

2. 実用新案登録
なし

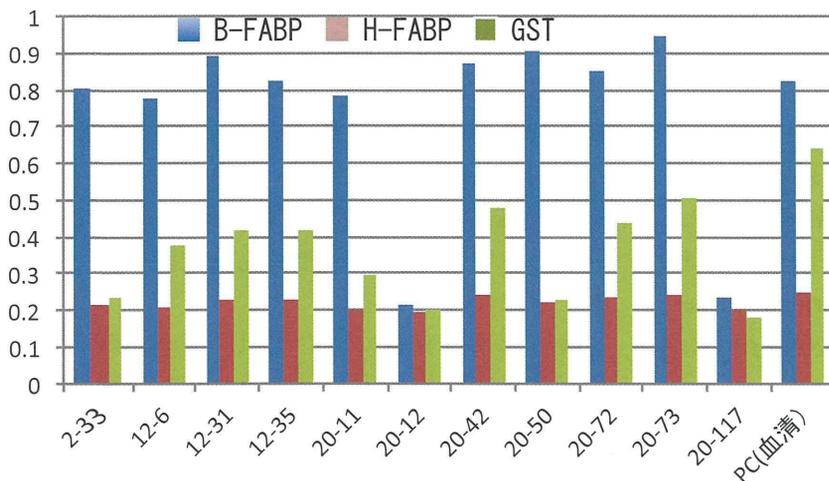
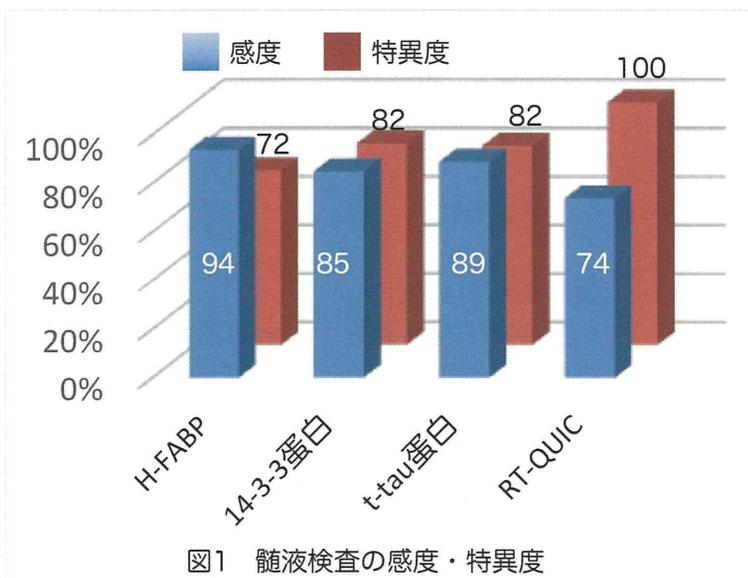
3. その他
なし

表1 髄液検査に使用した症例内訳

○プリオン病100症例	
孤発性プリオン病	80
遺伝性プリオン病 (V180I)	19
獲得性プリオン病	1
○非プリオン病100症例	
症候性てんかん	40
VGKCを含めた自己免疫性脳炎・脳症	30
アルツハイマー型認知症	20
低酸素脳症	5
多発性硬化症	1
診断未定	4

表2 プリオン病髄液検査における感度

	14-3-3蛋白	総tau蛋白	RT-QUIC法	H-FABP
孤発性プリオン病	90 % (72/80)	88.75 % (71/80)	75 % (60/80)	98.75 % (79/80)
遺伝性プリオン病 (V180I)	63 % (12/19)	68 % (13/19)	74% (14/19)	78.9 % (15/19)
獲得性プリオン病	100 % (1/1)	100 % (1/1)	0 % (0/1)	100 % (1/1)
総計	85 % (85/100)	89 % (85/100)	74 % (74/100)	94 % (94/100)



厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 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

End-point RT-QUIC 法によるヒトプリオン病の脳・髄液中の prion seeding activity の定量化の確立

研究分担者：西田教行	長崎大学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	長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学
研究協力者：高月英恵	長崎大学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	長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学
研究分担者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門
研究協力者：吉田真理	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門
研究分担者：高尾昌樹	埼玉医科大学国際医療センター 神経内科・脳卒中内科 美原記念病院ブレインバンク

研究要旨 2011 年当教室の新ら¹⁾は、ヒトプリオン病の髄液中から異常プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) の検出に成功している。さらに我々は、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 Real-time Quaking-induced conversion (RT-QUIC 法) の解析結果を報告した。我々は異常型プリオン蛋白増幅系である RT-QUIC 法での検出法では定性である。Wilham ら²⁾はハムスタープリオンを利用した RT-QUIC 法、いわゆる“End-point RT-QUIC 法”による prion seeding activity 定量 (Seeding Dose (SD₅₀)) を成功した。今回“End-point RT-QUIC 法”を応用し、ヒトプリオン病患者の脳・髄液中の prion seeding activity 定量 (Seeding Dose (SD₅₀)) を試み、確立した。

A. 研究目的

2011 年当教室の新ら¹⁾は、ヒトプリオン病の髄液中から異常プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) の検出に成功している。さらに我々は、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 Real-time Quaking-induced conversion (RT-QUIC 法) の解析結果を報告した。今までの RT-QUIC 法は定性であった。そのため治療効果などの評価に適していないと考えていた。

B. 研究方法

- 1) ヒトプリオン病患者より採取された脳、髄液の段階希釈系列を作成し、RT-QUIC を行った。プリオンのシード活性の欠失する境界を定め、定量性を明確化するために Spearman-Kärber 法を用いて 50% Seeding Dose (SD₅₀) を算出した (図 1)。
- 2) ヒトプリオン病患者の脳乳剤を PK 40ug/ml にして異常プリオン蛋白をドットプロット法にて算出した。

(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) ヒトプリオン病患者 10 症例(孤発性プリオン病 9 例、遺伝性プリオン病 1 例)の脳組織について検討を行った(表 1)。
- 2) 10 症例の log SD₅₀/ g brain は 8.67~10.64 であった(図 2)。
- 3) log SD₅₀/ g brain と異常プリオン蛋白の相関関係について検討した(図 2、図 3)。
- 4) ヒトプリオン病患者 10 症例(孤発性プリオン病は古典型 CJD:MM1)の髄液中の log SD₅₀ では 2.73~3.08 であった(表 2)。

D. 考察

“End-point RT-QUIC 法”を応用し、ヒトプリオン病患者の脳・髄液中の prion seeding activity 定量(Seeding Dose(SD₅₀))に確立することができた。今後症例を増やし、さらなる方法の確立を目指す必要性があると考えられた。

E. 結論

“End-point RT-QUIC 法”を応用し、ヒトプリオン病患者の脳・髄液中の prion seeding activity 定量(Seeding Dose(SD₅₀))に確立することができた。

[参考文献]

- 1) Atarashi R, Satoh K, Sano K, et al. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med* 17:175-178, 2011.
- 2) Wilham JM, Orru CD, Bessen RA, et al. Rapid end-point quantitation of prion seeding activity with sensitivity comparable to bioassays. *PLoS Pathog* 6:e1001217, 2011.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Fuse T, Sano K, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N.

Persistent prion infection disturbs the function of Oct-1, resulting in the down-regulation of murine interferon regulatory factor-3. *Sci Rep* 4:6006, 2014.

- 2) Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N. Increased expression of p62/SQSTM1 in prion diseases and its association with pathogenic prion protein. *Sci Rep* 4:4504, 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* 88:11791-11801, 2014.

- 4) 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* 8:314-318, 2014.

2. 学会発表

- 1) Satoh K, Takatsuki H, Atarashi R, Sano K, Nishida N. CSF analysis of patients with human prion disease. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.
- 2) Takatsuki H, Satoh K, Atarashi R, Sano K, Nishida N. Wide distribution of seeding activity in sporadic CJD patients. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.

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. ヒトプリオン病患者由来脳組織中のSD₅₀

Patient number	Sex	Age at death (years)	Type	PrP ^{Sc} typing	Log SD ₅₀ /g (Mean ±SD)
1	M	64	sporadic	MM1	10.64 ± 0.40
2	M	70	sporadic	MM1	10.17 ± 0.51
3	M	73	sporadic	MM1	10.15 ± 0.32
4	F	75	sporadic	MM1	9.96 ± 0.44
5	F	64	sporadic	MM1	9.88 ± 0.25
6	M	74	sporadic	MM1	9.88 ± 0.54
7	M	69	sporadic	MV2	9.88 ± 0.18
8	M	35	sporadic	MM2-C	9.92 ± 0.38
9	M	67	sporadic	MM2-T	8.79 ± 0.19
10	F	43	genetic	GSS	9.96 ± 0.44

表2. ヒトプリオン病患者由来髄液中のSD₅₀

Patient number	Sex	Age at onset (years)	PrP ^{Sc} typing	Log SD ₅₀ /ml CSF
2*	M	70	MM1	3.20
3*	M	73	MM1	4.31
11	F	66	MM1	3.81
12	M	66	MM1	≤ 3.0
13	F	86	MM1	2.90
14	M	43	MM1	2.88
15	M	73	MM1	2.88
16	M	67	MM1	2.90
17	F	81	MM1	3.08
18	M	63	MM1	2.73
19	F	73	MM1	2.85

図1. End-point RT-QUICによるシード活性(SD₅₀)の測定

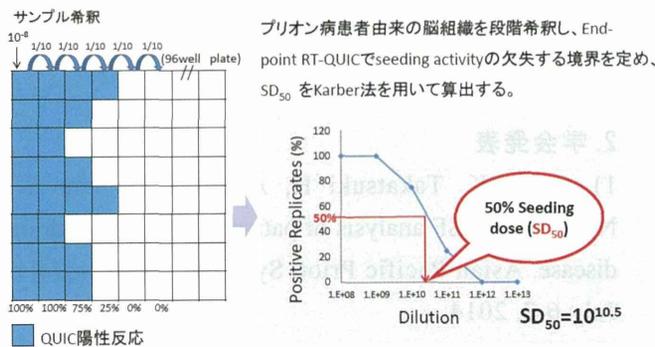


図2. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)患者脳組織のEnd-point RT-QUIC assay

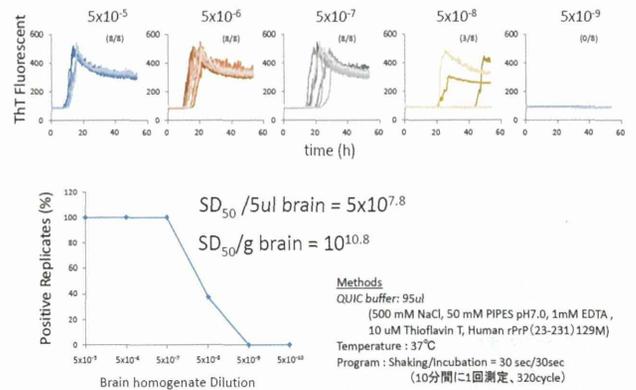


図3. ヒトプリオン病患者脳組織のWB法による解析とドットプロット法による解析

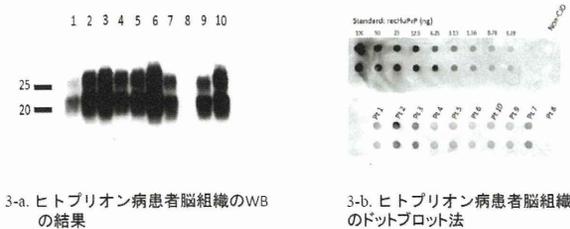
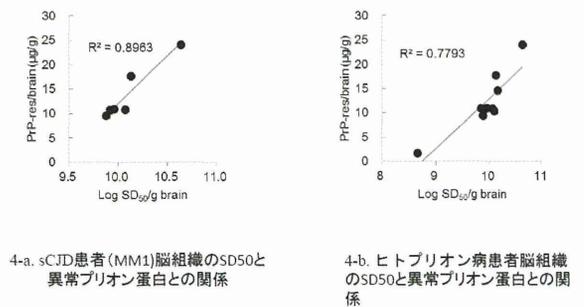


図4. sCJD患者脳組織のSD50と異常プリオン蛋白との関係



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)を用いたプリオン病早期病変の診断能向上法を確立してきたが、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信号変化・萎縮変化の自動検出プログラムを開発するとともに改良を加えた。本手法によって、DWI 異常信号の出現消退と萎縮を客観的に評価することが可能となった。本法は早期プリオン病の診断基準の参考所見として有望であることが示唆された。

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おり、診断基準の一つとして重要な役割を果たしている。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した。

一方で、DWI においてプリオン病の病変が大脳皮質に限局する場合は他疾患との鑑別がしばしば困難である。経過観察時における病変の出現・消退や萎縮の進行が参考所見として有望であるが、視覚的判定は必ずしも容易ではない。そこで、DWI 異常域・萎縮域の縦断解析法を確立するため、2 時点間の構造および信号値の正規化手法を開発し、経時的変化の客観的評価法としての有効性を検証した。

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孤発性 Creutzfeldt-Jakob (CJD) 病患者 3 名(42-75 歳、女性 2 名)および健常ボランティア(27 歳女性)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 2 週から 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、ワーピングを行って差分画像を作成した。さらに、信号上昇部位・低下部位および萎縮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点間の経時的変化を自動解析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。信号上昇域・低下域・萎縮域のカラー表示(それぞれオレンジ、青、赤)や異常域体積の自動算出を行うこともできた。また、昨年度のアルゴリズムの解析結果と比し、解析安定性が向上した。

一部の画像にミスレジストレーションや擬陽性・偽陰性の箇所が認められたが、元画像の画質、部分容積効果、萎縮の影響など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改良し、プリオン病の DWI 早期病変の経時的変化をより客観的・定量的・網羅的に評価可能な手法を確立することができた。しかしながら、本手法を早期診断基準や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、薄切スライス(3mm 厚ギャップレス)の撮像、出現/消退域抽出のための閾値の自動最適化、磁化率アーティファクトや画像歪み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、多施設研究による精度検証、解析法の公開と普及を進める予定である。

E. 結論

2 時点の DWI を用いた構造・信号正規化差分画像解析法を確立することで、病変の出現・消退・進行を客観的・定量的に評価することが可能となり、早期プリオン病の診断基準の参考所見として有望である事が示唆された。

[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) 佐々木真理. プリオン病の早期画像診断の現状. 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—, 名古屋, 2.14, 2015.

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

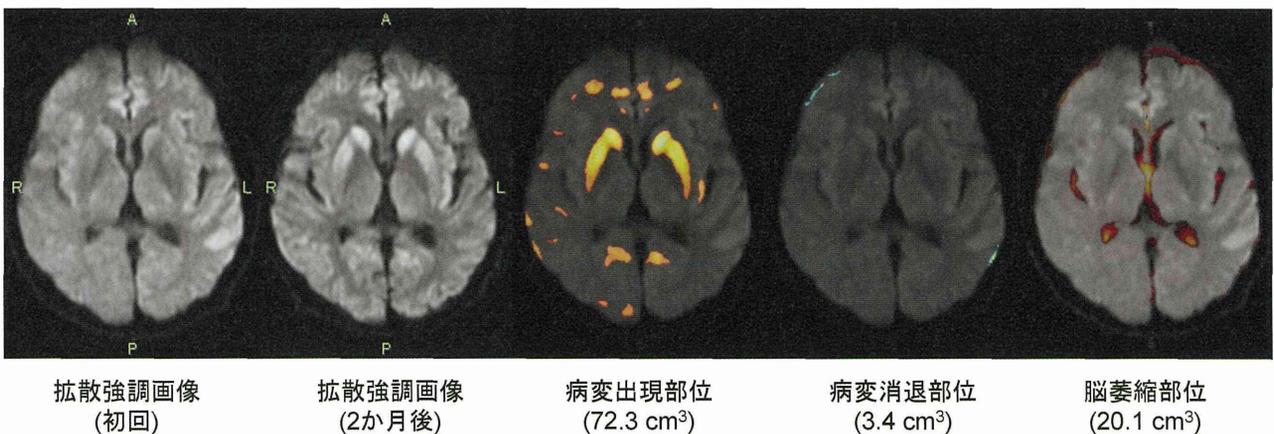


図 早期CJD患者における拡散強調画像の経時的定量解析

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 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

MM2 皮質型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床診断基準案の作成

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：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：野崎一朗	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：篠原もえ子	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）
研究協力者：中村好一	自治医科大学公衆衛生
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
研究協力者：村山繁雄	東京都健康長寿医療センター研究所老年病理学研究チーム
研究協力者：佐藤克也	長崎大学医歯薬学総合研究感染分子
研究協力者：原田雅史	徳島大学ヘルスバイオサイエンス研究部放射線科学分野
研究分担者：水澤英洋	国立精神・神経医療研究センター病院
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]臨床診断が困難な MM2 皮質型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 (sCJD) の臨床診断基準案を作成し、その感度、特異度を検討する。

[方法]これまでに CJD サーベイランス委員会に登録された症例で、病型まで確定され、臨床症候と頭部 MRI 所見が得られた 71 例の sCJD (MM1: 52 例、MM1+2: 7 例、MM2 皮質型: 5 例、MM2 視床型: 1 例、MV2: 4 例、VV2: 2 例) と、PrP 遺伝子コドン 129 多型と臨床症候、頭部画像所見が得られたプリオン病否定例 402 例を対象として、WHO の sCJD 診断基準 (1998)、現在の CJD サーベイランス委員会で使用している MM2 皮質型 sCJD 診断基準 (進行性認知症、頭部 MRI 拡散強調が像で皮質にのみ高信号、PrP 遺伝子変異がなく、コドン 129 多型が MM) (サーベイランス委員会診断基準) の感度、特異度を検討した。また、その現診断基準で正しく診断出来なかった症例の特徴から、新たな MM2 皮質型の診断基準案を作成し、その感度、特異度を検討した。

[結果]5 例の MM2 皮質型 sCJD 症例中 3 例は死亡するまで WHO の sCJD 診断基準 (1998) では sCJD と診断出来なかった。残りの 2 例も、発症後 14 ヶ月、22 ヶ月と診断までに時間が必要であった。サーベイランス委員会診断基準では、MM2 皮質型は 5 例とも診断可能 (感度 100%) で、MM2 皮質型否定例 468 例中 77 例が MM2 皮質型 sCJD と診断された。「突然発症でなく、発症 6 ヶ月後の時点で、1.ミオクローヌス、2.錐体路/錐体外路症候、3.視覚異常/小脳症候、4.無動無言、の 4 項目中 2 項目以上の症候を認めない」を加えたところ、MM2 皮質型の診断感度は 100%、特異度は 98.1% であった。

[結論] 以下の MM2 皮質型 sCJD 診断基準案を提案する。

- A. PrP 遺伝子に変異を認めず、コドン 129 多型と脳 PrPres のウエスタンブロットのパターン、脳病理所見で MM2 皮質型 sCJD と診断
- B. 1.突然発症でなく、進行性の認知症
 - 2.PrP 遺伝子に変異を認めず、コドン 129 多型が MM
 - 3.頭部 MRI 拡散強調画像にて、大脳皮質にのみ高信号を認める
 - 4.発症 6 ヶ月後の時点で、①ミオクローヌス、②錐体路/錐体外路障害、③小脳症状/視覚異常、④無言・無動状態、の 4 項目中 2 項目以上を認めない

確実例：A、ほぼ確実例：B1-4、疑い例：B1-3

A. 研究目的

MM2 皮質型 孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 (sCJD) は、認知症以外の神経症候に乏しく、しばしば WHO の sCJD 診断基準 (1998) では診断出来ない¹⁾。プリオン病診断基準改訂を目的に、MM2 皮質型 sCJD の臨床診断基準案を作成し、その感度、特異度を検討する。

B. 研究方法

これまでに CJD サーベイランス委員会に登録された症例で、プリオン蛋白 (PrP) 遺伝子コドン 129 多型と脳の異常 PrP (PrPres) のタイプ、脳病理所見によって病型まで確定され、臨床症候と頭部 MRI 所見が得られた 71 例の sCJD (MM1: 52 例、MM1+2: 7 例、MM2 皮質型: 5 例、MM2 視床型: 1 例、MV2: 4 例、VV2: 2 例) と、PrP 遺伝子コドン 129 多型と臨床症候、頭部画像所見が得られたプリオン病否定例 402 例を対象として、WHO の sCJD 診断基準 (1998)、現在の CJD サーベイランス委員会で使用している MM2 皮質型 sCJD 診断基準 (進行性認知症、頭部 MRI 拡散強調画像で皮質にのみ高信号、PrP 遺伝子変異がなく、コドン 129 多型が MM) (サーベイランス委員会診断基準) の感度、特異度を検討した。また、その現診断基準で正しく診断出来なかった症例の特徴から、新たな MM2 皮質型の診断基準案を作成し、その感度、特異度を検討した。

(倫理面への配慮)

CJD サーベイランスと匿名化した収集データの研究利用については金沢大学および東京医科歯科大学の医学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

5 例の MM2 皮質型 sCJD 症例中 3 例は死亡する (10 ヶ月後、21 ヶ月後、24 ヶ月後) まで WHO の sCJD 診断基準 (1998) では sCJD と診断出来なかった。残りの 2 例も、発症後 14 ヶ月、22 ヶ月と診断までに時間が必要であった。サーベイランス委員会診断基準では、MM2 皮質型は 5 例とも診断可能 (感度 100%) で、MM2 皮質型否定例 468 例中 77 例 (他の型の sCJD: 22 例/66 例、否定例: 55 例/402 例) が MM2 皮質型 sCJD と診

断された (特異度 83.5%)。MM2 皮質型否定例で、MM2 皮質型と診断された症例の中で、他の型の sCJD 22 例中 19 例は MM1 型 sCJD で、プリオン病否定例の中では、てんかん (16 例)、脳炎 (9 例)、代謝性脳症 (7 例) などが多く、突然発症や経過で改善している症例が多かった。サーベイランス委員会診断基準に、「突然発症でなく、発症 6 ヶ月後の時点で、1. ミオクローヌス、2. 錐体路/錐体外路症候、3. 視覚異常/小脳症候、4. 無動無言、の 4 項目中 2 項目以上の症候を認めない」を加えたところ、MM2 皮質型の診断感度は 100%、特異度は 98.1% であった。

D. 考察

今回の検討でも、これまでの報告と同様、WHO の sCJD 診断基準 (1998) では診断が困難で、死亡まで sCJD と診断が出来ないか、sCJD と出来たとしても発症から 1 年以上経過する必要であった。現在、CJD サーベイランス委員会で使用している MM2 皮質型の診断基準は、感度は良いが、MM2 皮質型 sCJD 以外の sCJD の 33.3%、プリオン病否定例の 13.7% が MM2 皮質型 sCJD と診断され、特異度がやや低かった。今回新たに提案した診断基準案では、感度 100%、特異度 98.1% と、感度・特異度ともに高値であった。

E. 結論

以下の MM2 皮質型 sCJD 診断基準案を提案する。

- A. PrP 遺伝子に変異を認めず、コドン 129 多型と脳 PrPres のウェスタンブロットのパターン、脳病理所見で MM2 皮質型 sCJD と診断
 - B. 1. 突然発症でなく、進行性の認知症
2. PrP 遺伝子に変異を認めず、コドン 129 多型が MM
3. 頭部 MRI 拡散強調画像にて、大脳皮質にのみ高信号を認める
4. 発症 6 ヶ月後の時点で、① ミオクローヌス、② 錐体路/錐体外路障害、③ 小脳症状/視覚異常、④ 無言・無動状態、の 4 項目中 2 項目以上を認めない
- 確実例 : A、ほぼ確実例 : B1-4、疑い例 : B1-3。

[参考文献]

- 1) Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, et al.

Clinical diagnosis of MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 64:643-648, 2005.

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Nakamura Y, Ae R, Takumi I, Sanjo N, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H. Descriptive epidemiology of prion disease in Japan: 1999-2012. *J Epidemiol* 25:8-14, 2015.
- 2) Nakamura K, Sakai K, Samuraki M, Nozaki I, Notoya M, Yamada M. Agraphia of Kanji (Chinese characters): an early symptom of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a Japanese patient: a case report. *J Med Case Rep* 8:269, 2014.
- 3) Komatsu J, Sakai K, Hamaguchi T, Sugiyama Y, Iwasa K, Yamada M. Creutzfeldt-Jakob disease associated with a V203I homozygous mutation in the prion protein gene. *Prion* 8:336-338, 2014.
- 4) Eisele YS, Fritschi SK, Hamaguchi T, Obermüller U, Föger P, Skodras A, Schäfer C, Odenthal J, Heikenwalder M, Staufienbiel M, Jucker M. Multiple factors contribute to the peripheral induction of cerebral β -amyloidosis. *J Neurosci* 34:10264-10273, 2014.
- 5) 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* 4:e004968, 2014.

2.学会発表

- 1) Hamaguchi T, Yamada M. Transmission and propagation of human prion disease. 55th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, Fukuoka, May 21-25, 2014.
- 2) 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, Jeju, July 6-7, 2014.
- 1) 浜口 毅, 山田正仁. 脳 β アミロイドーシスの伝播について. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.
- 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 孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床的特徴と診断基準案の提案. 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡, 5.21-24, 2014.
- 3) 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 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, 9.4-6, 2014.

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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 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

プリオン病の剖検率を向上するためのシステム構築とプリオン病リソースの確立（第1報）

研究分担者：高尾昌樹	埼玉医科大学国際医療センター 神経内科・脳卒中内科
研究協力者：田野光敏	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：青柳真一	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：諏訪部桂	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：相澤勝健	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：山口かおり	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：河端裕美	公益財団法人脳血管研究所美原記念病院
研究協力者：高橋陽子	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 樹	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
研究協力者：北本哲之	東北大学大学院医学研究科

研究要旨 背景：本邦におけるプリオン病の剖検数は、感染性への危惧などもあり、諸外国と比較し極めて低い。しかし、プリオン病研究には、剖検数を増加させ、確実に症例を蓄積することが重要である。

目的：すでに構築されているブレインバンクの枠組みのもと、プリオン病の剖検を行い、リソースの構築を目指す。

方法と結果：平成 26 年度は、美原記念病院のブレインバンクにおけるプリオン病の剖検体制を確実なものとすることを目標とした。本年度もブレインバンクの枠組みの中で、プリオン病の剖検を継続することができた。現在、プリオン病の剖検数は 39 例でその中で凍結脳を有する症例数は 31 例。平成 26 年度（平成 26 年 4 月 1 日～平成 27 年 1 月 20 日現在）の剖検登録数は 10 例で、院内が 2 例、外部からご遺体を搬送した剖検が 7 例である。さらに先方の施設へ剖検に行き、組織を搬送して標本作成した 1 例があった。院内死亡例に関しては、プリオン病の剖検ガイドラインに沿って病理解剖を行い、ブレインバンクへの登録同意、リソースとしての蓄積を行い、サーベイランス委員会への報告を行った。また、プリオン病の剖検が现阶段では困難な施設に対しては、美原記念病院へご遺体を搬送して剖検を施行し、同様にブレインバンクへの登録、またサーベイランス体制への未登録例に関しては、主治医から登録をしていただくようにした。剖検後のご遺体の処置に関する、体制も構築した。プリオン病の剖検は可能でも、標本作成が困難な施設に対しては、代表者が出向いて剖検を施行した後、美原記念病院へのブレインバンク登録をし、組織を移動し標本作成などを施行した。

結論：プリオン病の剖検が困難な施設、あるいは剖検可能でも標本作成が困難な施設では、剖検受け入れ可能な施設があることを知らず、今まで剖検自体をご遺族にすすめられなかった可能性もある。どの施設でも剖検が可能となることが将来的には重要であるが、现阶段では、剖検可能、あるいは標本作成可能な施設が明らかになれば、一定数のプリオン病の剖検は得られると考えられる。プリオン病は剖検によってのみ診断確定ができる疾患であり、剖検体制を確立して、剖検数を増やすことは、臨床診断の精度をあげ、プリオン病の実態を明らかにでき、「診断基準の策定・改訂」、「診断基準・重症度分類策定・改訂のための疫学調査」にとっても極めて重要である。

A. 研究目的

本邦におけるプリオン病の剖検数は、感染性への危険などもあり、諸外国と比較し極めて低い。しかし、プリオン病研究には、剖検数を増加させ、確実に症例を蓄積することが重要である。

そのために、すでに構築されているブレインバンクの枠組みのもと、プリオン病の剖検を行い、リソースの構築を目指す。

B. 研究方法

平成 26 年度は、美原記念病院のブレインバンクにおけるプリオン病の剖検体制を確実なものとすることを目標とした。すでに構築されているブレインバンクの枠組みの中で、プリオン病の剖検を継続することとした。プリオン病の剖検は、図 1 に示すように、プリオン病の剖検に関しては、現在までの実績では 3 系統があるので、その対応を継続した。

院内死亡例に関しては、プリオン病の剖検ガイドラインに沿って病理解剖を行い、ブレインバンクへの登録同意、リソースとしての蓄積を行い、サーベイランス委員会への報告を行うこととした。

また、プリオン病の剖検が現段階では困難な施設に対しては、美原記念病院へご遺体を搬送して剖検を施行し、同様にブレインバンクへの登録、またサーベイランス体制への未登録例に関しては、主治医から登録をしていただくようにした。

プリオン病の剖検は可能でも、標本作成が困難な施設に対しては、代表者が出向いて剖検を施行した後、美原記念病院へのブレインバンク登録をし、組織を移動し標本作成などを施行した。

(倫理面への配慮)

本研究の目的は、プリオン病の剖検をすることで、剖検、病理診断、臓器保存は死体解剖保存法による。よって、研究対象者には直接不利益は生じないし、危険性もない。剖検承諾は一般の病理解剖と同様に遺族から得る。また、剖検試料をブレインバンクの一貫として保存することは、美原記念病院施設倫理委員会で承認され、すでに活動されているブレインバンクに

おける一環であり、プリオン病に特化したものではない継続的な活動で、代諾者(遺族)より剖検同意の際に承諾を得て保存される(ときに生前に本人から承諾を得ることもあるが、病理解剖時に遺族よりあらためて同意を得る)。ブレインバンクに登録された試料を用いたあらたな研究が発生した場合は、必要に応じて倫理委員会への報告・承認を得る。剖検・病理診断で予期しないプリオン病が判明した場合は、感染症法により届出を行う。サーベイランス委員会への登録は、生前に承諾が得られていない場合は、主治医より剖検時に家族からの承諾を得るように依頼している。プリオン病に限定した、剖検承諾書や説明文書などを準備するかどうかは、27 年度の課題として検討中である。

C. 研究結果

平成 26 年度(平成 26 年 4 月 1 日～平成 27 年 1 月 15 日)における、プリオン病剖検症例は 10 例であった(表)。

内訳は、平均死亡年齢 71.6±10.4 歳、(62 歳～90 歳)、男性=6 例、女性=4 例。判明している範囲では、sCJD MM1=5 例、sCJD MM2=1 例、sCJD MM1+2=1 例、V180I=1 例であった。

院内症例は 2 例、院外からご遺体を搬送して剖検を施行が 7 例、代表者が出張して剖検した症例が 1 例であった。

全例において、原則として右大脳半球を剖検時に凍結し、-80℃で保存。一部は、東北大学へ送付し、分子生物学的検索を施行した。左半球はホルマリン固定を行い、病理組織学的検索に供した。

現在まで、プリオン病の剖検数は 39 例でその中で凍結脳を有する症例数は 31 例となった。

剖検体制として、図 1 に示す 3 系統による体制を施行できたが、いくつかの問題点は考察で記載する。

剖検に関する業務は、すべてコーディネーター(MSW)により、24 時間 365 日の対応がされ、コーディネーターが、様々な調整事項も施行することとした。

院内死亡の場合は、通常的病理解剖体制であり、研究代表者が連絡を受けた段階で、病院に出向き剖検を施行する。原則頭部のみでの剖検であり、剖検自体にかかる所要時間は死後の処置

を含めても1時間～1時間半程度であった。

他院からの剖検に関しては、コーディネーターであるMSWに、依頼先病院から電話をしていただく体制とした。症例によっては、生前に病理解剖の意思表示をされている場合もあり、病状が悪化した段階で、あらかじめ連絡があることも多かった。その際には、剖検に関与するスタッフへ事前にコーディネーターから連絡があり、いつでも剖検に対応できるように、スケジュールなどを調整できた。死亡された場合は、当該病院の主治医により、死亡診断書、剖検承諾書、ブレインバンク登録同意書、必要時にはサーベイランスの同意書を取得していただいた。当院からは、ご遺体の搬送に関わるスタッフが必ず2人で、病院に出向き、ご遺体を当院まで搬送した。その間に、研究代表者と剖検補助のスタッフは、剖検室の準備などを、プリオン病の剖検ガイドラインに沿って準備した。

他院に剖検に出向く場合は、先方の病院からの依頼が、代表者にあることが通常で、本年度は、飛行機で出向く遠方であったので、その段階で日程調整をした。

院内死亡例の剖検は、死亡後できるだけ速やかに剖検を施行した。他院の場合は、ご遺体を当該施設の冷蔵庫において、保存をしていただき、剖検試料が研究に将来的に適切に使用できるようにした。また、搬送中も、ドライアイスなどにより、ご遺体の温度上昇を防ぐようにした。

当院で施行した剖検では、死後の処置を当院の看護スタッフで施行した。プリオン病に関しては、感染防御の観点から、死後のエンゼルケアに関しても、専属の看護師を数名決めており、それ以外の看護師が行うことは原則ない。ご遺体は、専用の袋に二重にして再び搬送した。二重にする理由は、内袋は透明、外袋は非透明であり、外の袋を一部あけることで、ご遺族がご遺体に袋越しではあるが、接することができるようにした。特に、院外症例に関しては、当院の車で再度搬送を行い、ご遺族の希望する場所(葬儀場やご自宅など)へ搬送した。

D. 考察

プリオン病の剖検体制を確立するといった

点では、初年度としては、10例の剖検を施行することができたので、目的は達成できた。院外症例が増加していることも、プリオン病の剖検が困難な施設に対して、対応先があることをご理解いただけるようになりつつある結果と考えられた。

プリオン病症例は、生前においても受け入れを拒否されるような場合もあるほど、感染性の面からの危惧があり、剖検を施行できない場合が多い。当施設では、当初からガイドラインに従って剖検を施行してきたので、手順、病理標本の作製などの体制は、ほぼ確立できていると考えられる。しかし、プリオン病の剖検には、感染防御の面の準備から、通常の剖検以上に費用がかかること、病理標本の作製に関しても、組織診断のための抗体費用が高額であるといった問題がある。現在、私立大学、民間病院での剖検には、剖検補助費用が支給されておらず、研究費を使用や、あるいはボランティアで施行しているのが実態である。

また、他院からの搬送に際しては、遠方の場合には、ご遺体のお迎え、剖検後の搬送で、現地と当院を2往復することになり、遠方の場合には、2往復の搬送だけでも12時間を超えることも珍しくない。死亡してから剖検、ご遺体が遺族へもどる間での時間が長くなると、剖検の同意が困難になる場合もあり、解決すべき点である。

プリオン病症例のご遺族は、剖検に対して協力的であることが多く、剖検希望にも関わらず、剖検対応施設がない場合もある。本邦としても剖検数を増加するためにも、剖検対応施設の確立と、剖検費用に関する確実な補助体制が構築される必要がある。

プリオン病は、ヒト疾患であることから、ヒト脳研究が極めて重要である。今後、リソースの活用を進めることも重要である。

E. 結論

プリオン病の剖検が困難な施設、あるいは剖検可能でも標本作成が困難な施設では、剖検受け入れ可能な施設があることを知らず、今まで剖検自体をご遺族にすすめられなかった可能性もある。どの施設でも剖検が可能となることが将来的には重要であるが、現段階では、剖検

可能、あるいは標本作成可能な施設が明らかになれば、一定数のプリオン病の剖検は得られると考えられる。プリオン病は剖検によってのみ診断確定ができる疾患であり、剖検体制を確立して、剖検数を増やすことは、臨床診断の精度をあげ、プリオン病の実態を明らかにでき、「診断基準の策定・改訂」、「診断基準・重症度分類策定・改訂のための疫学調査」にとっても極めて重要である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Araki K, Nakano Y, Kobayashi A, Matsudaira T, Sugiura A, Takao M, Kitamoto T, Murayama S, Obi T. Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: the clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology* 34:541-546, 2014.

2) 高尾昌樹, 木村浩晃, 三村 将. Creutzfeldt-Jakob 病. 福田正人, 笠井清登, 鈴木道雄, 三村 将, 村井俊哉・編, 精神疾患の脳画像 ケースカンファレンス 診断と治療へのアプローチ, 中山書店, 東京, pp281-284, 2014.

3) 高尾昌樹. 死亡診断書および病理解剖の承諾書, 依頼書. 永井良三, 鈴木則宏, 荒木信夫, 神田 隆, 吉良潤一, 塩川芳昭, 西野一三, 水澤秀洋・編, 神経内科研修ノート, 診断と治療社, 東京, pp673-678, 2014.

2. 学会発表

1) Newell K, Epperson F, Takao M, Farlow M, Unverzagt F, Ghetti B. Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease PRNP A117V: Prion protein deposition in neurosensory retina. 90th Annual meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc., Portland, June 11-14, 2014.

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 プリオン病の剖検における現在の流れ

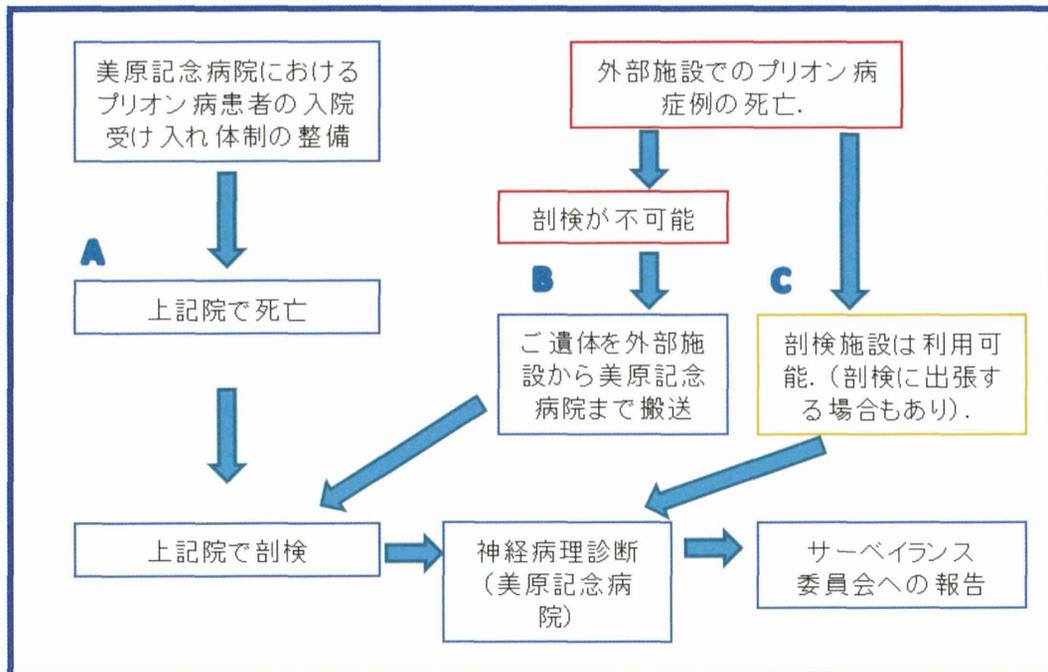


表 平成 26 年度のプリオン病の剖検実績

AAID	Sex	サーベイランスNo.	Western	PRNP Mutation	Codon 129	Codon 219	Tau	14-3-3	葬儀
67	M	3546	type 2	None (3359)	Met/Met	Glu/Glu	2013/3で 1813 2014/3で600	2013/3で895.5 2014/3で陰性	他院(搬送)
62	M	3846	type 1	None (3589)	Met/Met	Glu/Glu	1414(1300)	陰性(>500)	当院
64	M	3641	type 1	None (3505)	Met/Met	Glu/Glu	>2400	陽性	他院(搬送)
73	M		type 1	None (4103)	Met/Met	Glu/Glu		提出済み	他院(搬送)
62	F	4499	type 1+2	None	Met/Met	Glu/Glu	584(<1300)	陰性(<500)	他院(搬送)
90	F	4033	type 2	V180I (3724)	Met/Val	Glu/Glu	陽性>1200	929.2(>500)	出張剖検
82	F	4578	type1	None (4119)	Met/Met	Glu/Glu	陽性>2400	2690.8 (>500)	他院(搬送) JACOP参加例
63	M	3173	type1	None (3173)	Met/Met	Glu/Glu	1174 (>1300)	陰性(>500)	他院(搬送)
68	M	4094	未着	None (3788)	Met/Met	Glu/Glu	>2400(>1300)	1386.8(>500)	当院
85	F		未着	None (4279)	Met/Met	Glu/Glu	>2400(>1300)	1584.8(>500)	他院(搬送)

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 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

診療ガイドラインにおける感染性に基づく孤発性 CJD の分類 — MM1+2C と MM1 の感染性からの検討 —

研究分担者：小林篤史	北海道大学大学院獣医学研究科比較病理学教室
研究協力者：松浦裕一	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
研究分担者：岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門
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
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研究
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）
研究協力者：毛利資郎	東北大学大学院医学系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系研究科病態神経学分野

研究要旨 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) MM1+2C は孤発性 CJD 全体の約 3 割を占め、臨床的、病理学的、生化学的に MM1 や MM2C とは異なる特徴を示すことが知られている。しかし、MM1+2C の感染性についてはこれまで明らかにされていない。そこで、プリオン病診療ガイドラインにおける感染性に基づく孤発性 CJD の分類作成のために、本研究では MM1+2C を感染性の点で MM1 や MM2C と区別する必要があるのか検討した。プリオン蛋白 (PrP) ノックインマウスへの感染実験では、MM1+2C の感染性 (マウスにおける潜伏期間、PrP 沈着パターン、異常型 PrP のタイプ) は MM1 と全く同じであった。一方、MM2C はいずれのマウス系統にも感染しなかった。さらに、ヒトの医原性感染でも MM1+2C と MM1 の感染性は同じなのかを明らかにするため硬膜移植後 CJD 症例を病理学的に検索したところ、MM2C の特徴病変の混在はいずれの症例にもみられなかった。以上の結果から、感染実験でもヒトの医原性感染でも MM1+2C と MM1 は同じ感染性を示すことが明らかになった。これは MM2C の感染力が非常に弱いことが原因だと考えられる。臨床病理像が異なることから MM1+2C と MM1 は現在別のサブグループに分類されているが、その感染性に差はなく、感染予防という観点からは両者を区別して考える必要がないことが本研究によって示された。

A. 研究目的

孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) MM1+2C は孤発性 CJD 全体の約 3 割を占め、MM1 と MM2C の両方の病理学的・生化学的特徴を示す。¹⁾ また、MM1+2C の臨床像は MM2C 病変の割合が増えるほど MM1 の臨床像から MM2C の臨床像に近づくことが知られている。^{2,3)} しかし、感染性の点で MM1+2C を MM1 や MM2C と区別して考える必要があるのかはこれまで明らかにされていない。本研究では、プリオン病診療ガイドラインにおける感染性に基づく孤発性 CJD の分類作成のために、MM1+2C の感染性の詳細を明らかにすることを目指した。

B. 研究方法

MM1+2C、MM1、MM2C の孤発性 CJD 患者脳ホモジネート (10%) をヒトプリオン蛋白 (PrP) ノックインマウス (129M/M, 129M/V, 129V/V, 219K/K マウス) あるいはヒト/マウスキメラ型 PrP ノックインマウス (ChM マウス) に脳内接種し、潜伏期間、脳内の PrP 沈着パターン、異常型 PrP のタイプを調べた感染実験のデータをもとに、MM1+2C は感染性の点で MM1 や MM2C とは別の分類とする必要があるのかを検討した。また、硬膜移植後 CJD の中に MM1+2C と同じ病理学的特徴を示す症例が存在するのか検索した。

(倫理面への配慮)

患者を対象とする遺伝子解析ならびに病理解析については各施設の倫理委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て実施した。動物実験に関しては東北大学動物実験専門委員会の承認を得た上で実施した。

C. 研究結果

各ノックインマウス系統における潜伏期間と感染率はMM1+2CとMM1との間で差がなかった(表1)。MM1+2C、MM1ともにヒトPrPノックインマウスでは発病までに非常に長い潜伏期間を要したが、ヒト/マウスキメラ型PrPノックインマウス(ChMマウス)では短期間のうちに発病した。接種材料とした脳ホモジネートに含まれる異常型PrPタイプ1とタイプ2の存在比はMM1+2C case #1とcase #2で異なっていたが(図1)、タイプ2異常型PrPを多く含む接種材料(case #2)でも感染性はMM1と同じであった。また、MM2Cはいずれのマウス系統にも感染しなかった。

感染マウス脳の病理組織学的検索においてもMM1+2C接種マウスとMM1接種マウスの間で差はみられなかった(図2)。MM1+2C接種マウスにMM2Cの特徴病変である融合性空胞や空胞周囲性PrP沈着は認められなかった。

感染マウス脳に含まれる異常型PrPの生化学的解析でもMM1+2C接種マウスとMM1接種マウスの間で差はみられなかった(図3)。タイプ2異常型PrP特異抗体を用いたウェスタンブロットでも、MM1+2C接種マウスにタイプ2異常型PrPは検出されなかった。

検索した45例の硬膜移植後CJDのうち、29例はシナプス型PrP沈着を示す非プラーク型、16例は斑状PrP沈着を示すプラーク型の症例であった(図4)。MM1+2Cの特徴であるシナプス型と空胞周囲性PrP沈着の混在はいずれの症例にもみとめられなかった。

D. 考察

MM1+2Cの感染性は動物への感染実験でもヒトの医原性感染でもMM1の感染性と同じであることが明らかになった。これはMM2Cの感染力が非常に弱いためだと考えられる。

MM1+2CとMM1は臨床病理像が異なることから現在は別のグループに分類されているが、感染性には差がみられず、感染予防という観点からは両者を区別して考える必要はないことが本研究により示された。また本研究は、MM1だけでなくMM1+2Cも非プラーク型硬膜移植後CJDの感染源となりうることを示している。

E. 結論

孤発性CJD MM1+2CはMM1と同じ感染性をもつ。

[参考文献]

- 1) Parchi P, Strammiello R, Giese A, Kretzschmar H. Phenotypic variability of sporadic human prion disease and its molecular basis: past, present, and future. *Acta Neuropathol* 121:91-112, 2011.
- 2) Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JP, Ladogana A. Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrP^{Sc} types: an updated classification. *Acta Neuropathol* 118:659-671, 2009.
- 3) Cali I, Castellani R, Alsheklee A, Cohen Y, Blevins J, Yuan J, Langeveld JP, Parchi P, Safar JG, Zou WQ, Gambetti P. Co-existence of scrapie prion protein types 1 and 2 in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: its effect on the phenotype and prion-type characteristics. *Brain* 132:2643-2658, 2009.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shirai T, Saito M, Kobayashi A, Asano M, Hizume M, Ikeda S, Teruya K, Morita M, Kitamoto T. Evaluating prion models based on comprehensive mutation data of mouse PrP. *Structure* 22:560-571, 2014.
- 2) Kobayashi A, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Distinct origins of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: past and future problems. *Acta Neuropathol Commun*

2:32, 2014.

3) Mabbott NA, Kobayashi A, Sehgal A, Bradford BM, Pattison M, Donaldson DS. Aging and the mucosal immune system in the intestine. *Biogerontology*, in press.

4) 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* 4:e004968, 2014.

5) Araki K, Nakano Y, Kobayashi A, Matsudaira T, Sugiura A, Takao M, Kitamoto T, Murayama S, Obi T. Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: the clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology* 34:541-546, 2014.

2. 学会発表

1) Kobayashi A, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Distinct origins of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: past and future problems. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.

2) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Shiraishi A, Ishikawa K, Yamada M, Kitamoto T, Eishi Y, Mizusawa H. Involvement of the dorsal root ganglion in GSS with P105L mutation. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, July 6-7, 2014.

3) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Kitamoto T, Shiraishi A, Ishikawa K, Honda H, Yamada M, Mizusawa H. 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, May 27-30, 2014.

4) Hizume M, Sanjo N, Satoh K, Hamaguchi T, Yamada M, Iwasaki Y, Kobayashi A, Kitamoto T, Mizusawa H. Immunohistochemical and neuropathological analyses of the prion protein in genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I

mutation. Prion 2014, Trieste, May 27-30, 2014.

5) Saverioni D, Capellari S, Kobayashi A, Kitamoto T, Parchi P. Further characterization of PK-resistant PrP^{Sc} core fragments in sporadic CJD brains carrying VV or MV at PRNP codon 129. Prion 2014, Trieste, May 27-30, 2014.

6) 小林篤史, 岩崎 靖, 大塚浩之, 山田正仁, 吉田眞理, 松浦裕一, 毛利資郎, 北本哲之. 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 MV2 の新分類. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

7) 荒木邦彦, 中野雄太, 小林篤史, 松平敬史, 杉浦 明, 高尾昌樹, 北本哲之, 村山繁雄, 小尾智一. 皮質や基底核に及ぶ広範囲な海綿状変性と小脳に kuru 斑を認めた孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 MV2 型の 1 剖検例. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

8) 鈴木奈穂美, 浅川美果, 鈴木-香山絵美, 武井洋一, 木下通亨, 小林篤史, 北本哲之, 小柳清光. 非プリオン病脳におけるプリオンの凝集について. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 6.5-7, 2014.

9) 古川迪子, 三條伸夫, 日熊麻耶, 日詰正樹, 小林篤史, 北本哲之, 中村好一, 村山繁雄, 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, 9.4-6, 2014.

10) 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, 11.29-12.1, 2014.

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

接種材料 (case No.)	マウス系統名 (導入したヒトPrP遺伝子のコドン129と219における正常多型)				
	129M/M	129M/V	129V/V	219K/K	ChM
	(MM, E/E)	(MV, E/E)	(V/V, E/E)	(MM, K/K)	
MM1+2C (#1)	615±8 (6/6) ^a	N.D. ^b	717±44 (6/6)	647±49 (5/5)	162±13 (6/6)
MM1+2C (#2)	580±8 (5/5)	595±6 (4/4)	588±11 (4/4)	594±10 (5/5)	160±9 (4/4)
MM1 (#1)	467±24 (8/8)	490±26 (5/5)	774±32 (6/6)	573±52 (5/5)	142±3 (5/5)
MM1 (#2)	531±47 (5/5)	508±55 (6/6)	588±3 (5/5)	527±31 (6/6)	154±5 (6/6)
MM2C	- (0/7)	- (0/7)	- (0/7)	- (0/8)	- (0/6)

^a 平均潜伏期間 (days ± SEM) と感染率 (感染したマウス匹数 / 接種匹数)

^b N.D., not done

表 1 PrP ノックインマウスにおける潜伏期間と感染率

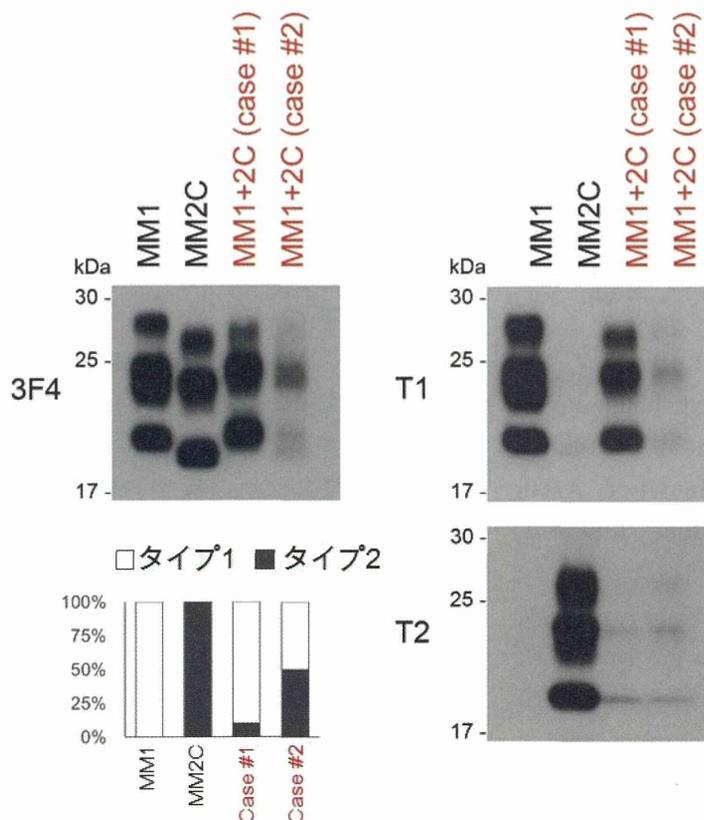


図 1 接種材料中の異常型 PrP

Case#1 よりも case #2 の方がタイプ 2 異常型 PrP 含有比率が高かった。3F4, 異常型 PrP タイプ 1 とタイプ 2 両方を検出する一般的な PrP 抗体; T1, タイプ 1 異常型 PrP 特異抗体; T2, タイプ 2 異常型 PrP 特異抗体。

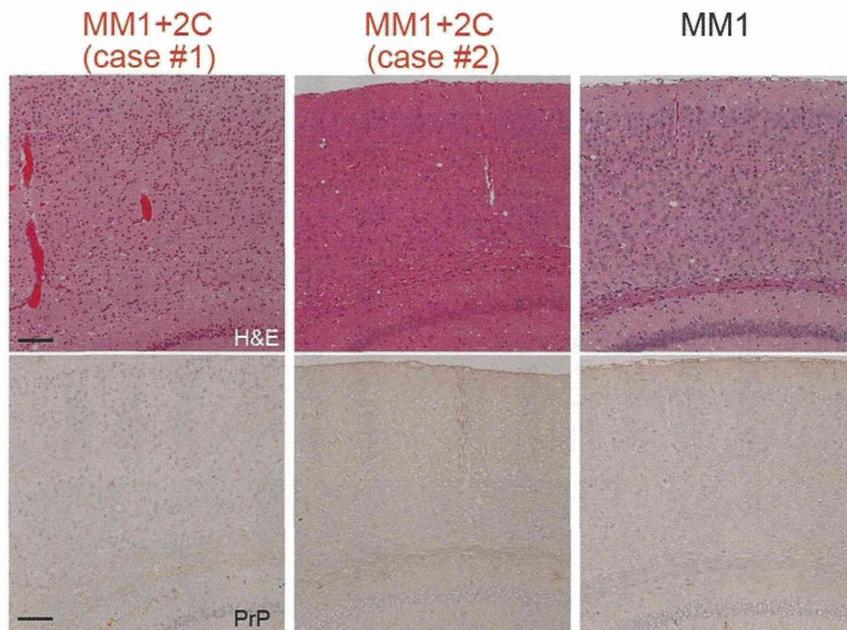


図2 感染マウス(129M/M マウス)における脳病変および PrP 沈着パターン
 MM1+2C 接種マウスと MM1 接種マウスはいずれもシナプス型 PrP 沈着のみを示し、MM2C の特徴
 病変である融合性空胞と空胞周囲性沈着は伝達されなかった。

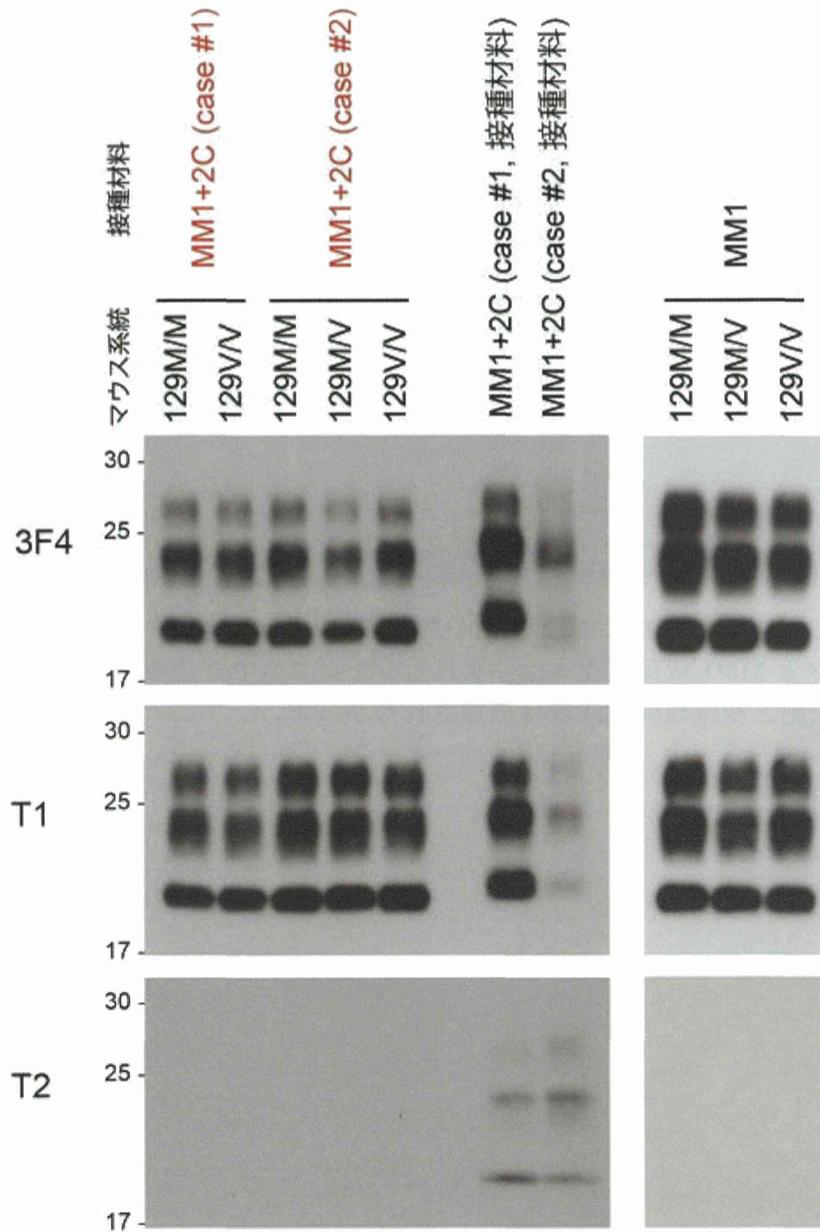


図3 感染マウス(129M/M, 129M/V, 129V/V マウス)における異常型 PrP タイプ MM1+2C 接種マウスと MM1 接種マウスではタイプ 1 異常型 PrP のみが検出された。MM1+2C を接種したいずれのマウス系統においてもタイプ 2 異常型 PrP は伝達されなかった。