

が占める割合は58例中26例の44.8%と人口比の42.5%に近づいている。これらから、現状における近畿ブロック内でのプリオン病関連疾患の把握状況は各府県でほぼ同等であると考えられる。

E. 結論

現状における近畿ブロック内のプリオン病疑い患者の把握数はほぼ人口比に比例しており、把握状況における府県の差はほぼないと考えられる。

[参考文献]

なし

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

奥野龍禎. 脳炎. In: 望月秀樹・北川一夫・編. 神経内科クリニカルスタンダード. 文光堂. 東京. 2015:344-365

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.)

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

中国四国地区におけるプリオン病サーベイランス

研究分担者：阿部 康二 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経内科学

研究協力者：佐藤 恒太 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経内科学

研究要旨

本邦でクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）サーベイランス委員会が設置されてからの 15 年あまりの調査にて我が国のプリオン病の実態が明らかにされてきている。特に遺伝性プリオン病の病型分布においては V180I および M232R の変異の頻度が高く、欧米とは異なった傾向を示している。我々はプリオン病サーベイランスの結果に基づき中国四国地区におけるプリオン病の実態について検討を行った。

2013 年 10 月から 2015 年 9 月の期間で中国四国地区において当委員会に報告され、プリオン病と判定されたのは全 45 例、うち孤発性 CJD35 例、遺伝性 CJD10 例であった。また診断不明あるいは他の疾患による保留または否定が 21 例であった。当該地区における 1999 年 4 月から 2015 年 9 月の通算では、259 例がプリオン病（確実、ほぼ確実、疑い）と判定された。その内訳は、孤発性 CJD 208 例（80.3%）、遺伝性 CJD 46 例（17.8%）、獲得性 CJD(硬膜移植後) 5 例（1.9%）で全国平均とほぼ同様であった。変異型 CJD は同定されなかった。遺伝性 CJD の PRNP 蛋白遺伝子の変異別頻度は、V180I 34 例（73.9%）、M232R9 例（19.6%）、E200K 1 例（2.2%）、ゲルストマン・ストロイスラー・シヤインカー病（P102L）1 例（2.2%）、家族性致死性不眠症 1 例（2.2%）：D178N 1 例（2.2%）の順であった。

2012 年 9 月から 2015 年 9 月に限ると V180I 変異症例が 12 例増えており、全国統計に比べて、V180I の頻度が高いばかりでなく、近年報告数が益々増加していることが示唆された。

A. 研究目的

プリオン病サーベイランスの結果に基づき、中国四国地区におけるプリオン病の実態を明らかにする。

B. 研究方法

中国四国地区においてプリオン病サーベイランス委員会に報告された全 351 例（1999 年 4 月から 2015 年 9 月）について、中国四国各県の CJD 担当専門医の協力のもとに電話・訪問調査を行い、定期的に関

かれるサーベイランス委員会にて個々の患者のプリオン病の診断（病型、診断の確実性、他）についての評価を行った。そして、これらの症例について発生地域、発病年齢、病型（孤発性、遺伝性、獲得性）、臨床症状などの項目について統計解析を行った。

（倫理面への配慮）

当研究における匿名化された個人情報を含む研究結果の発表に関しては、サーベイランス事務局のある東京医科歯科大学医学部倫理委員会の審査承認を受け、すべての患者の同意を得ている。

C. 研究結果

2013年10月から2015年9月の期間で中国四国地区において当委員会に報告され、プリオン病と判定されたのは全45例、うち孤発性CJD 35例、遺伝性CJD 10例であった。また診断不明あるいは他の疾患による保留または否定が21例であった。当該地区において当委員会に報告された全351例（1999年4月から2015年9月）のうち、259例がプリオン病（確実、ほぼ確実、疑い）と判定された。その内訳は、孤発性CJD 208例（80.3%）、遺伝性CJD 46例（17.8%）、獲得性CJD（硬膜移植後）5例（1.9%）で全国平均とほぼ同様であった（図1）。

遺伝性CJDのPRNP蛋白遺伝子の変異別頻度は、V180I 34例（73.9%）、M232R 9例（19.6%）、E200K 1例（2.2%）、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病（P102L）1例（2.2%）、家族性致死性不眠症 1例（2.2%）、D178N 1例（2.2%）の順であり、全国調査との乖離が見られた（図2）。

D. 考察

中四国地域は遺伝性プリオン病のうち、V180Iの頻度が全国統計（約40%）に比べ

て、明らかに高く、E200K・P102Lの頻度が小さいという特徴が見られた。以上より本邦の遺伝性プリオン病の分布には地域差があると考えられた。また、2012年9月から2015年9月に限るとV180I変異症例が12例増えており、全国統計に比べて、V180Iの頻度が高いばかりでなく、近年報告数が益々増加していることが示唆された。

E. 結論

【参考文献】

- 1) Nozaki I, Hamaguchi T, Yamada M et al. Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. *Brain*. 2010; 133: 3043-57.
- 2) 山田正仁, 篠原もえ子, 浜口 毅, 野崎一朗, 坂井健二. 日本におけるヒト・プリオン病のサーベイランスと疫学的実態. In: 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病および遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」編. プリオン病と遅発性ウイルス感染症. 東京, 金原出版, 2010; 16-21.

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

Matsuzono K, Honda H, Sato K, Morihara R, Deguchi K, Hishikawa N, Yamashita T, Kono S, Ohta Y, Iwaki T, Abe K. 'PrP systemic deposition disease': clinical and pathological characteristics of novel familial prion disease with 2-bp deletion in codon 178. *Eur J Neurol*. 2016 Jan;23(1):196-200.

2. 学会発表

- 1) Kota Sato, Koji Abe. Prospective surveillance data of human prion disease in Chugoku and Shikoku region in Japan. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, Korea, 6-7, July. 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む.)

なし

図1. プリオン病患者の病型分類

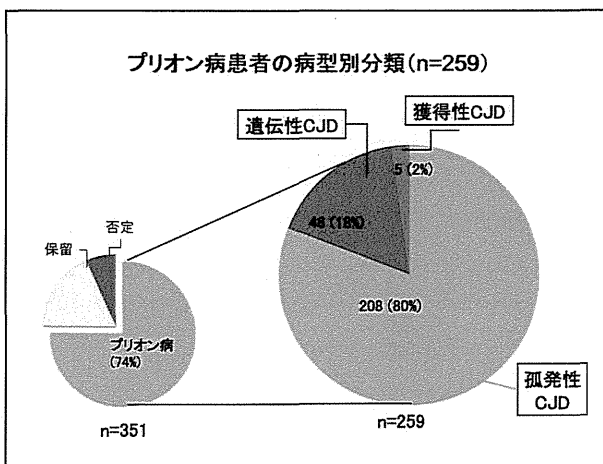
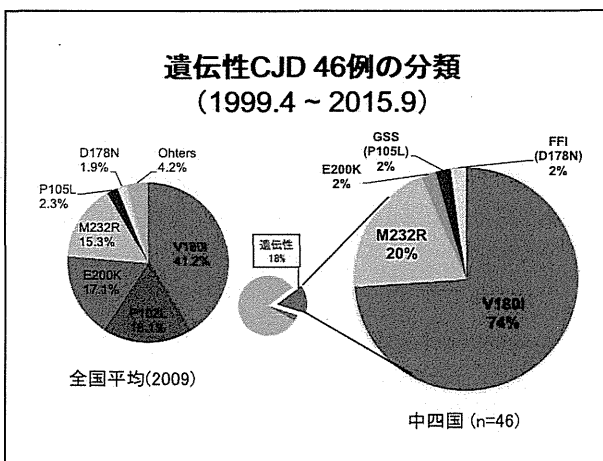


図2. 遺伝性プリオン病の全国調査との比較



Gerstmann-Stäussler-Scheinker 病（P102L）の臨床疫学的研究

研究分担者：村井 弘之 九州大学大学院医学研究院脳神経治療学
中村 好一 自治医科大学公衆衛生学
北本 哲之 東北大学大学院医学系研究科病態神経学
坪井 義夫 福岡大学医学部神経内科学

研究要旨

コドン 102 に変異を有する Gerstmann-Stäussler-Scheinker 病（GSS-P102L）の臨床疫学的検討を行った。GSS-P102L の大部分は九州居住者もしくは九州出身者であった。九州のなかでは福岡県～佐賀県（北部）と鹿児島県（南部）に二大集積地があることが明らかとなった。GSS-P102L には脊髄小脳変性症に類似した緩徐な進行を呈する典型例と、認知症が急速に進行する CJD 類似型があるが、MRI 拡散強調画像での高信号が急速進行性の予測因子になる可能性が示唆された。

A. 研究目的

Gerstmann-Stäussler-Scheinker 病（GSS）のうちコドン 102 に変異を有するもの（GSS-P102L）は欧米に比べ本邦で有望率が高い¹。また、本邦のなかでも九州地方に多いことが知られている。本疾患についてはこれまでに鹿児島大学より臨床像について報告がなされている²。しかし、福岡・佐賀にも患者の集積がある。ここでは、本邦における GSS-P102L の臨床疫学的な特徴を明らかにすることを目標とした。

B. 研究方法

1999 年から 2015 年末までにクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）サーベイランスで検討された症例のうち、GSS-P102L 症例を抽出し、その出身地、現在の居住地、家族歴の有無、臨床症状、脳波所見、MRI 画像所見などについて検討した。

（倫理面への配慮）

調査にあたっては、患者本人または家族に研究の同意書を記載していただき、また個人が特定できないよう、匿名で調査票を記載した。

C. 研究結果

CJD サーベイランスのデータからは、合計 85 人の GSS-P102L 症例が集積された。これらの症例の現在の居住地は、北海道 3、東北 1、関東 21、東海 3、近畿 11、中国 2、九州 44 であった。九州以外に居住している 41 人のうち、出生地が九州である者が 16 人（39.0%）であった。九州居住者 44 人の内訳は、福岡 20、佐賀 13、熊本 1、鹿児島 8、宮崎 2 であり、北部と南部に二大集積地があることが明らかとなった。

GSS-P102L 症例 85 人のうち 71 人（83.5%）

が家族歴を有していた。初発症状は 52 人 (61.2%) がふらつきまたは歩行障害であり、認知症での発症は 12 人 (14.1%) であった。全経過中に小脳失調、認知症を呈したのはそれぞれ 77 人 (90.6%)、56 人 (65.9%) であった。無動無言状態を呈したのは 39 人 (45.9%) であった。

脳波上 PSD が観察されたのは 12 人 (14.1%) であり、その 12 人のうち 9 人 (75.0%) が無動無言状態になっている。PSD が観察されなかった 62 人のうち無動無言状態になったのは 26 人 (41.9%) であった。無動無言状態までの平均期間は PSD あり群で 18.0 月、PSD なし群で 26.5 月であり、前者で短かったが統計学的に有意差はなかった (Mann-Whitney test; $p = 0.4$)。MRI 画像で高信号を呈したのは 32 人 (37.6%) であり、そのうち無動無言状態になったのは 20 人 (62.5%) であった。高信号を呈さなかった 46 人のうち無動無言状態になったのは 15 人 (32.6%) であった。無動無言状態までの平均期間は高信号あり群で 9.2 月、高信号なし群で 44.5 月であり、高信号あり群で有意に短かった (Mann-Whitney test; $p = 0.0002$)。

D. 考察

GSS-P102L の全国的な臨床疫学調査を行った。今回の研究で抽出された症例全体の 70.6% が九州在住もしくは九州出身であった。両親の出身地は調査項目に入っていないため、両親の出身地までは不明である。GSS-P102L が九州に集積していることがあらためて明らかとなった。

九州の中でも、福岡県～佐賀県 (北部) と鹿児島県 (南部) が 2 大集積地であること、とくに福岡県と佐賀県の県境近くに大きな集積地があることが明らかとなった。ただし南部には一部 CJD サーベイランスの調査対象になっていない症例が存在するため、実際には

今回の結果よりも大きな集積があると考えられる。サーベイランスから漏れていた九州南部 23 例の存在を確認できたため、今後それらを調査し、サーベイランス情報に加味する予定である。

GSS-P102L には小脳失調で発症し、脊髄小脳変性症に類似した緩徐な進行を呈する典型例と、認知症が急速に進行して無動無言状態に陥る CJD 類似型があるが、その区別は明瞭ではなく、同一家系でもその両者がみられる場合がある。今回の研究では、脳波上 PSD や MRI 上の高信号が観察された症例では無動無言に陥る確率が高かった。また、MRI 上の高信号を有する症例では無動無言状態までの期間が有意に短かった。これは、これらの所見が GSS-P102L の急性進行型 (CJD 類似型) の予測に使用することができる可能性を示しているが、検査の時期を考慮に入れる必要がある。今後症例を追加し、1 例ずつの詳細に検討する予定である。

E. 結論

GSS-P102L の臨床疫学的検討を行った。GSS-P102L の大部分は九州居住者もしくは九州出身者であった。九州のなかでは福岡県～佐賀県 (北部) と鹿児島県 (南部) に二大集積地があることが明らかとなった。GSS-P102L には脊髄小脳変性症に類似した緩徐な進行を呈する典型例と、認知症が急速に進行する CJD 類似型があるが、MRI 拡散強調画像での高信号が急速進行性の予測因子になる可能性が示唆された。今後、サーベイランスからもれた九州南部の症例を加えてさらなる検討をする予定である。

[参考文献]

1. Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T,

Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe S, Harada M, Sadakane A, Yamada M. Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. Brain. 2010; 133: 3043-57

2. Arata H, Takashima H, Hirano R, Tomimitsu H, Machigashira K, Izumi K, Kikuno M, Ng AR, Umehara F, Arisato T, Ohkubo R, Nakabeppu Y, Nakajo M, Osame M, Arimura K. Early clinical signs and imaging findings in Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (Pro102Leu). Neurology. 2006; 66: 1672-8

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Qina T, Sanjo N, Hizume M, Higuma 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. 2014; 4:

e004968

2. Amano Y, Kimura N, Hanaoka T, Aso Y, Hirano T, Murai H, Satoh K, Matsubara E. Creutzfeldt-Jakob Disease with a prion protein gene codon 180 mutation presenting asymmetric cortical high-intensity on magnetic resonance imaging. Prion. 2015; 9: 29-33

2. 学会発表

1. Murai H, Nakamura Y, Kitamoto T, Tsuboi Y, Sanjo N, Yamada M, Mizusawa H, Kira J. Clinical and epidemiological survey of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with codon 102 mutation in Japan. The 22nd World Congress of Neurology. Santiago, Chile, 2015.11.4

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

耐熱性プロテアーゼによるプリオン蛋白質の分解と二次感染予防法の確立

研究分担者：古賀 雄一 大阪大学大学院工学研究科

研究協力者：清水 七海 大阪大学大学院工学研究科

研究要旨

プリオンの二次感染予防を目的として、熱安定性の高いプロテアーゼによる異常プリオンタンパク質の分解及び感染性の評価を行った。さらにプリオンの二次感染予防を目的とした洗浄剤の開発を行った。本酵素単体もしくは酵素を有効成分とする試作洗浄剤を用いて、プリオン感染マウスの脳ホモジネートに含まれる PrP^{Sc} を不活化処理し、その感染性低減効果の定量的評価を行った。

A. 研究目的

熱安定なプロテアーゼで分解した異常プリオンタンパク質の感染性が残る問題の原因を明確にし、二次感染防止に向けた技術の改良要素とし、実用的なプリオン不活化技術の開発を目的とした。

B. 研究方法

超好熱古細菌 *Thermococcus kodakarensis* KOD1 株が生産する 2 種類の subtilisin family protease (Tk-sub, Tk-SP) は極めて高い耐熱性と界面活性剤耐性を有する。これらの酵素は高温、界面活性剤存在下でプリオンタンパク質を含む生体試料と反応させることができる。本研究では、大腸菌に異種発現させた Tk-sub、Tk-SP を用いて PrP^{Sc} の分解が可能かどうかを検証した。さらに酵素を医療用洗浄剤に応用することを目的とした、酵素入り洗浄剤の開発を行った。開発においては、酵素生産法の確立、適正な洗浄剤組成の開発、洗浄剤中での酵素学的特性解析、PrP^{Sc} の分解試験、感染性評価を行った。

(倫理面への配慮)

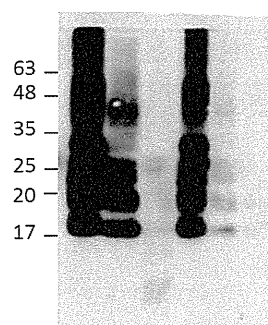
実験動物に必要な以上の苦痛を与えないことを旨とし、発症後の速やかな安楽死を行った。研究計画および倫理面での配慮については研究実施機関の承認を得、また、当機関の規則にのっとり実施した。

C. 研究結果

Tk-subtilisin と、RML 感染マウス脳ホモジネート中の PrP^{Sc} の分解を試みた。

6D11 (PrP 93-109)

whole		soluble	
(-) PK	Tk	(-) PK	Tk



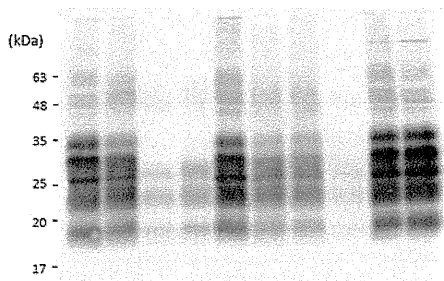
この結果、PK に比べて効率的に Tk-sub が PrP^{Sc} を分解できることが示された。

Tk-SP を有効成分とする洗浄剤の試作を行

った。洗浄剤組成物として、陽イオン界面活性剤 2 種、両性界面活性剤、キレート剤の酵素との相性を検討した。各成分と酵素を混合し、RML 感染脳ホモジネートに加えて加熱し、*in vitro* での PrP^{Sc} 分解活性をウェスタンブロットによって検討した。

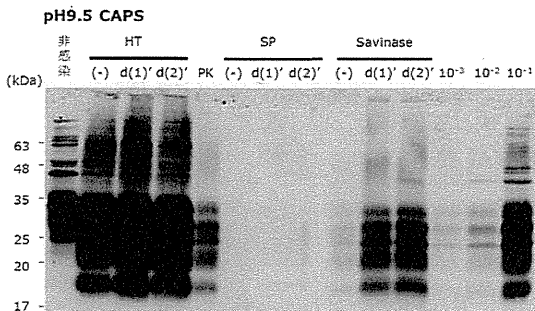
80°C 30min

heat treatment	0.1% Proxel				1% Trilon				(-)	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
PK	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Tk-sub	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Tk-SP	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-



洗浄剤成分とプロテアーゼによるPrP^{Sc}分解

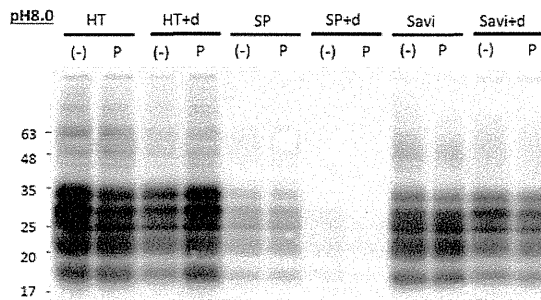
一般的なプロテアーゼ PK に比べ、超好熱菌由来プロテアーゼ (Tk-sub、Tk-SP) は PrP^{Sc} に対する分解活性が高い。しかし、キレート成分 (Trilon) 存在下では Tk-SP のみが、強い分解活性を示す事がわかった。洗浄有効成分として陽イオン界面活性剤 2 種、キレート剤はそれぞれ 5% 最終濃度になるように調整した。また洗浄剤の濁りを抑制するために両性界面活性剤も終濃度 5% まで添加した。これらの組成物に酵素を加えたところ、酵素の活性を損なうこと無く、効率的に PrP^{Sc} を分解できる洗浄剤であることを確認できた。



試作洗浄剤でのPrP^{Sc}分解能の比較

次に試作品洗浄剤で分解した PrP^{Sc} の感染

性を検証するために、マウス神経芽細胞への感染試験を行った。感染後の細胞を継代し PrP^{Sc} の蓄積量で感染性を検証した。



PrP^{Sc}蓄積量による感染性の比較

Tk-SP と界面活性剤を組み合わせることで分解した系で PrP^{Sc} の蓄積の遅れが認められた。

D. 考察

Tk-subtilisin は 80°C 以上の高温で高い活性を示すが、RML は熱に対して弱いため 60°C、もしくは 80°C 30 分など、感染性を失わない範囲で実験しなければ、酵素の感染性への影響を評価できないことが明らかになった。PrP の酵素分解による感染性の低減効果は、Tk-subtilisin に特異的なものではなく、PK であっても高温で大量の酵素を用いれば PrP^{Sc} が分解でき、また、感染性を低減できると思われる。Tk-subtilisin は酵素の熱安定性が高いために、PrP^{Sc} の構造が緩む高温での分解が顕著に現れたと思われる。

Tk-SP とインティン融合することで、毒性を抑制して大腸菌大量発現系を構築することに成功した。また、熱処理によって自己触媒的に Tk-SP が活性化することが確認できた。おり生産性を低下させているという問題点も明らかになった。

医療用洗浄剤としての実用化を目指して、陽イオン界面活性剤 2 種類、キレート剤、両性界面活性剤を組み合わせた洗浄剤に酵素を加えたが、Tk-SP は洗浄剤存在下で安定に酵素活性を発揮できることが明らかとなった。また、洗浄剤と Tk-SP を組み合わせることに

より、PrP^{Sc} が効率的に進むことも確認できた。これは脳ホモジネートに含まれる脂質などの成分が界面活性剤により可溶化し、また、タンパク質の疎水面を界面活性剤が露出させたために、会合状態が解消されて PrP^{Sc} と Tk-SP の接触機会が増えたためと考えられる。

Tk-SP の分解効率の高さに比例して感染性の低減も認められた。一方で、界面活性剤が細胞毒性を示すことから、感染性の検証には今後の動物実験が必要と考えられる。

E. 結論

医療器具の洗浄においては、脳ホモジネートや体液などのように、脂質やタンパク質が大量に含まれ得る中に PrP が存在するものが分解対象となる。PrP^{Sc} を構造的に分解しやすくするためには 80℃ 以上の高温で処理することが有利に働くが、同時にタンパク質の沈殿も生じて PrP^{Sc} を抱き込んでしまう可能性が考えられる。従って、界面活性剤など不溶性沈殿物が生じないように処理することが必要であり、このような条件で酵素を作用させ無ければならない。プリオン分解が可能なプロテアーゼとして Prionzyme が製品化されているが、耐熱性、界面活性剤耐性がないため使用条件が限定されており医療現場に普及していない。また、現在医療用洗浄剤に使用されている subtilisin 系プロテアーゼは今回用いた界面活性剤存在下で活性を失うことから、本酵素は界面活性剤存在下で熱をかけて洗浄する事が可能な初めての洗浄用酵素であるといえる。

本研究を通して、熱と界面活性剤とプロテアーゼの組合せが PrP^{Sc} の分解に有効であることが示された。今後のヒトプリオンタンパク質を用いた感染性の検証により、感染予防に有効であることが実証されれば、今後の二次感染予防のための新しい選択肢を提供できると考えられる。

[参考文献]

[雑誌] 著者名. 題名. 誌名. 発行年: 巻数; 頁

[書籍] 著者名. 題名. In: 編集者名・編. 書籍名, 発行地, 発行所名, 発行年; 頁-頁.

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

Azumi Hirata, Akikazu Sakudo, Kazufumi Takano, Shigenori Kanaya and **Yuichi Koga**, Effects of Surfactant and a Hyperthermostable Protease on Infectivity of Scrapie-Infected Mouse Brain Homogenate. Journal of Biotechnology and Biomaterials 2015, 5, 3 1000194

2. 学会発表

清水七海, 古賀雄一, 作道章一, 原 英之, 坂口末廣, 金谷茂則

超好熱菌由来プロテアーゼによるプリオン蛋白質分解の評価

第 87 回 日本生化学会大会
京都

2014 年 10 月 16 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

名称: 新規なプロテアーゼおよびその利用

発明者: 金谷茂則、チタ フーナオ、高野和文、古賀雄一

出願番号 PCT/JP2009/063547

登録番: 5339543 (国内)、8535928 (米国)、ZL200980130490.4 (中国)、欧州で許可通知受領済み

2. 実用新案登録

3. その他

プリオンタンパク質のモルテングロビュール状態とプリオン病の予防

研究分担者：桑田 一夫 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科
研究協力者：本田 諒 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科
山口 圭一 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

研究要旨

プリオン蛋白質は、酸性側で、A型と名付けた特殊な構造をとる。A型では、ヘリックスⅠとその周辺のβシートがランダム化しているが、ヘリックスⅡとヘリックスⅢの構造は、部分的に保存されている。A型は、凝集体形成に至る直前の状態に近く、また、天然型に至る中間体の構造にも近い。ストップフロー法、連続フロー法、及びNMRによる水素・重水素交換反応を用いた詳細な速度論的解析により、プリオン蛋白質の巻き戻り過程は、U（変性状態）→I（中間状態）→A（MG状態）→N（天然状態）の順に進むことが分かった。従って、N型を安定化させ、A型生成を抑制する薬剤が、プリオン病の予防に有効であろう、と考えられる。現在、治験に向けた準備が行われている P092 塩は、この作用点に働く治療薬候補化合物である。従って、プリオン病の予防に P092 塩を用いることができる、と考えられる。

A. 研究目的

感染性のプリオン蛋白質は凝集する。凝集体の全てが感染性を有するわけではないが、他のプリオンライクなタンパク質の凝集体も、多かれ少なかれ感染性を有することが明らかになってきている。従って、プリオン蛋白質が構造変化を起こした場合、どの段階から凝集体（オリゴマー）形成に進むのか？を原子分解能で知ることは、発症予防や治療薬設計の観点から極めて重要である。

正常型プリオン蛋白質が細胞内経路で異常型に変換する場合、pHは酸性に保たれるという特徴がある。しかし、プリオン蛋白質が、酸性条件でどのような立体構造を取るか、ということは、これまで系統的に調べられて来なかった。それは、プリオン蛋白質が酸性で、

容易に凝集体形成を生じるためであった。

我々は、イオン強度を調整することにより、酸性側においても凝集体形成を生じない条件を見出したため、その立体構造変化を系統的に調べた。また、さらに詳細な速度論的解析を行うことにより、天然構造とオリゴマー構造の分岐点に位置する特殊な構造を特定することができた。また、このような特殊構造の詳細な解析から、プリオンの異常型形成を予防する手がかりを得ることができた。

B. 研究方法

分光学的な方法（蛍光スペクトル、円偏光2色性スペクトル、NMR）、及びストップフローや連続フローによる速度論的解析を主に用いた。また、NMR検出による水素・重

水素交換、ゲル濾過HPLCによる凝集体のポピュレーション解析を用いた。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

酸性側 (pH 2) では、プリオン蛋白質は、モルテン・グロビュール状態となることが分かったため、我々は、これをA型と命名した。溶液のA型の分子数と凝集体形成速度は、log-log プロットすると直線となるため、A型が直接、凝集体形成に関与すると考えられ、また同時にその反応様式も絞ることができた。

NMRによる水素・重水素交換反応から、A状態では、ヘリックスIは変性しており、ヘリックスII及びIIIは、一部不安定化している状態にあることがわかった。

また、ストップフロー、連続フローを用いた速度論的解析から、プリオン蛋白質の巻き戻り過程は、U (変性状態) → I (中間状態) → A (MG状態) → N (天然状態) の順に進む。従って、A状態は、オリゴマー形成とN状態との分岐点となることが判明した。

D. 考察

天然構造とオリゴマーとの分岐点にA状態が存在することが分かった。これは、わずかな環境変化による天然構造の揺らぎが、オリゴマー形成の引き金になることを示している。この微妙なバランスを、P092塩のような低分子化合物により、変化させることにより、異常型のポピュレーションを制御できると考えられる。

E. 結論

P092塩のように、A型を直接の標的とするプリオン病の予防薬開発が、今後、可能となるだろう。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表 (2014/4/1~2016/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Honda RP, Yamaguchi KI, Kuwata K. Acid-induced Molten Globule State of a Prion Protein: Crucial Role of Strand 1-Helix 1-Strand 2 Segment. *J boil Chem.* 289(44),30355-30363,2014 Sep12
- 2) Hosokawa-Muto J, Yamaguchi KI, Kamatari YO, Kuwata K. Synthesis of double-fluorescent labeled prion protein for FRET analysis. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2015 Nov;79(11):1802-9
- 3) Oroguchi Tomotaka, Sekiguchi Yuki, Kobayashi Amane, Masaki Yu, Fukuda Asahi, Hashimoto Saki, Nakasako Masayoshi, Ichikawa Yuichi, Kurumizaka Hitoshi, Shimizu Mitsuhiro, Inui Yayoi, Matsunaga Sachihiko, Kato Takayuki, Namba Keiichi, Yamaguchi Keiichi, Kuwata Kazuo, Kameda Hiroshi, Fukui Naoya, Kawata Yasushi, Kameshima Takeshi, Takayama Yuki, Yonekura Koji, Yamamoto Masaki. Cryogenic coherent X-ray diffraction imaging biological non-crystalline particles using the KOTOBUKI-1 diffraction apparatus at SACLA. *J. Phys. B.* 2015 48(18)184003.
- 4) Honda RP, Xu M, Yamaguchi KI, Roder H, Kuwata K. A native-like intermediate serves as a branching point between the folding and aggregation pathways of the mouse prion protein. *Structure.* 2015 Sep 1;23(9):1735-42.
- 5) Ma B, Yamaguchi K, Fukuoka M, Kuwata K. Logical design of anti-prion agents using NAGARA. *Biochem*

2. 学会発表

【国際学会一般公演・ポスター発表】

- 1) 桑田一夫 : Toward the First in Human Clinical Trial of Medical Chaperone APPS2014 2014年7月6日~7日 済州, 大韓民国
- 2) 桑田一夫、山口圭一 : Understanding the Prion Diseases and Logical Design of a Medical Chaperon / 二国間交流事業セミナー「蛋白質異常凝集の原理と制御 (Mechanism and regulation of aberrant protein aggregation) 」2014年11月19日 大阪大学蛋白質研究所, 日本
- 3) Kazuo Kuwata. Therapeutic approaches to prion disease and other neurodegenerative conditions associated with protein misfolding. Toward a first in human trial of a medical chaperone for prion diseases. Cold Spring Harbor Laboratory, America. Sep15-18,2015
- 4) Kei-ichi Yamaguchi, Ryo P. Honda, Abdelazim Elsayed Elhelaly, Kazuo Kuwata : Continuous ultrasonication induces the rapid formation of mPrP aggregates. APPS2015 9月4日~5日 石川音楽堂、石川
- 5) Ryo P. Honda, Kazuo Kuwata : 'A-state' of PrP a branching point between the folding and misfolding pathways. APPS2015 9月4日~5日 石川音楽堂、石川
- 6) Yuji O.Kamatari, Junji Hosokawa-Muto,

Kei-ichi Yamaguchi, Kazuo Kuwata : Strategy for elucidating abnormal structure of prion proteins using the double-fluorescent labeling method and FRET analysis. APPS2015 9月4日~5日 石川音楽堂、石川

【国内学会・シンポジウム一般講演・ポスター発表】

- 7) 桑田一夫、山口圭一 : CXDIによるアミロイド線維の一分子構造解析 第14回日本蛋白質科学会年会 2014年6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
- 8) 鎌足雄司、桑田一夫 : Sup35天然変性領域のアミロイド構造多形形成機構の解明 第14回日本蛋白質科学会年会 2014年6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
- 9) 本田諒、山口圭一、桑田一夫 : プリオン蛋白質のモンテグロビュール状態の発見とオリゴマー形成との関連 第14回日本蛋白質科学会年会 2014年6月27日 ワークピア横浜/横浜産貿ホール
- 10) 桑田一夫、山口圭一 : キネティックNMRによるタンパク質の‘かたち’の進化の観測 第53回NMR討論会 2014年11月4日 大阪大学コンベンションセンター
- 11) 小栗 弘成、遠藤 智史、宮城 菜未希、胡 大イ、荒井 裕貴、松永 俊之、五十里 彰、桑田 一夫、原 明、合田 浩明、豊岡 尚樹 : カルボニル還元酵素 (CBR1) 阻害活性を有する 8-Hydroxy-2-imino-2H-chromene-3-carboxamide 誘導体の創製 2014年11月26日~28日 神戸国際会議場
- 12) 桑田一夫 : プリオン病治験体制の整備 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—

2015年2月14日 名古屋国際会議場

- 13) 桑田一夫：PB2を標的とする新規抗インフルエンザウイルス薬の開発 第9回中部橋渡し研究支援シンポジウム 2015年12月17日 名古屋大学、愛知
- 14) 桑田一夫：Toward the First in Human Clinical Trial of Medical Chaperone for Prion Diseases 第56回日本神経学会学術大会 2015年5月20日～23日 朱鷺メッセ、ホテル日航新潟、新潟
- 15) Toshinobu Shida, Yuji Kamatari, Yoshiki Yamagushi, Kazuo Kuwata, Motomasa Tanaka : Structural Characterization of Two Distinct Yeast Prion Protein Interaction 第15回日本蛋白質科学会年会 2015年6月24日～26日 あわぎんホール、徳島
- 16) Kei-ichi Yamaguchi, Ryo P. Honda, Kazuo Kuwata : Molten globule state and misfolding of a prion protein 第15回日本蛋白質科学会年会 2015年6月24日～26日 あわぎんホール、徳島
- 17) Kazuo Kuwata : Elucidation of the pathogenic conversion mechanism of a

prion protein, diagnosis and treatment
第15回日本蛋白質科学会年会 2015年
6月24日～26日
あわぎんホール、徳島

【国内特別講演】

- 10) 桑田一夫：新しい in-silico 創薬の方法と実際、一網打尽創薬への挑戦、希少難病治療から始まる真の個別医療の未来へ TRI 講演会 2015年5月12日 先端医療振興財団臨床研究情報センター
- 11) 桑田一夫：戦略的 in silico 創薬によるプリオン病治療薬開発 革新的医療技術創出拠点プロジェクト統合戦略会議 2015年11月6日 日本医療研究開発機構（東京）

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (P105L 変異) の臨床・病理像、 および 2 次感染リスク保有可能性者 10 年間のフォロー

- 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)
研究協力者：古川 迪子 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：小林 篤史 東北大学大学院病態神経学
研究協力者：日熊 麻耶 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：日詰 正樹 埼玉県総合リハビリテーションセンター神経内科
研究協力者：塚本 忠 国立精神神経医療研究センター病院神経内科
研究協力者：水澤 英洋 東京医科歯科大学医学部附属病院長寿・健康人生推進センター、
国立精神神経医療研究センター病院
研究協力者：中村 好一 自治医科大学公衆衛生学
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・
神経病理学
研究協力者：辻 省次 東京大学医学部神経内科
研究協力者：山田 正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科)
研究協力者：北本 哲之 東北大学大学院病態神経学
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)

研究要旨 (Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (P105L 変異) の臨床・病理 像、および 2 次感染リスク保有可能性者 10 年間のフォロー)

2013 年 10 月までに我が国のサーベイランスで確認された Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群(GSS)の中でプリオン蛋白遺伝子の P105L 変異を有する症例 14 例（男性 8 例、女性 6 例）は、全症例が家族歴を有し、プリオン蛋白遺伝子検査のコドン 129 多型は P105L 群で全例 Met/Val であり、Val のアレルにコドン 105 変異を有していた。発症年齢平均は 48.1 歳、臨床経過は緩徐進行性認知機能障害が 13 例(93%)、錐体外路症候 9 例(64%)、精神症状 9 例(64%)、小脳症状は 5 例(36%)、ミオクローヌス 5 例(36%)で、平均 83 ヶ月(25-120 ヶ月)で無動性無言となっていた。脳波で発作性同期性棘波(PSD)を認める症例はなく、髄液所見を確認できた 2 例では 14-3-3 蛋白は陰性であり、QUIC による異常プリオン蛋白は 2 例中 1 例で陽性であった。P105L 群の頭部 MRI は、前頭葉優位の大脳萎縮が多く、拡散強調画像では 2 例で大脳皮質に高信号を認めていた。剖検脳の免疫染色では、A β プラークは主に A β 42 で構成されており、これらの共局在プラークのいくつかはタウ病理を伴っていた。PrP^{Sc} と共局在する A β 42 の沈着パターンには、通常に加齢が合併したのみでは説明できないものが存在し、PrP^{Sc}(P105L)の構造的変

化が A β 42 の親和性を増す可能性が推察された。

平成 16 年に脳外科手術における二次感染リスク保有可能性者(我が国第 1 事例)に関し、登録した 11 症例の 10 年間フォローアップで 10 年間に 4 例の症例が死亡していたが、生存例を含め、確認が可能であった症例においてプリオン病を示唆する異常所見は認めなかった。

A. 研究目的

プリオン蛋白遺伝子(PRNP)コドン 105 の Proline(P)から Leucine (L)への変異(P105L)による Creutzfeldt-Jakob 病(CJD)は本邦でのみ報告されている変異であり、2013 年 10 月までのサーベイランスの結果によると 14 症例が報告されている。コドン 105 における他の変異としては、カナダで報告されている P105T と米国で報告されている P105S があり、それぞれ臨床病型やプリオン蛋白の生化学的特徴が異なることが報告されている[1]。

一方、Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS)症例の脳病理では、異常プリオン蛋白(PrP^{Sc})とアミロイドベータ(A β)が同一プラーク内に共局在することは過去に報告されているが[2-5]、共局在プラークを構成する A β 種およびプラークの沈着パターンは明らかとなっていない。

最後に、平成 16 年に脳外科手術における二次感染リスク保有可能性者(我が国第 1 事例)に関し、登録した 11 症例の 10 年間フォローアップが終了したので、結果を報告する。

B. 研究方法

サーベイランス同意後に、東北大学大学院病態神経学で遺伝子検索にて PRNP-P105L 変異が確認され、サーベイランス委員会で遺伝性 GSS と診断された患者 14 例(男性 8 例、女性 6 例、平均年齢 48.1 歳、平均罹病期間 111.2 ヶ月)を対象とした。各症例についてサーベイランス調査票を基に臨床症状・臨床経過・検査所見の特徴をまとめた。

病理解析に関しては、48 歳時に精神症状で発症し、21 年の経過で進行性の認知症、歩行

障害を呈した GSS P105L 変異(codon 129 MV 型)の 69 歳女性の剖検脳を用い、病理学的な評価を行った。

二次感染リスク保有可能性者の調査は、来院可能な症例は来院していただき、サーベイランス委員と面接し、来院不可能な症例は電話による問い合わせを行った。各症例のカルテを確認し、外来受診時における訴えとそれに対する医療機関の対応を確認した。すでに他院にて経過観察を受けている症例に関しても、来院可能な症例は来院面談・診察を行った。

(倫理面への配慮)

本研究に関しては、事務局設置施設にて倫理申請が承認され、それぞれの疾患の患者や家族へ十分な説明を行った後にインフォームドコンセントを得て、個人情報の守秘を厳守している。

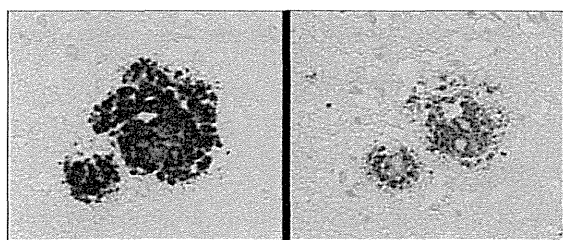
C. 研究結果

GSS(P105)症例のプリオン蛋白遺伝子検査のコドン 129 多型は P105L 群では全例 Methionine / Valine 変異であり、全例で Leucine の変異は codon129Val と同一アレルであった。初発年齢は平均 48.1 歳で、若い傾向にあった。ほぼ全例で類症、あるいは同一遺伝子変異の家族歴を認めた。初発症状は歩行障害が 4 例、認知機能障害・錐体外路症候・体の痛み・手指振戦が各々 2 例、精神症状・不眠が各々 1 例と多彩であったが、歩行障害を錐体外路徴候によるものと分類すると、錐体外路徴候は 7 例(50%)と最多であった。臨床経過では認知機能障害が 13 例(93%)で最多であり、次いで

錐体外路症候 9 例(64%)、精神症状 9 例(64%)の順であった。小脳症状は 5 例(36%)と GSS(P102L)より有意に少なかった(Fisher: $p < 0.0001$)。初発症状出現より平均 83 ヶ月(25-120 ヶ月)で無動性無言となり、死亡までの罹病期間が 20 年を超えるような症例もあり、他のプリオン病と比較して罹病期間は長かった。5 例(36%)の症例でミオクローヌスが確認されたが、ミオクローヌスを認める症例を含み、脳波上 PSD は全例でみられなかった。髄液所見を確認できた 2 例では 14-3-3 蛋白は陰性であり、QUIC による異常プリオン蛋白は 2 例中 1 例で陽性であった。また、頭部 MRI では確認された 10 例で大脳萎縮を認め、半数の 5 例では前頭葉優位の萎縮を認めた。拡散強調画像では 2 例(14%)で大脳皮質に異常高信号域を呈していた。

脳病理所見では、大脳皮質 II～III層に空胞変性、深部白質に神経細胞脱落とグリオーシス、白質にマクロファージを伴う軸索変性を認めた。

3F4 抗体を用いた免疫染色では、PrP^{Sc}は皮質全層に存在し、diffuse multicentric core plaque, granular plaque, unicentric core plaques の 3 種類のプラーク沈着パターンを呈した。海馬と後頭葉の連続切片の 3F4 抗体、4G8 抗体、AT8 抗体、Aβ40 抗体、Aβ42 抗体を用いた免疫染色では、PrP^{Sc}プラークと Aβ プラークについて、3F4 抗体単独陽性の PrP^{Sc}プラークや通常の老人斑以外に、両プラークが共局在する沈着パターンを認めた。



(患者脳の連続切片の 3F4 抗体染色 (左) と Aβ42 抗体染色 (右) で、Aβ42 と PrP^{Sc}の

沈着が重なっていることを確認した。Aβ40 抗体の染色性は認めなかった。)

これら PrP^{Sc}- Aβ 共局在プラークと非共局在プラークの頻度は同程度であり、全プラークの中で、重なり型の頻度が最も多かった。PrP^{Sc}と共局在する Aβ プラークは主に Aβ42 抗体陽性であり、同一プラークに淡く Aβ40 抗体が陽性に見えるものも認められたがごく少数であった。これらのプラークの中にはプラーク周囲に AT8 抗体陽性のタウ蛋白の沈着を認めるものも存在した。

二次感染リスク保有可能性者の調査では、全 11 例のうち、術後 10 年間に 4 例の症例が死亡しており、死因は虚血性心疾患 1 例、誤嚥性肺炎による呼吸不全 2 例、骨折後に寝たきりとなり肺炎による呼吸不全が 1 例であった。そのうち 2 例は術後 2 年以内に痙攣発作と認知機能の変動を認めていたがプリオン病を示唆する異常所見は認めなかった。診察、および脳 MRI を受けた症例は 4 例で、いずれも認知機能障害や拡散強調画像による異常信号を認めていなかった。10 年間に認めていた訴えとして、歩行時のふらつき(1 名)、頭痛(1 名:歩行時のふらつきと同一者)、複視(1 名)、もの忘れの悪化(1 名)、目が見えにくい(1 名:白内障にて手術を受けた)があった。他覚的な所見としては脳室の拡大(1 例)であった。1 例でもの忘れの悪化が認められ、精査の結果アルツハイマー病の発症が疑われた。連絡が取れない症例が 2 例あった。

D. 考察

GSS(P105L)の臨床的特徴として痙性対麻痺や認知症が知られていた[6]。少数例の解析であるが、本研究では、サーベイランス調査票を基に、歩行障害を錐体外路によるものと分類した場合には、初発症状で錐体外路症状を呈する症例が 50%を占め、経過中に錐体外

路徴候呈する症例が 75%であることが分かった。

PrP^{Sc}と A β が同一プラーク内に共局在することは、GSS (P102L)、GSS(P105L)、GSS(F198S)、GSS(A117V)変異で報告されているが[2-5]、本研究により、共局在する A β 種は主に A β 42 であることが明らかとなった。さらに、PrP^{Sc}に共局在する A β 42 の沈着パターンは、通常に加齢に伴う老人斑とは異なっており、PrP^{Sc}と A β の共局在は単に GSS に加齢が合併してみられた現象ではないことが明らかとなった。

二次感染リスク保有可能性者の調査では、今後の課題として、他院で手術を受ける際の注意の徹底、カルテ保存期間、11 年目以降のフォローアップの必要性などがあると思われた。

E. 結論

GSS(P105L)遺伝子変異は、これまで報告されていた痙性対麻痺や緩徐進行性認知症に加えて、錐体外路徴候を呈する頻度が高い可能性があり、長い罹病期間、脳波における PSD 欠如、脳脊髄液や脳 MRI 所見の陽性頻度が低いことが示唆された。病理像では、大脳皮質全層に PrP プラークが diffuse multicentric core plaque, granular plaque, unicentric core plaques の 3 種類のパターンを呈し、A β 42 抗体陽性のプラークと共局在する。

二次感染リスク保有可能性者の 10 年間のフォローアップでプリオン病の発症は認めなかった。

[参考文献]

1. Tunnell E, Wollman R, Mallik S, Cortes CJ, Dearmond SJ, Mastrianni JA. A novel PRNP-P105S mutation associated with atypical prion disease and a rare PrP^{Sc} conformation. *Neurology*. 2008;

71(18): 1431-8.

2. Yamazaki M, Oyanagi K, Mori O, Kitamura S, Ohyama M, Terashi A, Kitamoto T, Katayama Y. Variant Gerstmann-Sträussler syndrome with the P105L prion gene mutation: an unusual case with nigral degeneration and widespread neurofibrillary tangles. *Acta Neuropathol*. 1999; 98(5) ; 506-511.
3. Mizuno M, Kitamoto T, Iwaki T, Tateishi J. Colocalization of prion protein and beta protein in the same amyloid plaques in patients with Gerstmann-Sträussler syndrome. *Acta Neuropathol*. 1992; 83(4); 333-9.
4. Ghetti B, Tagliavini F, Masters CL, Beyreuther K, Giaccone G, Verga L, Farlow MR, Conneally PM, Dlouhy SR, Azzarelli B, et al. Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. II. Neurofibrillary tangles and plaques with PrP-amyloid coexist in an affected family. *Neurology*. 1989; 39(11); 1453-61.
5. Tranchant C, Sergeant N, Wattez A, Mohr M, Warter JM, Delacourte A. Neurofibrillary tangles in Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome with the A117V prion gene mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997; 63(2); 240-6.
6. Kitamoto T, Amano N, Terao Y, Nakazato Y, Isshiki T, Mizutani T, Tateishi J. A new inherited prion disease(PrP-P105L mutation) showing spastic paraparesis. *Ann Neurol* 1993; 34: 808-813.

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) 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
- 2) 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* 3, 108-110, 2015
- 3) 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.
- 4) 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
- 5) 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》感染症を究める 2014: 278-285
- 6) 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
- 7) Mitsuru Yoneyama, Hiroshi Mitoma, Nobuo Sanjo, Maya Higuma, Hiroo Terashi, Takanori Yokota. Ambulatory Gait Behavior in Patients with Dementia: A Comparison with Parkinson's Disease. *Transactions on Neural System and Rehabilitation Engineering* 2015, in press.
- 8) Eric Vallabh Minikel, Sonia M. Vallabh, Monkol Lek, Karol O. Estrada, Kaitlin E. Samocha, J. Fah Sathirapongsasuti, Cory Y. McLean, Joyce Y. Tung, Linda P.C. Yu, Pierluigi Gambetti, Janis Blevins, Shulin Zhang, Yvonne Cohen, Wei Chen, Masahito Yamada, Tsuyoshi Hamaguchi, Nobuo Sanjo, Hidehiro Mizusawa, Yosikazu Nakamura, Tetsuyuki Kitamoto, Steven J. Collins, Alison Boyd, Robert G. Will, Richard Knight, Claudia Ponto, Inga Zerr, Theo Kraus, Sabina Eigenbrod, Armin Giese, Jesus de Pedro Cuesta, Stéphane Haïk, Jean-Louis Laplanche, Jean-Philippe Brandel, Michael Boehnke, Markku Laakso, Karen Mohlke, Francis S. Collins, Anna Kähler, Kimberly Chambert, Steven McCarroll, Patrick Sullivan, Christina M. Hultman, Shaun M. Purcell, Pamela Sklar, Cornelia M. van Duijn, F. Rivadeneira Ramirez, Arfan Ikram, Sven J. van der Lee, Jeannette M. Vergeer-Drop, André G. Uitterlinden, Exome Aggregation Consortium (ExAC)*, Mark J. Daly, Daniel G. MacArthur. Quantitating penetrance in a dominant disease gene with large population control cohorts. *Science Translational Medicine*. In press.
- 9) Nobuo Sanjo, Satoko Kina, Yukiko Shishido-Hara, Yurie Nose, Satoru Ishibashi, Tetsuya Fukuda, Taketoshi Maehara, Yoshinobu Eishi, Hidehiro Mizusawa,

Takanori Yokota. A Case of Progressive Multifocal Leukoencephalopathy with Balanced CD4/CD8 T-Cell Infiltration and Good Response to Mefloquine Treatment. *Internal Medicine* 2015, in press

2. 学会発表

- 1) 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
- 2) Fumiko Furukawa, Nobuo Sanjo, Atsushi Kobayashi, Tetsuyuki Kitamoto, Atsushi Shiraiishi, 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
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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*. Nagasaki, Japan, July 6-7, 2014
- 6) Fumiko Furukawa, Nobuo Sanjo, Atsushi Kobayashi, Atsushi Shiraiishi, Masahito Yamada, Tetsuyuki Kitamoto, Yoshinobu Eishi, Hidehiro Mizusawa. Involvement of the dorsal root ganglion in GSS with P105L mutation. *Asian Pacific Prion Symposium 2014*. Nagasaki, Japan, July 6-7, 2014
- 7) 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*. Nagasaki, Japan, July 6-7, 2014
- 8) Tsuyoshi Hamaguchi, Kenji Sakai, Ichiro Nozaki, Moeko Noguchi-Shinohara, Nobuo