

201324016B

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

平成 23～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 山田正仁

平成 26(2014)年 3 月

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

平成 23～25 年度 総合研究報告書

The 2011~2013 Report of the Research  
Committee of Prion Disease and Slow Virus Infection,  
Research on Rare and Intractable Diseases  
Health and Labour Sciences Research Grants,  
The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan

平成 26 (2014) 年 3 月  
March, 2014

研究代表者 山田正仁  
Chairman: Masahito Yamada, M.D., Ph.D.

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科  
脳老化・神経病態学（神経内科学）  
Department of Neurology and Neurobiology of Aging,  
Kanazawa University Graduate School of Medical Sciences

# 目 次

## 〔 I 〕 総合研究報告

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	1
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）	
資料 平成 23 年度 総括研究報告	16
平成 24 年度 総括研究報告	31
平成 25 年度 総括研究報告	49

## 〔 II 〕 研究分担者ごとの総合研究報告

1. 硬膜移植 Creutzfeldt-Jakob 病における臨床症状の進行と移植部位との 関連についての検討	65
山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）	
2. 1999-2013 年のクロイツフェルト・ヤコブ病サーベイランスの結果	72
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）	
3. 正常プリオンタンパク質依存性神経細胞死機構の解析	81
八谷如美 東京医科大学神経生理学講座	
金子清俊 東京医科大学神経生理学講座	
4. プリオン病発症およびプリオン蛋白質機能発現メカニズムの解析	85
作道章一 琉球大学医学部保健学科生体代謝学	
5. プリオン病における細胞機能障害の解析	90
坂口末廣 徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門	
6. 異常プリオン蛋白質の性状解析に関する研究	94
横山 隆 動物衛生研究所インフルエンザ・プリオン病研究センター	
7. ヒトプリオンの伝達性に関する研究	100
毛利資郎 東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野	
8. Cell-PMCA 法を用いたヒトプリオンの <i>in vitro</i> 増幅	106
竹内敦子 東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野	
9. プリオン病の治療予防に関する基礎研究	110
堂浦克美 東北大学大学院医学系研究科・神経化学分野	

10.	酵母プリオンの感染・伝播に関する研究……………	114
	鈴木元治郎 独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 大橋祐美子 独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター	
11.	プリオン立体構造変換原理の解明とその制御……………	118
	桑田一夫 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科	
12.	プリオン病診断における H-FABP 検出の有用性について……………	122
	松田治男 広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学 堀内浩幸 広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学	
13.	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……………	126
	用いたヒトプリオン病の髄液診断法の確立 西田教行 長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学分野	
14.	間葉系幹細胞のプリオン病治療への応用と抗プリオン活性を有する薬剤の……………	130
	新規ハイスループットスクリーニング系の構築 長谷部理絵 北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室 堀内基広 北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室	
15.	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……………	135
	佐々木真理 岩手医科大学医歯薬総合研究所	
16.	プリオン病の二次感染予防に関する研究……………	137
	齊藤延人 東京大学医学部附属病院	
17.	Creutzfeldt-Jakob 病の臨床病理学的検討……………	139
	岩崎 靖 愛知医科大学加齢医科学研究所	
18.	ヒトプリオン病の画像と病理学的検討プリオン病の剖検数増加を目指して……………	149
	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	
19.	プリオン病の新規治療薬に関する臨床研究……………	154
	坪井義夫 福岡大学医学部神経内科学	
20.	定型および非定型 BSE に関する解析……………	158
	一定型および非定型 BSE 解析系の樹立の試み— 桶本 (中村) 優子 国立感染症研究所細胞化学部	
21.	硬膜移植による脳へのアミロイド $\beta$ 沈着促進についての検討……………	162
	坂井健二 金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科学) 浜口 毅 金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科学)	

22.	亜急性硬化性全脳炎の発症機序の解明と治療法の開発	167
	細矢光亮 福島県立医科大学医学部小児科学講座	
23.	亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の診断における麻疹ウイルス抗体価	171
	国際単位表示法の普及・啓発および病態解明	
	市山高志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野	
	長谷川俊史 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野	
24.	SSPEにおける疾患感受性候補遺伝子の検討	175
	楠原浩一 産業医科大学小児科	
25.	麻疹ウイルス変異株による亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の発症機序の解明と	180
	SSPE 治療に向けてのウイルス抑制戦略の確立	
	堀田 博 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野	
26.	麻疹ウイルスの膜融合能と神経病原性	185
	柳 雄介 九州大学大学院医学研究院ウイルス学	
27.	亜急性硬化性全脳炎に対するリバビリン治療に関する研究	187
	野村恵子 熊本大学医学部附属病院発達小児科	
28.	亜急性硬化性全脳炎の全国サーベイランス調査（サーベイランス 2012）	190
	岡 明 東京大学医学部小児科	
	愛波秀男 静岡県立こども病院	
	鈴木保宏 大阪府立母子保健総合医療センター	
	吉永治美 岡山大学大学院発達神経病態学	
29.	亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の発生状況	199
	—特定疾患治療研究事業データの解析—	
	砂川富正 国立感染症研究所感染症疫学センター	
	多田有希 国立感染症研究所感染症疫学センター	
30.	進行性多巣性白質脳症の発症機序の解明	204
	澤 洋文 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	
31.	日本における進行性多巣性白質脳症の実験室サーベイランス	210
	およびその臨床的・疫学的特徴	
	西條政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部	

32.	髄液 JCV-PCR 検査依頼時の調査用紙に基づいた本邦発症進行性多巣性 白質脳症患者のサーベイランス結果とその問題点 三浦義治 がん・感染症センター都立駒込病院脳神経内科 岸田修二 がん・感染症センター都立駒込病院脳神経内科	215
33.	進行性多巣性白質脳症：脳生検における正確な病理診断を目指して 宍戸-原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室	219
34.	JC ウイルスタンパク質とメチル化 CpG 結合タンパク質 MeCP2 の相関および 乏突起膠腫細胞株における JC ウイルス感染許容細胞の検索 長嶋和郎 北海道大学大学院医学研究科腫瘍病理学分野	222
35.	進行性多巣性白質脳症（PML）診療、1 年間の進歩 （平成 23-25 年度総合報告） 雪竹基弘 佐賀大学医学部附属病院神経内科	228
36.	HIV-PML における JCV 複製促進機構の解明と抗 JCV 薬の探索 奴久妻聡一 神戸市環境保健研究所 感染症部	236
[III]	PML 診療ガイドライン 2013	241
[IV]	プリオン病診療ガイドライン 2014	267
[V]	研究成果の刊行に関する一覧表	315
[VI]	研究班名簿	343

## [ I ] 総合研究報告

## 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

研究代表者 山田正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系 脳老化・神経病態学（神経内科学）教授

**研究要旨** プリオン病、亜急性硬化性全脳炎(SSPE)、進行性多巣性白質脳症(PML)について、感染及び発症メカニズム、疫学、臨床病態を解明し、早期診断法、治療法、感染及び発症予防法を開発、確立することを目的に調査研究を実施し以下の成果を得た：

**I. プリオン病**：本邦患者 2162 人の臨床データの解析、画像データ、CSF 検体、剖検脳の集積、二次感染リスク例の解析を行った。これらのデータや検体を用いた臨床病態解明研究、CSF マーカー(RT-QuIC ほか)や MRI による早期診断法開発研究、各種モデルを用いた正常型プリオン蛋白(PrP<sup>C</sup>)機能、PrP 異常化機構、神経変性機序解明などの分子病態解明研究、治療法開発のための基礎研究及び臨床試験、プリオン不活化法開発等に成果を得た。『プリオン病診療ガイドライン 2014』を発刊した。

**II. SSPE**：本邦患者 88 名を全国調査し臨床像を解明した。トルコ共和国との共同研究等を行い多数例の臨床検体を集積、解析した。リバビリン脳室内持続投与療法の臨床試験が進行し、病状の進行が緩徐となった。SSPE ウイルスの神経病原性を解明し、治療法開発研究が進展した。

**III. PML**：本邦患者 51 名を診断・調査し、わが国における本症の背景疾患、臨床的特徴等に関する最新情報を得た。メフロキン臨床試験が進行した。JCV 増殖機構及び増殖抑制機構の研究で重要な知見を得た。『PML 診療ガイドライン 2013』を発刊した。

これらの 3 疾患に関する研究成果は *Science* 誌ほかに掲載され国際的に高い評価を得た。

### 研究分担者

水澤英洋	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学（神経内科学）教授	堂浦克美	東北大学大学院医学系研究科神経化学分野 教授
金子清俊	東京医科大学神経生理学講座主任教授	大橋祐美子	独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 研究員
八谷如美	東京医科大学神経生理学講座教授	鈴木元治郎	独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 研究員
作道章一	琉球大学医学部保健学科生体代謝学准教授	桑田一夫	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科医療情報学専攻 教授
坂口末廣	徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門 教授	松田治男	広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学 教授
横山 隆	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所インフルエンザ・プリオン病研究センターセンター長	堀内浩幸	広島大学大学院生物圏科学研究科免疫生物学 教授
毛利資郎	東北大学大学院医学系研究科病態神経学講座 客員教授	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分野 教授
竹内敦子	東北大学大学院医学系研究科病態神経学講座 助教	長谷部理絵	北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室 講師
		堀内基広	北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室 教授
		佐々木真理	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 教授	野村恵子	熊本大学医学部附属病院発達小児科 助教
齊藤延人	東京大学医学部附属病院脳神経外科 教授	岡 明	東京大学大学院医学系研究科小児科学 教授
岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所 講師	吉永治美	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 発達神経病態学 准教授
高尾昌樹	東京都健康長寿医療センター研究所 研究部長	愛波秀男	静岡県立こども病院地域医療連携室 兼 神経科 室長 兼 医長
坪井義夫	福岡大学医学部神経内科学教室 教授	鈴木保宏	大阪府立母子保健総合医療センター 小児神経科 主任部長
桶本優子	国立感染症研究所細胞化学部 主任研究官	多田有希	国立感染症研究所感染症情報センター 室長
坂井健二	金沢大学附属病院神経内科 助教	砂川富正	国立感染症研究所感染症疫学センター 室長
濱口 毅	金沢大学附属病院神経内科 助教	澤 洋文	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 教授
細矢光亮	福島県立医科大学医学部小児科学講 座 教授	西條政幸	国立感染症研究所ウイルス第一部 部長
市山高志	山口大学大学院医学系研究科小児科 学分野 教授	岸田修二	東京都立駒込病院脳神経内科 部長
長谷川俊史	山口大学大学院医学系研究科小児科 学分野 准教授	三浦義治	東京都立駒込病院脳神経内科 医長
楠原浩一	産業医科大学医学部小児科学講座 教授	穴戸-原 由紀子	杏林大学医学部病理学教室 講師
堀田 博	神戸大学大学院医学研究科微生物学 分野 教授	長嶋和郎	北海道大学大学院医学研究科腫瘍病 理学分野 名誉教授
柳 雄介	九州大学大学院医学研究院ウイルス学 教授	雪竹基弘	佐賀大学医学部内科（神経内科） 講師
		奴久妻聡一	神戸市環境保健研究所感染症部 副部長

## A. 研究目的

プリオン病、亜急性硬化性全脳炎 (SSPE)、進行性多巣性白質脳症 (PML) について、感染及び発症メカニズム、疫学・実態を解明し、早期診断法、治療法、感染及び発症予防法を開発、確立することを目的とする。

対象の3疾患は共に進行性で致死的な感染症で治療法が確立していない。本研究により、感染や発症機序の解明を進展させ、早期診断法、治療法や発症・感染予防法を確立する。

プリオン病は人獣共通感染症であり、牛海綿状脳症からの感染である変異型 Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) や医原性の硬膜移植後 CJD (dCJD) 等が社会的問題になっている。有効な治療法や感染・発症予防法はなく、平均 18 ヶ月で死亡する。わが国では、2005 年に初めて

変異型 CJD (vCJD) が同定され (Yamada *et al. Lancet* 2006)、また、dCJD の症例数が全世界の約 2/3 を占め現在も発症が続いている (Nozaki, Yamada *et al. Brain* 2010)。1980 年代に硬膜移植を受けリスクが高い約 20 万人にも及ぶ患者が潜在する。本研究により感染及び発症メカニズムを解明し、発症前及び早期診断法、治療法、感染・発症予防法を確立する。

SSPE については、わが国は先進国中で唯一の麻疹流行国であり SSPE の発症が持続している。欧米では SSPE 発症がほとんどないため、治療研究は行われていない。SSPE の発症動態を解明し麻疹感染・流行が本症発症に与える影響を明らかにすることはわが国の麻疹予防接種施策に貢献する。また、神経細胞における麻疹ウイルス (MV) の持続感染機序は未だ不明で

ある。分子病態解明に基づく新たな治療法の開発、リバビリン脳室内持続投与療法等の治療法の臨床試験等を行う。

PML は HIV 感染者の漸増、血液疾患、自己免疫疾患、それらに対する免疫治療薬、特に生物学的製剤の使用に伴い増加している。PML の発症動向を把握し、原因となる JC ウイルス (JCV) の脳への感染・増殖機構を解明し、早期診断法、最適な治療を確立する。

## B. 研究方法

疾患それぞれに設置した分科会により、サーベイランス及び臨床研究を推進し世界最高水準のデータベースを構築し、基礎研究に活用、感染・発症機序解明や診断・治療法開発を行う。各分科会の計画は以下の通りである。

### I. プリオン病：

#### 1) プリオン病の調査、予防対策

「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究」指定班(水澤)と連携し、サーベイランス委員会、インシデント委員会により、発症動向調査、2次感染予防活動を行うと共に、サーベイランスデータ、検体を病態解明、診断法開発等に活用する(山田、浜口、水澤、齊藤)。

#### 2) 正常型 PrP 機能、PrP 異常化機構、神経変性機序の研究

正常型プリオン蛋白 (PrP<sup>C</sup>) の細胞内動態と PrP<sup>C</sup> が関与する細胞死機構(八谷)、感染後の酸化ストレス関連蛋白の変化と PrP<sup>C</sup> の機能解析(作道)、NMR による PrP 鋳型依存性複製過程の原子分解能による解析(桑田)、酵母プリオン蛋白質の Sup35 の変異株を用いたアミロイド構造変換メカニズムと細胞間伝播過程の解明(大橋/鈴木)、PrP 遺伝子変異導入神経細胞、持続感染細胞、マウス感染脳におけるオートファジー及び細胞膜蛋白質の輸送の病態解析(坂口)、ヒト PrP 遺伝子多型対応ノックインマウスを用いたヒトプリオン性状解析(毛利)、動物プリオン由来の感染型プリオン蛋白 (PrP<sup>Sc</sup>) フラグメント型別法と生化学的性状の解明及びプリオンの生物学的性状との比較解析(横山)、非定型 BSE (L-BSE) プリオン(カニクイザル脳乳剤)を用いたヒト神経細胞株への感染実験等(桶本)を行う。

#### 3) ヒトプリオン病の病態解明と早期診断法の

#### 開発

脳脊髄液 (CSF) 検体を用いた異常 PrP 試験管内増幅法 (real-time (RT)-QuIC 法) 確立と診断有用性の検証(西田)、ヒトプリオン型別を検出可能な protein misfolding cyclic amplification (PMCA) 法の確立(竹内)、CSF の H-FABP 検査系の確立と診断的有用性解明(堀内浩幸)、早期診断のための MRI 診断能多施設研究(合同画像委員会)および MRI 変化の自動解析ソフト開発(佐々木ほか)、病理学的検索の推進及び臨床・病理相関の解析(岩崎、高尾)、MRI autopsy imaging (Ai) を用いた研究(高尾)、CJD の進行度ステージング(岩崎)、わが国における硬膜移植例多発の要因解析と硬膜移植に伴う PrP<sup>Sc</sup> 以外のミスフォールド蛋白の伝播の解析(浜口、山田)等を進める。

#### 4) プリオン病治療法・プリオン不活化法の開発

抗プリオン化合物の探索と作用機序解明(堂浦)、抗プリオン物質の鋳型依存性複製過程に対する作用解明と化学構造の最適化(桑田)、骨髄由来間葉系幹細胞 (MSC) によるプリオン病治療法の開発(長谷部/堀内基広)を進める。ペントサンポリ硫酸 (PPS) 脳室内持続投与療法臨床試験の臨床経過および剖検脳の病理学的検討データを解析する(坪井)。将来の臨床試験計画を策定するためプリオン病コンソーシアムを構築する(臨床系分担研究者全員)。ヒト化マウスを用いた臨床現場におけるプリオン不活化法を開発する(毛利)。

#### 5) プリオン病診療ガイドライン作成

ガイドラインを平成 25 年度に完成し Web 上で公開及び冊子として発刊する(プリオン分科会全員)。

### II. SSPE：

#### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

全国サーベイランスを推進し本症の病態、麻疹流行や麻疹ワクチンとの関連を解明する(岡、細矢、長谷川、野村、吉永、鈴木、愛波、多田、砂川、山田)。わが国及び海外多発地の患者血清、CSF を用い、ウイルス感染・免疫病態の解明及び病態マーカーの開発を行う(市山/長谷川)。リバビリン治療の実態を調査し(野村)、皮下埋め込み型持続輸注ポンプによるリバビ

リン脳室内持続投与療法の有効性と安全性を検証する(細矢)。診療ガイドラインの改訂作業を進める(SSPE分科会全員)。

## 2) 神経細胞感染機構の解明、SSPEモデルと治療法開発

SSPE変異ウイルスによる細胞膜融合能亢進と神経病原性の解析(柳)、麻疹ウイルス感染マウス等を用いウイルス神経病原性解析と治療法開発を行う(堀田、細谷)。ウイルスの宿主への侵入に関与する宿主遺伝要因(疾患感受性遺伝子)を解析する(楠原)。薬用植物等から抗ウイルス作用を有する物質をスクリーニングする(堀田)。

### III. PML :

#### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

CSF中のJCVゲノム検査を通じてサーベイランスを推進、本邦のPMLの疫学・臨床病態を解明し、メフロキン治療の有用性を検討する(臨床試験)(西條、三浦、雪竹、山田)。PML診療ガイドラインを作成する(PML分科会全員)。

#### 2) 感染及び発症機構解明と治療法開発

JCV感染過程におけるウイルス増殖機構の解析(澤、長嶋)、TatタンパクのJCV増殖促進効果とPARP-1阻害薬のウイルス増殖抑制効果の検討(奴久妻)、PML脳のJCV感染細胞の超顕像顕微鏡による解析を行う(原)。

#### (倫理面への配慮)

本研究は臨床研究、疫学研究、ヒトゲノム・遺伝子解析研究等を含み感染性疾患を扱うため、当該倫理指針を遵守し、所属施設の倫理審査委員会の承認の上、患者(家族)からインフォームド・コンセントを得て個人情報の守秘に十分留意して実施する。実験動物を使用する研究については、動物実験等の実施に関する基本指針及び所属施設の定める倫理規定に従い承認を得た後、動物愛護に十分留意して実施する。

### C. 研究結果

#### I. プリオン病 :

##### 1) プリオン病の調査、予防対策

2013年9月までに全4281件を調査し、本邦患者の約90%に達すると思われる2162人(男:922人、女:1240人)をプリオン病と認定し詳細

な検討を行った。登録患者の内訳は孤発性CJD:1656人、遺伝性CJD(genetic CJD):325人、dCJD:83人、変異型CJD(vCJD):1人、GSS:85人、FFI:4人であった。平成24年度に新たに2例のdCJDの発症があった。これらの患者の臨床データ、画像データ、CSF検体、剖検脳等を集積した。

プリオン病患者の脳外科手術によるインシデント事例に関しては、平成23年度に1件、平成24年度に3件、平成25年度に1件の新規事例があり、各施設の調査とフォローアップの依頼を行った。平成25年11月までに合計13件のインシデント事案があるが、これまでに二次感染発症者はいない

剖検により初めてプリオン病が判明した2例を報告した。わが国のdCJDを海外例と比較し、硬膜移植を伴う脳外科手術の原因となった背景疾患に違いがあり、わが国において生命予後良好な疾患が有意に多かった。

#### 2) 正常型PrP機能、PrP異常化機構、神経変性機序の解明 :

PrP<sup>C</sup>依存性神経細胞死はミトコンドリア(Mt)を介し、14-3-3蛋白質 $\eta/\zeta$ がPrP(132-135)に結合し複合体となってPrP<sup>C</sup>をMtへ異常標的化させること、Mt外膜蛋白質Tom70はPrP<sup>C</sup>/14-3-3複合体の受容体であること、PrP<sup>C</sup>が局在したMt(Mt/PrP)は微小管依存性に核近傍に凝集すること、凝集Mt/PrPの形成にはキネシン関連分子Miro1が関与することを示した。

プリオンが感染すると、オートファジーが活性化されること、プリオン蛋白質が過剰になるとlow density lipoprotein receptor-related protein 11と結合し、Fynの活性化を介してオートファジーを活性化させること、プリオンが感染すると、プリオンはエンドソーム内に、特にリサイクリング・エンドソーム内に蓄積し、細胞膜蛋白質の細胞膜輸送を障害すること、この障害は、感染早期から起こることを見出した(図1)。

プリオン感染早期からの酸化ストレス蛋白質が増加し酸化的損傷が生じていること、PrP非発現細胞は酸化ストレスに対する抵抗性が低く細胞周期関連遺伝子発現の変化が起きていることを示した。

スクレイパー株のエンドプロテイナーゼ、サ

ーモライシン処理により、スクレイパーPrP<sup>Sc</sup>の新たな型別、それによる分類の可能性を示した。

伝達性海綿状脳症に広い感受性を有することが知られているハタネズミ (Bank vole: *Myodes glareolus*) の遺伝子導入マウス (KiBV、TgBV) を作製した。過剰発現系 TgBV で自発性にプリオン病様症状を呈したが、pK 抵抗性のプリオンたんぱく質 (PrP<sup>Res</sup>) は検出できず、野生型マウスならびに KiBV マウスへの伝達も成立しなかった。しかし、CJD には広い感受性を示し、孤発性 CJD-MM1、CJD-MM2、vCJD も伝達可能であった。

酵母プリオンの Sup35 タンパク質の野生型と S17R 変異株でみられるアミロイド構造多形形成のメカニズムをモノマーでのアミノ酸残基レベルの詳細な核磁気共鳴解析により解明した。また、酵母野生株に比べて、mlp1mlp2 二重変異株においては、プリオンタンパク質などのタンパク質の凝集体の細胞内での運動性が高くなっており、それらの凝集体が母細胞に保持されにくくなり、細胞間の伝播が起こりやすくなっていることがわかった。

ヒトニューロブラストーマ細胞 SK-N-SH 細胞をベースに、C-/L-BSE プリオンともに感染が確認された。また、C-BSE 由来では、マウスへ継代させたプリオンに関しても同様の感染実験を行い、マウス神経細胞株 GT1-7 において持続感染が成立していることが確認された。

### 3) ヒトプリオン病の病態解明と早期診断法の開発

#### a. 臨床病態研究

死亡後早期の頭部 MRI-Ai 拡散強調画像と病理所見の解析で、皮質高信号は海綿状変性が主体であると考えられた。PrP アミロイドを検出可能な PET トレーサーについては、GSS P102L の検討で PiB 陰性、BF-227 陽性、GSSA117V で FDDNP 陽性と考えられた。

CJD 確実例における特徴的な臨床所見の出現時期や消失時期、検査所見の変化などを多数例で検討し、本邦 CJD の自然経過を明らかにするとともに、経管栄養などの対症療法による延命効果を報告した。CJD の中枢病変を多数例で検討し、病変分布には系統性があること、病変の進展には一定の段階があることを指摘した。ま

た欧米例と比較して長期経過例が多い本邦 CJD の神経病理所見を明らかにした。大脳皮質病変について進展ステージングを提唱した。

CJD サーベイランス委員会において dCJD と判定され移植部位が判明した 84 例は移植部位によりテント上群 36 例 (43%)、テント下群 39 例 (46%) に分類された。初発症状として vertigo ( $p<0.01$ )、複視 ( $p<0.05$ ) がテント下群で有意に多く認められた。経過中に認められた症状では、小脳症状がテント下群で有意に多く認められた ( $p<0.05$ )。硬膜移植例における脳病変の検討では、異常 PrP 沈着と共にアミロイド  $\beta$  蛋白 ( $A\beta$ ) の沈着も促進されている可能性が示唆された。

#### b. 診断法研究

早期診断のための MRI において、標準化された拡散強調画像 (DWI) の診断的有用性を多施設研究によって明らかにした。さらに、CJD 早期病変の継時的変化差分画像を自動生成することを可能にする解析手法を確立した。差分画像では、新たな病変の出現域は高信号として、病変の消退域は低信号として明瞭に描出することができ、各々の定量値算出も可能であった。

CSF マーカーの確立のために、平成 25 年度 9 月末までの国内 265 例、海外例としてドイツ 40 症例、オーストラリア 31 例等 (確実例、国内 22 症例、ドイツ 40 症例、オーストラリア 17 症例、韓国 4 症例を含む) の CSF を検索した。発症より 4 週以内に採取された髄液は CJD (確実例) で 9 検体あり、うち 6 例では 14-3-3、RT-QuIC ともに陽性であったが、3 例では RT-QuIC 陰性であった。今回初めて RT-QuIC 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。

H-FABP 検出のためのサンドイッチ ELISA の系を構築し CJD の CSF 検体を検査した。タウ、14-3-3 タンパク質の検出に加え H-FABP の検出を行なうことで高精度な CJD 診断が可能なおこと、H-FABP はタウと相関する傾向があることを示した。さらに、各種神経変性疾患・認知症患者の血清 H-FABP 濃度の測定を行い、Lewy 小体病で血清 H-FABP が高値であることを明らかにした。

vCJD、孤発性 CJD の MV2、VV2 タイプ、dCJD のプラークタイプ (dCJD-PL) について、PMCA 法による高効率な増幅に成功した。変異型 CJD

プリオンについてはヘパリン、レジンの添加により感染脳 10-11 希釈まで、また MV2、VV2、dCJD-PL については、基質遺伝子型が 129V である PrP<sup>C</sup>を用いることで感染脳 10<sup>-8</sup>ないし 10<sup>-9</sup>希釈までマルチラウンド検出法により検出可能となった。

#### 4) プリオン病治療法・プリオン不活化法の開発

a. 治療法開発基礎研究:メラニン等の色素性化合物は、検討したすべてのプリオン感染細胞株で濃度依存的にプリオン形成を抑えることを明らかにした。正常型プリオン蛋白と結合することでプリオン形成を抑制した。また、GM-CSF は Tg7-263K プリオン病モデルでは、感染後期からの投与でも生命予後を改善したが、Tga20-22L プリオン病モデルでは効果が認められず、GM-CSF の効果は疾患モデルに依存していた。

NMR 構造解析により抗プリオン化合物を最適化し、薬理毒性試験を行った。また、低分子化合物作用機序の分類を行った。さらに、抗プリオン活性を有する RNA 及び低分子化合物 (FK506)を見出した。

MSC による治療法開発では、マウス骨髄由来 MSC を、発病期の Chandler 株感染マウスの脳内に移植したところ、マウスの生存期間が有意に延長した。mAb44B1scFv および BDNF を発現する MSC を作出したが、発現レベルは低かった。これら MSC を Chandler 株感染マウスの脳内に移植したが、MSC 移植群と比較して、生存期間の延長は認められなかった。

#### b. 臨床試験 :

PPS 治療による臨床試験は 11 例の患者に行われ、10 例が、生存患者 1 例については臨床経過を追跡中である。病型別では、孤発性 CJD が 6 例、dCJD 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、治療前の modified Rankin Scale (mRS) は 2-5 で、現在は全例 5-6 となり症状は進行した。4 例は治療開始から 3 年以上の生存期間を示し、緩徐進行型孤発性 CJD 2 例と V180I 遺伝子変異の 2 例であった。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 PrP

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 PrP/全 PrP 比の低い症例があり、異常 PrP の定量を含め治療による影響の可能性が示唆された。

新たな臨床試験の準備のために、プリオン病コンソーシアム (JACOP) を結成し、プリオン病の自然歴調査を開始し進行した。

#### c. プリオン不活化法開発 :

孤発性 CJD プリオンの不活化処理後のヒト化マウスを用いたバイオアッセイで、熱、アルカリ、界面活性剤それぞれ単独では不活化効果が不十分であるが、組み合わせることによって、高い不活化効果が認められた。

#### 5) プリオン病診療ガイドライン作成

『プリオン病診療ガイドライン 2014』を作成した。平成 25 年 12 月に暫定版を公表、関連学会 (日本神経学会、日本神経感染症学会)から意見を、さらに広くパブリックコメントを求め、平成 26 年 3 月に完成版を冊子体として、またホームページ上に公表した (<http://prion.umin.jp/>)。

## II. SSPE

### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

平成 24 年度に全国施設にアンケート調査を行い、回答率 60%で、患者総数は 88 名であり、2007 年以降の発症は 17 名であった。二次調査では、発症年齢は 2 才 6 ヶ月から 22 歳 4 か月、発症年は 1972 年から 2008 年、調査時年齢は 13 才から 49 歳 (平均 26.9 才)であった。病期分類では IV 期 19 例、V 期 15 例と計 34 例 (85%)が進行例であった。臨床調査個人票による調査では 2001~2011 年度分として 138 例があり、麻疹罹患年齢は全例が 6 歳以下で、発病年齢の中央値は 11 歳、麻疹罹患から SSPE 発病までは平均 11.4 年 (2~26 年)、四肢運動障害や知的退行などは 90%以上、鼻腔栄養あるいは胃瘻ありは 67%で、人工呼吸器を用いている者は 20%であった。

トルコ共和国との共同研究による SSPE 検体 (血清、CSF) 収集と解析を行い、CSF 中の麻疹ウイルス抗体価高値、アポ E 低値、MAP2 高値等を報告した。CD147、PRDX1、IL-7 receptor、nectin-4/PVRL4 の遺伝子多型について SSPE 患者と健常対照を対象とした関連解析を行った

が、SSPE との関連は認められなかった。

リバビリン脳室内持続投与療法では重篤な副反応は認められず、また髄液中のリバビリン有効濃度が保持可能であった。実施症例において病状進行の停止および改善には至らなかったが、髄液中麻疹抗体価が減少し、病状の進行は緩徐となった。

診療ガイドライン改訂作業を進めた。

## 2) 神経細胞感染機構の解明、SSPE モデルと治療法開発

SSPE 患者由来麻疹ウイルス株で見られる F 遺伝子変異はしばしば F 蛋白質の膜融合能を亢進させ、細胞融合による効率よい伝播を起こすこと、膜融合能が亢進した F 蛋白質を持つ組換え麻疹ウイルスは、ハムスターに神経病原性を示すことなどを明らかにした(図 2)。

SSPE ウイルスの変異 H、F 及び M タンパク質を発現する組換え麻疹ウイルスは強いマウス神経病原性を示した。薬用植物由来の抗ウイルス物質の探索を行い、麻疹ウイルスの感染を阻害する薬用植物エキスを見出したが、SSPE ウイルスの増殖を阻害するものは今回検討した 115 種類の中には見出せなかった。

マウスを用いた研究で、SSPE ウイルスの特徴を有するウイルスを実験的に世界で初めて作製することができた。また新規ペプチドの抗 SSPE 効果が *in vitro* 及び *in vivo* で認められた。

## III. PML :

### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

平成 23~25 年度に 536 件の JCV 検査依頼を受け付け 86 検体から JCV の DNA を検出した。被験者数は 447 名、PML 患者数は 51 名 (11.4%) であった。基礎疾患の割合は、血液疾患 25%、HIV 感染症 24%、自己免疫疾患 18%、臓器移植後 10%、その他(上記以外もしくは併発)24% であった。

PML38 症例に関して臨床情報を解析した。症状では構音障害の頻度が高く、また画像上大脳萎縮を示す症例や髄液異常を示した症例が比較的多かった。基礎疾患としては悪性腫瘍や膠原病・自己免疫疾患が多く、HIV は 26.3% と少なかった。また誘発薬剤ではステロイド使用症例と抗腫瘍薬、エンドキサンやリツキサン使用症例が目立ち、生物学的製剤の関与が増えている

と考えられた。メフロキン投与治療症例は 12 例であり、一部の症例では有効であった。

『PML 診療ガイドライン 2013』を作成し(平成 25 年 1 月)、冊子体として及び研究班ホームページ上に公表した(<http://prion.umin.jp/>)。

### 2) 感染及び発症機構解明と治療法開発

JCV 外郭タンパク質 VP1 が後期タンパク質 agnoprotein と結合すること、agnoprotein は VP1 の多量体形成の効率を増加し、ウイルス粒子形成を促進させること、agnoprotein は AP3D と相互作用することにより細胞内小胞輸送系を阻害し粒子の細胞外放出を促進する viroporin としての機能を発揮することを解明した。JCV T 抗原により MeCP2 のプロモーター活性が亢進すること、JCV タンパク質と MeCP2 の発現に関連性が認められることを明らかにした。JCV 感染細胞は核が腫大化し S 期~G2 期様の細胞周期に入ること、細胞周期の制御の乱れが、変性機序に関与する可能性があることが示した。TNF- $\alpha$  と HIV の Tat タンパクは JCV DNA 複製を促進し、一方、3-AB は JCV DNA 複製を抑制し、ウイルス量を低下させた。Tat タンパクが細胞内の Pura の発現を抑制、TNF- $\alpha$  は NF- $\kappa$ B を活性化、3-AB は PARP-1 活性を抑制していた。

## D. 考察

### I. プリオン病 :

#### 1) プリオン病の調査、予防対策

プリオン病の発症は増加を続けており、dCJD の発症も依然として持続している。剖検により初めてプリオン病が判明した例があることは、現在の医学水準においても、臨床診断されていないプリオン病症例があることを示しており、剖検の重要性が再確認された。脳外科手術器具等による二次感染例はなかったが、バイポーラーピンセットなどの一部の器具にプリオン対応の消毒が不十分な例があり、更なる啓発が必要と考えられる。

わが国における dCJD 例は、海外例と比較して生命予後良好な疾患を背景疾患としていることが多いことが、わが国における dCJD 多発に関与している可能性が考えられた。

#### 2) 正常型 PrP 機能、PrP 異常化機構、神経変性機序の解明 :

PrP<sup>C</sup> 依存性神経細胞死には核近傍での凝集

Mt/PrP の形成が関与していることが示唆されたことから、凝集 Mt/PrP の形成を抑えることは、プリオン病における神経変性の進行を遅らせる手段となる可能性があると考えられた。

プリオン感染に伴うオートファジーの活性化が神経細胞死に関与している可能性を初めて報告した。オートファジーはプリオン病の治療標的となる可能性がある。

プリオン感染早期から見出される酸化ストレス損傷がプリオン病の発症に関与していることが示唆された。NOX-2 や iNOS の発現増加がプリオン病発症に関わるメカニズムについて更に詳細な検討が必要である。

ハタネズミの遺伝子導入マウス (KiBV、TgBV) では、孤発性 CJD-MM2 皮質型の伝達に初めて成功した。孤発性 CJD-MM2 皮質型はわが国で多い病型であり、今後の研究上、重要な成果である。

酵母プリオンの原因蛋白質である Sup35 のアミロイド構造多形形成のメカニズムの解明により、プリオンの伝播に影響を与えるアミロイド構造がどのように形成されるかが明らかになった。これらには哺乳類のプリオンにも保存されているメカニズムが多く含まれていると考えられる。

ヒト神経細胞株を中心に、C-/L-BSE の感染が成立する培養細胞系を樹立した。C-BSE では持続感染の成立が確認された。L-BSE の持続感染性については今後の検討課題である。BSE が持続的に感染したヒト神経細胞株はこれまでになく、変異型 CJD の二次感染を念頭においた薬剤スクリーニング等の研究において有用である。

### 3) ヒトプリオン病の病態解明と早期診断法の開発

a. 臨床病態研究: 臨床病理学的研究により、わが国のプリオン病に関する基本データを得ることができた。今後、重症度や病変のステージングなどの評価法を確立するための基礎となるものである。画像病理相関研究では、GSS のアミロイドの描出には適切な PET トレーサーを選択する必要があることなどが明らかとなった。

dCJD における硬膜移植部位と神経症候の関係では、移植片の異常 PrP が中枢神経系に直接

的に進展したことが示唆された。一方、このような直接的な進展の形式に合致しない症状を示す症例も認められており、間接的に中枢神経系へ伝播する経路が存在する可能性が考えられ、今後、画像データ等を含む詳細な検討が必要と考えられた。

硬膜移植 CJD において異常 PrP のみならず A $\beta$  蛋白質の沈着もみられることは、PrP 凝集が A $\beta$  凝集を誘導する (cross-seeding)、あるいは移植硬膜から異常 PrP のみならず A $\beta$  凝集体も伝播している等の可能性を示唆している。現在、サーベイランスに登録された dCJD 例や孤発性 CJD の剖検例のシリーズにおいて A $\beta$ 、 $\alpha$  シヌクレイン等の蛋白蓄積を検討中である。

b. 診断法研究: 標準化された撮像法による MRI DWI の診断的有用性を多施設研究によって確立した。CJD 早期病変の継時的変化差分画像を自動生成することを可能にする解析手法では、新たな病変の出現域は高信号として、病変の消退域は低信号として明瞭に描出し、定量値算出も可能であり、経過の評価に有用である。

CSF マーカーでは、本研究班によって開発された RT-QuIC 法の感度は、孤発性プリオン病では 80%、遺伝性プリオン病では 69.1%、獲得性プリオン病では 66.7%、特異度は 97.1%であった。RT-QuIC 法は診断的有用性が高い。しかし、稀に RT-QuIC が疑陽性となることがあり、注意が必要である。さらなる症例の蓄積が必要である。

CSF 中の H-FABP に関しては、タウ、14-3-3 蛋白質に加えて、H-FABP を測定することによって感度が向上することが明らかになった。さらに、血清 H-FABP が CJD 以外に Lewy 小体病患者で上昇していることが判明した。その機序やプリオン病診断上の意義について、更に詳細な検討を要する。

PMCA 法による異常 PrP の増幅では、CSF からも検出可能なレベルとなり、早期診断法としての使用が期待できる。増幅に成功したのはいずれもプラークタイプの CJD であり、増幅特性の違いにより CJD のタイプが容易に判断できる可能性が示唆された。

### 4) プリオン病治療法・プリオン不活化法の開発

a. 治療法開発基礎研究: メラニン等の色素性化

化合物の抗プリオン作用の解明が進んだ。NMR 構造解析による抗プリオン化合物の最適化等の研究が進んだ。異常型の立体構造には多様性があり、それに依存しない作用機序を有する化合物が望まれる。

MSC による治療法開発では、一部で効果を認めたが、遺伝子改変 MSC が、MSC が持つ神経保護作用と発現タンパク質の抗プリオン作用の相加効果を発揮するためには外来遺伝子由来タンパク質の発現量を向上させる必要があると考えられた。

b. 臨床試験：プリオン病に対する PPS 脳室内持続投与療法は、機能的な改善は示さないものの、生命予後を改善させ、脳病理を修飾する可能性が示唆された。

今後の治療法臨床開発研究においては、臨床試験の候補となる治療法の選択のみならず、どのような患者を対象とするかという対象者の選択も重要と考えられる。臨床効果を評価する適切な病型、重症度の患者を臨床試験の対象とすべきである。適切な臨床試験プロトコル作成の基礎となるデータを得るために、プリオン病コンソーシアム (JACOP) によるプリオン病の自然歴調査が進行した。

c. プリオン不活化法開発：熱、アルカリ、界面活性剤の組み合わせが高い不活化効果を有しており、医療現場における二次感染防止に寄与するものと考えられる。

#### 5) プリオン病診療ガイドライン作成

『プリオン病診療ガイドライン 2014』はわが国におけるプリオン病の医療水準向上に寄与する。

## II. SSPE :

### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

全国調査では、発症年齢は 2 才 6 ヶ月から 22 歳 4 か月であるが、調査時年齢は 13 才から 49 歳 (平均 26.9 才) であり、罹患期間の長期化を認めた。病期分類では 85% が進行例であり、医療的ケアも 78% で必要な状態であった。SSPE の長期化、重度化が深刻な問題として顕在化している。臨床調査個人票における調査においても、多くの例は全面介助の必要な状態であり、かつ在宅療養である者も少なくなかった。また、同時に、わが国では新規発症例が現在も出ている

ことが明らかになった。本疾患の発症から経過、療養状況等を長期的に一貫して把握するシステムを構築する必要がある。

海外多発地域であるトルコ共和国との共同研究を行い、貴重な検体を用いた CSF マーカー等の研究が進んだ。CSF の MAP2 濃度は SSPE におけるニューロン変性脱落のマーカーになる可能性がある。SSPE 発症の宿主側因子については、SSPE 疾患感受性遺伝子の同定には至らなかった。今後、海外共同研究を含めた臨床病態解明研究により、本症の病態評価に有用なマーカーや発症に関与する因子の解明をめざす。

リバビリン脳室内持続投与療法では重篤な副反応が認められなかったころなどから、単回投与と比較して有用な治療法と考えられる。リバビリン脳室内持続投与療法の臨床試験の対象者は年間 3 名程度であり、今後も症例を積み重ね、本治療の安全性、有効性の評価を確立していく必要がある。

### 2) 神経細胞感染機構の解明、SSPE モデルと治療法開発

SSPE ウイルスの強い神経病原性は変異 H、F 及び M タンパク質の共同作用によって担われていること、膜融合能の亢進による神経細胞での効率よいウイルス伝播には、M 蛋白質欠損よりも F 蛋白質の細胞外領域の変異がより重要であることが明らかになった。インターフェロン産生能が弱い中枢神経系と違って、末梢組織では膜融合能の亢進はインターフェロンを強く誘導し、ウイルス増殖が阻害された。それが、普通の麻疹ウイルス臨床分離株において F 遺伝子が高度に保存されている理由と考えられる。今後、F 蛋白質による融合を標的とした抗ウイルス薬開発に重点をおいた取り組みを行う。

マウスを用いた研究で、抗 SSPE 効果が認められた新規ペプチドは、HIV-1 感染症の臨床で実用化されており、ヒトでの SSPE 治療への応用の可能性がある。

## III. PML :

### 1) サーベイランス、検査・治療の最適化

PML サーベイランスの結果、従来 PML の主要な基礎疾患とされてきた HIV-PML の頻度が減り、一方、抗がん剤、免疫抑制剤、生物学的



製剤を発症誘発薬剤とした non-HIV-PML 症例が増えてきている傾向が明らかになった。今後、多発性硬化症に対するナタリズマブなどの生物学的製剤がますます多用されるようになるため、薬剤関連 PML の発症を監視しながら、注意深くサーベイランスを継続していく必要がある。

研究班主導でメフロキンの臨床試験を推進した。今後症例数を更に増やし、メフロキン治療の有効性について臨床経過、検査所見、病理所見など多角的に検討していく必要がある。

『PML 診療ガイドライン 2013』を作成した。ホームページ上に公開したガイドラインは医療従事者のみならず、患者家族の疾患への理解に貢献している。

## 2) 感染及び発症機構解明と治療法開発

JCV 複製前に細胞内で発現する早期タンパク質 T 抗原、複製後に発現する後期タンパク質 agnoprotein の新規機能が明らかになり、JCV の細胞内増殖機構の一部が世界で初めて解明された。この成果は、PML における稀突起膠細胞、星状膠細胞等での JCV の複製過程、粒子形成過程、および agnoprotein による AP3D 阻害効果と JC ウイルス粒子放出過程を理解する上で、重要な知見である。PML 脳では JCV T 抗原発現細胞で MeCP2 陽性細胞を多数認めるが、*in vitro* の系においては JCV T 抗原による MeCP2 プロモーター活性と mRNA およびタンパク質発現に乖離が認められた。乖離の原因としてマイクロ RNA による転写後修飾や、エピジェネティックな制御機構が関与する可能性が考えられた。また、本研究で TNF- $\alpha$  と HIV の Tat タンパクが JCV DNA の複製を促進することが示され、TNF- $\alpha$  と HIV の Tat タンパクが HIV-PML の病態に深く関与して可能性が考えられた。PARP-1 阻害剤である 3-AB は有効な抗 JCV 薬になる可能性がある。

## E. 結論

I. プリオン病：本邦患者 2162 人の臨床データの解析、画像データ、CSF 検体、剖検脳の集積、二次感染リスク例の解析を行った。これらのデータや検体を用いた臨床病態解明研究、CSF マーカー (RT-QuIC ほかに) や MRI による早期診断法開発研究、各種モデルを用いた PrP<sup>C</sup> 機能、PrP

異常化機構、神経変性機序解明などの分子病態解明研究、治療法開発のための基礎研究及び臨床試験、プリオン不活化法開発研究等に成果を得た。『プリオン病診療ガイドライン 2014』を作成した。

II. SSPE：本邦患者 88 名を全国調査し臨床像を解明した。トルコ共和国との共同研究等を行い多数例の臨床検体を集積、解析した。リバビリン脳室内持続投与療法の臨床試験が進行し、病状の進行が緩徐となった。SSPE ウイルスの神経病原性を解明し、治療法開発が進展した。

III. PML：本邦患者 51 名を診断・調査し、わが国における本症の背景疾患、臨床的特徴等に関する最新情報を得た。メフロキン臨床試験が進行した。JCV 増殖機構及び増殖抑制機構の研究で重要な知見を得た。『PML 診療ガイドライン 2013』を作成した。

これらの 3 疾患に関する研究成果は *Science* 誌ほかに掲載され国際的に高い評価を得た。

## F. 研究発表

(各年度の主要原著論文を下に示す。)

平成 23 年度

- 1) Nozaki I, Sakai K, Kitamoto T, Yamada M. Prion protein gene M232R mutation as a cause of genetic prion disease. (Reply to the Letter to the Editor: Beck et al. Prion protein gene M232R variation is probably uncommon polymorphism rather than a cause of inherited prion disease.) *Brain* 135:e210, 2011.
- 2) Hamaguchi T, Eisele YS, Varvel NH, Lamb BT, Walker LC, Jucker M. The presence of A $\beta$  seeds, and not age per se, is critical to the initiation of A $\beta$  deposition in the brain. *Acta Neuropathol* 123:31-37, 2012.
- 3) Sanghera N, Correia BE, Correia JR, Ludwig C, Agarwal S, Nakamura HK, Kuwata K, Samain E, Gill AC, Bonev BB, Pinheiro TJ. Deciphering the molecular details for the binding of the prion protein to main ganglioside GM1 of neuronal membranes. *Chem Biol* 18:1422-1431, 2011.
- 4) Takakura I, Miyazawa K, Kanaya T, Itani W, Watanabe K, Ohwada S, Watanabe H, Hondo T, Rose MT, Mori T, Sakaguchi S, Nishida N, Katamine S, Yamaguchi T, Aso H. Orally

- administered prion protein is incorporated by m cells and spreads into lymphoid tissues with macrophages in prion protein knockout mice. *Am J Pathol* 179:1301-1309, 2011.
- 5) Kobayashi A, Mizukoshi K, Iwasaki Y, Miyata H, Yoshida Y, Kitamoto T. Co-occurrence of types 1 and 2 PrP<sup>res</sup> in sCJD-MM1. *Am J Pathol* 178:1309-1315, 2011.
- 6) Shishido-Hara Y, Ichinose Y, Uchihara T. JC virus intranuclear inclusions associated with PML nuclear bodies: Analysis by electron microscopy and structured illumination microscopy. *Am J Pathol* 180:1095-1106, 2012.
- 7) Seki F, Yamada K, Nakatsu Y, Okamura K, Yanagi Y, Nakayama T, Komase K, Takeda M. The SI strain of measles virus derived from an SSPE patient possesses typical genome alterations and unique amino acid changes that modulate receptor specificity and reduce membrane fusion activity. *J Virol* 85:11871-11882, 2011.
- 8) Uraki R, Sakudo A, Michibata K, Ano Y, Kono J, Yukawa M, Onodera T. Blocking of FcR suppresses the intestinal invasion of scrapie agents. *PLoS One* 6:e17928, 2011.
- 9) Rosen RF, Fritz JJ, Dooyema J, Cintron AF, Hamaguchi T, Lah JJ, Levine H 3<sup>rd</sup>, Jucker M, Walker LC. Exogenous seeding of cerebral  $\beta$ -amyloid deposition in  $\beta$ APP-transgenic rats. *J Neurochem* 120:660-666, 2012.
- 10) Unno M, Shinohara M, Takayama K, Tanaka H, Teruya K, Doh-ura K, Sakai R, Sasaki M, Ikeda-Saito M. Binding and selectivity of the marine toxin neodysiherbaine A and its synthetic analogues to GluK1 and GluK2 kainate receptors. *J Mol Biol* 413:667-683, 2011.
- 11) Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Nozaki I, Sakai K, Yamada M. Serum tau protein as a marker for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol* 258:1464-1468, 2011.
- 12) Iwasaki Y, Mimuro M, Yoshida M, Kitamoto T, Hashizume Y. Survival to akinetic mutism state in Japanese cases of MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease is similar to Caucasians. *Eur J Neurol* 18:999-1002, 2011.
- 13) Ishibashi D, Yamanaka H, Mori T, Yamaguchi N, Yamaguchi Y, Nishida N, Sakaguchi S. Antigenic mimicry-mediated anti-prion effects induced by bacterial enzyme succinylarginine dihydrolase in mice. *Vaccine* 29:9321-9328, 2011.
- 14) Yamasaki T, Suzuki A, Shimizu T, Watarai M, Hasebe R, Horiuchi M. Characterization of intracellular localization of PrP<sup>Sc</sup> in prion-infected cells using monoclonal antibody that recognizes the region consisting of amino acids 119-127 of mouse PrP. *J Gen Virol* 83:3852-3860, 2012.
- 15) Haneda Y, Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Ohsaki A, Ichiyama T. Leukotriene D4 enhances tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced vascular endothelial growth factor production in human monocytes/macrophages. *Cytokine* 55:24-28, 2011.
- 16) Hasegawa S, Mori N, Satomi M, Jiang DP, Hotta H, Matsushige T, Ichiyama T. Interferon production by cells infected with subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) virus or measles virus. *Cytokine* 56:676-679, 2011.
- 17) Hasegawa S, Ichiyama T, Sonaka I, Ohsaki A, Okada S, Wakiguchi H, Kudo K, Kittaka S, Hara M, Furukawa S. Cysteine, histidine and glycine exhibit anti-inflammatory effects in human coronary arterial endothelial cells. *Clin Exp Immunol* 167:269-274, 2012.
- 18) Hasebe R, Raymond GJ, Horiuchi M, Caughey B. Reaction of complement factors varies with prion strains in vitro and in vivo. *Virology* 423:205-213, 2012.
- 19) Kimura T, Hosokawa-Muto J, Asami K, Murai T, Kuwata K. Synthesis of 9-substituted 2,3,4,9- tetrahydro-1H-carbazole derivatives and evaluation of their anti-prion activity in TSE-infected cells. *Eur J Med Chem* 46:5675-5679, 2011.
- 20) Nguyen T, Sakasegawa Y, Doh-ura K, Go ML. Anti-prion activities and drug-like potential of functionalized quinacrine analogs with basic phenyl residues at the 9-amino position. *Eur J Med Chem* 46:2917-2929, 2011.

平成 24 年度

- 1) Suzuki G, Shimazu N, Tanaka M. A yeast prion, Mod5, promotes acquired drug resistance and cell survival under environmental stress. *Science* 336:355-9, 2012.
- 2) Hamaguchi T, Eisele YS, Varvel NH, Lamb BT, Walker LC, Jucker M. The presence of A $\beta$  seeds, and not age per se, is critical to the initiation of A $\beta$  deposition in the brain. *Acta Neuropathol* 123:31-37, 2012.
- 3) Mashima T, Nishikawa F, Kamatari Y, Fujiwara H, Saimura M, Nagata T, Kodaki T, Nishiwaka S, Kuwata K, Katahira M. Anti-prion activity of an RNA aptamer and its structural basis. *Nucleic Acids Res* 41:1355-1362, 2013.
- 4) Shirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. *Nat Commun* 3:1235, 2012.
- 5) Ishikawa T, Kuwata K. RI-MP2 gradient calculation of large molecules using the fragment molecular orbital method. *J Phys Chem Lett* 3:375-379, 2012.
- 6) Okada H, Murayama Y, Shimozaki N, Yoshioka M, Masujin K, Imamura M, Iwamaru Y, Matsuura Y, Miyazawa K, Fukuda S, Yokoyama T, Mohri S. Prion in saliva of bovine spongiform encephalopathy-infected cattle. *Emerg Infect Dis* 18:2091-2092, 2012.
- 7) Alcalde-Cabero E, Almazán-Isla J, Brandel JP, Breithaupt M, Catarino J, Collins S, Haybäck J, Höftberger R, Kahana E, Kovacs GG, Ladogana A, Mitrova E, Molesworth A, Nakamura Y, Pocchiari M, Popovic M, Ruiz-Tovar M, Taratuto AL, van Duijn C, Yamada M, Will RG, Zerr I, de Pedro-Cuesta J. Health professions and risk of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, 1965 to 2010. *Euro Surveill* 17:pii:20144, 2012.
- 8) Nakato G, Hase K, Suzuki M, Kimura M, Ato M, Hanazato M, Tobiume M, Horiuchi M, Atarashi R, Nishida N, Watarai M, Imaoka K, Ohno H. Cutting Edge: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. *J Immunol* 189:1540-1544, 2012.
- 9) Suzuki G, Tanaka M. Active prion conversion as a molecular switch for cellular adaptation to environmental stress. *Bioessays* 35:12-16, 2013.
- 10) Ishibashi D, Atarashi R, Fuse T, Nakagaki T, Yamaguchi N, Satoh K, Honda K, Nishida N. Protective role of interferon regulatory factor 3-mediated signaling against prion infection. *J Virol* 86:4947-4955, 2012.
- 11) Hara H, Okemoto-Nakamura Y, Shinkai-Ouchi F, Hanada K, Yamakawa Y, Hagiwara K. Mouse prion protein (PrP) segment 100 to 104 regulates conversion of PrP<sup>C</sup> to PrP<sup>Sc</sup> in prion-infected neuroblastoma cells. *J Virol* 86:5626-5636, 2012.
- 12) Abe Y, Hashimoto K, Watanabe M, Ohara S, Sato M, Kawasaki Y, Hashimoto Y, Hosoya M. Characteristics of viruses derived from nude mice with persistent measles infection. *J Virol* 87:4170-4175, 2013.
- 13) Watanabe S, Shirogane Y, Suzuki SO, Ikegame S, Koga R, Yanagi Y. Mutant fusion proteins with enhanced fusion activity promote measles virus spread in human neuronal cells and brains of suckling hamsters. *J Virol* 87:2648-2659, 2013.
- 14) Kubota T, Hamazoe Y, Hashiguchi S, Ishibashi D, Akasaka K, Nishida N, Katamine S, Sakaguchi S, Kuroki R, Nakashima T, Sugimura K. Direct evidence of generation and accumulation of  $\beta$ -sheet-rich prion protein in scrapie-infected neuroblastoma cells with human IgG1 antibody specific for  $\beta$ -form prion protein. *J Biol Chem* 287:14023-14039, 2012.
- 15) Sano K, Satoh K, Atarashi R, Takashima H, Iwasaki Y, Yoshida M, Sanjo N, Murai H, Mizusawa H, Schmitz M, Zerr I, Kim YS, Nishida N. Early detection of abnormal prion protein in genetic human prion diseases now possible using real-time QUIC Assay. *PLoS One* 8:e54915, 2013.
- 16) Xue G, Aida Y, Onodera T, Sakudo A. The 5' flanking region and intron1 of the bovine prion protein gene (PRNP) are responsible for negative feedback regulation of the prion protein. *PLoS One* 7:e32870, 2012.
- 17) Yamaguchi Y, Miyata H, Uchiyama K,

Ootsuyama A, Inubushi S, Mori T, Muramatsu N, Katamine S, Sakaguchi S. Biological and biochemical characterization of mice expressing prion protein devoid of the octapeptide repeat region after infection with prions. *PLoS One* 7:e43540, 2012.

18) Dang X, Wüthrich C, Gordon J, Sawa H, Koranik IJ. JC virus encephalopathy is associated with a novel agnoprotein-deletion JCV variant. *PLoS One* 7:e35793, 2012.

19) Kasai K, Hirata A, Ohya T, Nokihara K, Yokoyama T, Mohri S. Novel assay with fluorescence-labelled PrP peptides for differentiating L-type atypical and classical BSEs, and scrapie. *FEBS Lett* 586:325-329, 2012.

20) Hasegawa K, Mohri S, Yokoyama T. Comparison of the local structural stabilities of mammalian prion protein (PrP) by fragment molecular orbital calculations. *Prion* 7:1-7, 2013.

21) Masujin K, Miwa R, Okada H, Mohri S, Yokoyama T. Comparative analysis of Japanese and foreign L-type BSE prions. *Prion* 6:89-93, 2012.

22) Ishibashi D, Atarashi R, Nishida N. Protective role of MyD88-independent innate immune responses against prion infection. *Prion* 6:443-446, 2012.

#### 平成 25 年度

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) Uchiyama K, Muramatsu N, Yano M, Usui T, Miyata H, Sakaguchi S. Prions disturb post-Golgi trafficking of membrane proteins. *Nat Commun* 4:1846, 2013.

3) Suzuki T, Orba Y, Makino Y, Okada Y, Sunden Y, Hasegawa H, Hall WW, Sawa H. Viroporin activity of the JC polyomavirus is regulated by interactions with the adaptor protein complex 3. *Proc Natl Acad Sci USA*

110:18668-18673, 2013.

4) Hirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation: another mechanism of viral evolution. *Trends Microbiol* 21:320-324, 2013.

5) Ichimura T, Taoka M, Shoji I, Kato H, Hatakeyama S, Isebe T, Hachiya N. 14-3-3 proteins sequester a pool of soluble TRIM 32 ubiquitin ligase to repress autoubiquitination and cytoplasmic body formation. *J Cell Sci* 126:2014-2026, 2013.

6) Nishizawa K, Oguma A, Kawata M, Sakasegawa Y, Teruya K, Doh-ura K. Efficacy and mechanism of a glycoside compound inhibiting abnormal prion protein formation in prion-infected cells: implications of interferon and phosphodiesterase 4D interacting protein. *J Virol*, in press.

7) Sakai K, Hasebe R, Takahashi Y, Song CH, Suzuki A, Yamasaki T, Horiuchi M. Absence of CD14 delays progression of prion diseases accompanied by increased microglial activation. *J Virol* 87:13433-13445, 2013.

8) Abe Y, Hashimoto K, Watanabe M, Ohara S, Sato M, Kawasaki Y, Hashimoto Y, Hosoya M. Characteristics of viruses derived from nude mice with persistent measles virus infection. *J Virol* 87:4170-4175, 2013.

9) Iwamaru Y, Takenouchi T, Imamura M, Shimizu Y, Miyazawa K, Mohri S, Yokoyama T, Kitani H. Prion replication elicits cytopathic changes in differentiated neurosphere cultures. *J Virol* 87:8745-8755, 2013.

10) 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.

11) Takeuchi A, Kobayashi A, Ironside JW, Mohri S, Kitamoto T. Characterization of variant Creutzfeldt-Jakob disease prions in prion protein-humanized mice carrying distinct codon 129 genotypes. *J Biol Chem* 288:21659-21666, 2013.