

Convention Center, Korea  
20140706-20140707,

4. Hamaguchi T, Sakai K, Nozaki I,  
Noguchi-Shinohara M, Sanjo N,  
Nakamura Y, Kitamoto  
T, Murayama S, Satoh K, Harada M,  
Mizusawa H, Yamada M: Clinical  
features of MM2 type sporadic  
Creutzfeldt-Jakob disease. Asian  
Pacific Prion Symposium 2014 in  
Jeju , Juju International  
Convention Center, Korea  
20140706-20140707,

(国内学会)

1. 古川迪子、三條伸夫、日熊麻耶、小林  
篤史、北本哲之、中村好一、村山繁雄、  
辻 省次、山田正仁、水澤英洋: プリ  
オン蛋白遺伝子コドン 105 変異 (P 1  
0 5 L) による  
Gerstmann-Straussler-Scheinker 症  
候群の臨床像-GSS(P102L)との比較  
解析-. 第 19 回日本神経感染症学会総  
会学術集会. 金沢 (金沢歌劇座) :  
20140904
2. 浜口 毅、坂井健二、野崎一朗、篠原  
もえ子、三條伸夫、中村好一、北本哲  
之、村山繁雄、佐藤克也、原田雅史、  
水澤英洋、山田正仁:MM2 型弧発性  
Creutzfeldt-jakob 病の臨床的特徴に  
ついて. 第 19 回日本神経感染症学会  
総会学術集会. 金沢 (金沢歌劇座) :  
2014 年 9 月 6 日

(講演)

1. Mizusawa H: Prion disease in Japan.  
69<sup>th</sup> Annual Congress of the Chilean

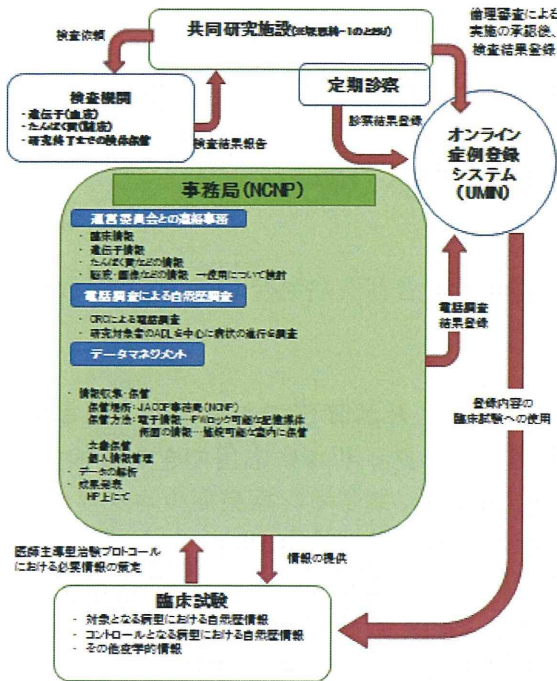
Neurology ,Psychiatry and  
Neurosurgery Association, Hotel  
Patagonico, Puerto Varas, Chile  
20141010,

2. 水澤英洋: 難治性神経疾患における  
病態機序解明と治療法開発への展望.  
平成 2 6 年度厚生労働科学研究 (難治  
性疾患等克服研究 (難治性疾患等実用  
化研究)) 推進事業 研究発表会 公  
開講座 これからの難病研究~新し  
い治療法の開発~, 公益財団法人  
難病医学研究財団 J A 共済ビル  
カンファレンスホール、東京 2015  
年 1 月 25 日
3. 水澤英洋:「わが国におけるプリオン病  
のサーベイランスと臨床研究コンソ  
ーシアム JACOP」. 革新的医療研究  
開発で挑む神経変性疾患—プリオン  
病治験体制の確立に向けて—. 国立  
大学法人 岐阜大学 シンポジウム  
世話人代表 岐阜大学大学院連合創  
薬医療情報研究科教授 桑田一夫  
名古屋国際会議場, 2015 年 2 月 14  
日

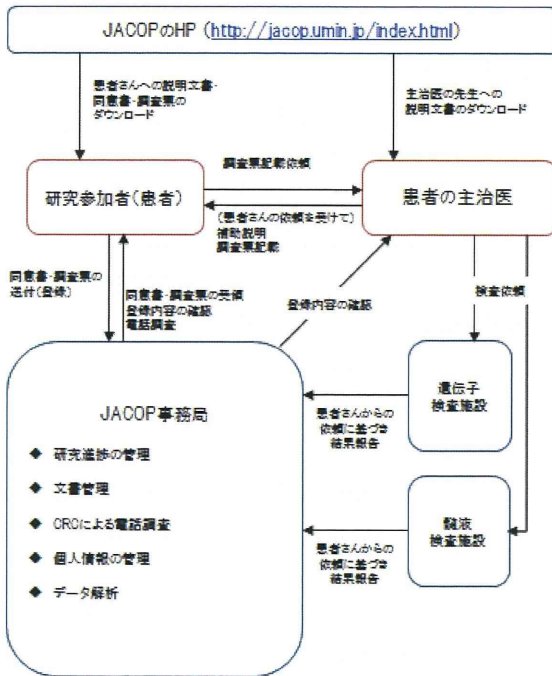
#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を 含む)

- 1.特許取得  
なし
- 2.実用新案登録  
なし
4. その他

【図1】 研究の流れ図（登録施設の医師による登録手順）



【図2】 研究の流れ図（患者自身による登録手順）



## BSE感染カニクイザルにおける早期診断法の開発

### および血中P092濃度測定法の確立

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 教授

#### 研究要旨

プリオン病の治療は、発症後すみやかに治療を開始することが肝要である。我々は髄液中の異常プリオン蛋白質検出系（RT-QUIC法）が、BSE感染カニクイザルに応用できるか検討した。組換え型プリオン蛋白質（マウスおよびヒト由来）を用いた場合、プリオン病発症カニクイザル脳組織で、ともに  $10^{8.9} \text{SD}_{50}/\text{g tissue}$  程度の反応性を示した。一方で髄液検査では、ヒトプリオン蛋白質を用いた場合のみ反応性を示し、同一検体の 1/4 でのみ陽性となった。同一検体でも反応を示さない場合もあり、感度を向上させる必要ではある。また、P092 の薬物動態を測定するには、感染性を有する検体を取り扱うことができる実験施設が必要であり、長崎大学医学部共同生物災害防止実験施設内 BSL3 実験室に LC/MS を設置した。装置内でガス化したプリオンが実験室中にエアゾールとして発散しないように排気系は特殊な工夫を施した。また、LC/MS および検体の前処理条件を検討し、薬剤濃度が測定できる条件を整えた。

#### A. 研究目的

我々はこれまでに異常プリオン蛋白質検出法として RT-QUIC 法を開発し、ヒトプリオン病の髄液診断へ応用してきた。その経験をもとに BSE 感染カニクイザルにおいて、髄液中異常型プリオン蛋白質を測定できる早期発症診断法を確立する。

また、BSE 感染カニクイザル由来の生体試料は、感染性を有するため適切な実験施設でなければ扱うことができない。我々は、長崎大学医学部共同生物災害防止実験施設内 BSL3 実験室に LC/MS を設置し、P092 投与カニクイザルにおける薬剤体内動態を測定できる検査体制を確立することを目的にした。

#### B. 研究方法

RT-QUIC 法による異常型プリオン蛋白質の増幅は、使用する組換え型プリオン蛋白質の動物種によって反応性が大きく異なる。そのためプリオン蛋白質の動物種として、マウス (mPrP) およびヒト (huPrP) プリオン蛋白質を選定し、プリオン病発症 (BSE 感染) カニクイザルの脳組織および脳脊髄液を用いて反応性を

確認した。

長崎大学医学部共同生物災害防止実験施設内 BSL3 実験室に LC/MS を設置した。P092 を測定するため、LC/MS の条件および検体の前処理方法を検討した。検体の前処理方法は、メタノールによる除蛋白質法と 4 種類の □Elution column (MCX, WCX, MAX, WAX : Waters 社) を比較した。

（倫理面への配慮）

研究環境・生命倫理・安全対策に関わる研究を所掌する部門があり、プリオン病原体の使用・保存、遺伝子組換え実験に伴う研究は、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審査委員会 (生物災害防止委員会、組換え DNA 実験委員会) において内容が審査され、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。

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. プリオン病発症カニクイザル脳組織（前頭葉皮質）を Seed とした RT-QUIC 法において、SD<sub>50</sub>/g tissue は、mPrP で 8.91±0.66、huPrP で 8.94±0.49 であり、同程度の感度を示した。一方、髄液検査では、同一検体を 4 回測定した場合、huPrP で 1 回陽性であったのに対して、mPrP では反応が認められなかった。
2. P092 測定のための LC 条件として、カラムを CSH C18(Waters 社)を選定し、移動相 A を 1%ギ酸水溶液、移動相 B を 100%メタノールにし、測定時間を 9 分間にした。MS 条件として、ESI で positive Ion をモニターし、MRM (モニターイオン 252.1 > 252.1)、コリジョンエネルギー 4 eV で測定した。
3. サンプルの前処理方法として、4 種類の □Elution column の内、MCX のみで P092 が精製・抽出できた。段階希釈した P092 (0.07～20 ng/ml) において除蛋白質法と □Elution MCX column で、検量線を比較すると、ともに高い直線性 (R<sup>2</sup> = 0.999) を有し、検出ピークも同程度であった。

### D.考察

mPrP、huPrP を用いた RT-QUIC 法において、プリオン病発症カニクイザル脳組織の場合、同程度の反応性を示すのに対して、髄液では、huPrP でのみ反応がみられた。しかし、huPrP であっても陽性は 1/4 で、反応性は低いものであった。これらの結果から更なる感度の向上を検討する必要がある。

前処理法として、column と除蛋白質法を検討したが同様の検出感度であった。これらの結果から、実験がより簡便な除蛋白質法で十分な測定感度であることが分かった。

### E.結論

RT-QUIC 法では、更なる感度向上の方法を検討する必要がある。

LC/MS では実際のプリオン感染カニクイザルの検体を測定できる条件が整った。

### F.健康危険情報

なし

### G.研究発表（2014/4/1～2015/3/31 発表）

#### 1.論文発表

1. Qina T, Sanjo N, Hizume M, Higuma M, Tomita M, Atarashi R, Satoh K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kobayashi A, Kitamoto T, Murayama S, Murai H, Yamada M, Mizusawa H: Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. *BMJ Open* (<http://bmjopen.bmj.com/>) No.5:e004968, 2014
2. Akasaka K, Maeno A, Murayama T, Tachibana H, Fujita Y, Yamanaka H, Nishida N, Atarashi R: Pressure-assisted dissociation and degradation of "proteinase K-resistant" fibrils prepared by seeding with scrapie-infected hamster prion protein. *Prion* 8(4): 314-318, 2014
3. Sano K, Atarashi R, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Nishida N: Conformational properties of prion strains can be transmitted to recombinant prion protein fibrils in real-time quaking-induced conversion. *J Virol* 88(20): 11791-11801, 2014
4. [書籍] 佐藤克也, 新 竜一郎, 西田教行: プリオン病の新しい診断法. *Dementia Japan* 28(2): 189-196, 2014

#### 2.学会発表

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

#### 2.実用新案登録

なし

#### 3.その他

なし

## プリオン病の自然歴調査と低分子シャペロン化合物による治験

研究分担者：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)
研究代表者：桑田一夫	岐阜大学人獣感染防御研究センタープリオン研究部門
研究協力者：横田隆徳	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：水澤英洋	国立精神・神経医療研究センター病院
研究協力者：山田正仁	金沢大学大学院医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学(神経内科学)
研究協力者：堂浦克美	東北大学大学院医学系研究科プリオン蛋白分子解析学
研究協力者：坪井義夫	福岡大学医学部神経内科学
研究協力者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理学
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学
研究協力者：浜口 毅	金沢大学大学院医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学(神経内科学)

**研究要旨** プリオン病は未だ詳細な発症機序が解明されておらず、いくつかの臨床試験は行われたものの有効な治療法がないため、わが国で開発されたプリオン蛋白安定化化合物 P092 の治療薬としての有用性が期待されている。新輝合成化合物 P092 のファースト・イン・ヒューマンの治験を開始するため、希少疾患観察・介入研究の基本システムとして構築した日本プリオン病コンソーシアム(Japanese Consortium of Prion Disease: JACOP)の運用を開始し、登録参加施設 60 施設、登録研究者数 143 名となり、本邦における観察・介入研究としては最大規模のネットワークが完成した。平成 26 年度 1 年間で、12 症例の登録と経過追跡が行われ、解析の結果、プリオン病の重症度スコアである「MRC Prion Disease Rating Scale (20 点満点); (Thompson et al, Brain 2013)」を用いると、登録時に MRC スコア 14 点以上であった症例の、発症初期の MRC スコア減少率は MM1 型疑い症例で 2.67/月、MM2c 型疑い症例で 1.89/月であった。また、医師主導型治験のプロトコールを作成した。

### A. 研究目的

本研究の目的は、プリオン病という年間 100 万人に 1 例という頻度の希少疾患において、新たに開発した低分子シャペロン化合物 P092 を用いてファースト・イン・ヒューマンの医師主導型治験を開始することである。そのための準備として、①希少疾患の登録システムをオールジャパン体制で確立する、②これまで明らかになっていないプリオン病の自然歴調査を行い、治験開始後の比較対象となるデータを集積する、③自然歴調査を発症早期から可能とするために、迅速な遺伝子検索体制を整える、④試験開始後の副作用出

現時に備えて、リンパ球保管システムを整備する、⑤プリオン病の病型に沿ったプロトコールが作成されていることなどが必要である。今年度は日本プリオン病コンソーシアム(Japanese Consortium of Prion Disease: JACOP)をベースとして、オールジャパン体制の施設登録を進めながら、患者登録と経過追跡を行い、登録症例の解析と、いくつかの問題点の修正を行った。

### B. 研究方法

1) 希少疾患登録システムをオールジャパン体制で確立する

わが国のプリオン病患者は毎年 150～200 名の発生があり、特定疾患としての医療券は約 500 件発行されている。本疾患は 100 万人に 1 名の発症と言われるように、きわめて希な疾患である。したがって、臨床試験を行うには全国規模で患者を組み入れなければ研究に必要な症例数を確保できない。我が国では 1999 年 4 月から厚生省の特定疾患「遅発性ウイルス感染症調査研究班」にサーベイランス委員会を組織し全国を網羅したプリオン病のサーベイランス体制を構築し、その後、厚生労働省の難治疾患克服研究事業「プリオン病のサーベイランス及び感染予防に関する調査研究班」、さらには「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班」に引き継がれている。これらの厚生労働省研究班の関連施設、各都道府県の主要な病院、および国立病院機構の病院に依頼をし、50 施設以上の登録を目標とした。

## 2) プリオン病の自然歴調査

JACOP 登録施設へ広く登録を呼びかけ、今年度中に 10 例以上の登録と経過追跡を目指し、プリオン病の重症度スコアを設定して、スコアの変化から症状の進行率を明らかにする。

## 3) 迅速な遺伝子検索体制の整備

これまで、遺伝子検索は上記のサーベイランス委員会の遺伝子検索システムを利用して行われていたが、より早期から自然歴調査を開始する必要があることから、新たな遺伝子解析装置の導入を行う。

## 4) リンパ球保管システムの整備

治験開始後に登録症例のリンパ球を保管し、副作用出現時に薬剤リンパ球刺激試験(DLST)などの副作用評価試験を迅速に行うために、細胞培養システム、リンパ球不活化処理、およびリンパ球保管施設を構築する。

## 5) 医師主導型治験のプロトコールの作成

医師主導型治験に向けて、対象となるプリオン病の病態に即した具体的なプロトコールの作成を行う。

(倫理面への配慮)

疫学的・臨床研究に際しては、それぞれの疾患の患者や家族からインフォームドコンセントを得て行うと共に個人情報の守秘を計る。サーベイランスについては委員長の所属施設にて倫理審査を受け承認されている。

## C. 研究結果

### 1) 希少疾患登録システムをオールジャパン体制で確立する

平成 26 年 1 月に 11 の施設と 13 名の研究者から登録を開始して、平成 26 年度は 49 施設が追加され、目標の 50 施設を上回る、60 施設（院内倫理審査終了施設が 45 施設）が登録され、登録研究者数は 120 名が加わり、合計 143 名となった。(図参照)

### 2) プリオン病の自然歴調査

登録症例は合計 12 例であり、目標の 10 例は達成できた。そのうち、2 例が観察開始 3 ヶ月で死亡、1 例が転院により調査続行不能となり、残り 9 例が現在も経過追跡を行っているが、そのうち 3 例はすでに無動性無言の状態となっている(図参照)。また、平成 26 年度途中よりプリオン病重症度分類である

「MRC Prion Disease Rating Scale (20 点満点)」(Thompson et al, Brain 2013)を評価項目に導入した。自然歴調査登録では、エントリー時に 14 点以上であることが望ましいと考えられた。今年度登録症例で、登録時に MRC スコア 14 点以上であった症例における初期 6 ヶ月の MRC スコア減少率は、MM1 型疑い症例で 2.67/月、MM2c 型疑い症例で 1.89/月であり、これまで「急速進行型」、「緩徐進行型」のような曖昧な表現であった病態進行度を、孤発性の一部の症例に限局してではあるが、具体的な数値として表すことができた。今後は、遺伝性プリオン病における MRC スコア変化率の解析も行ってゆく。また、在宅症例の経過追跡方法として、電話による家族へのアンケート調査を行い、医師の診察との齟齬が無くなるようにアンケート項目を修正した。

### 3) 迅速な遺伝子検索体制の整備

より迅速な遺伝子検索体制を確立するために、東京医科歯科大学医学部神経内科研究室にも遺伝子解析装置を導入し、遺伝子検索を開始した。

### 4) リンパ球保管システムの整備

東京医科歯科大学と国立精神・神経研究センターに超低温槽を導入し、細胞培養システムや培養液中の蛋白質の定量化システムを構築した。

### 5) 医師主導型治験のプロトコールの作成

医師主導型治験の全体のプロトコールの作成を行った。第一相では緩徐進行型を対象とすることが望ましいと考えられ、医薬品医療機器総合機構からもそのように求められていることより、緩徐進行性プリオン病を対象とした治験における問題点の整理と、妥当性を検討した。安全性の確認という観点では、緩徐進行性であることは急性期の副作用の有無の確認という意味で妥当であるが、副次評価項目として有効性の評価は困難であると考えられた。健常者における第一相試験は、薬剤の副作用の観点から妥当とは言えない可能性がある。以上より、まずは、緩徐進行型（P102L変異によるGSS、V180I変異による遺伝性CJD、MM2C型孤発性CJDなど）を第一相の対象疾患とすることが妥当であると考えられ他。

### D. 考察

国内外において、プリオン病の罹患率は人口100万人あたり年間1人であることが明らかになっているが、国内外を問わず、これまでにプリオン病における正確な自然歴を調査された報告は少ない。

我々は、JACOPをベースとして、参加施設を全国50施設以上、研究者数143名という、国内最大規模の観察・介入研究システムを構築した。このことは、今回の課題の治験薬の臨床試験のためにはもちろん、プリオン病の発症機序理解のためにも、正確な自然歴調査は必要不可欠であり、JACOP構築の意義はきわめて大きい。

本研究による自然歴調査で、少数例での解

析ではあるが、我が国で初めて重症度スコアを用いた経過観察が可能となり、古典型孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病において、MRC変化率は2.67/月であった。また、緩徐進行型とされているMM2C型疑いの症例のMRCスコア変化率は1.89/月であった。今後の登録症例の増加により、より正確なMRCスコア変化率が解析可能となることが期待される。今後、治験開始準備と平行して、登録患者を増やす。より早期から自然歴調査（治験等録）を開始するための検査システムの整備、治験開始後の副作用対策などの準備も着実に進められている。

### E. 結論

わが国におけるオールジャパンのプリオン病の研究体制であるJACOPを構築し、60の施設と143名の研究者が登録された。自然歴登録、追跡調査により、孤発性プリオン病の初期の重症度進行率が解明されつつある。

第一相試験に向けて、慢性進行型遺伝性プリオン病を対象としたプロトコールの作成を開始した。今後は世界初のプリオン病治療薬となる新規化合物P092を用いた治験を開始する。

### [参考文献]

1. Thompson AG, et al. The Medical Research Council Prion Disease Rating Scale: a new outcome measure for prion disease therapeutic trials developed and validated using systematic observational studies. *Brain* 2013, 136, 1116.

### F. 健康危険情報

なし。

### G. 研究発表（2014/4/1～2015/3/31 発表）

#### 1. 論文発表

[雑誌]

- 1) 三條伸夫、水澤英洋. プリオン病. 付録  
2. 感染症関連ガイドラインと使用上の注意. シリーズ《アクチュアル 脳・神経疾患の臨床》2014: 352-354

- 2) 三條伸夫、水澤英洋. A.プリオン病 第7章 プリオン病. シリーズ《アクチュアル脳・神経疾患の臨床》2014: 278-285
- 3) 三條伸夫. プリオン病. In: 永井良三 シリーズ総監修, E.感染症. 5章 神経内科疾患の診療. 神経内科研修ノート 2014: 372-375
- 4) Yu Mizuno, Yasuhisa Sakurai, Izumi Sugimoto, Keiko Ichinose, Shoichiro Ishihara, Nobuo Sanjo, Hidehiro Mizusawa, Toru Mannen. Delayed leukoencephalopathy after carbon monoxide poisoning presenting as subacute dementia. *Internal Medicine* 2014, 53, 1441-1445
- 5) Fumiko Furukawa, Satoru Ishibashi, Nobuo Sanjo, Hiroshi Yamashita, Hidehiro Mizusawa. Serial magnetic resonance imaging changes in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with valine homozygosity at codon 129 of the prion protein gene. *JAMA Neurology* 2014; 71(9): 1186-7
- 6) Temu Qina, Nobuo Sanjo, Masaki Hizume, Maya Higuma, Makoto Tomita, Ryuichiro Atarashi, Katsuya Satoh, Ichiro Nozaki, Tsuyoshi Hamaguchi, Yosikazu Nakamura, Atsushi Kobayashi, Tetsuyuki Kitamoto, Shigeo Murayama, Hiroyuki Murai, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. *BMJ Open* 2014; 4:e004968.
- 7) Yosikazu Nakamura, Ryusuke Ae, Ichiro Takumi, Nobuo Sanjo, Tetsuyuki Kitamoto, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Descriptive epidemiology of prion disease in Japan: 1999-2012. *Journal of Epidemiology* 2015, 25, 8-14
- 8) Kokoro Ozaki, Nobuo Sanjo, Kinya Ishikawa, Miwa Higashi, Takaaki Hattori, Naoyuki Tanuma, Rie Miyata,

Masaharu Hayashi, Takanori Yokota, Atsushi Okawa, Hidehiro Mizusawa. Elevation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of three patients with superficial siderosis. *Neurology and Clinical Neuroscience* 2014, in press

## 2.学会発表

- 1) 能勢裕里江、三條伸夫、横田隆徳、水澤英洋. 視神経脊髄炎患者における認知機能と脳萎縮の関連性の評価. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月21日, 2014年
- 2) 日熊麻耶、三條伸夫、伊藤陽子、三苫博、水澤英洋. アルツハイマー病患者における歩行と認知機能の関連. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月21日, 2014年
- 3) 伊藤陽子、三條伸夫、能勢裕里江、横田隆徳、水澤英洋. 多発性硬化症におけるIFNβ製剤の有効性と安全性の検討. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月22日, 2014年
- 4) 宮下彰子、三條伸夫、喜納里子、古川由子、石橋賢士、横田隆徳、水澤英洋. 実質型梅毒のペニシリン治療反応性に関する検討. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月22日, 2014年
- 5) 西李依子、三條伸夫、石原正一郎、横田隆徳、水澤英洋. 非全身型血管炎性神経炎と顕微鏡的多発血管炎の比較. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月22日, 2014年
- 6) 馬嶋貴正、三條伸夫、椎野顯彦、松田博史、横田隆徳、水澤英洋. 多発性硬化症患者における認知機能障害とMRIでの大脳皮質・白質萎縮部位との相関(口演). 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月22日, 2014年
- 7) 喜納里子、三條伸夫、能勢裕里江、石橋哲、小林大輔、宍戸-原由起子、長嶋和郎、中道一生、西條政幸、森尾友宏、前原健寿、江石義信、水澤英洋. 演題名: 治療反



- 応性進行性多巣性白質脳症(PML)の臨床的・病理学的特徴・新たな病型<PML with controlled inflammation>の提案. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月23日, 2014年
- 8) 古川迪子, 三條伸夫, 大久保卓哉, 石川欽也, 水澤英洋. ハンチントン病と歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症における尾状核水平断面積の比較. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月23日, 2014年
- 9) 三浦愛, 三條伸夫, 能勢裕里江, 西李依子, 石橋哲, 横田隆徳, 水澤英洋. MELAS症例の脳卒中様発作急性期のL-Arginine治療の検討(受賞候補). 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月24日, 2014年
- 10) 山口純司, 三條伸夫, 市野瀬慶子, 石原正一郎, 大久保卓哉, 江石義信, 藤ヶ崎浩人, 横田隆徳, 水澤英洋. 筋サルコイドーシス5例の病理所見・画像所見パターンとステロイド反応性の検討(受賞候補). 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月24日, 2014年
- 11) 三條伸夫, 日熊麻耶, 伊藤陽子, 水澤英洋. アルツハイマー病における失禁症状に対するメマンチンの効果の検討. 第55回日本神経学会学術大会. 福岡, 5月24日, 2014年
- 12) Fumiko Furukawa, Nobuo Sanjo, Atsushi Kobayashi, Tetsuyuki Kitamoto, Atsushi Shiraishi, Kinya Ishikawa, Haruhisa Honda, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Clinical features of Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome with a P105L mutation and a valine-encoding polymorphic codon 129 in the prion protein gene. *Prion* 2014, Trieste, Italia, 2014 May 27-30
- 13) Masaki Hizume, Nobuo Sanjo, Katsuya Satoh, Tsuyoshi Hamaguchi, Masahito Yamada, Yasushi Iwasaki, Atsushi Kobayashi, Tetsuyuki Kitamoto, Hidehiro Mizusawa. Immunohistochemical and neuropathological analyses of the prion protein in genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation. *Prion* 2014, Trieste, Italia, 2014 May 27-30
- 14) Nobuo Sanjo, Maya Higuma, Masaki Hizume, Fumiko Furukawa, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Masahito Yamada, Kenji Sakai, Ichiro Nozaki, Moeko Noguchi-Shinohara, Tsuyoshi Hamaguchi, Fumio Moriwaka, Masashi Aoki, Fumiaki Tanaka, Masatoyo Nishizawa, Masatoshi Takeda, Takashi Inuzuka, Koji Abe, Hiroyuki Murai, Shigeo Murayama, Masaki Takao, Katsuya Satoh, Masafumi Harada, Nobuhito Saito, Ichirou Takumi, Hidehiro Mizusawa. Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. *Prion* 2014, Trieste, Italia, 2014 May 27-30
- 15) Nobuo Sanjo, Maya Higuma, Masaki Hizume, Fumiko Furukawa, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Tsuyoshi Hamaguchi, Fumio Moriwaka, Masashi Aoki, Fumiaki Tanaka, Masatoyo Nishizawa, Masatoshi Takeda, Takashi Inuzuka, Koji Abe, Kota Sato, Hiroyuki Murai, Shigeo Murayama, Katsuya Satoh, Masafumi Harada, Naoto Uyama, Koji Fujita, Nobuhito Saito, Ichiro Takumi, Tadashi Tsukamoto, Masahito Yamada, Hidehiro Mizusawa. Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. *Asian Pacific Prion Symposium 2014*. Jeju, Korea, July 6-7, 2014
- 16) Fumiko Furukawa, Nobuo Sanjo, Atsushi Kobayashi, Atsushi Shiraishi, Masahito Yamada, Tetsuyuki Kitamoto, Yoshinobu Eishi, Hidehiro Mizusawa. Involvement of the dorsal root ganglion in GSS with P105L mutation. *Asian Pacific Prion Symposium 2014*. Jeju,

- Korea, July 6-7, 2014
- 17) Kazuo Kuwata, Hidehiro Mizusawa, Nobuo Sanjo, Noriyuki Nishida, Takayuki Fuse, Fumiko Ono, Hiroaki Shibata, Mayuko Fukuoka, Yoko Matsusaki. Toward the First in Human Clinical Trial of a Medical Chaperone for Prion Diseases. Asian Pacific Prion Symposium 2014. Jeju, Korea, July 6-7, 2014
  - 18) Tsuyoshi Hamaguchi, Kenji Sakai, Ichiro Nozaki, Moeko Noguchi-Shinohara, Nobuo Sanjo, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Shigeo Murayama, Katsuya Satoh, Masafumi Harada, Hidehiro Mizusawa, Masahito Yamada. Clinical features of MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2014. Jeju, Korea, July 6-7, 2014
  - 19) Kenji Sakai, Tsuyoshi Hamaguchi, Moeko Noguchi-Shinohara, Ichiro Nozaki, Ichiro Takumi, Nobuo Sanjo, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Nobuhito Saito, Hidehiro Mizusawa, Masahito Yamada. Graft-related disease progression in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: a cross-sectional study. Asian Pacific Prion Symposium 2014. Jeju, Korea, July 6-7, 2014
  - 20) Maya Higuma, Nobuo Sanjo, Yoko Ito, Fumiko Furukawa, Hiroshi Mitoma, Hidehiro Mizusawa. Relationship between gait and cognitive function in patients with Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference 2013, Copenhagen, Denmark, Jul 12-17, 2014
  - 21) 能勢 裕里江、三條 伸夫、椎野 顯彦、水澤 英洋、横田 隆徳. 多発性硬化症と視神経脊髄炎における灰白質萎縮の比較と関連因子の検索. 第26回日本神経免疫学会, 金沢, 2014年9月5日
  - 22) 喜納里子, 三條伸夫, 古木美紗子, 横田隆徳, 水澤英洋. 肥厚性硬膜炎 17 症例の臨床経過と再発予防の検討. 第26回日本神経免疫学会, 金沢, 2014年9月5日
  - 23) 佐野 達彦、西 李衣子、三條 伸夫、水澤英洋、横田 隆徳. 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症に伴う末梢神経障害の長期予後の解析. 第26回日本神経免疫学会, 金沢, 2014年9月4-6日
  - 24) 浅見裕太郎, 宮下彰子, 西季衣子, 小野大介, 能勢裕里江, 古川迪子, 西田陽一郎, 三條伸夫, 水澤英洋, 横田隆徳. 発熱, 紅斑, 好酸球増多, 不随意運動を伴い劇症型 Guillain-Barré 症候群が疑われた 48 歳女性. 第26回日本神経免疫学会ケーススタディ, 金沢, 2014年9月6日
  - 25) 横手裕明、能勢裕里江、渡辺有希子、網野猛志、鎌田智幸、三條伸夫、横田隆徳. 多発性硬化症における脳灰白質萎縮に関連する因子の検討. 第26回日本神経免疫学会, 金沢, 2014年9月4日.
  - 26) 古川迪子, 三條伸夫, 日熊麻耶、小林篤史, 北本哲之, 中村好一, 村山繁雄、辻省次、山田正仁、水澤英洋. プリオン蛋白遺伝子コドン 105 変異 (P105L) による Gerstmann-Sträussler- Scheinker 症候群(GSS)の臨床像 —GSS(P102L)との比較解析—. 第19回日本神経感染症学会総会学術集会, 金沢, 2014年9月4日.
  - 27) 三條伸夫, 喜納里子, 能勢裕里江, 石橋哲, 宍戸-原由起子, 中道一生, 西條政幸, 前原健寿, 江石義信, 水澤英洋. メフロキン治療が有効な進行性多巣性白質脳症における脳の病理学的特徴. 第19回日本神経感染症学会総会学術集会, 金沢, 2014年9月5日.
  - 28) 浜口 毅, 坂井健二, 野崎一朗, 篠原もえ子, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 村山繁雄、佐藤克也、原田雅史、水澤英洋, 山田正仁. MM2 型 孤 発 性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床的特徴について. 第19回日本神経感染症学会総会学術集会, 金沢, 2014年9月6日.
  - 29) 能勢裕里江、三條伸夫、尾崎心、石川欽

- 也、李 鍾昊、三苦博、笥慎治、大川淳、水澤英洋、横田隆徳. 表層シデローシスに対する瘻孔閉鎖術と鉄キレート剤(deferiprone)の有効性とその評価方法の検討. 第32回日本神経治療学会総会. 東京. 2014年11月22日.
- 30) 伊藤 陽子、日熊 麻耶、松本 裕希子、三條 伸夫、横田 隆徳. 改訂版ウェクスラー記憶検査(WMS-R)の経時的変化によるコリンエステラーゼ阻害剤の効果の評価. 第33回日本認知症学会学術集会. 横浜. 2014年11月30日.
- 31) 日熊麻耶、三條伸夫、三苦博、横田隆徳. アルツハイマー病患者における1日運動量と認知機能の関連. 第33回日本認知症学会学術集会. 横浜. 2014年12月1日.
- 32) 三條伸夫、テムチナ、日詰正樹、新竜一郎、佐藤克也、小林篤史、北本哲之、山田正仁、水澤英洋. V180I変異遺伝性プリオン病の臨床・病理解析. 第33回日本認知症学会学術集会. 横浜. 2014年11月30日.
- 33) 市野瀬慶子、三條伸夫、山口純司、佐野達彦、大久保卓哉、石橋哲、江石義信、水澤英洋、横田隆徳. 慢性ミオパチー型筋サルコイドーシスの臨床徴候と病理所見の解析. 第180回サルコイドーシス/肉芽腫性疾患研究会. 東京. 2014年12月6日.

#### 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

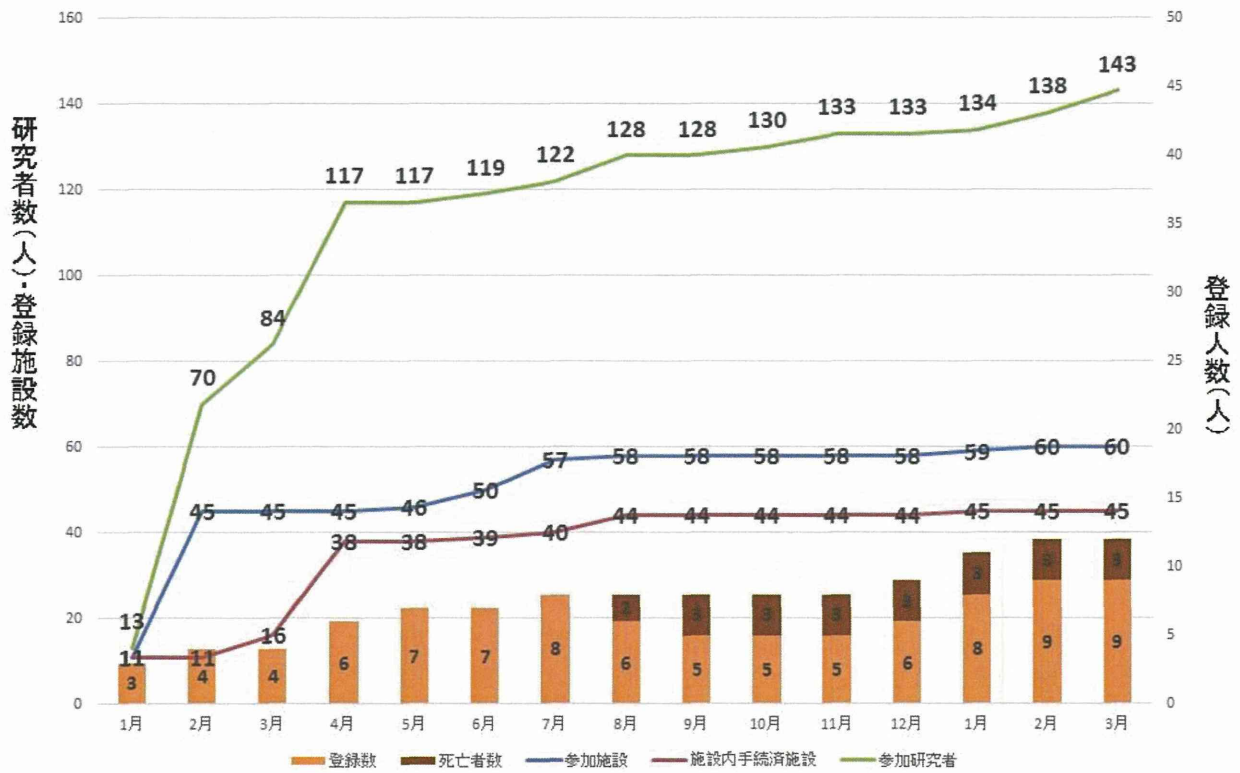
なし

##### 3.その他

なし

図. 登録研究者・施設と登録症例の推移・経過

◆研究参加施設・研究参加研究者数



## プリオン感染サルの症状解析、及び脳病理診断

分担研究者 小野文子 千葉科学大学 機器管理学部 准教授

### 研究要旨

認知症を伴う神経変性疾患の治療薬評価には高次脳機能解析が可能な霊長類モデルでの評価が必要である。しかし、アルツハイマー病等においては自然発症以外のモデル動物は開発されていない。本研究では、難治性疾患であるプリオン病の治療法開発研究に、プリオン病発症モデル動物として確立している C-BSE 由来プリオンサル継代株を脳内接種したカニクイザルを用いて、低分子シャペロン P092 治療効果について検証した。発症前投薬群では、非投薬群に比べ、神経症状、精神症状および高次脳機能低下発現の遅延が認められ有効性が示唆された。また、病態発現および治療効果を評価する目的で、病理組織標本の画像解析システムの構築を行った。

### A. 研究目的

C-BSE由来プリオンサル継代株を脳内接種したカニクイザルは高い再現性でプリオン病を発症する。本研究では、この発症モデル系に低分子シャペロンP092塩の投薬し、神経・精神症状、高次脳機能を解析し、治療効果について評価を行うことを目的とする。また、病理組織学的検索を行う上で、空胞変性、グリア増生、異常プリオンの沈着の評価系を確立する目的で画像解析システムの構築を行うこととした。

### B. 研究方法

#### 1. 行動観察（神経・精神症状評価）

神経・精神症状の評価は、C-BSE 継代株接種前より、定期的にビデオ撮影を行い、発症後スコアリングに必要な症状を抽出し、再評価を行った。ビデオ撮影は 15 分間実施し撮影開始 5 分後に給餌を行い、摂食行動の観察を行った。神経・精神症状評価の抽出は、下記の人プリオン病指標項目について、サルの行動から客観的にスコアリングできる指標を作成した。

#### プリオン病主要観察項目

(1) 神経症状：運動失調、振戦、ミオクロヌス、姿勢反射障害、動作緩慢、痙性歩行、筋力低下、歩行不能

(2) 精神症状：抑鬱状態、自傷行為、食欲不振、あくび、驚愕反応、不穏

#### 2. アップルテスト（運動機能評価）

アップルテストは両手指の運動機能障害の程度を評価する試験であり、ホームケージにセットしたトレイ上に報酬（リンゴ片）をおき、左右それぞれの手を使って、報酬をつかみ取る動作をビデオ撮影し前肢運動機能・神経症状について

解析した。

#### 3. 食物回収試験（高次脳機能解析）

高次脳機能評価の手法として、空間的記憶容量の評価系である食物回収課題（FRT）を実施した。

食物回収課題装置は、架台・透明アクリル製パネル（28cm×28cm×2cm）・パネル背面から撮影するカメラで構成される。パネルには縦3列、横3列の計9個の穴（報酬穴；直径2cm、深さ1cm、穴と穴との間隔は8cm）が開いている。実験前にサルのホームケージの前扉の横格子をはずし縦格子に切り替え、サルの手がケージ外に出るようにした。

食物回収課題は3課題（予備訓練、コントロール課題、テスト課題）からなる。予備訓練ではフタなしのパネルを、コントロール課題では報酬穴をアクリル製の透明なフタで覆ったパネルを、テスト課題では報酬穴をアクリル製の不透明なフタで覆ったパネルを用いた。以下に詳細な手続きを示す。

実験者はパネル背面よりすべての穴に報酬（リンゴ片）を入れ、パネル全面をプラスチック板で覆った状態でサルのケージ前面にパネルを配置する。ビデオの撮影を開始し、プラスチック板をパネルから取り去り（試行の開始）サルがすべての報酬を取り終わったら実験者はただちにプラスチック板でパネルを覆った（試行の終了）。予備訓練により、全ての穴から報酬を取ることができるようになったら、コントロール課題を実施する。コントロール課題によりサルがパネルの蓋を開く動作を覚え全ての報酬を回収できるようになったら、テスト課題に進む。

テスト課題は誤ストロークの有無にかかわらず、5セッション分のデータを得るまで継続し

た。高次脳機能評価については、試験へのモチベーションにおいて個体差があることから、2段階での評価を行った。1試験5セッションの中で、9穴中、連続で9個の報酬を回収したセッションの回数を完全正答数、8個まで連続で回収した場合を準正答数とした。また、9個回収までに間違った回数を総エラー回数、8個回収までに間違った回数を準エラー回数として、各試験5セッションの平均値を算出した。また、空間記憶能評価を行う上で影響する、神経症状および、精神症状の指標として、FRTの所要時間と試験続行不能となった報酬の個数についても算出した。

#### 4. 病理組織検索

発症サルの病理組織検索は、ホルマリン固定後、BSE確認検査マニュアルに準じて、蟻酸処理後、パラフィン包埋し薄切標本を作製する。標本は脱パラフィン後、HE染色を実施した。免疫染色は135°Cオートクレーブ処理後、C-末ペプチド由来の抗プリオン抗体(T4)によるIHC法を実施した。また、GFAP染色によりグリア増生レベルについて解析を行うため、上記3種類の組織標本を作製した。

HE染色標本においては空胞変性領域、抗プリオン抗体染色標本ではPrPsc沈着領域、GFAP染色ではクリア増殖領域の画像解析を行うための独自の解析プログラムの構築について検討を行った。プログラム構築については下記条件を満たす仕様での開発を行った。本研究における解剖サンプルは現在病理組織標本作成のため、C-BSE発症サルの標本の提供を受け解析方法について検討を開始した。画像解析システム構築にあたり、下記条件を満たす解析装置Definiens XDを導入した。

- (1) 細胞、組織から生体まで幅広い対象を正確に解析するための画像解析システムである。従来技術であるピクセルベースの解析では認識できない複雑な構造物を認識できるような特有の技術を有しており、解析対象を正確に定量できる必要がある。
- (2) 免疫染色標本の核の計数、細胞膜、細胞質のグレーディングについては、スライダーによる微調整など簡易な操作で解析を実現できる必要がある。
- (3) 浜松ホトニクス社のNanoZoomerから出力される画像形式(NDPI)を直接読み込んで解析できる必要がある。

(倫理面への配慮)

本動物実験計画は「厚生労働省の所管する実施

機関における動物実験等の実施に関する基本指針」を遵守し、基盤研動物実験委員会の審査承認を受け、動物愛護精神に基づき研究を行っている。

### C. 研究結果

#### 1. 神経・精神症状評価

発症サルの行動観察より、神経症状および精神症状の各項目について、サルの客観的指標を作成した(表1)。接種後487日目より、作成したスコア表に基づき連日観察を実施した。観察スコアを各指標で加算し、1週間分のデータの平均値を求めた(図1)。なお、487日以前のスコアについては1週間に1回撮影しているビデオよりデータを抽出することとした。

P092を投与しない非投与群(C; Control)の2頭では接種後66週頃より軽度の神経症状が観察され、C-BSE接種後70週目頃より臨床症状は進行した。症状は神経症状に先行して精神症状のスコアが上昇した。精神症状は接種後73週目頃からはその進行は緩徐となったが、神経症状のスコアは直線的に漸増し、加算したスコアが8に到達した時点で安楽死とした。C群にわずかに遅れて発症初期症状を認めた2頭を発症後投与群(AOS; after onset of symptoms)として、接種後70週目よりP092の投与を開始した。投与開始後、2頭中1頭についてはC群と同様の臨床経過で発症した。2頭中1頭においては接種後染80週目まで症状の進行は抑制された。発症前投与群(BOS; before onset of symptoms)は、C-BSE接種後41週目にP092の投与を開始した。BOS群はC群と比較し、神経症状および精神症状発現の明らかな遅延が認められた。

#### 2. 運動機能評価

アップルテストとFRTによる運動機能評価について、C-BSE接種後36から76週目までの期間について解析を行った(図2)。今後接種前および、76週目以降については解析を進める。C群および、AOS群の1頭において、1)の神経症状の進行と同様の経過で運動機能の低下が認められた。AOS群の2頭中1頭において、発症前一過性に運動機能の低下が観察されたが、投薬開始後正常値に回帰した。BOS群においては解析を行った期間、運動機能は維持されていた。投薬開始後14週目に一過性に運動機能低下が認められたが、連続点滴の影響と考えられ、隔週投与に変更したところ、症状は改善した。

#### 3. 高次脳機能評価

低分子シャペロン P092 塩の治療効果について、カニクイザルプリオン病発症モデル系に投薬し、食物回収試験による空間記憶能について、C-BSE 接種後 36 から 76 週目までの期間について解析を行った(図3)。今後接種前および、76 週目以降については解析を進める。

BOS 群の # 3 は接種後、空間記憶能を維持し、接種後 64 週目まで、40%以上の正答数を維持していた。# 4 は接種後 36 週より、正答数は低くエラー数が多い個体であったが、いずれも、接種後 68 週目頃より、エラー数の増加傾向が認められた。AOS 群の # 1 は接種後 52 週目頃まで 40%の正答数が認められていたが、その後急激に正答数が低下し、エラー数の上昇が認められ、70 週頃より、神経症状進行に伴い FRT 所要時間が延長した。# 5 は、発症前一過性に試験に対するモチベーションが低下し不可個数が上がったが、投薬開始後、正答数の回復傾向が認められた。

C 群の # 2 は、エラー数の増加先行後、神経上昇、精神症状 (FRT 所要時間、不可個数) の進行が示唆された。# 6 は接種後 50 週目より、試験に対するモチベーションが消失し、作業手順に対する認知能低下症状が示唆された。

## 5. 病理組織検索

C-BSE 発症カニクイザルの病理組織標本を用いて、高精度画像解析システムでの評価系確立の検討を行った(図4)。本システムにおいて、HE 染色標本による空胞変性の解析、免疫染色による PrPsc 陽性部位の解析および、GFAP 染色によるグリア細胞の解析に特化し、下記の性能を有する仕様に構築した。本システムで解析したヒートマップを図4に示す。今後解析データを用いて病変分布、臨床書状と治療効果の評価について検討を進める。

### (1) 画像解析プラットフォーム

- 1.1. 特許技術 **Cognition Network Technology** を使ったオブジェクトベースの解析により、研究者の認知判断を解析ルールに適応できること。
- 1.2. セグメンテーション方法が 7 種類以上あり、セグメンテーションの結果得られる断片に任意にクラスを割り当てられること。
- 1.3. あるクラスに囲まれる、あるクラスと接するといった断片間の関係性を条件としてクラスを定義できること。
- 1.4. 解析像のレイヤーを複数作成して、それらに階層関係をもたせることができる。下層にある解析像のレイヤーとの関係性を条件にクラスを割り当てることができること。
- 1.5. 複数の画像を一括処理する際に、ROI 抽

出のための閾値を個々の画像に対して自動で決定する機能をもつこと。

- 1.6. すべての解析アルゴリズムの内容が使用者に開示されていること。
- 1.7. 浜松ホトニクス社の NanoZoomer から出力される画像形式(NDPI)を直接読み込んで解析できること。
- 1.8. バッチ処理により複数の画像を一括で解析できること。
- 1.9. PET、SPECT、X線 CT 等の 3D 及び 4D 画像の解析ができること。

### (2) 病理画像解析アプリケーション

- 2.1. (1)で規定した画像解析プラットフォーム上で動作すること。
- 2.2. 免疫染色画像の核を計数して、輝度に応じてグレーディングできること。また、細胞膜、細胞質の輝度に応じてグレーディングできること。
- 2.3. 認識したすべての核の面積、周長、真円度等の値を一覧で出力できること。
- 2.4. 組織画像(HE 染色、免疫染色)上の ROI を学習機能により認識できること。
- 2.5. TMA(組織アレイ)、蛍光画像を解析できること。
- 2.6. 浜松ホトニクス社の NanoZoomer から出力される画像形式(NDPI)を直接読み込んで解析できること。
- 2.7. バッチ処理により複数の画像を一括で解析できること。

## D. 考察

C-BSE 脳内接種カニクイザルによる、プリオン病モデル動物を用いた P092 塩治療効果について解析を行ったところ、発症前投薬群では非投薬群と比較し、発症の遅延が明らかであった。発症後投薬群においては、発症遅延サルと非投薬群と同時期に発症したサルに分かれた。発症後の投薬時期については、明確な神経・精神症状発現を指標としたが、感染サル由来材料である、唾液、尿、脳脊髄液を用いた早期診断系確立により、治療効果の高い時期での投薬開始により、症状発現を遅延させることが可能と考えられた。病理組織検索において、従来はプリオンの局在や病変についての診断は行われていたが、脳全体を解析し症状発現機序および治療効果局在についての解析は行われていなかったことから、現在開発しているシステムを用いることにより、より詳細な解析を行うことが可能と考えられる。

## E. 結論

C-BSE 継代株脳内接種カニクイザルによる、プリオン病モデル動物を用いての P092 塩治療実験で、臨床症状および高次脳機能評価系により有効性が示唆された。発症遅延機序の解明、最適治療効果について解析を行うことにより、難治性疾患プリオン病患者の QOL 向上に寄与するものと考えられた。また、病理組織学的解析システムの構築により、PrPsc の沈着、空胞変性誘導、グリア増生の関連について解析し、症状発現および抑制のメカニズム解明を行っていく。さらに、今回接種した C-BSE 由来株はヒト vCJD モデルに近似しており、L-BSE 由来株を接種したサルは、ヒト孤発性 CJD モデルとして有用性が示唆されていることから、本剤の有効性と機序の解明、比較検討が重要と考えられた。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

1) Kimura N1, Okabayashi S, Ono F.  
Dynein dysfunction disrupts  $\beta$ -amyloid clearance in astrocytes through endocytic disturbances. Neuroreport. 2014 May 7;25(7):514-20.

2) Murayama Y, Masujin K, Imamura M, Ono F., Shibata H., Tobiume M, Yamamura T, Shimozaki N, Terao K, Yamakawa Y, Sata T. Ultrasensitive detection of PrPSc in the cerebrospinal fluid and blood of macaques infected with bovine spongiform encephalopathy prion. J. Gen. Virol. 95(11): 2576-2588.

## H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし



表1-1 サルプリオン病神経症状観察指標

		観察指標	スコア
1	筋力低下 (立ち上がり)	正常	0
		一度でうまくいかない	1
		ケージに腕をついて立ち上がる必要がある。	2
		立ち上がろうとして倒れこむ。	3
		立ち上がることができない。	4
2	姿勢反射障害・痙性歩 行(転倒)	なし	0
		ケージに上ろうとして滑り落ちることがある。	1
		起立、歩行時バランスをくずす。	2
		歩行時たまに転倒	3
		頻繁にバランスをくずし転倒	4
3	流涎	正常	0
		流涎わずか	2
		常に流涎	4
4	動作緩慢	なし	0
		わずかに緩慢、慎重にやっているように見える	1
		軽度動作緩慢、運動量低下	2
		高度動作緩慢。運動の大きさ低下	3
		無動	4
5	ミオクローヌ ス	なし	0
		観察中まれに、四肢、体躯、頭部等がピクッと動く	1
		観察中たまに、四肢、体躯、頭部等がピクッと動く	2
		びくっとした動きが明確	3
		動作時等頻繁にピクッと動く。	4
6	振戦	なし	0
		軽度:時にわずかに見られる程度	1
		中等度:気になる程度のふるえ	2
		高度:かなり日常生活の障害となる。	3
		きわめて高度:大部分の日常生活の妨げ	4

表1-2 サルプリオン病精神症状観察指標

7	抑うつ 状態	なし	0
		時々奥に引きこもる。	1
		背中を向けたまま、頭はかかえていない。	2
		頭をかかえこむ。	3
		ケージの奥で頭をかかえた姿勢のままを続ける。	4
8	搔痒感	搔痒行動は認められない	0
		まれに体を掻く動作(1回)	1
		散発的に体を掻く動作(2~3回)	2
		頻繁に体を掻く動作(4~5回)	3
		常に体を掻く動作をする(6回以上)	4
9	驚愕反応	手をかざしても、威嚇程度通常反応	0
		手をかざすと、びくっとして飛び退きその後戻る	1
		驚愕反応のあとも、びくつく。	2
		驚愕反応のあとバランスをくずす	3
		わずかな刺激に反応し、体のバランスを保てなくなる。	4
10	無動性 無言	観察者が立つと通常の反応	0
		かざした手を認識するが、反応低下	1
		かざした手に無反応	2
		全く外界に対応できな無動の時間が出現	3
		無動、目も動かさない	4
11	自傷行動	自傷行動は認められない	0
		まれに自傷行動(外傷なし)	1
		散発的に複数個所の自傷行為(外傷なし)	2
		自傷行為により外傷が認められる。	3
		自傷行動による外傷が認められ夢中になって行う。	4
12	あくび	観察中あくびなし	0
		観察中1回	0.5
		観察中2回	1
		観察中3回以上	2
		観察中5回以上	3
13	無表情	正常	0
		わずかな表情の乏しさ	1
		軽度であるがはっきりした表情の乏しさ	2
		表情が乏しく、観察者への反応低下	3
		著明な表情の乏しさ、威嚇しない	4
14	食欲不振	固形飼料、青果についてそれぞれ:完食0、1/3程度残: 1、半分以上残:2、未食:3と記録し、[(固形飼料スコ ア)+(青果スコア)-2]の数値をスコアとする。	0~4

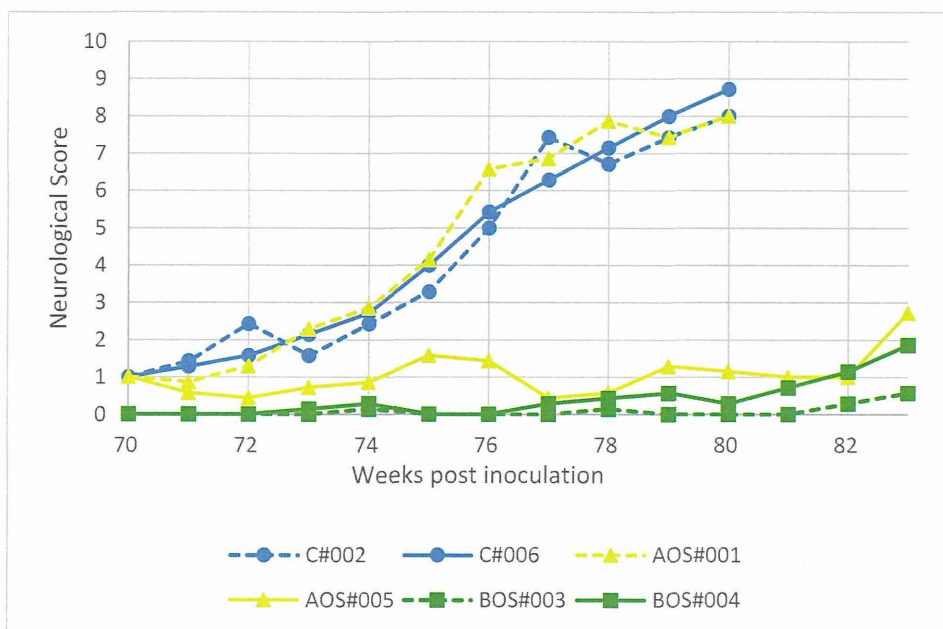


図1-1 BSEプリオン感染サルへの神経症状スコアの変動

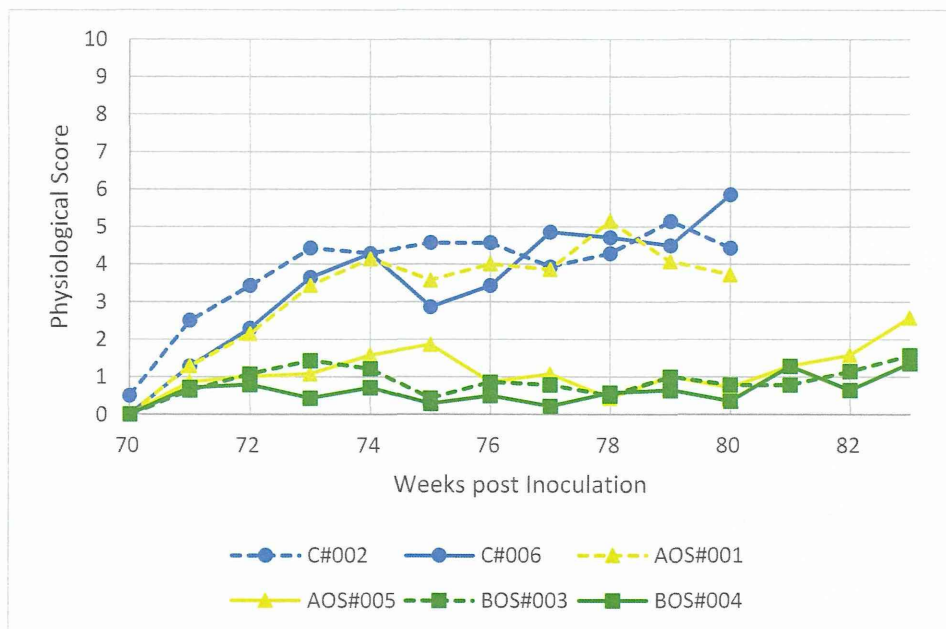


図1-2 BSEプリオン感染サルへの精神症状スコアの変動

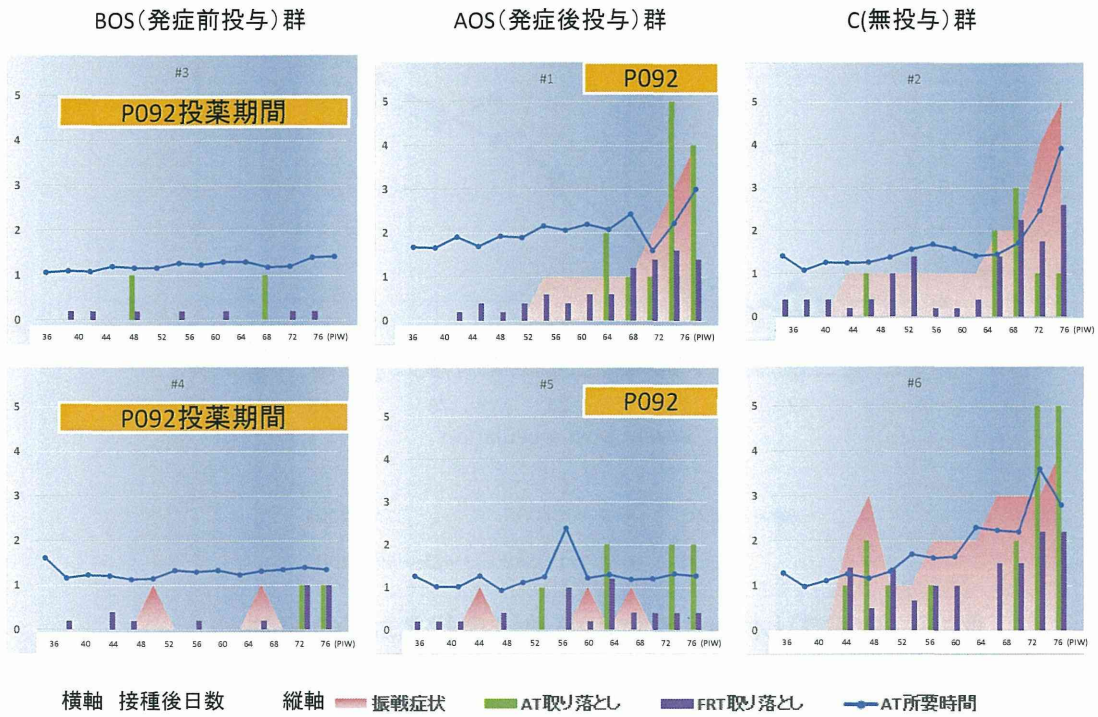


図2-1 BSEプリオン感染サルの振戦症状発現と運動機能障害の変動

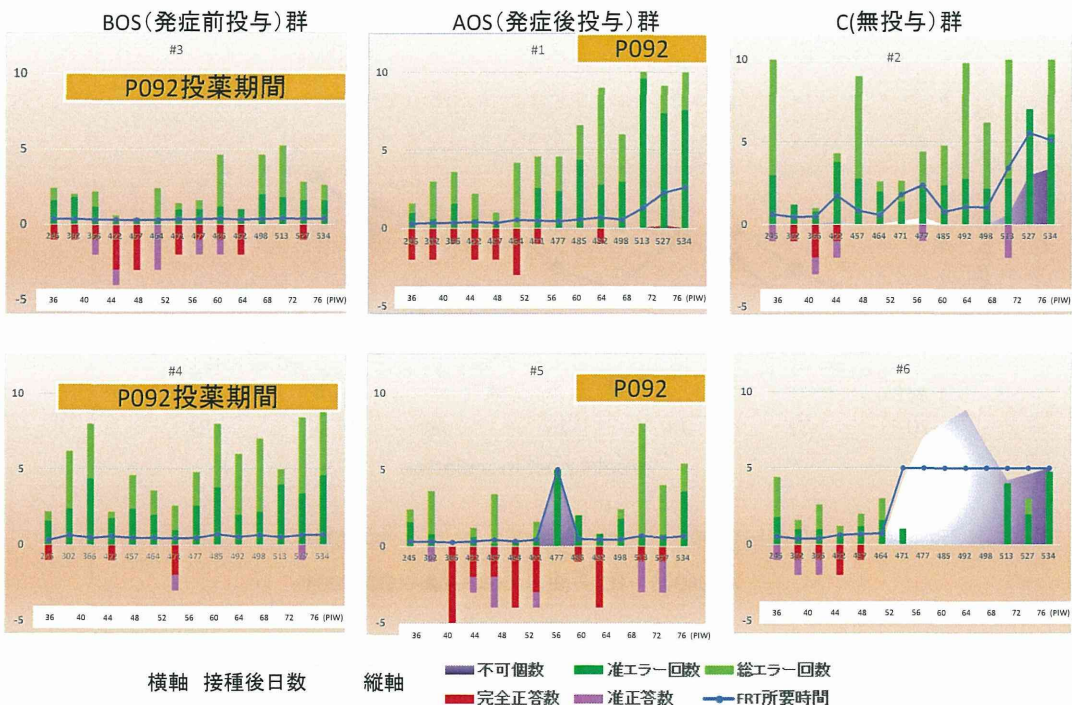
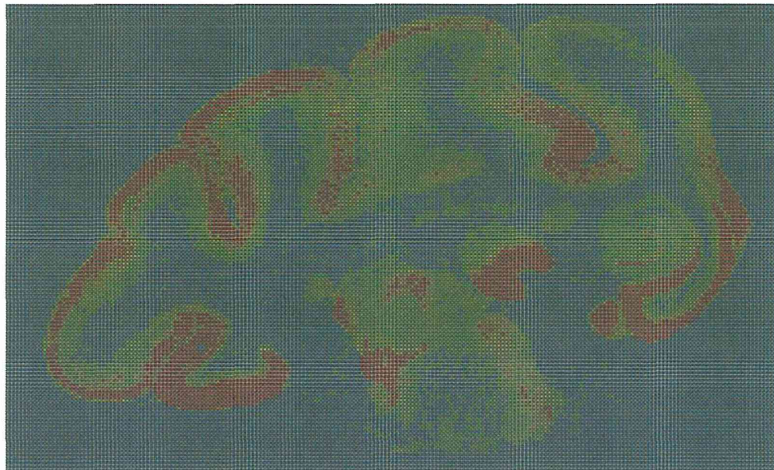


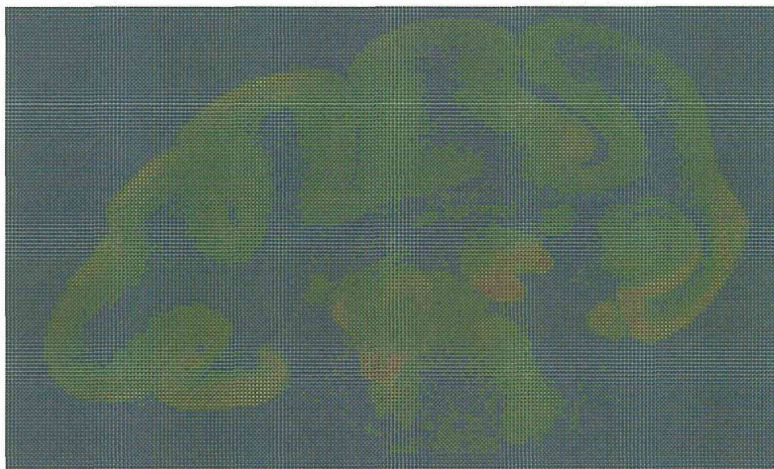
図2-2 BSEプリオン感染サルの高次脳機能障害の変動



Area of PrPsc



Number of PrPsc



Rate of PrPsc

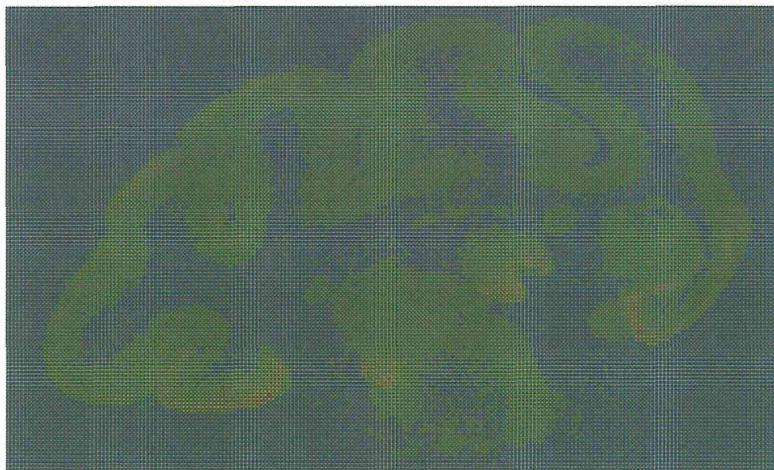


図3 C-BSE発症カニクイザルにおけるPrPsc沈着ヒートマップ