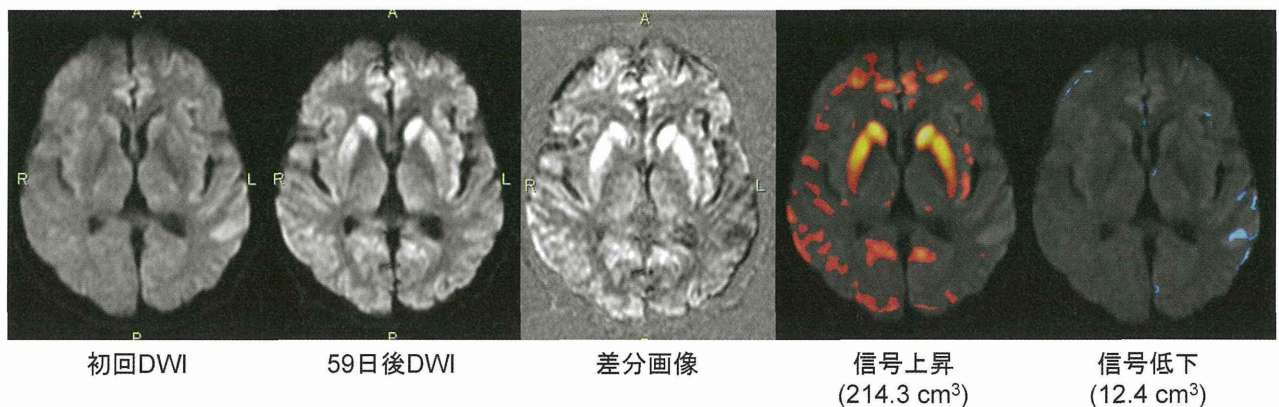


図 早期CJD患者におけるDWI異常信号の経時的定量解析

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

異常型プリオンタンパク試験管内増幅法（RT-QUIC 法）とバイオマーカーを用いたヒトプリオン病の髄液診断法の確立

研究分担者：西田教行 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学
 研究協力者：佐藤克也 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学
 研究協力者：新竜一郎 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学

研究要旨 2011年、我々はヒト孤発性プリオン病における髄液中の異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）の解析結果を報告した。しかしながら、多数の確定例におけるヒト孤発性プリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析は報告されていない。

さらに、孤発性プリオン病における様々な病型ごとの検討、検査時期による検出率の比較検討など多くの検討課題が残されている。また、確定例の孤発性プリオン病における検出感度についても、いまだ明らかにされていない。

今回我々は、確定例において新たに新規症例を加え 109 症例について髄液を解析した。14-3-3 蛋白、総タウ蛋白、RT-QUIC 法の感度は、それぞれ 88.9%、85.3%、78.9%であった。また、RT-QUIC で、偽陽性を示した非プリオン病 3 例（国内 2 例、韓国 1 例）を経験した。

A. 研究目的

我々は新規異常プリオン蛋白検出法 RT-QUIC 法を確立し、ヒトプリオン病の髄液診断への応用を行ってきた。CJD 確定例（合計 34 例）では、髄液中の 14-3-3 蛋白およびタウ蛋白と RT-QUIC の併用にて高い精度での診断が可能であったが、多くの検討課題が残されている。多くの検討課題を明らかにし、髄液検査を確立することが本研究の課題である。

B. 研究方法

2006年-2013年の7年間で日本におけるサーベイランス委員会に登録された症例中、確定例で髄液サンプルがあった症例は 45 症例、一方海外からの検査依頼はドイツ 8 症例、オーストラリア 16 例、韓国 4 例、スペイン 36 症例であった。これら 109 症例について、髄液中のバイオマーカー（14-3-3 蛋白、総タウ蛋白）、RT-QUIC 法による解析を行った。さらに孤発性プリオン病における、様々な病型ごとの検討による解析を行った。

（倫理面への配慮）

研究環境・生命倫理・安全対策に関わる全般を所掌する部門があり、人に関わる研究・動物実験を伴う研究・遺伝子組換え実験を伴う研究のすべてが、機関長への申請の手続きを必要とする。機関長から付託された全学的メンバーで構成される各種実験審査委員会（倫理審査委員会、動物実験委員会、組換え DNA 実験委員会）において研究内容が審査され、研究環境・生命倫理・安全対策に問題がなく法律規則を順守していることが確認されたのちに、機関長から許可される体制が取られている。研究開始後は、人に関わる研究では毎年、動物実験を伴う研究及び遺伝子組換え実験を伴う研究では各機関が定める時期毎に、研究状況を機関長に報告することになっている。

検査および実験については、医学部共同生物災害防止実験施設内の BSL2、BSL3 実験室を利用し、病原体の拡散防止には万全を期している。

C. 研究結果

1. definite cases は 109 症例に達した。
2. 14-3-3 蛋白、総タウ蛋白、RT-QUIC 法の感

度はそれぞれ 88.9%、85.3%、78.9%であった(表 1)。

3. MM2-視床型では、バイオマーカーと RT-QUIC 法いずれも陰性であり、髄液診断は困難であると考えられた(表 2)。

4. 2 種類のバイオマーカー・RT-QUIC 法ともに陽性であったのは 72.5%、一方いずれも陰性だったのは 6.4%であった(表 3)。

5. 脳血管障害・橋本脳症を基礎疾患とした症候性けいれん 4 症例が、偽陽性を示した(表 4)。

D. 考察

ヒト孤発性プリオン病に診断において、髄液中のバイオマーカーと異常プリオン蛋白試験管内増幅法(RT-QUIC 法)の測定は、診断上極めて有用である。しかしながら、高齢者の症候性けいれんでは髄液検査のみで判断しないように、注意を喚起しなければいけない。

E. 結論

髄液中のバイオマーカーと異常プリオン蛋白試験管内増幅法(RT-QUIC 法)は診断において有用であることがわかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakagaki T, Satoh K, Ishibashi D, Fuse T, Sano K, Kamatari YO, Kuwata K, Shigematsu K, Iwamaru Y, Takenouchi T, Kitani H, Nishida N, Atarashi R. FK506 reduces abnormal prion protein through the activation of autolysosomal degradation and prolongs survival in prion-infected mice. *Autophagy* 9:1386-1394, 2013.

2) 佐藤克也, 新竜一郎, 西田教行. 髄液14-3-3 蛋白とタウ蛋白増加の鑑別診断. *Clin Neurosci* 31:850-851, 2013.

3) 佐藤克也, 新竜一郎, 西田教行. プリオン病の髄液診断の可能性. *最新医学* 68:1950-1957, 2013.

4) 佐藤克也, 新竜一郎, 西田教行. 髄液検査のポイントと鑑別診断青木 滋. *Clin Neurosci* 31:1080-1082, 2013.

5) 西田教行, 佐藤克也. 急速進行性認知症の鑑別診断. *長崎市医師会報* 47:17-20, 2013.

6) 佐藤克也, 西田教行. ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 24:792-797, 2013.

7) 六倉和生, 佐藤克也, 西田教行. 致死性家族性不眠症. *日本臨床別冊新領域別症候群シリーズ* 24:798-801, 2013.

2. 学会発表

1) Nishida N. Application of the vitro prion amplification method RT-QUIC to the early diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Association of Aging Research, Seoul, November 8-9, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 14-3-3 蛋白, t-tau 蛋白, RT-QUIC 法の感度・特異度

	14-3-3 蛋白	t-tau 蛋白	RT-QUIC 法
感 度	88.9%	85.3%	78.9%
特異度	80.9%	86.2%	98.7%

表 2. タイプ別のバイオマーカーと RT-QUIC 法による感度の検討

	症例数	14-3-3 蛋白	t-tau 蛋白 (>1,300 pg/ml)	RT-QUIC 法
MM1	57	85.10%	85.10%	75.90%
MV1	2	100%	100%	100%
VV1	2	50%	0%	0%
MM2-cortical form	27	88.90%	88.90%	85.20%
MM2-thalamic form	2	0%	0%	0%
MV2	8	100%	87.50%	75%
VV2	11	100%	100%	100%

表 3. プリオン病患者における髄液検査のバイオマーカーの検討結果 (確実例: 109 症例)

14-3-3 蛋白	t-tau	RT-QUIC 法	総数	%
+	+	+	79	72.5
+	-	+	4	3.7
-	+	+	0	0.0
+	+	-	12	11.0
-	+	-	2	1.8
+	-	-	2	1.8
-	-	+	3	2.8
-	-	-	7	6.4

表 4. 偽陽性を示した症例

性別	発症年齢	蛋白量 (mg/dl)	14-3-3 蛋白	t-tau 蛋白 (pg/ml)	diagnosis
男性	41	60	-	<40	neurosyphilis
男性	67	34	-	700	epilepsy due to CVA
男性	72	53	+	2,872	epilepsy due to CVA
女性	83	42	+	1,594	epilepsy du to Hashimoto encephalopathy

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

Cell-PMCA 法を用いたヒトプリオンの *in vitro* 増幅

研究分担者：竹内敦子 東北大学大学院医学系研究科病態神経分野

研究協力者：北本哲之 東北大学大学院医学系研究科病態神経分野

研究要旨 ヒトプリオンを Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA) 法により効率よく増幅することのできる基質遺伝子を検索する。

A. 研究目的

プリオン病は現時点で有効な治療法のない感染性の致死性神経疾患である。CJD の二次感染を今後確実に防止するためには、輸血用血液や医薬品原料のスクリーニングが必須であり、一刻も早くヒトプリオンを高感度検出する技術を確立しなければならない。異常プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) の *in vitro* 増幅系である PMCA 法は、ハムスタースクレイピー263K 株における PrP^{Sc} の高効率な増幅法として広く知られているものの、ヒトプリオンの PMCA 法による高効率な増幅の達成は現時点では限定的である。

理由の一つとして、ヒトプリオンのタイプによって増幅効率が大きく異なることが考えられる。日本人に最も多いタイプである 孤発性 CJD-MM1 (sCJD-MM1) プリオンの増幅は非常に困難である。一方同じ sCJD でも MV2, VV2, 医原性 CJD プラクタイプ (p-dCJD) はリコンビナント PrP^C を基質に用いる PMCA 法 (Cell-PMCA 法) により効率よく増幅される。変異型 CJD (vCJD) プリオンについては、Cell-PMCA 法により超高感度での検出が可能となった(1)。

また、これら CJD プリオンの *in vitro* 増幅に関しては、ヒト型マウスを用いた感染実験で得られる結果と同様に、基質に用いる PrP^C の遺伝子型が大きく影響する。そこで本実験では、ヒトプリオンの増幅効率を向上させるような変異を導入して Cell-PMCA 法を行い、CJD のタイプ毎に比較を行った。

B. 研究方法

ヒトプリオンの増幅に用いる基質として、

293F 細胞 (ヒト胎児腎臓細胞由来) にコドン 129 が M または V のヒト PrP^C (Hu129M または Hu129V) を一過性に発現させた細胞破砕液を基質として用いたほか、ヒト型にハムスター型の変異を導入した遺伝子型の PrP^C を作製し、PMCA の基質として用いた。各タイプの CJD プリオン (sCJD: MM1, MV2, VV2, vCJD, p-dCJD) から Cell-PMCA 法によって PrP^{Sc} を増幅させ、Proteinase K 処理 (50μg/ml, 37 °C, 60 min) の後、ウエスタンブロット法により PrPres を検出した。

(倫理面への配慮)

ヒト材料を用いた研究に関しては、東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会の規定に従い研究を行った。

C. 研究結果

MM1 は PMCA 法によるプリオン増幅が困難なタイプであり、ヒト型マウス脳や 293F 細胞を基質に用いた系でも高効率なプリオン増幅には成功していない。今回導入した遺伝子変異は MM1 タイプには増幅効率に大きな影響を及ぼさず、より詳細な PMCA 条件の検討が必須となった(表 1)。Hu129M を基質に用いた時と比較して Hu129V の基質を用いた場合に非常に高効率に PrP^{Sc} が増幅される MV2, VV2, p-dCJD に関しても、Hu129V の基質を用いた場合よりも高い増幅効率を示す変異は今回の検索では見つからなかったが、p-dCJD においては、Hu129M であっても C 末端側の E219Q、M232R の変異導入により増幅効率が顕著に増大した(図 1)。また、E219Q、M232R の変異導入は vCJD の増幅効率をも向上させることがわかった(図