

間葉系幹細胞のプリオン病細胞治療への応用の可能性と、PK処理を用いないPrP^{Sc}スクリーニング系の開発

研究分担者：北海道大学大学院獣医学研究科 堀内基広
研究協力者： 同 長谷部理絵

1. マウス間葉系幹細胞(MSC)を移植したChandler感染マウスの生存期間

方法：Chandler株接種後120日に、マウスMSCを脳内に移植した。

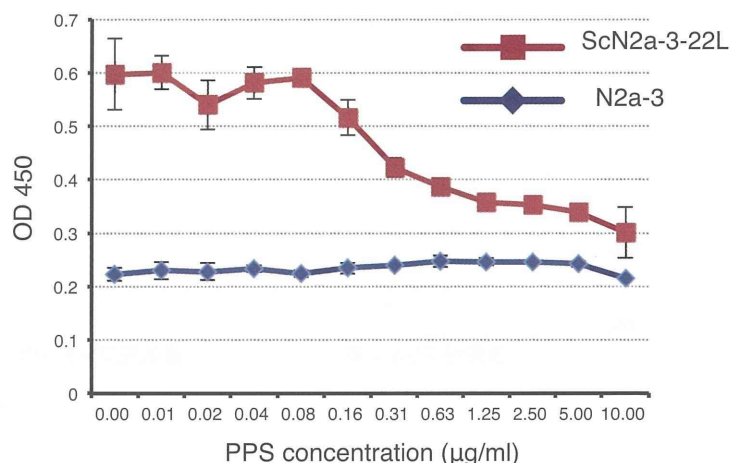
移植したMSC	n	生存期間(日)
脂肪組織由来MSC	4	154.3 ± 6.4
骨髄由来MSC	9	161.8 ± 9.9*
陰性対象	8	152.3 ± 6.2

*p < 0.05 (Log Rank)

2. PK処理を用いないPrP^{Sc}検出用Cell ELISAの確立

PrP^{Sc}検出用Cell ELISA

1. 96wellにプリオン感染細胞を播種
2. 薬剤処理(72時間培養)
3. 培養液除去
4. ホルマリン固定
5. GdnSCN処理
6. ブロッキング
7. 一次抗体(mAb132)
8. 二次抗体(HRP標識抗マウスIgG)
9. 発色
10. 吸光度測定



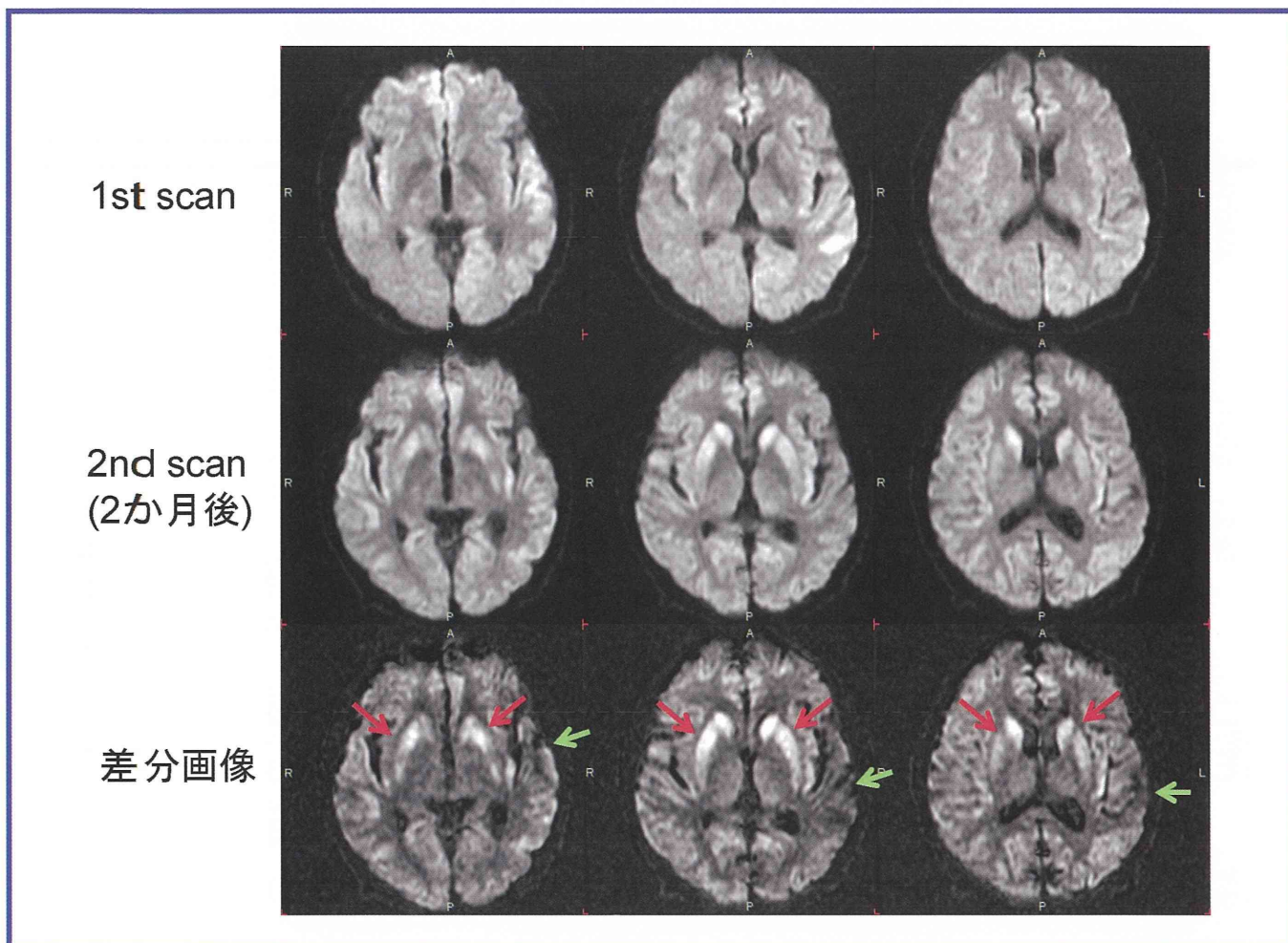
プリオン感染細胞(ScN2a-3-22L)および非感染細胞(N2a-3)を硫酸ペントサン(PPS)で72時間処理後にCell ELISAによりPrP^{Sc}を検出した。

解説

1. マウス骨髄由来MSCを脳内に移植した場合、プリオンChandler株感染マウスの生存期間は有意に延長した。
2. mAb132を用いてPK処理を用いないでプリオン感染細胞からPrP^{Sc}を特異的に検出可能なPrP^{Sc}検出用Cell ELISAを確立した。

プリオン病早期病変の経時的変化の自動解析法

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



解説

1. 画像統計解析法を用いて、MRI拡散強調画像におけるCreutzfeldt-Jakob病の早期病変の経時的変化の自動解析法を開発しました。
2. 差分画像において、1回目に対し2回目の検査で新たに出現した病変は高信号(赤矢印)、消褪した病変は低信号(緑矢印)で表されています。
3. 本法は、将来の早期治療介入の薬効評価指標として有望と考えられます。

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

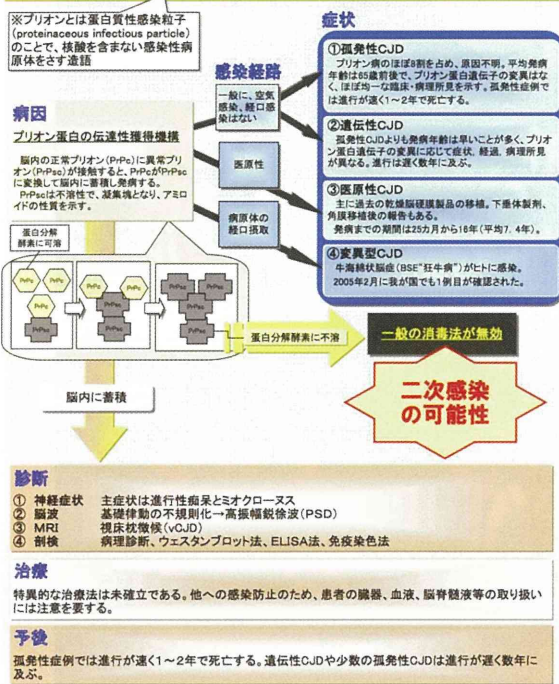
説明書類の整備

CJDについて

クロイツフェルト・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、脳組織の海绵(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。
- 現在では成因から、プリオン(※)病、また病理から伝達性海绵状脳症(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。牛海绵状脳症(bovine spongiform encephalopathy)がBSE。

※プリオンとは蛋白質感染粒子 (proteinaceous infectious particle) のことで、核酸を含まない感染性病原体をさす造語



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 (H23新規)	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

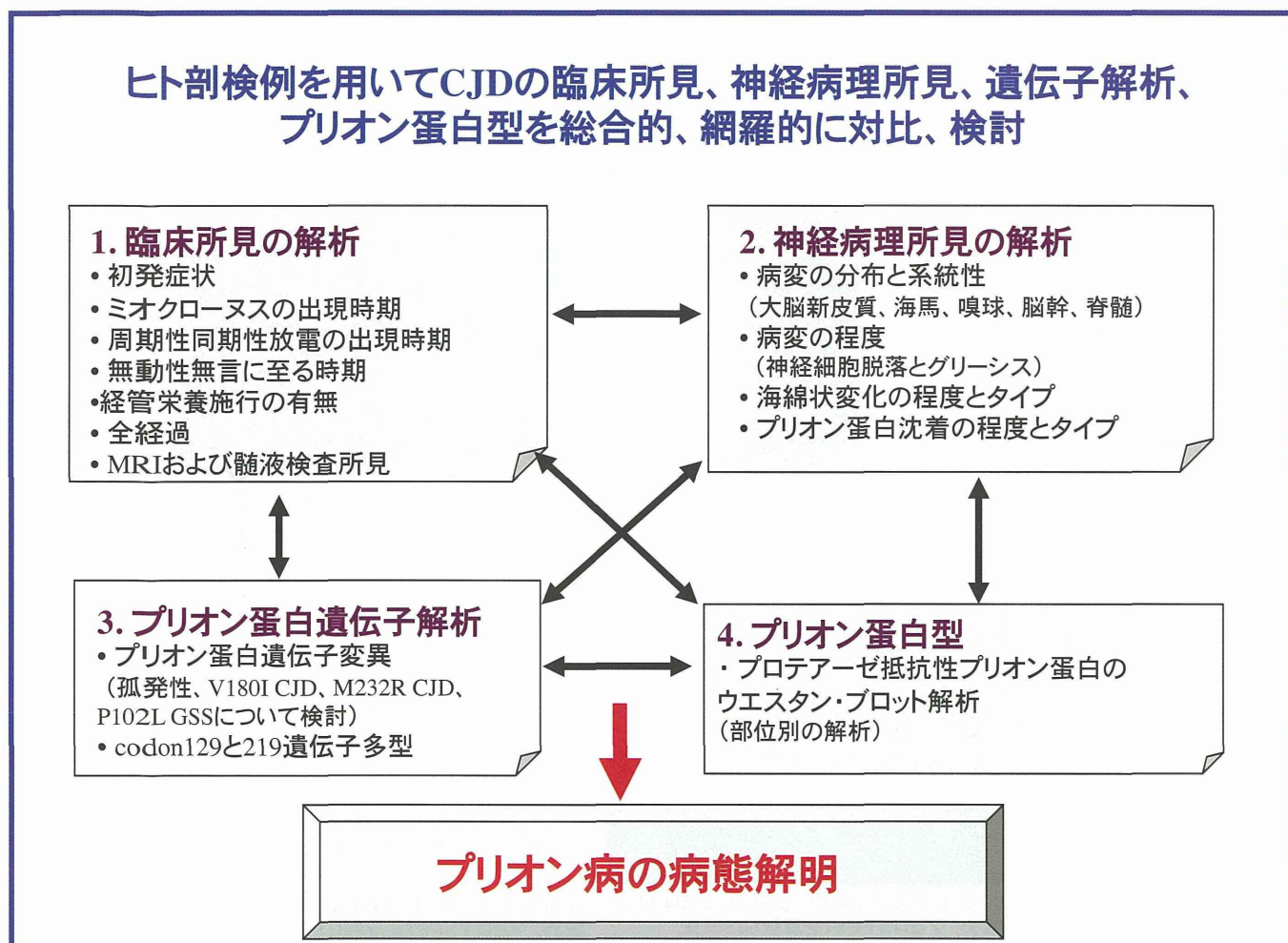
解説

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. 過去の事案や新規インシデント可能性事案の現地調査を行った。平成23年度に1件、平成24年度に3件の新規インシデント事例があった。
3. 平成24年末までに、13件のインシデント事案があるが、これまでのところ二次感染発症者はいない。

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

ヒト剖検例を用いてCJDの臨床所見、神経病理所見、遺伝子解析、プリオン蛋白型を総合的、網羅的に対比、検討



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

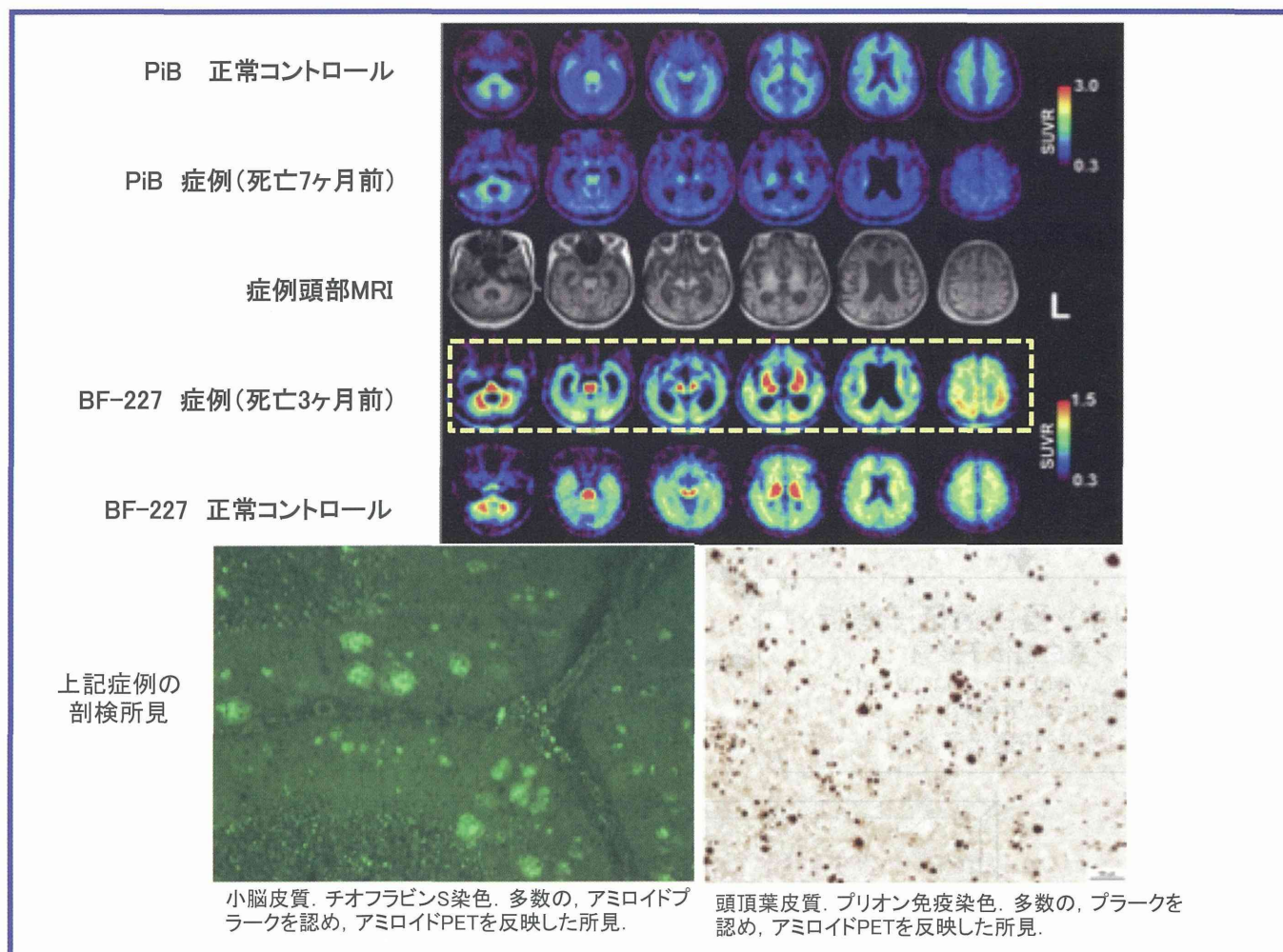
CJDの神経病理学的な表現型、病変選択性と系統性について臨床症状と対比、検討している
PrP遺伝子解析、PrP型の検討も加えて網羅的に対比し、プリオン病の病態解明を行っている

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

Gerstmann-Sträussler-Scheinker病P102L-129M アミロイドPET(11C-PIB,11C-BF-227)と神経病理所見

研究分担者: 東京都健康長寿医療センター神経病理 高尾昌樹



解説

1. GSSP102L症例で, 死亡7ヶ月前と3ヶ月前にアミロイドPETを施行. BF227は小脳, 頭頂葉, 基底核で陽性だが, PiBは陰性.
2. 病理学的にBF227陽性部位では, プリオンアミロイドプラークが多数で, BF-227 は, プリオンアミロイド沈着を反映する
3. 2種類のトレーサーでアミロイドPETを施行し, 剖検できた初のケース.

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同療法を施行。治療開始からの経過は33(4~76)ヶ月で、11例中10例が死亡。周術期の問題はなく、CT上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。

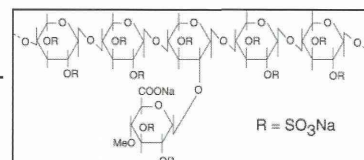


表.PPS脳室内持続投与法を施行した11例

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	79*
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34例確認した。

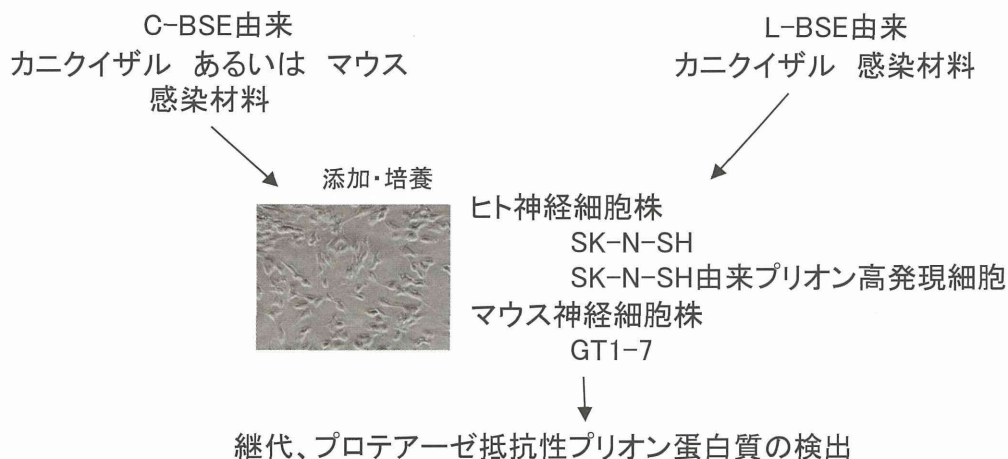
解 説

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1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。

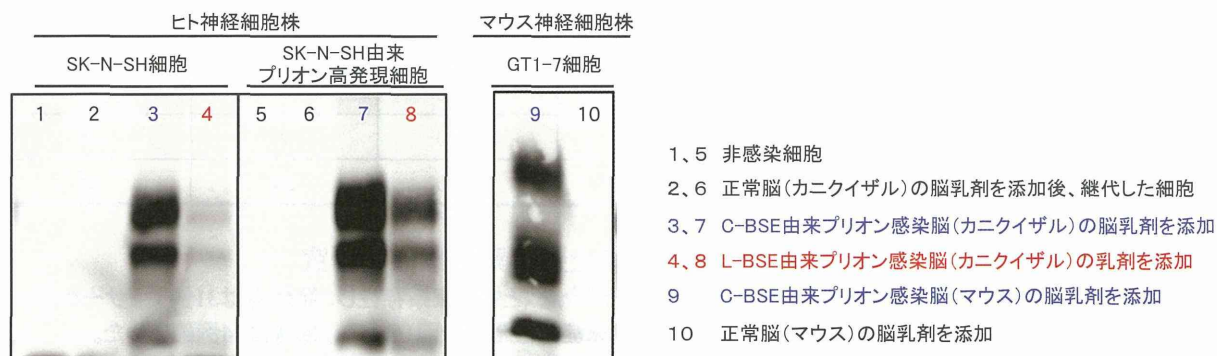
定型BSEおよび非定型BSEに関する研究 - 定型および非定型BSE解析系の樹立の試み -

研究分担者: 国立感染症研究所・細胞化学部 桶本優子(中村優子)

定型BSE(C-BSE)および非定型BSE(L-BSE)由来プリオンの神経細胞株への感染実験一方法



ヒト神経細胞株およびマウス神経細胞株におけるBSE由来プリオンの検出



解 説

1. C-BSEおよびL-BSE由来プリオンは、ヒト神経細胞株およびマウス神経細胞株への感染性を有することが明らかとなった。また、プリオン蛋白質の産生量が高い細胞を用いることで感染効率の改善がみられた。
2. C-BSE由来プリオンに感染した細胞株では持続感染性が確認され、BSE由来プリオンの解析系として有用であると期待される。

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.

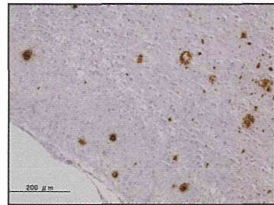
硬膜移植後Creutzfeldt-Jakob病剖検脳におけるアミロイドβ蛋白の沈着について

研究分担者：金沢大学大学院医学系研究科 脳老化・神経病態学(神経内科学) 浜口 毅

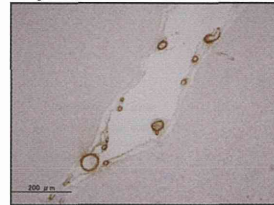
1.硬膜移植後CJD剖検脳における抗アミロイドβ抗体(4G8)による免疫染色



死亡時35歳、男性
潜伏期間21年



死亡時39歳、男性
潜伏期間20年



死亡時41歳、男性
潜伏期間25年



死亡時62歳、男性
潜伏期間26年

2.硬膜移植後CJD剖検脳における抗アミロイドβ沈着のまとめ

症例	性別	死亡時年齢	移植時年齢	CJD罹病期間(月)	潜伏期間(年)	脳実質へのAβ沈着	血管へのAβ沈着
1	女性	26	22	18	4	+	+
2	女性	56	46		9	+	+
3	女性	68	57		10	+	-
4	男性	70	58	12	12	+	+
5	女性	77	63	19	13	-	-
6	女性	68	52	32	16	-	-
7	男性	58	42	13	16	-	-
8	女性	67	51	11	16	+++	+++
9	女性	66	48	15	18	++	++
10	女性	73	53	16	19	+	+
11	男性	39	19	20	20	++	++
12	男性	35	16	17	21	-	+++
13	女性	80	57	13	23	++	++
14	男性	41	16	41	25	+	+++
15	男性	68	42	13	26	+++	+++
16	男性	62	36	7	26	+++	+++
17	女性	81	52	26	29	+++	+++

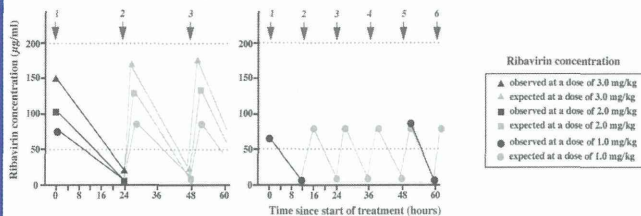
解 説

1. 17例中14例のdCJD剖検脳に何らかのAβ沈着を認めた
2. 潜伏期間が長くなると、Aβ沈着が増加する傾向にあった
3. 死亡時年齢が42歳未満の若年者4例にもAβ沈着を認めた
4. 脳実質より脳血管へのAβ沈着が目立つ症例が多かった
5. 軟膜下へのAβ沈着が目立つ症例が複数存在した

リバビリン脳室内持続投与量法における 髄液中リバビリン濃度

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. オンマヤリザーバーを用いた リバビリン脳室内単回投与療法



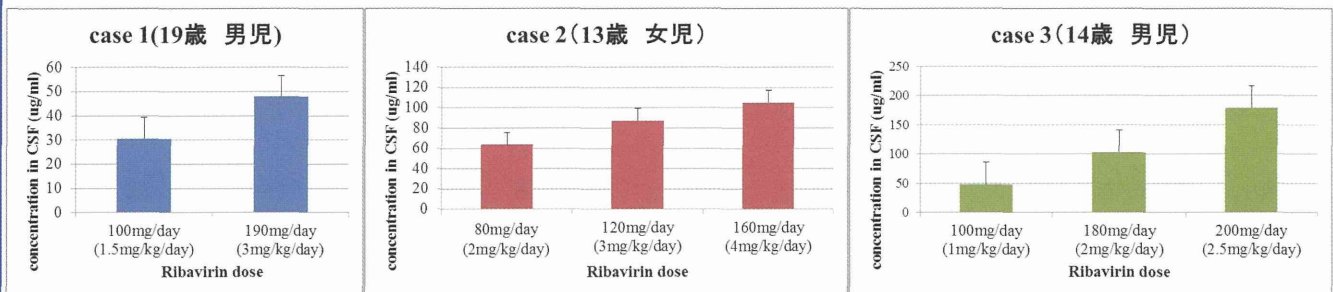
Hosoya M et al. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:4631-4635

2. 皮下埋込み型持続輸注ポンプを用いた リバビリン脳室内持続投与療法

基本治療プロトコール



3. リバビリン脳室内持続投与療法中の髄液中リバビリン濃度

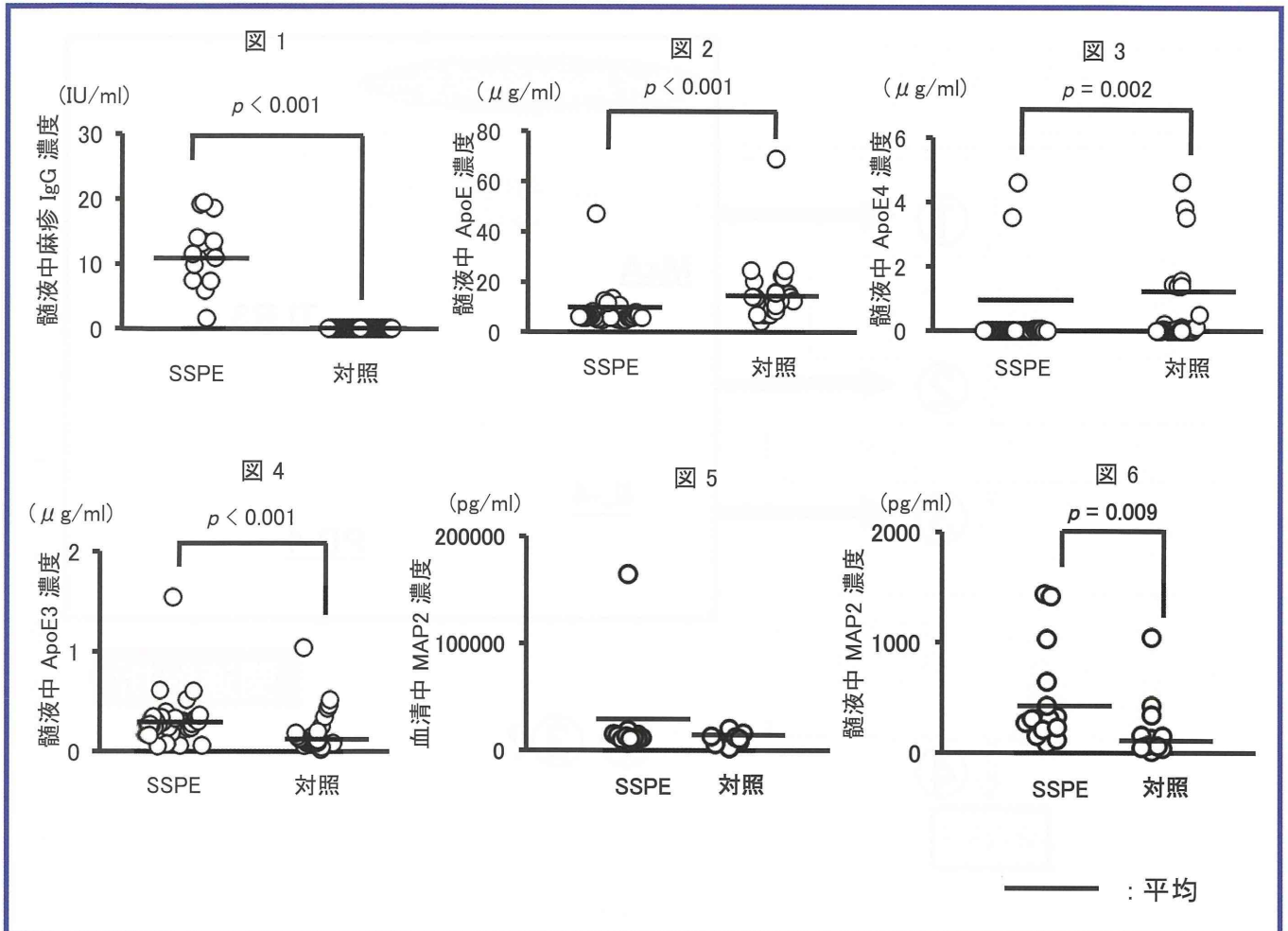


解 説

1. 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) は麻疹ウイルス変異株の持続感染による遅発性ウイルス感染である。国内外ともに有効な治療法はなく治療法の確立が切望されている。抗ウイルス効果を示すリバビリンによる治療を安全かつ効果的に実施するため投与療法の標準化が必要である。
2. 以前のオンマヤリザーバーを用いたリバビリン脳室内単回投与方法では髄液中濃度の変動が大きく、有効濃度の維持が困難であった(図1)。
3. 3症例で皮下埋込み型持続輸注ポンプを用いたリバビリン脳室内持続輸注療法を試み、治療中の髄液中リバビリン濃度を検討した(図2、図3)。
4. リバビリン投与開始から7日前後に腰椎穿刺により髄液を採取した。リバビリン投与中の髄液中濃度は投与量に応じて高まり、概ね治療域濃度の50~200 µg/mlであった(図3)。症例ごとの違いは個々の髄腔内体積や脳脊髄液の代謝の違いなどが関係していると考えられた。
5. リバビリン脳室内持続輸注療法を安全かつ効果的に実施するため、さらなる症例の集積および検討が必要である。

亜急性硬化性全脳炎の病態解明およびバイオマーカーの確立に関する研究

研究分担者：山口大学大学院医学系研究科小児科学分野 長谷川俊史
 研究協力者： 同 市山高志



解 説

1. SSPE症例では対照群に比し、髄液麻疹IgG濃度が有意に高値であった(図1)。
2. SSPE患者髄液中のApoEおよびApoE4濃度は対照群に比し低値で、ApoE3濃度は高値であり、Tau タンパク質の異常リン酸化と神経原線維濃縮体の形成を抑制することが推測され、病態への関与が示唆された(図2-4)。
3. SSPE患者髄液でのみMAP2濃度の有意な上昇を認め、ニューロンの細胞体および樹状突起の変性・脱落が示唆された。(図5, 6)。