

B. 研究方法

①サーベイランスのシステムの状況を調べるためにサーベイランス調査票の回収率を調べる。サーベイランス事務局に登録された症例に対して調査票の依頼をした数に対して、返却されてきた数を調べて、回収率を計算した。

②JACOP による自然歴調査の進捗をまとめ報告した。

(倫理面への配慮)

プリオン病サーベイランス調査に関しては、患者もしくは患者家族の同意・主治医の同意を得ており、事務局での調査票の記録に際してはイニシャル・生年月日、性別のみであり、個人の同定が出来ないようにしてある。

JACOP に関しても東京医科歯科大学で倫理審査委員会の承認を受けており、国立精神・神経医療研究センターの倫理審査委員会にも提出し承認を得た。

C. 研究結果

①プリオン病サーベイランスの 2013 年 10 月から 2014 年 9 月の県別調査票回収率の結果は、調査票集計総数 427 件、回収総数 200 件で 46.8% であった。集計数の多い都道府県は東京都 47 件、福岡県 29 件、千葉県 26 件、兵庫県 25 件、大阪府 24 件、神奈川県 22 件、埼玉県 20 件が 20 件以上の都道府県であった。調査票を送付した数が 0 の都道府県はなく、1 件の都道府県が 4 都道府県あったが、どれも回収率は 0% であった。送付数が 20 件以上の 7 都道府県の回収率は 12.0% から 90.0% と幅があり、送付数が多いところで回収率が悪いとも良いとも言えなかった。全国を 10 ヶに分割したブロック別では、78.9%, 22.2%, 63.7%, 61.0%, 45.8%, 72.7%, 11.7%, 65.4%, 43.8%, 37.9% と高いところと低いところの差があった。

②JACOP への参加施設は 2015 年 10 月現在 98 施設、そのうち倫理申請終了施設は 79 施設、参加研究者 207 名である。登録者数は 35 名であるが、このうち 8 例が死亡し、1 例は家族の意向で研究未参加の施設に移動した。残りの 26 症例中、13 症例はすでに無言・無動状態である。

D. 考察

①プリオン病サーベイランスの回収率を上げるためには、地域別に対策を練る必要がある。人口数が多い地域で回収率が少ない訳ではない。

②JACOP の参加施設数と参加研究者数は増加しつつあるが、登録症例数が少ない。サーベイランス委員会の診断を経てからの登録では、すでに無言無動状態になってしまう可能性もあり、登録のスピードアップにつながる方策をたてる必要があったため、本年度から患者(及びその家族)からの希望で直接登録し、主治医の協力を得て調査を実施するという方策を確立し、国立精神・神経医療研究センター倫理審査委員会による実施の承認を得た。また研究の科学性向上のため、評価項目などの再検討を実施している。

E. 結論

プリオン病サーベイランスの調査票の回収率には地域別に差異が見られた。

JACOP の登録数を増加させるためには専門医に対する周知と登録のスピードアップが必要である。

F. 健康危険情報

特になし

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) Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada K, Samocha KE, Sathirapongsasuti JF, McLean CY, Tung JY, Yu LP, Gambetti P, Blevins J, Zhang S, Cohen Y, Chen W, Yamada M, Hamaguchi T, Sanjo N, Mizusawa H, Nakamura Y, Kitamoto T, Collins SJ, Boyd A, Will RG, Knight R, Ponto C, Zerr I, Kraus TF, Eigenbrod S, Giese A, Calero M, de Pedro-Cuesta J, Haik S, Laplanche JL, Bouaziz-Amar E, Brandel JP, Capellari S, Parchi P, Pologgi A, Ladogana A, O'Donnell-Luria AH, Karczewski KJ, Marshall JL, Boehnke M,

Laakso M, Mohlke KL, Kähler A, Chambert K, McCarroll S, Sullivan PF, Hultman CM, Purcell SM, Sklar P, van der Lee SJ, Rozemuller A, Jansen C, Hofman A, Kraaij R, van Rooij JG, Ikram MA, Uitterlinden AG, van Duijn CM; Exome Aggregation Consortium (ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med* 8:322ra9, 2016.

- 3) 水澤英洋. プリオン病 (BSE と変異型 CJD). *公衆衛生情報* 45:20-21, 2015.
- 4) 水澤英洋. プリオン病の現状とその克服への展望. *日本内科学会雑誌* 104:1783-1801, 2015.
- 5) 水澤英洋. プリオン病のサーベイランスと臨床研究. *医薬品医療機器 レギュラトリーサイエンス* 46:658-666, 2015.
- 6) 水澤英洋. プリオン病とは. *Clinical Neuroscience* 33:252-255, 2015.

2. 学会発表

- 1) Furukawa F, Sanjo N, Higuma M, Kitamoto T, Hizume M, Nakamura Y, Sakai K, Nozaki I, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Yukamoto T, Murayama S, Koshi K, Matsukawa T, Tsuji S, Goto J, Yamada M, Mizusawa H, Yokota T: Clinical features in Gerstmann-Sträussler-Scheinker-syndrome with P105L mutation. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 2015.
- 2) Hamaguchi T, Sasaki K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. A comparative study of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease between Japan and other countries. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 2015.
- 3) Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada KO, Samocha KE, Sathirapongsasuti JF, Mclean CY, Tung JY, Yu LPC, Gambetti P, Blevins J, Zhang S, Cohen Y, Chen W, Yamada M, Hamaguchi T, Sanjo N, Mizusawa H, Nakamura Y, Kitamoto T, Collins SJ, Boyd A, Will RG, Knight R, Ponto C, Zerr I, Kraus TFJ, Eigenbrod S, Giese A, Calero M, Oedro-Cuesta J, Haiek S, Laplanche JL, Bouaziz-Amar E, Brandel JP, Capellari S, Parchi P, O'Donnell-Luria AH, Karczewski KJ, Marshall JL, Boehnke M, Laakso M, Mohlke KL, Kaehler A, Chambert K, McCarroll S, Sullivan PF, Hultman CM, Purcell SM, Sklar P, Lee SJ, Rozemuller A, Jansen C, Hofman A, Kraaij R, Rooij JGJ, Ikram MA, Uitterlinden AG, Duijn CM, Daly MJ, MacArthur DG. Assessing the pathogenicity of rare PRNP variants by comparing case and control allele frequency. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 2015.
- 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 diagnosis of MM2-cortical type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 5) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Sakai K, Nozaki I, Noguchi-Shinohara M, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Mizusawa H. Amyloid β 42 deposition in the brain of the GSS with the P105L mutation. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 6) Tsukamoto T, Sanjo N, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H, Prion Disease Surveillance Committee, Japan. CJD with M232R: Its clinicopathological features. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 7) Sanjo N, Hamaguchi T, Tsukamoto T, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Yokota T, Mizusawa H, Prion Disease Surveillance Committee, Japan. Surveillance of prion diseases in Japan. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 8) Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Sensory disturbance in Creutzfeldt-Jakob disease: a comparative study of the sporadic and dura mater graft-associated cases. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 9) Sanjo N, Tsukamoto T, Furukawa F, Higuma M, Hizume M, Nakamura Y, Satoh K, Kitamoto T,

Yamada M, Yokota T, Mizusawa H. Human prion diasese in Japan: A prospective surveillane from 1999. XXII World Congress of Neurology, Santiago, October 31-November 5, 2015.

10) Murai H, Nakamura Y, Kitamoto T, Tsuboi Y, Sanjo N, Yamada M, Mizusawa H, Kira JI. Clinical and epidemiological survey of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disases with codon 102 mutation in Japan. XXII World Congress of Neurology, Santiago, October 31-November 5, 2015.

11) 古川迪子, 三條伸夫, 日詰正樹, 小林篤史, 北本哲之, 山田正仁, 水澤英洋, 横田隆徳. V180I 変異遺伝性 Creutzfeldt-Jakob 病の病理学的、生化学的特徴解析の解析. 第 56 回日本神経学会学術大会, 新潟, 5.22, 2015.

12) 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 皮膚型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床診

断基準案の作成. 第 56 回日本神経学会学術大会, 新潟, 5.20-23, 2015.

13) 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 皮膚型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の臨床診断への試み. 第 20 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 長野, 10.22-23, 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

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

プリオン病の二次感染予防に関する研究

研究分担者：齊藤延人 東京大学医学部附属病院

研究協力者：高柳俊作 東京大学医学部附属病院

研究要旨 脳神経外科手術機器を介したプリオン病の発症に関して調査を行う。該当する施設の現地調査を行い、リスクに関連する手術機器や課題を検討する。また、リスク保有者の経過観察の支援を行い、発症のリスクを検討する。

A. 研究目的

本研究は「診断基準・重症度分類策定・改訂のための疫学調査」に該当する。

脳神経外科手術機器を介したプリオン病の発症に関して、リスク保有者のフォローアップデータを用いて調査を行う。該当する分野の日本国内における唯一の研究である。脳神経外科手術機器を介したプリオン病の二次感染に関して、その実態が明らかとなり、脳神経外科医の間での啓蒙がなされ、感染拡大の予防効果が期待される。

B. 研究方法

プリオン病のサーベイランス調査研究に参加し、その内容を分析・検討することにより、プリオン病の二次感染予防リスクのある事例を抽出・検討する。該当する施設の現地調査を行い、リスクに関連する手術機器を検討する。また、リスク保有者の経過観察の支援を行い、発症のリスクを検討する。

（倫理面への配慮）

金沢大学および東京医科歯科大学の倫理委員会で承認を得ている。

C. 研究結果

平成27年は新規インシデント可能性事案が1件あった。この1件は現地調査を行い、インシデント事例と判明した。

現地調査の結果、アルカリ洗浄剤・ウォッシャーディスインフェクターをガイドライン対応のものを使用していなかったことが判明し

た。また、オートクレーブは134℃を18分行わないといけないところを、10分しか行っていなかった。CJDが判明した直後から、脳外科手術に使用する器具すべてを、ウォッシャーディスインフェクターを用いて洗浄しており、リスク保有可能性者の拡大を防いだ。各セット（手術セット、バイポーラー等）の使用対象者を確認の上、27例が告知対象者となった。

これまでに15のインシデント事例が確認されている。このうち昨年度までに4事例で10年間のフォローアップ期間が終了している。これまでのところ、プリオン病の二次感染事例はない。

D. 考察

最近販売されたプラズマなしの過酸化水素ガス滅菌機の導入を考えているが、プリオン病対策として、問題ないかとの問い合わせを受けた。インシデント委員会で検討し、以下の様に考察した。

本来、2008年のプリオン病感染予防ガイドラインでは、ステラッドは、軟性内視鏡などに対して、緊急避難的に、やむを得ず、プリオン病対策に使用してもいいという事になっており、すべての機器に対して、プリオン病対策として適切であるわけではない。この点を、機会があるごとに、周知を深める必要がある。

以前も、過酸化水素ガス滅菌器の有効性は問われたことがあるが、科学的根拠はまだ十分ではなく、プリオン病対策としては、はっきりと問題ないとは言えない。

プリオン病対策の滅菌法に関しては、いまだ

単独で有効なものではなく、今後も、インシデント委員会で審議していく必要がある。

今後も、プリオン病対策の滅菌法に関する問い合わせが出てくることが予想される。インシデント委員会内で、プリオン病対策の滅菌法に関する最新情報を、常に、up date していく必要がある。また、滅菌法に関する問い合わせは、今後も、個々に、インシデント委員会として、対応していく方針とした。

E. 結論

これまでのところ、プリオン病の二次感染事例はない。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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

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

プリオン病患者に対する胃瘻造設

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：森 恵子	小山田記念温泉病院神経内科
研究協力者：伊藤益美	小山田記念温泉病院神経内科
研究協力者：三室マヤ	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：吉田眞理	愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門

研究要旨 胃瘻造設術を施行したプリオン病症例の臨床経過や合併症について検討した。経管栄養を施行した自験プリオン病患者 17 例中、胃瘻造設術を施行したのは 3 例（施行率 17.6%）で、いずれも V180I 遺伝性 CJD であった。胃瘻造設術に伴うトラブル、直接の合併症はなかった。胃瘻からの経管栄養導入後に、重篤な合併症による経管栄養の中止、持続点滴施行のエピソードはなかった。比較的軽症の合併症による抗生剤の点滴投与が 1 回・計 5 日間、抗生剤の経管投与がのべ 18 回・計 178 日間あり、それぞれ胃瘻造設後観察期間（1,530 日）の 0.4%、14.6% に相当した。経鼻経管栄養施行例と比較すると、重篤な合併症により経管栄養を中止するエピソードは有意に少なかったが、比較的軽症の合併症への対応については有意差がなかった。

A. 研究目的

本邦のプリオン病症例の発症から死亡までの全経過は欧米例に比して長い¹⁾⁻³⁾。理由として、プリオン病患者が経口摂取困難に至った場合、本邦では経管栄養が施行される場合が多いことが推定されている²⁾⁻⁴⁾。一方で、プリオン病患者に経管栄養を施行する場合、侵襲的手技に伴う感染対策などから、胃瘻よりも経鼻経管栄養が選択される場合が多い^{3),4)}。

我々は、胃瘻造設術を施行したプリオン病症例を経験した。診療ガイドラインの策定・改訂のために、プリオン病患者の胃瘻造設について検討し、プリオン病患者に対する経管栄養についての以前の自験報告例^{3),4)}との比較もおこない報告する。

B. 研究方法

2007 年以降に小山田記念温泉病院に入院したプリオン病患者で、胃瘻造設術を施行した症例を対象とした。

患者背景、臨床所見や経過、予後、合併症について後方視的に検討し、プリオン病症例の経管栄養施行に関する我々の以前の報告データ^{3),4)}とも比較した。

（倫理面への配慮）

本検討は介入研究、前方視的検討ではなく、臨床データを用いた後方視的検討である。胃瘻造設術、遺伝子解析、病理解剖の施行にあたっては、家族より文書同意を得てある。各症例の臨床データは症例番号で管理し、患者の特定はできないよう配慮した。

C. 研究結果

プリオン病の入院患者は 17 例（孤発性 Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) 12 例、V180I 遺伝性 CJD 4 例、P102L Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease 1 例）であった。無動性無言状態に至ってからは全例で経管栄養が施行されていた。胃瘻造設術を施行した症例は 3 例で（施行率：17.6%）、いずれも V180I 変異を伴う遺伝性 CJD 例であった。他の 14 例では経鼻経管栄養が選択されていた。

症例 1：78 歳時に見当識障害で発症。約 18 ヶ月後にほぼ無動性無言状態となった。以後しばらくは全介助により経口摂取可能であったが、次第に困難となったため、家族の希望により発症 30 ヶ月後に胃瘻造設術を施行。以後は気道感染症に対して 2 回抗生剤を経管投与（計

14日間)したエピソードがあった。全経過 33 ヶ月(胃瘻造設後 3 ヶ月)で呼吸不全のため死亡した。死亡時まで経管栄養を継続し、胃瘻造設後に経管栄養中止や点滴施行のエピソードはなかった。

症例 2: 76 歳時に行動異常で発症し、約 17 ヶ月でほぼ無動性無言状態に至った。以後しばらくは経口摂取可能であったが、発症 34 ヶ月後に誤嚥性肺炎を併発した。家族の希望により当初は中心静脈栄養法を施行したが、カテーテル感染による敗血症を 2 回併発したため、胃瘻造設に希望変更された。全身状態改善後(発症 38 ヶ月後)に胃瘻造設術を施行し、以後は胃瘻造設 26 ヶ月後の現在も安定した状態で経管栄養を継続している。胃瘻造設術後に気道感染症、蜂窩織炎に対して抗生剤を 12 回経管投与(計 118 日間)、1 回点滴投与(計 5 日間)したが、重篤な合併症等による経管栄養の中止、持続点滴施行のエピソードはない。

症例 3: 69 歳時に言語障害で発症し、約 13 ヶ月後にほぼ無動性無言状態に至った。家族は入院当初から経口摂取困難に至った場合には胃瘻造設を希望していた。誤嚥性肺炎を 2 回発症し、末梢持続点滴による治療後に胃瘻造設術を施行した(発症 14 ヶ月後)。胃瘻造設後 22 ヶ月後の現在も安定した状態で経管栄養を継続している。胃瘻造設術後に気道感染症、蜂窩織炎に対して 4 回抗生剤を経管投与(計 46 日間)したが、経管栄養中止や、点滴施行のエピソードはない。

経鼻経管栄養と胃瘻の差違、両者の長所および短所については病院書式の文書を用いて主治医から家族に説明されていた。文書同意を得た後に、消化器内科医により経皮内視鏡的胃瘻造設術(percutaneous endoscopic gastrostomy; PEG)が施行された。症例 1 に使用した内視鏡をプリオン病患者専用とし、症例 2、症例 3 は同一の内視鏡を使用した。使用した内視鏡は手洗い洗浄後に、通常の洗浄法で対応した。胃壁固定具は鮎田式ディスプレイキットを用いた。3 例とも胃瘻造設術に伴うトラブル、直接の合併症はなかった。

小山田記念温泉病院において経鼻経管栄養が施行されたプリオン病患者 12 例における以前の検討では⁴⁾、誤嚥性肺炎などの重篤な合併症

等により経管栄養を中止し、持続点滴を施行したエピソードはのべ 19 回・計 308 日間、気管支炎など比較的軽症の合併症等による抗生剤の点滴投与はのべ 20 回・計 179 日間、抗生剤の経管投与はのべ 60 回・計 344 日間であった。これらの経鼻経管栄養群のデータ⁴⁾と今回検討した胃瘻造設群 3 例を統計学的に比較すると(表 1)、持続点滴の施行日数は経鼻経管栄養群が無動性無言状態での入院期間(3,968 日)の 7.8%、胃瘻群では胃瘻造設後入院期間(1,530 日)の 0%に相当し、両群間で統計学的に有意差を認めた($p = 0.04^*$)。同様に抗生剤の点滴投与日数は経鼻経管栄養群が 4.5%、胃瘻群が 0.3%、抗生剤の経管投与日数は経鼻経管栄養群が 8.7%、胃瘻群が 11.6%で、いずれも統計学的に有意差を認めなかった(それぞれ $p = 0.11^*$ 、 $p = 0.31^*$)。

*マン・ホイットニ検定(Mann-Whitney's U test)。

D. 考察

本邦におけるプリオン病患者に対する経管栄養や胃瘻造設術の施行率に関する全国的な疫学調査データは過去にない。愛知医科大学加齢医科学研究所で病理学的に検索された MM1 型孤発性 CJD51 例の検討では、経管栄養が施行された例は 35 例(施行率: 68.6%)であった³⁾。経管栄養を施行しなかった 16 例(全経過平均 4.0 ヶ月)よりも、施行した 35 例(全経過平均 16.1 ヶ月)の方が統計学的に有意に長期生存していた³⁾。経管栄養施行 35 例において、経鼻経管栄養 32 例(全経過平均 15.5 ヶ月)と胃瘻造設 3 例(全経過平均 23.0 ヶ月)では全経過に有意差はなかった³⁾。

E. 結論

プリオン病患者における胃瘻造設は、対症療法を選択肢として考慮してもよいと思われるが、施行に当たっては家族への十分な説明と同意が重要であると思われる。

プリオン病患者において、胃瘻は経鼻経管栄養と比較して、重篤な合併症等により経管栄養を中止するエピソードが有意に少なかったが、比較的軽症の合併症による抗生剤の点滴投与および抗生剤の経管投与については有意差を指摘できなかった。

今後はさらにエビデンスの蓄積と正確な情報提供につとめ、プリオン病患者における経管栄養の対応方針を成熟させる必要があると思われる。

[参考文献]

- 1) Iwasaki Y, Yoshida M, Hashizume Y, Kitamoto T, Sobue G. Clinicopathologic characteristics of sporadic Japanese Creutzfeldt-Jakob disease classified according to prion protein gene polymorphism and prion protein type. *Acta Neuropathol* 112:561-571, 2006.
- 2) 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.
- 3) Iwasaki Y, Akagi A, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. Factors influencing the survival period in Japanese patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 357:63-68, 2015.
- 4) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美. 無動性無言状態に至ったプリオン病患者の臨床経過と治療に関する検討. *臨床神経* 52: 314-319, 2012.

F. 健康危険情報

本研究はプリオン病の自験入院症例の臨床データを用いた後方視的検討であり、健康危険に関する情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Iwasaki Y, Akagi A, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. Factors influencing the survival period in Japanese patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 357:63-68, 2015.
- 2) Hayashi Y, Iwasaki Y, Yoshikura N, Asano T, Hatano T, Tatsumi S, Satoh K, Kimura A, Kitamoto T, Yoshida M, Inuzuka T. Decreased regional cerebral blood flow in the bilateral thalami and medulla oblongata determined by an easy Z-score (eZIS) analysis of ^{99m}Tc-ECD-SPECT images in a case of MM2-thalamic-type sporadic

Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 358:447-452, 2015.

- 3) Takatsuki H, Satoh K, Sano K, Fuse T, Nakagaki T, Mori T, Ishibashi D, Mihara B, Takao M, Iwasaki Y, Yoshida M, Atarashi R, Nishida N. Rapid and quantitative assay of amyloid-seeding activity in human brains affected with prion diseases. *PLoS One* 10:e0126930, 2015.
- 4) Kobayashi A, Matsuura Y, Iwaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Takahashi H, Murayama S, Takao M, Kato S, Yamada M, Mohri S, Kitamoto T. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease MM1+2C and MM1 are identical in transmission properties. *Brain Pathol* 26:95-101, 2016.

2. 学会発表

- 1) 岩崎 靖, 赤木明生, 三室マヤ, 吉田眞理. 当施設におけるプリオン病の剖検検索症例についての検討. 第 104 回日本病理学会総会, 名古屋, 4.30-5.2, 2015.
- 2) 岩崎 靖, 森 恵子, 伊藤益美, 赤木明生, 三室マヤ, 吉田眞理. プリオン病患者に対する胃瘻造設. 第 56 回日本神経学会学術大会, 新潟, 5.20-23, 2015.
- 3) 赤木明生, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理. Creutzfeldt-Jakob 病では発症 4 ヶ月より α B-Crystallin 陽性神経細胞が出現する. 第 56 回日本神経学会学術大会, 新潟, 5. 20-23, 2015.
- 4) 岩崎 靖. プリオン病. 第 56 回日本神経病理学会学術大会, 福岡, 6.3-5, 2015.
- 5) 赤木明生, 三室マヤ, 岩崎 靖, 酒井素子, 吉田眞理. V180I 変異 Creutzfeldt-Jakob 病の病理学的検討. 第 56 回日本神経病理学会学術研究会, 福岡, 6.3-5, 2015.
- 6) 赤木明生, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理. Creutzfeldt-Jakob 病では発症 4 ヶ月より α B-Crystallin 陽性神経細胞が出現する. 第 56 回日本神経病理学会学術研究会, 福岡, 6.3-5, 2015.
- 7) 岩崎 靖, 加藤博子, 赤木明生, 三室マヤ, 安藤哲朗, 吉田眞理. 全経過 1 ヶ月の MM1 型孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病の 1 剖検例. 第 56 回日本神経病理学会学術研究会, 福岡, 6.3-5, 2015.
- 8) Iwasaki Y, Akagi A, Mimuro M, Yoshida M. Factors influencing the survival period in Japanese

patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, Japan, September 4-5, 2015.

9) 松尾宏俊, 田原美喜, 藤井ちひろ, 孫 明子, 宮田清典, 初田直樹, 中島正之, 赤木明生, 岩崎 靖, 吉田眞理. 当院にて経験した Creutzfeldt-Jakob 病 4 例における鑑別診断の検討. 第 34 回日本認知症学会学術集会, 青森, 10.2-4, 2015.

10) 岩崎 靖. プリオン病と自律神経障害. 第 68 回日本自律神経学会総会, 名古屋, 10.30, 2015.

11) Iwasaki Y, Akagi A, Mimuro M, Yoshida M. Factors influencing the survival period in Japanese patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. XXII World Congress of Neurology, Santiago, October 31-November 5, 2015.

12) 岩崎 靖. クロイツフェルト・ヤコブ病. 第 33 回日本神経治療学会総会. 11.28, 名古屋, 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

表1. 経鼻経管栄養群*と胃瘻群の比較検討

		観察期間に対する割合	
(1) 持続点滴の施行日数			
経鼻経管栄養群	308日		7.8%
胃瘻群	0日		0.0%
統計学的検討		p = 0.04**	
(2) 抗生剤の点滴投与日数			
経鼻経管栄養群	179日		4.5%
胃瘻群	5日		0.3%
統計学的検討		p = 0.11**	
(3) 抗生剤の経管投与日数			
経鼻経管栄養群	344日		8.7%
胃瘻群	178日		11.6%
統計学的検討		p = 0.31**	

観察期間は経鼻経管栄養群が12例で合計3,968日、胃瘻造設群が3例で合計1,530日

*岩崎 靖ら. 無動性無言状態にいたったプリオン病患者の臨床経過と治療に関する検討. 臨床神経 2012 ; 52 : 314-319.

**マン・ホイットニ検定

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

硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病における頭部 MRI 拡散強調画像の検討

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：坂井健二	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）
研究分担者：濱口 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：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：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：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	自治医科大学地域医療センター公衆衛生学部門
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
研究分担者：水澤英洋	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院

研究要旨 硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病 (dCJD) では硬膜移植の部位と dCJD の初発症状に関連があることが示されている。dCJD 症例の頭部 MRI 拡散強調画像 (DWI) を用いて、移植部位と発症早期に異常信号を呈した部位の関連を検討した。1999 年 4 月より 2015 年 9 月までに「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」・CJD サーベイランス委員会による検討の結果 dCJD と判定された症例を対象とし、発症時の DWI を解析した。dCJD についてはプラーク型と非プラーク型に分類した。2015 年 9 月までに 91 例が dCJD と判定され、4 例についての解析を行った。4 例 (男性 3 例、女性 1 例) の発症時年齢の中央値は 40.5 歳 (33-61)、移植時年齢の中央値は 19 歳 (11-36)、移植から発症までの中央値は 23 年 (18-25) であった。全例が非プラーク型に分類され、プラーク型の症例はなかった。発症から DWI 撮影までの中央値は 3 ヶ月 (2-3) であった。DWI では全例で大脳皮質の高信号が認められ、3 例では基底核も高信号を呈していた。移植部位との関連について、全例で移植された側において優位に高信号を呈していた。非プラーク型 dCJD において移植部位と発症時の DWI 高信号の領域には関連があることが示唆されるが、より多数例での詳細な検討が必要である。

A. 研究目的

硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病 (dCJD) では移植されたヒト屍体由来硬膜に含まれていた異常プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) が中枢神経組織へ感染して伝播し、CJD を発症したと考えられている。これまでの報告では硬膜移植の部位と dCJD の初発症状に関連があることが示されているが¹⁾⁻³⁾、移植部位近傍の障害による症候では説明できない症状で発症する症例もあり、直接浸潤以外の経路による PrP^{Sc} の伝播機構の存在も考えられている³⁾。今回の研究は dCJD 症例の頭部 MRI 拡散強調画像 (DWI) を用いて、移植部位と異常信号を呈した部位の関連を検討し、PrP^{Sc} の中枢神経系における伝播機構を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1999 年 4 月より 2015 年 9 月までに「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」・CJD サーベイランス委員会による検討の結果 dCJD と判定された症例を対象とし、発症時の DWI について解析を行った。dCJD についてはこれまでの報告に基づき、プラーク型と非プラーク型に分類した⁴⁾。

(倫理面への配慮)

本研究では、「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」・CJD サーベイランス委員会において登録された情報を使用した。同委員会において収集された診療情報については、生年月日、イニシャル、性別を残

して匿名化されている。診療情報の研究利用については、研究対象者またはその代諾者より文書による同意を取得済みである。また、CJD サーベイランスについては金沢大学および東京医科歯科大学の倫理委員会にて承認済みである。

C. 研究結果

2015年9月までにdCJDと判定された症例は91例であった。7例について頭部MRI画像を収集できたが、1例ではDWIが撮影されていなかった。2例では移植部位の情報が得られておらず、4例についてのみ解析を行った(表1)。

4例(男性3例、女性1例)の発症時年齢の中央値は40.5歳(33-61)、移植時年齢の中央値は19歳(11-36)、移植から発症までの中央値は23年(18-25)であった。全例が非プラーク型に分類され、プラーク型の症例はなかった。発症からDWI撮影までの中央値は3ヶ月(2-3)であり、2例では1ヶ月後にDWI撮影が再度行われていた。

DWIでは全例で大脳皮質の高信号が認められ、3例では基底核も高信号を呈していた。各症例における移植部位とDWI高信号を認めた部位を示す(表2)。症例1, 2, 4では移植側である右側で、症例3は後頭部でDWI高信号が目立った。症例2と3では1ヶ月後にDWIの再検が行われており、高信号は大脳皮質全体に拡大していた。

D. 考察

プリオン病におけるDWI高信号の起源について、vacuoleの密度が違いこと、vacuoleの形態、グリオシスの程度、PrP^{Sc}の沈着量が多いこととの関連が報告されており⁵⁾、プリオン病における中枢神経病変と関連していると考えられている。プリオン病ではPrP^{Sc}が細胞から細胞へ伝播することが考えられており、経時的に頭部MRIの評価が行われたdCJD症例において、硬膜移植部位よりDWIの異常信号が拡大した症例が報告されている²⁾。したがって、dCJD症例におけるDWI画像の検討によりPrP^{Sc}の中枢神経系内における伝播過程を明らかにできる可能性がある。

今回検討できた症例では移植を受けた側で

優位にDWI高信号を呈しており、移植された硬膜からPrP^{Sc}が移植直下の脳実質に感染し、中枢神経系内を伝播したと考えられた。しかしながら、移植部位とは離れた領域にも高信号はみられており、移植部位との線維連絡と関連している可能性や脳脊髄液を介した感染の可能性が考えられた。

また、今回の検討では全例が非プラーク型の症例であり、PrP^{Sc}の株が異なると考えられているプラーク型の症例での検討が必要である。

E. 結論

非プラーク型dCJDにおいて硬膜移植部位と発症時のDWI高信号の領域には関連があることが示唆されるが、より多数例での詳細な検討が必要である。

[参考文献]

- 1) Nishida Y, Yamada M, Hara K, Tsunemi T, Yamawaki M, Shimokawa R, Okeda R, Tsutsumi T, Mizusawa H. Creutzfeldt-Jakob disease after Jannetta's operation with cadaveric dura mater graft: initial manifestations related to the grafted site. *J Neurol* 249:480-483, 2002.
- 2) Sato T, Masuda M, Utsumi Y, Enomoto Y, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T. Dura mater related Creutzfeldt-Jakob disease in Japan: relationship between sites of grafts and clinical features. In: Kitamoto T ed. *Prions: food and drug safety*, Springer-Verlag, Tokyo, pp31-40, 2005.
- 3) Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Graft-related disease progression in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: a cross-sectional study. *BMJ Open* 3:e003400, 2013.
- 4) Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H, Yamada M. Clinical features and diagnosis of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 69:360-367, 2007.
- 5) Mittal S, Farmer P, Kalina P, Kingsley PB, Halperin J. Correlation of diffusion-weighted magnetic resonance imaging with neuropathology in Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol*

59:128-134, 2002.

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kobayashi A, Parch P, Yamada M, Brown P, Saveroni D, Matsuura Y, Takeuchi A, Mohri S, Kitamoto T. Transmission properties of atypical Creutzfeldt-Jakob disease: a clue to disease etiology? *J Virol* 89:3939-3946, 2015.
- 2) Kobayashi A, Teruya K, Matsuura Y, Shirai T, Nakamura Y, Yamada M, Mizusawa H, Mohri S, Kitamoto T. The influence of *PRNP* polymorphisms on human prion disease susceptibility: an update. *Acta Neuropathol* 130:159-170, 2015.
- 3) 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.
- 4) Kobayashi A, Matsuura Y, Iwaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Takahashi H, Murayama S, Takao M, Kato S, Yamada M, Mohri S, Kitamoto T. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease MM1+2 and MM1 are identical in transmission properties. *Brain Pathol* 26:95-101, 2016.
- 5) Kobayashi A, Parchi P, Yamada M, Mohri S, Kitamoto T. Neuropathological and biochemical criteria to identify acquired Creutzfeldt-Jakob disease among presumed sporadic cases. *Neuropathology*, in press.
- 6) Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada K, Samocha KE, Sathirapongsasuti JF, McLean CY, Tung JY, Yu LP, Gambetti P, Blevins J, Zhang S, Cohen Y, Chen W, Yamada M, Hamaguchi T, Sanjo N, Mizusawa H, Nakamura Y, Kitamoto T, Collins SJ, Boyd A, Will RG, Knight R, Ponto C, Zerr I, Kraus TF, Eigenbrod S, Giese A, Calero M, de Pedro-Cuesta J, Haik S, Laplanche JL, Bouaziz-Amar E, Brandel JP, Capellari S, Parchi P, Poggi A, Ladogana A, O'Donnell-Luria AH, Karczewski KJ, Marshall JL, Boehnke M, Laakso M, Mohlke KL, Kähler A, Chambert K, McCarroll S, Sullivan PF, Hultman CM, Purcell SM, Sklar P, van der Lee SJ, Rozemuller A, Jansen C, Hofman A, Kraaij R, van Rooij JG, Ikram MA, Uitterlinden AG, van Duijn CM; Exome Aggregation Consortium (ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med* 8:322ra9, 2016.

2. 学会発表

- 1) 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. Proposal of new diagnostic criteria for MM2-cortical type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. European CJD Surveillance Experts Meeting, Budapest, September 18, 2015.
- 2) Furukawa F, Sanjo N, Higuma M, Kitamoto T, Hizume M, Nakamura Y, Tsukamoto T, Murayama S, Koshi K, Matsukawa T, Tsuji S, Goto J, Yamada M, Mizusawa H, Yokota T. Clinical features in Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome with P105L mutation. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 2015.
- 3) Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T. Amyloid β 42 deposition in the brain of the GSS with the P105L mutation. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.
- 4) Hamaguchi T, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. A comparative study of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease between Japan and other countries. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 2015.
- 5) 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 diagnosis of MM2-cortical type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2015,

Kanazawa, September 4-5, 2015.

6) Kobayashi A, Yamada M, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. Neuropathological and biochemical criteria to identify acquired Creutzfeldt-Jakob disease among presumed sporadic cases. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.

7) Murai H, Nakamura Y, Kitamoto T, Tsuboi Y, Sanjyo N, Yamada M, Mizusawa H, Kira JI. Clinical and epidemiological survey of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with codon 102 mutation in Japan. XXII World Congress of Neurology, Santiago, October 31-November 5, 2015.

8) Sanjo N, Tsukamoto T, Furukawa F, Higuma M, Hizume M, Nakamura Y, Satoh K, Kitamoto T, Yamada M, Yokota T, Mizusawa H. Human prion disease in Japan: A prospective surveillance from 1999. XXII World Congress of Neurology, Santiago, October 31-November 5, 2015.

9) Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Sensory disturbance in Creutzfeldt-Jakob disease: a comparative study of the sporadic and dura mater graft-associated cases. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.

10) Takeuchi A, Kobayashi A, Parchi P, Yamada M, Morita M, Uno S, Kitamoto T. Cell-PMCA of acquired Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.

11) Tsukamoto T, Sanjo N, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H,

Prion Disease Surveillance Committee, Japan. CJD with M232R: Its clinicopathological features. Asian Pacific Prion Symposium 2015, Kanazawa, September 4-5, 2015.

12) Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada KO, Samocha E, Sathirapongsasuti JF, McLean CY, Tung JY, Yu LPC, Gambetti P, Blevins J, Zhang S, Cohen Y, Chen W, Yamada M, Hamaguchi T, Sanjo N, Mizusawa H, Nakamura Y, Kitamoto T, Collins SJ, Boyd A, Will RG, Knight R, Ponto C, Zerr I, Kraus TFJ, Eigenbrod S, Giese A, Calero M, de Pedro-Cuesta J, Haik S, Laplanche JL, Bouaziz-Amar E, Brandel JP, Capellari S, Parchi P, O'Donnell-Luria AH, Karczewski KJ, Marshall JL, Boehnke M, Laakso M, Mohlke KL, Kähler A, Chambert K, McCarroll S, Sullivan PF, Hultman CM, Purcell SM, Sklar P, van der Lee SJ, Rozemuller A, Jansen C, Hofman A, Kraaij R, van Rooij JGJ, Iklam MA, Uitterlinden AG, van Duijn CM, Exome Aggregation Consortium(ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Assessing the pathogenicity of rare *PRNP* variants by comparing case and control allele frequency. PRION 2015, Fort Collins, May 26-29, 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

表 1. 検討した 4 症例のプロファイル

症例	性別	発症時 年齢	移植時 年齢	移植から発症まで の期間 (年)	診断の確実度	タイプ分類
1	男	37	18	18	確実	非プラーク型
2	女	33	11	22	ほぼ確実	非プラーク型
3	男	61	36	25	ほぼ確実	非プラーク型
4	男	44	20	24	ほぼ確実	非プラーク型

表 2. 移植部位と DWI 高信号部位の関連

症例	移植部位	DWI 高信号部位				
		前頭葉	側頭葉	頭頂葉	後頭葉	基底核
1	右前頭部	両側	右	-	両側	両側
2	右前頭頭頂部	両側	右	両側	-	両側
3	後頭部	-	右	右	両側	-
4	右側頭後頭部	両側	両側	両側	両側	両側

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

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の早期診断法を検討してきたが、早期病変の経時的変化の客観的判定法は存在しない。そこで、独自の信号正規化法と非線形変換法を用いて信号変化・萎縮性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・消退と萎縮を高精度に判定することが可能となった。本指標はプリオン病の早期診断基準の一つ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、最も重要な診断基準の一つと考えられている。我々は正常脳実質信号で正規化する表示条件標準化法[1]を本症に適用し、DWI による早期病変診断能が向上することを多施設研究によって明らかにした[2]。また、磁場強度やスライス厚の違いによる診断能の差異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による多施設研究を実施した。

一方、DWI における異常信号が大脳皮質に限局する場合、プリオン病と他疾患との鑑別は時に困難である。病変の出現・消退や萎縮の進行の有無が鑑別に有効と考えられるが、視覚的判定は必ずしも容易ではない。そこで、DWI 異常域・萎縮域の縦断的变化の定量化法を確立するため、2 時点の信号および構造の正規化・差分アルゴリズムを開発・改良し、経時的変化の評価法としての有効性を検討した。

B. 研究方法

DWI を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 名と健常ボランティア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 7-59 日、撮像回数は 2-4 回であった。

Isotropic DWI 画像および b_0 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・脳脊髄液の抽出とリアライメントを行い、 b_0 画像の脳脊髄液で信号輝度を正規化した後に、SPM realign, SPM longitudinal に加え、ANTs(Advanced Normalization Tools)を用いて非線形変換によるワーピング(重ね合わせ)を行い、差分画像を作成した。次いで、信号上昇部位・低下部位および萎縮部位のカラー表示および体積自動算出を行った。また、灰白質・白質領域の voxel-based morphometry による体積変化率の自動算出を行った。

(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

ANTsによる非線形変換によって、重ね合わせの精度が従来のSPM による非線形変換に比し大幅に向上した(図1)。ANTsによる重ね合わせ後の差分画像では、SPMによる従来法の差分画像に比し、信号出現部位、消褪部位をより明瞭に描出するとともに、ミスレジストレーションや擬陽性・偽陰性の箇所が減少した(図2)。自動解析による信号上昇域・低下域の体積の定量性も従来法に比し安定化した。脳体積変化率マップの視覚的評価と相関は十分ではなかった。

D. 考察

本研究によって、2 時点の DWI の非線形変換による重ね合わせ法に新しいアルゴリズムを用いることで、現在広く利用されている SPM に比し重ね合わせ精度を劇的に改善することができ、プリオン病の DWI 早期病変の経時的変化を高精度に定量評価可能な手法を確立することができた。現在は 5-6mm 厚・ギャップ 1.5-2mm の画像を用いているが、薄切スライス(3mm 厚ギャップレス)の画像を用いることで、更なる精度向上が期待できる。磁化率アーティファクトや画像歪みによるエラーのさらなる除去のためには、存在確率マップなどによるマスキング処理の精度向上が必要と考えられる。

今回、DWI 画像から脳萎縮の自動検出アルゴリズムを新たに開発したが、その精度は十分ではなかった。通常の構造画像に比し基本画質の劣る DWI に適したパラメータ設定等のさらなる検討が必要と考えられた。

今後、解析アルゴリズムのさらなる改良、多施設研究による精度検証、解析法の公開と普及を進めていきたい。

E. 結論

2 時点の DWI を用いた信号変化差分画像解析法を確立することで、病変の出現・消退・進行を高精度に定量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指標のひとつ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, Watanabe Y, Matsui M. Standardizing display conditions of

diffusion-weighted images using con- current b0 images. *Magn Reson Med Sci* 6:133-137, 2007.

2) Fujita K, Harada M, Sasaki M, Yuasa T, Sakai K, Hamaguchi T, Sanjo N, Shiga Y, Satoh K, Atarashi R, Shirabe S, Nagata K, Maeda T, Murayama S, Izumi Y, Kaji R, Yamada M, Mizusawa H. 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

体内・体外金属の有無を確認の上通常操作モードで撮像しており、安全性に問題はなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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

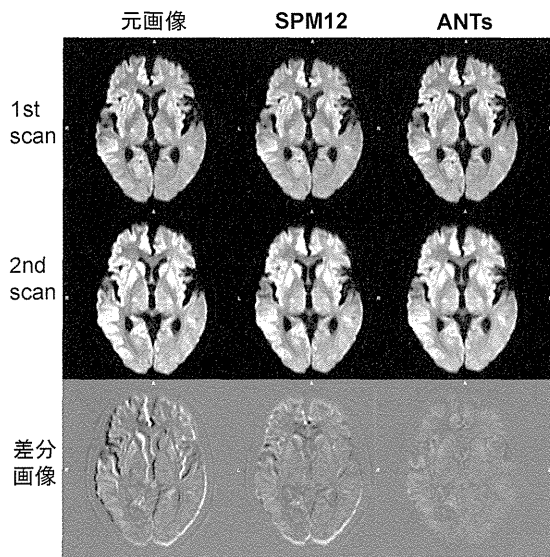


図1. 2時点間DWIの非線形変換重ね合わせの精度
ANTsを用いることで従来のSPMに比しミスレジストレーションが大幅に減少している

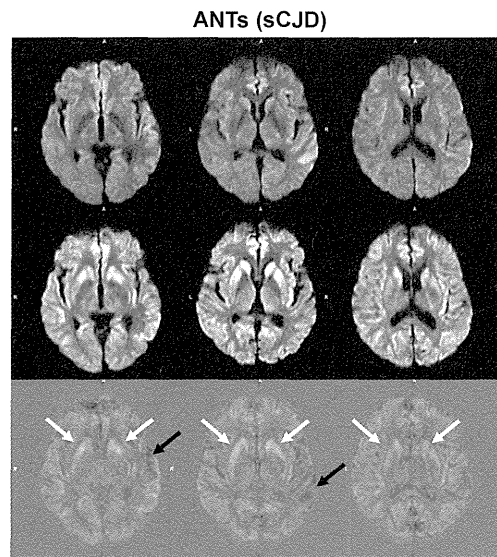


図2. ANTs処理によるsCJD患者の差分画像
重ね合わせ精度の向上によって、異常信号出現部位(白矢印)と消退部位(黒矢印)が明瞭に検出されている

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

ヒトプリオン病における H-FABP 髄液検査の標準化と B-FABP の動態

研究分担者：堀内浩幸 広島大学大学院生物圏科学研究科
 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
 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

研究要旨 ヒトプリオン病における H-FABP 髄液検査は、これまでの解析から従来法に比べ高感度ではあるが特異度が低いことが明らかとなった(平成 26 年度)。この特異度が低い理由は、H-FABP が脳組織以外にも心臓を中心に広く存在し、他の疾患でも検出されてしまうことにある。そこで本研究では、新たなプリオン病のマーカーとして脳組織に特異的に発現する B-FABP に着目し、B-FABP の動態の解析に有効な検出系の構築に取り組んだ。まず、市販されている抗 B-FABP 抗体であるマウスモノクローナル抗体(mAb)とウサギ mAb の評価を行なったところ、マウス mAb は H-FABP と交差すること、またウサギ mAb は B-FABP 特異的ではあるが反応性が低く、また ELISA に供試できないことが判明した。そこで新たにマウスに対してリコンビナント B-FABP を免疫し、新規の抗 B-FABP 抗体の作出を行なった。その結果、B-FABP 特異的かつ ELISA にも利用可能なマウス mAb の作出に成功した。作出した新規の抗 B-FABP mAb(#2-9)を用いて CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液並びに血清を用いてウェスタンブロッティング(WB)による B-FABP の検出を試みたが、いずれも検出することができなかった。WB 解析は、FABP の検出が困難である事が考えられ、定量可能な高感度サンドイッチ ELISA の系が必要であることが示唆された。なお、本研究はプリオン病診療ガイドラインの策定・改訂に資するものである。

A. 研究目的

我国における CJD、なかでも医原性 CJD の発生頻度は世界で最も高く、その治療法の確立と CJD 診断法の充実が医療現場並びに医療行政から強く求められている。

CJD の髄液中のマーカーとして診断に利用されているものには、t-tau と 14-3-3 タンパク質があるが、CJD に経過に伴い t-tau は変動が大きいことや両タンパク質共に陰性である患者も存在する。そこで近年、CJD の髄液中の新たなマーカータンパク質として H-FABP(心臓型脂肪酸結合タンパク質)が注目されている。

本研究グループでは、これまでに H-FABP の高感度検出系を作出し、CJD の髄液中の H-FABP を測定することで、t-tau ネガティブ、14-3-3 ネガティブのプリオン病患者も CJD と診断できることを報告してきた。平成 26 年度には、H-FABP 髄液検査の感度と特異度を他の検出方法と比較することで明確化したところ、H-FABP のプリオン病の診断において、感度は

最も高い(94%)ことが判明した。しかし、H-FABP はいろいろな組織にユビキタスに発現するタンパク質であり、他の疾患(例えば心筋梗塞)でも検出されてしまい、特異度は最も低い 72%であった。

そこで本研究では、同じ FABP ファミリーであり、その発現が主に脳に限局している B-FABP に着目し、B-FABP の検出系の構築と CJD における B-FABP の動態を明らかにし、B-FABP のマーカーとしての有用性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. 抗 B-FABP 市販抗体の評価

B-FABP の検出に利用可能な抗体が既にいくつか市販されている。マウス mAb は、クローンナンバー AT1D1 由来のものが複数社から市販されている。またウサギ mAb は、EPR4000 由来として GeneTex 社から販売されている。そこで、この 2 種の mAb の反応性をリコンビナ

ント B-FABP と H-FABP をもちいて WB 法と ELISA で評価した。また、CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液を試料に WB 法による検出を行った。

2. 新規抗 B-FABP mAb の作出試験

平成 26 年度に作製したリコンビナント GST-B-FABP を免疫原にマウスに免疫し、複数種の B-FABP に対する特異抗体の作出を試みたが、最終的に B-FABP に特異性を示す mAb を産生するハイブリドーマを得ることができなかった。そこで平成 27 年度は、免疫原を GST-B-FABP から His-B-FABP に変更し、GST-B-FABP 免疫中のマウスに対して His-B-FABP を複数回免疫した。十分な抗体価の上昇が確認されたマウス脾細胞を用いて、細胞融合法により mAb 産生ハイブリドーマの作出試験を行い、ELISA によるスクリーニング並びに限界希釈法によるクローニングを行なった。

3. 新規抗 B-FABP mAb の特異性解析

2 で作出した B-FABP 特異的 mAb は、リコンビナント B-FABP 並びに H-FABP を用いた ELISA 並びに WB 法によりその特異性を解析した。また、CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液と血清を試料に WB 法による検出を行なった。

(倫理面への配慮)

組換え DNA 実験に関しては、カルタヘナ法のもと、広島大学が定める組換え DNA 実験安全管理規則に従い、研究計画書を提出し、大学長より承認を受けた後に行うものであり、本研究に関しては既に機関承認実験として広島大学長から承認を得ている(承認番号: 26-212)。

動物使用実験に関しては、広島大学動物実験実施規則に従い研究計画を提出し、広島大学長からの承認(承認番号: C15-4)を受け、この規則に従い研究を実施した。

ヒトプリオン病や他の脳脊髄液及び血清を用いたバイオマーカー測定は、研究協力者が所属する長崎大学で実施し、実験に当たっては、長崎大学倫理委員会の規定に従った。

研究倫理教育は、平成 27 年 12 月 21 日(月)に広島大学において開催された理工農系の研

究者を対象とした研究倫理教育 FD より受講を済ませている。

C. 研究結果

1. 抗B-FABP市販抗体の評価

市販抗体 2 種を WB 法並びに ELISA 法により評価を行なった。その結果、B-FABP に対するマウス mAb は、H-FABP と交差反応することがわかった(図 1)。またウサギ mAb は B-FABP を WB 法により特異的に検出するものの検出感度が低いことがわかった(図 1)。ELISA 法では、マウス mAb が B-FABP と十分な反応性を示すものの H-FABP と交差すること(図 3)、またウサギ mAb は、ELISA に供試できないことがわかった(結果は示していない)。

ウサギ mAb は B-FABP を WB 法により特異的に検出することから、CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液を試料に WB 法による検出を行なった。その結果、一部の CJD 患者髄液から B-FABP が検出されたが(図 2)、その後の解析から陽性対象として使用したリコンビナント B-FABP がリークして検出されたのではないかということが示唆された。

2. 新規抗 B-FABP mAb の作出

GST-B-FABP 免疫マウスに対して、免疫原を His-B-FABP に変更して免疫を継続し、細胞融合法による B-FABP 特異的マウス mAb 産生ハイブリドーマの作出試験を行なった。その結果、複数のハイブリドーマの中に B-FABP とのみ反応性を示す抗体を産生するハイブリドーマが得られたことから、限界希釈法によるクローニングを行なった。クローニングした#2-9 のクローンの培養上清(以下、#2-9 抗体とする)を用いて、市販のマウス mAb の反応性を ELISA 法で比較したところ、同一濃度のリコンビナント B-FABP(GST-B-FABP と His-B-FABP)との反応性において、#2-9 抗体は、市販抗体よりも高い反応性を示すことがわかった(図 3)。また市販抗体が H-FABP と交差反応を示すのに対して、#2-9 抗体は B-FABP 特異的であることがわかった(図 3)。#2-9 抗体のサブクラスは、IgG1 であり、L 鎖は k 鎖であった。

3. #2-9 抗体を用いた WB 解析

#2-9 抗体の特異性を解析するために、各種試料を用いた WB 解析を実施した。まず、リコンビナント B-FABP と H-FABP を試料に、#2-9 抗体と市販抗体を比較した。その結果、同濃度の試料を用いた WB 解析において、#2-9 抗体は、いずれの B-FABP に対しても市販抗体よりも高感度に B-FABP を検出できることがわかった (図 4)。さらに、市販抗体が H-FABP と強く反応してしまう (交差反応) のに対して、#2-9 抗体は、H-FABP と全く反応しないことがわかった (図 4)。

次に、CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液と血清を試料に WB 法による検出を行なった。その結果、いずれの試料からも B-FABP を検出することはできなかった (図 5)。

D. 考察

現在、CJD の髄液における検査系は、14-3-3 タンパク質、t-tau 及び RT-QUIC 法により、国際的な標準化が行なわれようとしているが、いずれの手法も陰性を示す CJD 試料が存在する。本研究グループが行なった H-FABP の検出系を利用すれば、CJD 検出の感度が 90% 以上であり、また RT-QUIC 法の特異度は 90% 以上であること、検出系の煩雑さを考慮すると少ない検出系であることが好ましく、H-FABP の検出と RT-QUIC 法の組み合わせが CJD の検出に最も適していると考えられる。しかし、この組み合わせにおいても検出できない CJD の髄液試料は存在しており、さらに高感度かつ高特異度をもつバイオマーカーの発見は、CJD の診断に重要である。そこで本研究グループでは、H-FABP と同じファミリータンパク質であり、主に脳組織で特異的に発現する B-FABP に着目した。

B-FABP の CJD のバイオマーカーとして有用性を明らかにするには、B-FABP の特異抗体が重要である。そこで市販の抗 B-FABP 抗体の評価試験を実施したところ、市販のマウス mAb とウサギ mAb はいずれも、交差反応性、検出感度、検出手法への適合性の面で利用できないことがわかった。そこで、本研究では B-FABP に特異的かつ、上記問題点を克服できる新規のマウス mAb の作出を行なった。その結果、作出した #2-9 抗体は、目的通り B-FABP に特異的であり、市販抗体よりも高感度かつ ELISA の

検出系にも利用可能であることがわかった。本研究では、残念ながら WB 法により CJD を含む各種脳性疾患患者の髄液と血清試料からの B-FABP の検出はできなかったが、CJD 試料からの H-FABP も WB 法により検出できていない (結果は示していない) ことから考えて、FABP の検出に WB 法は不適であることが示唆された。最終的には、B-FABP の定量が可能な高感度サンドイッチ ELISA の構築が必要であり、現在この手法に必要なキャプチャー抗体の準備を進めている。

E. 結論

B-FABP の検出系に市販の抗体は、交差反応性、検出感度、検出手法への適合性の面で利用できないことがわかった。新規に作出した抗 B-FABP mAb (#2-9) は、B-FABP に特異的であり、市販抗体よりも高感度かつ ELISA の検出系にも利用可能であることがわかった。#2-9 抗体を用いた WB 解析では、CJD 試料からの B-FABP の検出ができなかったが、そもそも FABP の検出に WB 解析が不適である可能性が示唆された。今後、CJD のバイオマーカーとしての B-FABP の有用性を明らかにして行く上で、定量性のある高感度サンドイッチ ELISA の構築が重要である。

[参考文献]

- 1) Liu RZ, Denovan-Wright EM, Wright JM. Structure, mRNA expression and linkage mapping of the brain-type fatty acid-binding protein gene (FABP7) from zebrafish (*Danio rerio*). *Eur J Biochem* 274:715-725, 2003.
- 2) Matsumata M, Sakayori N, Maekawa M, Owada Y, Yoshikawa T, Osumi N. The effects of Fabp7 and Fabp5 on postnatal hippocampal neurogenesis in the mouse. *Stem Cells* 30:1532-1543, 2012.
- 3) Sharifi K, Morihiro Y, Maekawa M, Yasumoto Y, Hoshi H, Adachi Y, Sawada T, Tokuda N, Kondo H, Yoshikawa T, Suzuki M, Owada Y. FABP7 expression in normal and stab-injured brain cortex and its role in astrocyte proliferation. *Histochem Cell Biol* 136:501-513, 2011.