



「プリオン病の超早期診断の試み」

西田 教行 先生

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

■ Profile

平成3年3月	琉球大学医学部医学科 卒業
平成3年6月	長崎大学医学部附属病院第2内科入局（研修医）
平成5年～平成9年	長崎大学大学院 医学研究課程
平成9年4月（3年間）	日本学術振興会特別研究員（PD）
平成10年10月（2年間）	フランス国立人類遺伝学研究所留学（PD）
平成13年1月	長崎大学大学院医学部 助手
平成16年1月～7月	米国エール大学医学部 客員助手
平成17年4月	岐阜大学人獣感染防御研究センター 助教授
平成17年6月～10月	米国エール大学医学部 客員助教授
平成18年4月	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授
平成21年7月1日～現在 （平成24年4月より）	同上 教授就任（感染分子解析学分野） 新興感染症病態制御系専攻 専攻長

■ 概要

認知症対策はすでに超高齢化が始まった日本の緊急課題の一つである。厚生労働省の研究班は65歳以上の認知症有病率を15%と推計し、2012年時点で約462万人と算出している。10年後、団塊の世代が75歳を超え、後期高齢者になるとその数は数倍に膨れあがるとされる。その認知症疾患の中には、症状が緩徐に進行する通常の認知症とは異なり、月単位（ときには週単位）にて急速に進行する“急速進行性認知症”が少なからず存在する。急速進行性認知症の原因疾患の約6割はクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）を初めとするヒトプリオン病であり、残りはアルツハイマー型、レビー小体型認知症など神経変性疾患、血管内リンパ腫と呼ばれる特殊な腫瘍性疾患、橋本脳症などの自己免疫性脳症、クリプトコッカス菌や結核菌などの感染症が引き起こす脳症など多様である。専門医であっても原因診断に苦慮することは少なくない。現時点でプリオン病に対する有効な治療法はないが、非プリオン病では早期に原因疾患を診断し適切な治療を開始すれば、後遺症を残すことなく社会に復帰することができる。こうしたことから急速進行性認知症の非プリオン病患者の原因診断のための、新たな簡易な検査方法の必要性が高まっている。我々はこれまでプリオン病の生前診断を確立するために、脳脊髄液中の14-3-3蛋白およびタウ蛋白の測定法開発、さらには脳脊髄液中の極微量の異常プリオン蛋白の検出方法の開発を行ってきた。世界で初めてヒトの脳脊髄液から異常プリオン蛋白を検出する高感度かつ非常に特異性の高い検査法 RT-QUIC 法を確立した。最新の研究成果について紹介する。

プリオン病の早期診断の試み

長崎大学医歯薬学総合研究科
西田教行

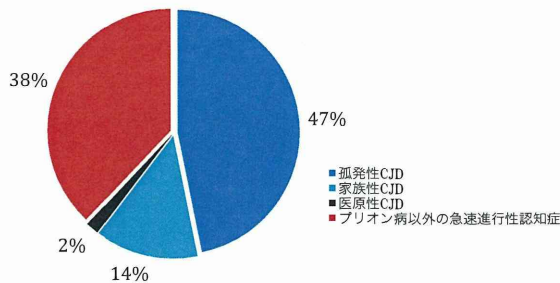
1

国内のCJD発生状況まとめ

- CJDサーベイランス委員会は、1999年4月から2009年9月までに1,324例のプリオン病を同定した（probableを含む）。
- 年平均130例ほど
- 病型別にみると、孤発性CJDが77%、遺伝性プリオン病が16.6%、硬膜移植後CJDが6.0%、変異型CJD 0.1%（1例）であった。
- 硬膜移植例は過去の調査によるものを合計すると138例となった。
- 硬膜移植CJDの発生は減少傾向にある。硬膜移植後から発症までの年数の最長は30年であった。まだ10年はfollowが必要。

2

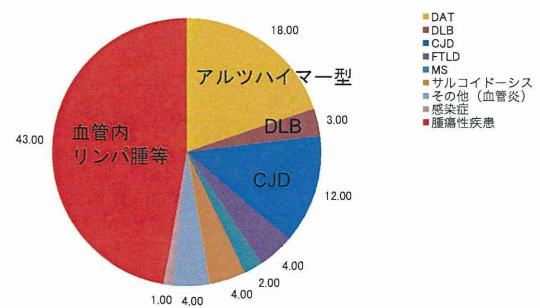
急速進行型認知症の原因疾患内訳(米国)



週、あるいは月単位で症状が急速に悪化する認知症群

3

脳生検による診断(米国)

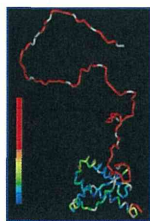


4

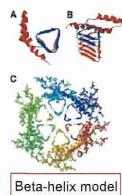
正常プリオン蛋白と異常プリオン蛋白

正常プリオン蛋白 異常プリオン蛋白

蛋白分解酵素感受性
易溶解性



蛋白分解酵素抵抗性
不溶性・アミロイド性



5

タンパク質の構造変換(異常化)

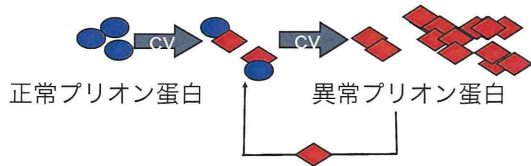


正常型は使用中のパイプ椅子、異常型は収納時のパイプ椅子をイメージしてもらえるとわかりやすい

6

「プリオン病の超早期診断の試み」 西田 教行 先生

蛋白単独犯仮説 (いわゆるプリオン仮説)

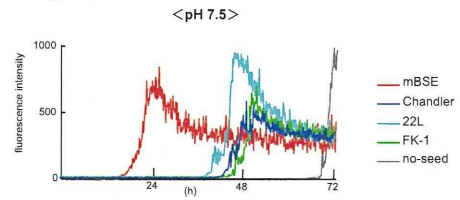


試験管内で正常プリオン蛋白を異常にする
“Shaking”や超音波照射が鍵!

7

試験管内異常プリオン増幅 (RT-QuIC法)

- rMoPrP: 10µg/100µl
- seed: 100pg/100µl PrP-res



Thioflavin T (ThT)
Excitation : 442 nm
Emission : 482 nm



8

国内のCJD患者の髄液検査結果

No.	Age(yr)	Sex	CJD typing	PrP ^{Sc} type	14-3-3 γ in CSF by ELISA	RT-QuIC
C1	68	M	sporadic	MM1	+	+(3/4)
C2	66	F	sporadic	MM1	+	+(2/4)
C3	71	F	sporadic	MM1	+	+(1/4)
C4	57	F	sporadic	MM2	+	+(2/4)
C5	70	M	sporadic	MM2	+	+(2/4)
C6	66	M	sporadic	MM2	+	+(2/4)
C7	60	F	sporadic	MM2-T	negative	negative (0/4)
C8	73	F	sporadic	MM2	+	+(4/4)
C9	74	M	sporadic	MM2	+	negative (0/4)
C10	79	F	sporadic	MM2	+	+(2/4)
C11	65	F	sporadic	MM2	+	+(4/4)
C12	69	M	sporadic	MM2	+	negative (0/4)
C13	69	F	sporadic	MM2	+	+(3/4)
C14	54	F	sporadic	MM2	+	+(3/4)
C15	76	F	sporadic	MM2	+	+(2/4)
C16	68	M	sporadic	MM2	+	+(4/4)
C17	58	F	dura	MM1	+	+(3/4)
C18	79	F	dura	MM1	+	+(3/4)

15 of 18 cases (83.3%) were positive for RT-QuIC

9

オーストラリアの患者髄液を用いて

	感度	特異度
RT-QuIC	87.5% (14/16)	100% (14/14)
14-3-3 γ (ELISA)	93.8% (15/16)	92.8%(13/14)

16 cases of CJD; 14 cases of DAT and others

10

まとめ

- RT-QuIC法によって、脳脊髄液中の超微量の異常プリオン蛋白が増幅され、検出可能となった
- 髄液検査 Tau(ELISA), 14-3-3γ(ELISA), RT-QuICの組み合わせにより、高い精度で生前にCJDを確定診断できると思われる

11



「プリオン病治療実験モデル系確立の試み - 免疫療法と細胞治療の可能性 -」

堀内 基広 先生

北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室 教授

■ Profile

学歴および学位

1986 (昭和 61) 年 3 月	北海道大学 獣医学部卒業
1988 (昭和 63) 年 3 月	北海道大学 大学院獣医学研究科修士課程修了
1994 (平成 6) 年 6 月	北海道大学 獣医学博士
1988 (昭和 63) 年 4 月	日本ロシユ株式会社 研究員
1989 (昭和 64) 年 1 月	帯広畜産大学 畜産学部 助手
1995 (平成 7) 年 6 月	帯広畜産大学 原虫病分子免疫研究センター 助教授
1997 (平成 9) 年 7 月から	1999 (平成 11) 年 6 月
	米国国立衛生研究所 ロッキー山研究所 訪問研究員
2000 (平成 12) 年 4 月	帯広畜産大学 原虫病研究センター 助教授
2003 (平成 15) 年 8 月	北海道大学 大学院獣医学研究科 教授 (現在に至る)

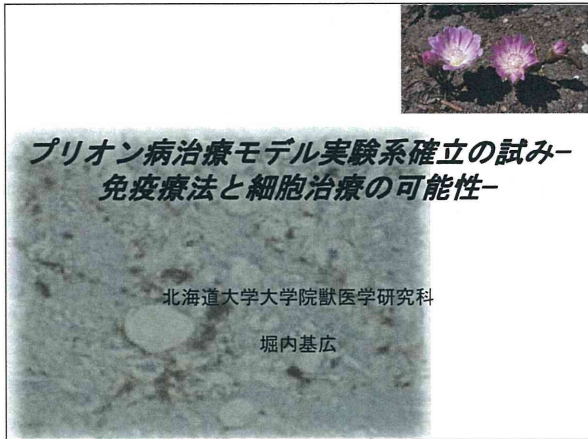
社会活動など

2002 (平成 14) 年 12 月	厚生労働省 BSE の検査に関わる専門家会議委員 (現在に至る)
2003 (平成 15) 年 8 月	2014 年 3 月 内閣府食品安全委員会プリオン専門調査会委員
2007 (平成 19) 年 1 月	厚生労働省 薬事・食品衛生審議会臨時委員 (現在に至る)
2007 (平成 19) 年 9 月	農林水産省 食料・農業・農村政策審議会専門委員 (現在に至る)

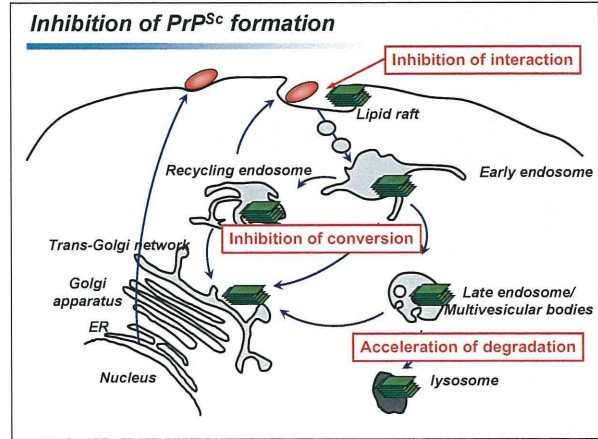
■ 概要

プリオン病の治療には、病原体（プリオン）の増殖を抑制すること、および神経細胞の保護あるいは変性した神経組織の再生が必要である。これまで、プリオン持続感染細胞および試験管内転換反応を用いて、プリオンの増殖（異常型プリオンタンパク質 PrP^{Sc} の産生）を阻害する化合物や方法が多数報告されている。これらのうち幾つかは動物体内でもプリオンの増殖を阻害する。しかし、「治療」という視点で、発病後に処置を開始しても病気の進行を抑制できる方法は少ない。我々は、抗 PrP 抗体のプリオン増殖抑制効果と間葉系幹細胞（MSCs）を用いる細胞治療に着目して、これらのプリオン病の治療への応用の可能性について検討してきた。

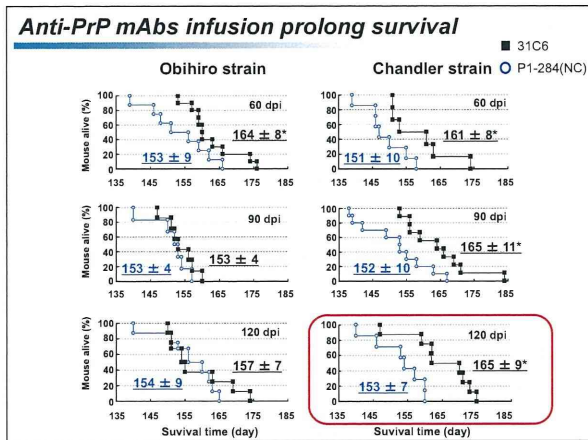
抗 PrP 抗体はプリオン持続感染細胞の PrP^{Sc} の産生を阻害することはよく知られている。この抗体をプリオン感染マウスの発症初期に脳室内に持続投与あるいは尾静脈から投与してもマウスの生存期間が延長した。この結果は、抗 PrP 抗体が脳内でのプリオンの増殖を阻害することを示している。骨髄由来 MSCs は末梢から投与しても、脳虚血、脳腫瘍などの病変部位に集簇し、病状の改善に寄与することが知られている。プリオン感染マウスの発症初期に MSCs を脳に移植あるいは尾静脈から移植すると、マウスの生存期間が延長した。移植した MSCs は病変部特異的に集簇して神経栄養因子を産生するようになった。この結果は、MSCs は神経保護的に作用すること、および、プリオン増殖抑制活性を有する遺伝子のベクターとして機能することを示すものである。以上の結果を基に、免疫療法と細胞治療の組み合わせによるプリオン病治療法の可能性を探っている。



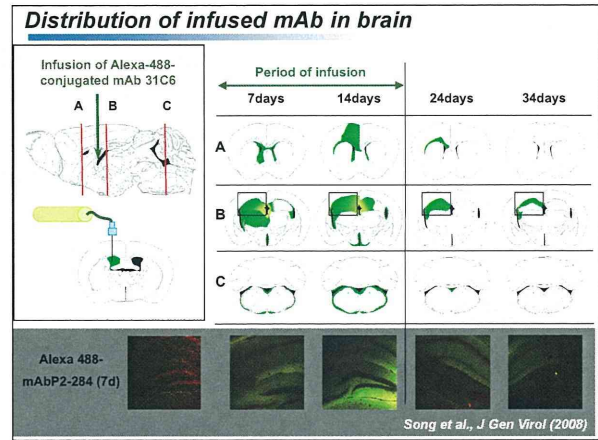
1



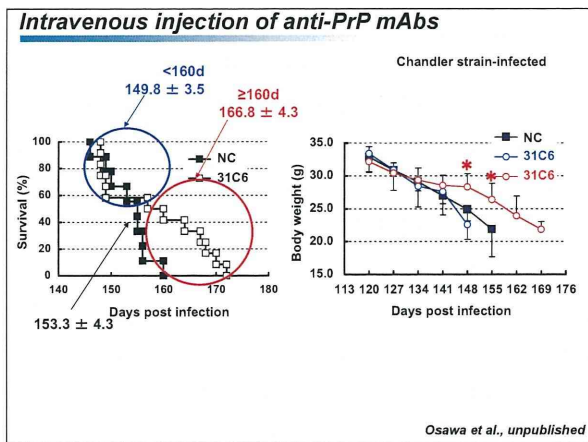
2



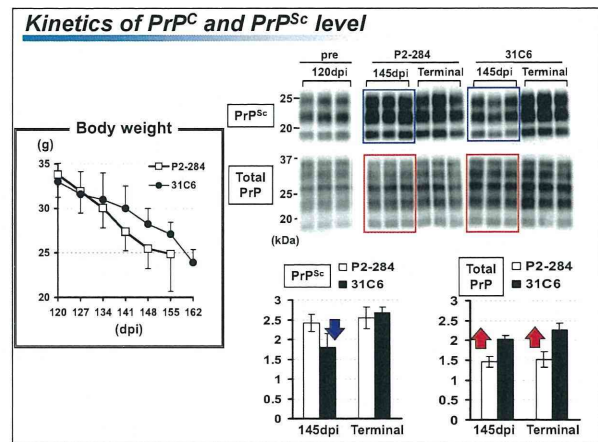
3



4

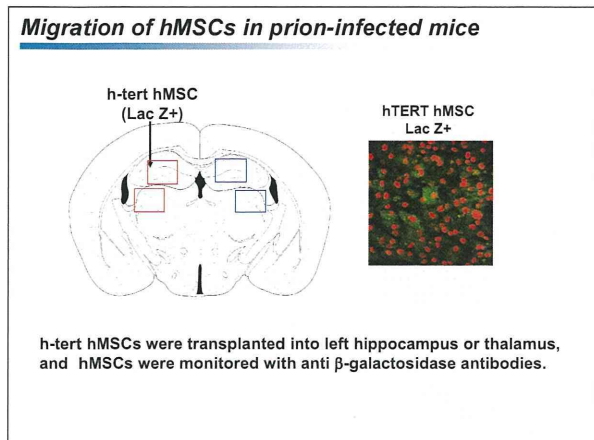


5

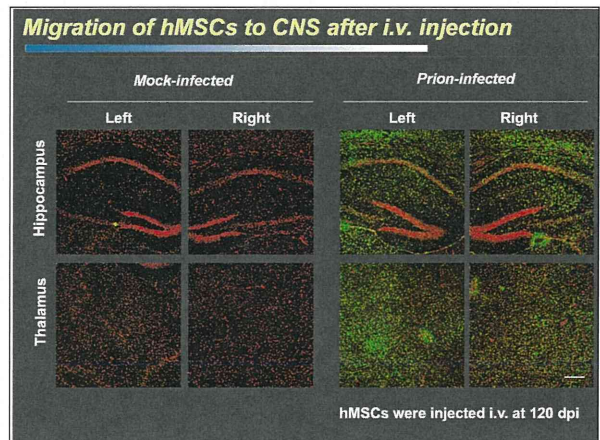


6

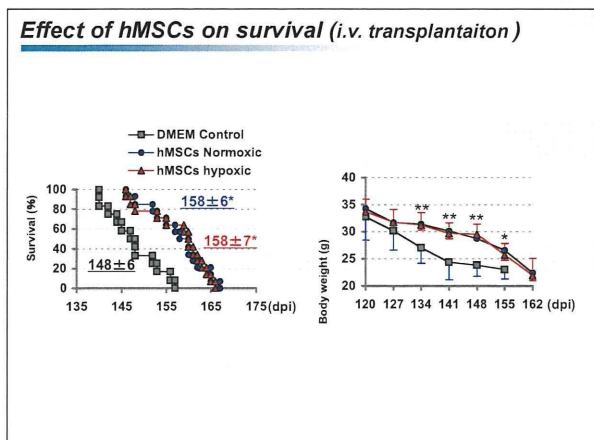
「プリオン病治療実験モデル系確立の試み - 免疫療法と細胞治療の可能性 -」 堀内 基広 先生



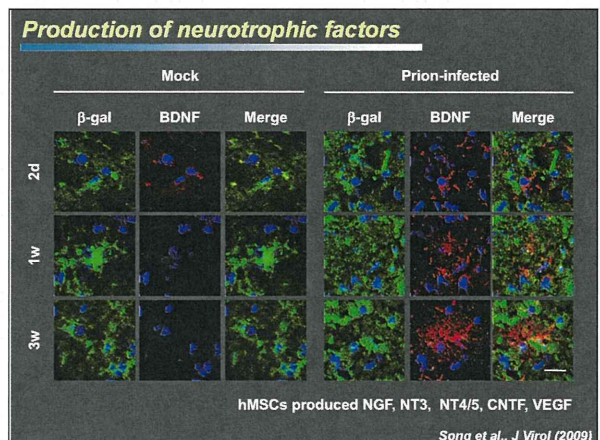
7



8



9



10

第 4 部

プリオン病発症機序の解明

座長：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 **佐々木 真理** 先生



「プリオン病におけるポストゴルジ小胞輸送障害」

坂口 末廣 先生

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

■ Profile

平成 元年 3月	長崎大学医学部卒業
平成 6年 3月	長崎大学大学院医学研究科博士課程修了
平成 6年 10月	長崎大学助手医学部（細菌学講座）
平成 7年 1月	ポスドク（スイス国チューリッヒ大学分子生物学研究所、チャールズ・ワイスマン教授、平成8年12月まで）
平成 11年 6月	長崎大学講師医学部（細菌学講座）
平成 12年 4月	長崎大学講師 大学院医学研究科（感染分子病態学講座）
平成 14年 4月	長崎大学講師 大学院医歯薬学総合研究科（感染分子病態学講座）
平成 14年 11月	科学技術振興機構 PRESTO さきがけ研究 21（平成 18年 3月まで兼務）
平成 17年 4月	長崎大学助教授 大学院医歯薬学総合研究科（感染分子病態学講座）
平成 18年 4月	徳島大学教授 分子酵素学研究センター分子細胞学部門
平成 19年 4月	徳島大学教授 疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門

■ 概要

プリオン病では、神経細胞の膜蛋白質である正常プリオン蛋白質（以下、正常プリオン）が蛋白質分解酵素抵抗性の異常プリオン蛋白質（以下、異常プリオン）に構造変化する。しかし、正常プリオンを欠損するマウスは、正常プリオンがないためにプリオンを感染させても異常プリオンを産生できず、プリオン病に罹らない。このことは、正常プリオンが異常プリオンに変換することがプリオン病の病態に必須であることを示している。しかし、神経変性に至る詳細なメカニズムは不明である。

我々は、最近、プリオンが感染すると、ある膜蛋白質群のポストゴルジ小胞輸送が障害され、その結果それらの細胞膜発現は低下し、その機能が障害されることを見出した。また、異常プリオンが小胞輸送に重要なエンドソーム分画、特にリサイクリングエンドソーム分画に蓄積していることも見出した。さらに、プリオン感染マウスモデルを解析した結果、プリオン感染によるポストゴルジ小胞輸送障害はプリオン病の症状が始まる前から観察された。以上の結果から、プリオンが感染すると、異常プリオンがエンドソーム分画、特にリサイクリングエンドソーム分画に蓄積し、膜蛋白質のポストゴルジ小胞輸送を障害し、膜蛋白質の膜発現を低下させ、その結果それらの膜蛋白質の機能は障害を受け、神経細胞は死に至るのではないかと考えられた。本シンポジウムでは、我々の最近の発見を報告するとともに、プリオン病の病態メカニズムについて議論したい。