

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）  
総括研究報告書

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

研究代表者 山田正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系 脳老化・神経病態学（神経内科学） 教授

**研究要旨** プリオン病、亜急性硬化性全脳炎(SSPE)、進行性多巣性白質脳症(PML)について、疫学・臨床病態の解明に基づき診断基準、重症度分類、診断ガイドラインの作成・整備することを目的に調査研究を実施し以下の成果を得た：(1) プリオン病：プリオン病サーベイランデータの検討、二次感染リスクのある症例の抽出・監視、剖検率向上のためのシステム構築等を継続した。プリオン病コンソーシアム(JACOP)におけるプリオン病自然歴登録を推進し、緩徐進行性遺伝性プリオン病多発地域において臨床疫学調査を行った。End-point RT-QUIC 定量法によるプリオン病患者非神経組織におけるプリオンシード活性の検出、MRI 拡散強調画像(DWI)による診断能向上、硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病(CJD)における MRI 経時変化、プリオン病患者に対する胃瘻造設の意義等を報告した。(2) SSPE：DPC データを用いた疫学調査によって抽出された SSPE 74 名の病像、リバビリン治療例 25 例の特徴、沖縄における SSPE 発生状況を報告した。診断・治療法最適化のために麻疹ウイルス抗体価測定法の比較、SSPE 患者由来人工多能性幹細胞作成等を行った。(3) PML：JC ウイルスゲノム検査を介した全国サーベイランスで 9 年間に 139 名の患者を確認し、さらに病理検体の解析による確定診断 45 例を解析し、最近の PML 発症の背景や臨床的特徴を明らかにした。PML サーベイランス委員会による新規 PML サーベイランスシステムが倫理委員会に承認された。最近報告が増加しているナタリズマブ関連 PML の特徴を解析した。(4) 診療ガイドラインの整備等：3 対象疾患それぞれの分科会において、診断基準、重症度分類を含む診療ガイドラインを 2016 年度に改訂・出版するための作業が進捗した。

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	濱口 毅	教授 金沢大学附属病院神経内科 講師
堂浦克美	東北大学大学院医学系研究科 神経化学分野 教授	細矢光亮	福島県立医科大学医学部小児科学講座 教授
堀内浩幸	広島大学大学院生物圏科学研究科 免疫生物学 教授	長谷川俊史	山口大学大学院医学系研究科小児科学分野 准教授
西田教行	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 感染分子解析学 教授	楠原浩一	産業医科大学医学部小児科学講座 教授
佐々木真理	岩手医科大学医歯薬総合研究所 超高磁場 MRI 診断・病態研究部門 教授	野村恵子	熊本大学医学部附属病院小児科 助教
齊藤延人	東京大学医学部附属病院脳神経外科 教授	岡 明	東京大学大学院医学系研究科小児科学 教授
岩崎 靖	愛知医科大学加齢医科学研究科 准教授	吉永治美	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 発達神経病態学 准教授
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 教授	鈴木保宏	大阪府立母子保健総合医療センター 小児神経科 主任部長
坪井義夫	福岡大学医学部神経内科学教室	砂川富正	国立感染症研究所感染症疫学センター 室長

西條政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部  
部長  
三浦義治 東京都立駒込病院脳神経内科 医長  
宍戸-原 由紀子 東京医科大学 医師・学生・研究  
者支援センター 人体病理学分野  
准教授

雪竹基弘 佐賀中部病院神経内科 部長  
阿江竜介 自治医科大学地域医療学センター  
公衆衛生学 助教  
鈴木忠樹 国立感染症研究所感染病理部第四室  
室長

## A. 研究目的

プリオン病、亜急性硬化性全脳炎(SSPE)、進行性多巣性白質脳症(PML)について、疫学調査に基づいた実態把握を行って、科学的根拠を集積・分析することにより、診断基準・重症度分類の確立、エビデンスに基づいた診療ガイドライン等の確立・普及を行い、医療水準の向上を図ることを目的とする。

対象の3疾患は共に進行性で致死的な感染症であり、感染や発症のメカニズムの解明は極めて不十分であり治療法が確立していない。本研究により、これらの致死性感染症の医療水準を改善し、政策に活用しうる基礎的知見の収集を目指す。

プリオン病は人獣共通感染症であり、牛海綿状脳症からの感染である変異型Creutzfeldt-Jakob病(CJD)(vCJD)や医原性の硬膜移植後CJD(dCJD)等が社会的問題になっている。有効な治療法や感染・発症予防法はなく、平均18ヶ月で死亡する。わが国では、2005年に初めてvCJDが同定され(Yamada *et al. Lancet* 2006)、また、dCJDの症例数が全世界の約2/3を占め現在も発症が続いている(Nozaki, Yamada *et al. Brain* 2010)。1980年代に硬膜移植を受けリスクが高い約20万人にも及ぶ患者が潜在する。本研究により診断基準・重症度分類を含む診療ガイドラインを確立することによって、本疾患の医療水準を改善し、国民の不安の軽減にも貢献する。

SSPEについては、わが国は最近(2015年3月)WHOから麻疹排除の認定を受けたもののSSPEの発症が持続している。欧米ではSSPE発症がほとんどないため、治療研究は行われていない。SSPEの発症動態を解明し麻疹感染・流行が本症発症に与える影響を明らかにすることはわが国の麻疹予防接種施策に貢献する。また、本研究により診断基準・重症度分類を含む診療ガイドラインを確立することによって、本

疾患の医療水準の向上が期待できる。

PMLはHIV感染者の漸増、血液疾患、自己免疫疾患、それらに対する免疫治療薬、特に生物学的製剤の使用に伴い増加している。PMLの発症動向を把握し、診断基準・重症度分類を含む診療ガイドラインを確立することによって、本疾患の医療水準を改善する。

## B. 研究方法

本領域のエキスパートの臨床医、基礎研究者等を結集した融合的研究組織を構築し、対象となる3疾患ごとに分科会を設置し、研究者間の緊密な連携をとりながら研究を推進した。プリオン病の疫学、2次感染については「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」の指定研究班(研究代表者:水澤英洋)と密接に連携し、さらに全国のCJD担当専門医の協力を得ながら研究を推進した。また、国際共同研究、国際協力(プリオン病に関するEuroCJDグループとの共同研究、SSPE多発地であるトルコ共和国との共同研究ほか)を継続した。

### 1) プリオン病

① プリオン病のサーベイランスと臨床病態: 1999年4月より実施されているCJDサーベイランスの結果を用いて、我が国のプリオン病の状況を調査した(水澤、山田、他)。CJDサーベイランスの状況を確認するためにサーベイランス調査票の回収率を調査した(水澤)。CJDサーベイランスで検討された症例で、プリオン病の二次感染予防リスクのある事例を抽出・検討した(斉藤)。硬膜移植に伴うプリオンの伝播過程を解明するために、CJDサーベイランス委員会でdCJDと判定された症例を対象とし、移植部位とMRI拡散強調画像でみられるCJD病変との関連を解析した(山田、浜口)。九州地域に集積するGerstmann-Sträussler-Scheinker病(GSS)について、サーベイランスデータおよび医療機関からの情報から臨床疫学調査を行った(坪井)。

② プリオン病の診断基準についての研究：画像診断については、MRI DWI によるプリオン病の早期病変の経時的変化の定量的判定法を開発した(佐々木)。Endpoint dilution RT-QUIC 法による、プリオン蛋白 (PrP) の 50% Seeding Dose (SD<sub>50</sub>) の定量により、孤発性 CJD (sCJD) 患者の諸臓器における SD<sub>50</sub> を定量した(西田)。脳脊髄液 (CSF) マーカーとして心臓型脂肪酸結合タンパク質 (H-FABP) の有用性を報告してきたが、今回は脳組織に特異的に発現する B-FABP について検討した(堀内)。プリオン病の診断精度を向上させる目的で、プリオン病の剖検体制を最適化した(高尾)。

③ プリオン病の重症度及び治療法最適化についての研究：プリオン病に対するオールジャパン体制での臨床研究のために作られた Japanese Consortium of Prion Disease (JACOP) によるプリオン病自然歴調査について検討した(水澤)。プリオン病患者における胃瘻造設の意義を検討する目的で、胃瘻造設術を施行した症例を後方視的に検討した(岩崎)。

④ プリオン病の診療ガイドライン改訂のための研究：国際学会、論文、インターネットを活用して、海外の多方面から「プリオン病の治療」に関して情報収集を行い、科学的な観点から分析を進め、プリオン病診療ガイドライン改訂に役立つ知見を抽出した(堂浦)。

## 2) SSPE

① SSPE のサーベイランスと臨床病態：わが国の SSPE の実態については、2007 年、2012 年と本研究班による全国サーベイランス調査が行われている。全国の医療機関の診療群分類包括評価 (DPC) データを用いた疫学調査を実施した(岡、鈴木、吉永)。麻疹が流行した地域である沖縄において SSPE 発症調査を行った(砂川)。SSPE に対するリバビリン治療に関して全国アンケート調査を行った(野村)。

② SSPE の診断基準についての研究：SSPE の診断は、一般的には「血清および CSF における麻疹抗体価の高値」によりなされてきたが、「高値」の基準が設定されておらず、麻疹特異的抗体の測定法についても赤血球凝集抑制反応法 (HI 法)、補体結合反応法 (CF 法)、中和反応法 (NT 法)、酵素免疫法 (EIA 法) と様々な方法が

あり統一されていない。SSPE 患者 3 例の血清・CSF、健常成人 38 例の血清を用いて、血清・CSF 間の抗体価の相関、臨床経過との関連等を解析した(細矢)。

③ SSPE の重症度についての研究：トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路の代謝産物の CSF 中濃度について、本邦及びトルコ共和国から提供された SSPE 患者の検体(血清 20 検体、CSF 25 検体)と対照群(血清 20 検体、CSF 20 検体)について解析し、重症度の指標である neurological disability index (NDI) スコアとの関係について検討した(長谷川)。

④ SSPE の診療ガイドライン改訂のための研究：SSPE に対する疾患感受性の解明のために患者由来人工多能性幹細胞 (iPSC) を神経細胞に分化させた検討を行う。そのため、SSPE 患者 3 名の末梢血単核球 T 細胞を培養しセンダイウイルスベクターを用いて Sox 2, KLF4, Oct4, Myc の 4 遺伝子を導入した(楠原)。

## 3) PML

① PML のサーベイランスと臨床病態：PML の診断においては CSF を用いた JC ウイルス (JCV) ゲノム DNA の PCR 検査が有用である。国立感染症研究所において迅速性および定量性、信頼性において優れた定量的リアルタイム PCR 検査系を確立し、JCV 検査を介したわが国の PML のサーベイランスを行い、平成 19~27 年度のデータを集積した(西條)。さらに、病理組織検査によって PML と診断された症例を集積、解析した(鈴木)。国立感染症研究所における CSF の JCV PCR 検査によるサーベイランスおよび主治医からの症例相談によって情報収集された症例群の臨床的特徴を解析した(三浦)。最近、国立感染症研究所以外の施設による CSF 検査で PML と診断されるケースが増加しており、わが国で発生する PML 全例を把握することが困難になっている。そのため、複数のルートから情報を入手し調査を行う新規のサーベイランスシステムを構築するために、準備委員会を開催し、サーベイランスのプロトコールについて倫理委員会による承認を得るための作業を行った(三浦、山田)。

② PML の診療ガイドライン改訂のための研究：PML の病理診断では、宿主の免疫応答の多様性

がウイルス封入体の出現や抗 JCV 抗体による免疫組織化学の結果に影響する。非典型的な病理所見を呈した例の解析を行った(宍戸-原)。診療ガイドライン改訂のために、2014年11月から2015年10月に報告された PML 診療に関する論文について、特にナタリズマブ関連 PML に注目して解析した(雪竹)。

#### 4) 診療ガイドラインの整備等

3 対象疾患それぞれの分科会において診療ガイドラインを2016年度に改訂・出版するための取り組み等を推進した。

#### (倫理面への配慮)

患者を対象とする臨床研究(診断、治療、遺伝子解析等)、疫学研究等については各施設の倫理審査委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て研究を実施した。

### C. 研究結果

#### 1) プリオン病

① プリオン病のサーベイランスと臨床病態 : 1999年4月より実施されている CJD サーベイランスにおいて、サーベイランス委員会は対象事例のサーベイランスを全国10地区の担当サーベイランス委員に依頼している。地区担当サーベイランス委員は、地区内の都道府県のプリオン病担当専門医を通じて、あるいは直接に対象事例の主治医に連絡を取ってサーベイランスを実施している。すなわち、事務局、地区担当サーベイランス委員、都道府県プリオン病担当専門医、主治医という流れとなっている。このシステムの状況を見るために、サーベイランス調査票の回収率を検討したところ、回収率の低い地域が存在することを確認した。

CJDサーベイランスで検討された症例で、プリオン病の二次感染予防リスクのある事例を抽出・検討したところ、平成27年は新規インシデント事例が1件あった。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あり、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。

硬膜移植に伴うプリオンの伝播過程を解明するために、CJDサーベイランス委員会でdCJDと判定された4例を対象とし、移植部位とMRI DWIでみられるCJD病変との関連を解析した。全例が非プラーク型に分類され、移植部位との関連については、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た。

サーベイランスに登録されたGSS 99例中、九州在住がほぼ半数であり、出生地が九州である者も多く、約7割が九州出身あるいは在住であった。2003~2011年の9年間におけるGSSの発症数は全国で平均5.9人/年で、九州在住では3.3人/年であった。

② プリオン病の診断基準についての研究 : 画像診断については、MRI DWIによるプリオン病の早期病変の経時的変化の定量的に評価するために、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し、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。

Endpoint dilution RT-QUIC法による、プリオン蛋白(PrP)の50% Seeding Dose(SD<sub>50</sub>)の定量により、ヒトサンプルにおけるSD<sub>50</sub>を定量することに成功した。孤発性CJD(sCJD)患者の臓器(脳・脾臓・肝臓・腎臓・肺・副腎)のSD<sub>50</sub>を測定したところ、非神経系組織においても10<sup>4</sup>~10<sup>7</sup>/g tissueのシード活性が存在することが明らかとなった。

CSFマーカーとして脳組織に特異的に発現するB-FABPについて検討するために、B-FABP特異的かつELISAにも利用可能なマウスモノクローナル抗体(mAb)を作出した。新規の抗B-FABP mAbを用いてCJDを含む各種脳性疾患患者のCSF並びに血清を用いてウエスタンブロットニングによる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。

プリオン病の診断精度向上のための剖検体制確立をめざして、美原記念病院にブレインバンクを設置後8年間にプリオン病39例を剖検し、他院での5剖検例を加えリソースを構築した。

③ プリオン病の重症度及び治療法最適化についての研究 : プリオン病に対するオールジャパ

ン体制での臨床研究のために作られた JACOP によるプリオン病自然歴調査の検討では、JACOP への参加施設数、参加研究者数は増加しているが、症例登録の増加に結びついていなかった。

プリオン病患者における胃瘻造設の意義を検討する目的で、胃瘻造設術を施行した症例を後方視的に検討したところ、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。

④ プリオン病の診療ガイドライン改訂のための研究：海外の多方面からの「プリオン病の治療」に関する情報収集では、英国で実施された vCJD 患者におけるペントサンポリサルフェート (PPS) 脳室内持続投与による臨床試験を受けた 5 例中、4 例で顕著な生存期間延長が観察され、その中の 1 例は剖検されたが、治療効果を裏付ける神経病理学的所見は観察されなかった (Newman *et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85:921, 2014)。

## 2) SSPE

① SSPE のサーベイランスと臨床病態：全国の医療機関の DPC データを用いた疫学調査では、2010 年 7 月から 2013 年 3 月の 2 年 9 か月の間に SSPE の診断で DPC 医療機関に入院した患者は 74 名であった。調査時の平均年齢は 24 歳であり、小児期に発症後の経過が遷延しており、過半数が成人となっていた。多くの患者は進行期にあり寝たきりの状態で、痙攣や筋緊張亢進などに対して抗けいれん薬・眠剤・抗不安薬・筋弛緩薬等の多剤併用が行われていた。3 割の患者は調査の時点で特異的な抗ウイルス療法(リバビリンは調査対象外)を行っておらず、治療の有無と ADL や合併症などの臨床症状との関係は認められなかった。

麻疹が流行した地域である沖縄において SSPE 発症調査では、期間内に発症した SSPE 患者は 15 名、男女比 11:4、発症年齢中央値 8 歳、SSPE 患者の麻疹罹患年齢中央値 0 歳 10 ヶ月、潜伏期間中央値は 6 年 6 ヶ月であった。沖縄県での麻疹患者受診者数における SSPE 発症率は 10 万人あたり 16.3 人(暫定値)と推計された。

SSPE に対するリバビリン治療に関する全国アンケート調査では、25 例(男性 12 人、女性 13 例)の平均発症時年齢は 8.69 歳、平均診断時罹病期間は 6.44 カ月、平均リバビリン開始時罹病期間は 2.06 年、リバビリン開始時の病期は、I 期が 3 名、II 期が 20 名、III 期が 1 名、IV 期が 0 名であった。リバビリン治療後の改善は 4 例、不変は 3 例、増悪は 11 例であった。治療に伴う有害事象としては、傾眠傾向(14 例)、発熱(9 例)、口唇腫脹(8 例)、全身倦怠感(6 例)、肝機能障害(5 例)、細菌性髄膜炎(5 例)、嘔気・嘔吐(4 例)、眼球結膜充血(3 例)、皮膚症状(3 例)、尿路感染(3 例)、頭痛(2 例)、白血球減少(2 例)、貧血(2 例)、血圧低下(2 例)、呼吸抑制(1 例)、抹消神経障害(1 例)、口唇歯肉発赤(1 例)があり、発熱に関しては併用したインターフェロンの影響が考えられた。

② SSPE の診断基準についての研究：SSPE 患者 3 例の血清・CSF、健常成人 38 例の血清を用いて、4 種類の測定法による麻疹ウイルス抗体価について血清・CSF 間の相関、臨床経過との関連等を解析した。測定法間の検討では、EIA/HI 間、EIA/NT 間に正の相関を認めた。SSPE 患者における血清/CSF 間の比較では血清中 EIA 価は CSF 中と比較し、10 倍程度高値であり、EIA 法が最も強い相関( $r=0.932$ )を認めた。臨床症状スコアの上昇(病状の進行)に伴い、EIA 価、HI 価の上昇を認めた。SSPE 患者血清および CSF、健常成人血清において、麻疹特異的抗体価は血清/髄液間、各種抗体価測定法間に正の相関を認めた。

③ SSPE の重症度についての研究：トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路の代謝産物の CSF 中濃度の検討では、血清キヌレイン/トリプトファン比は SSPE 群と対照群の間には有意差を認めなかった( $p=0.88$ )。一方で CSF 中キノリン酸濃度は SSPE 群では、対照群に比して有意に高値であった( $p < 0.001$ )。また経時的に測定できた SSPE 症例の CSF 中キノリン酸濃度は神経障害 (NDI スコア) および病日と有意な正の相関を示した。

④ SSPE の診療ガイドライン改訂のための研究：患者由来 iPSC を神経細胞に分化させた検討を行うため、SSPE 患者 3 名の末梢血単核球 T 細胞を培養しセンダイウイルスベクターを用い

て Sox 2, KLF4, Oct4, Myc の 4 遺伝子を導入し、患者由来 iPSC を患者ごとに 3~6 株樹立した。

### 3) PML

① PML のサーベイランスと臨床病態：定量的リアルタイム PCR 検査系による JCV 検査を介した PML サーベイランスにおいて、平成 27 年 1 月から 12 月までの 203 件の検査実績および患者データを集計し、国内における PML の動向を解析した。平成 27 年に当検査を実施した被検者 166 名のうち 22 名が CSF-JCV 陽性を呈した。基礎疾患は男性においては HIV 感染症、女性においては血液疾患の割合がやや高い傾向にあった。

病理組織検査によって PML と診断された症例を集積、解析した。平成 3 年から平成 27 年 12 月現在までに 45 例の PML の診断を確定した。PML 確定症例の年齢は平均 55.4 歳で、基礎疾患では後天性免疫不全症候群と血液系悪性腫瘍がそれぞれ 29% の症例に認められ、続いて自己免疫疾患 16% に見られた。なお、脳の組織学的検索にて PML と診断確定された症例の中には、脳組織採取前の CSF からの検索において、JCV ゲノムが検出限界以下であったものも含まれていた。

国立感染症研究所における CSF の JCV PCR 検査によるサーベイランスおよび主治医からの相談によって情報収集された合計 68 例の解析では、男性 39 例/女性 29 例、平均年齢 58.7 歳で、基礎疾患としては血液疾患/悪性腫瘍、膠原病/自己免疫疾患、HIV 感染症(25%)の順であった。臨床症状は認知機能障害、構音障害、片麻痺が多かった。脳病変は 55 例(80.9%)で大脳白質病変、21 例(30.9%)が小脳病変、17 例(25%)が脳幹病変であり、49 例(72.1%)で両側左右非対称性病変であった。大脳萎縮は 18 例(26.5%)、ガドリニウム増強効果を示したのは 4 例(5.9%)であった。CSF 蛋白上昇が 33 例(48.5%)、細胞数増加が 12 例(17.6%)であった。

PML サーベイランス委員会における PML サーベイランスを実施するための方策をサーベイランス検討委員会で討議した。平成 27 度中に倫理承認を得て、平成 28 年度からサーベイランス委員会によるサーベイランス(全数登録)を開始する予定となった。

② PML の診療ガイドライン改訂のための研究：典型的な JCV 封入体を有する細胞が乏しく、抗 JCV 抗体を用いた免疫組織化学で JCV 陽性が疑われる細胞は僅か 5-6 個であったが、血管周囲を中心に CD3 陽性の T 細胞が浸潤していた生検例を検討した。脳組織から DNA を抽出し、PCR で JCV 遺伝子を検索した結果、JCV 陽性であった。

PML 診療に関する情報収集を実施した。多発性硬化症(MS)とナタリズマブ関連 PML では抗 JCV 抗体インデックスと L-selectin 発現 CD4+ 細胞を組み合わせた PML 発症リスクの指標が提案された。ナタリズマブ関連 PML やナタリズマブ関連 PML-免疫再構築症候群(IRIS)の MRI 画像の特徴が報告された。海外からメフロキンの HIV-PML に対する効果について否定的な報告があった。

### 4) 診療ガイドラインの整備等

2016年度に診療ガイドラインを改訂・出版するために、3対象疾患それぞれの分科会で、2014年度に作成したロードマップに従って、ガイドライン作成が順調に進捗した。3疾患のガイドライン原案が執筆され、回覧され、コメントが収集された。それに基づき第1次の改訂が行われた。

## D. 考察

### 1) プリオン病

① プリオン病のサーベイランスと臨床病態：1999 年 4 月より実施されている CJD サーベイランスでは 2015 年 8 月までに、5041 件の情報を得て 2596 人がプリオン病として同定され登録されている。サーベイランス調査をより完全なものにするため、調査票の回収率を地区ごとに検討したところ、回収率の低い地域が存在することが明らかになった。人口数が多い地域で回収率が低い訳ではなく、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。

プリオン病の二次感染予防については、手術等により医原性の二次感染のリスクのある事例を抽出し検討している。幸いなことに、これまでのところ二次感染例はないが、平成27年にも新規インシデント事例が生じており今後も

監視を継続する。また、プリオン病対応の滅菌法の確立と普及に努めていく必要がある。

わが国では dCJD の多発が問題になっている。硬膜移植に伴うプリオンの伝播過程を解明するために、dCJD 例の硬膜移植部位と MRI DWI でみられる CJD 病変との関連を解析したところ、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から、移植された硬膜から PrP<sup>Sc</sup> 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、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 CSF 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<sup>Sc</sup> 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。

サーベイランスに登録された GSS の約 7 割が九州在住あるいは出身であることが明らかになった。今後、九州地域における GSS についての診療連携を推進することにより、効率の高い早期診断が可能にする。また、GSS は比較的緩徐進行性であることから、疾患修飾治療開発における治験対象群として適切である可能性があり、患者基礎データの蓄積を進める。

② プリオン病の診断基準についての研究：画像診断については、プリオン病の DWI 早期病変の経時的变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。薄切スライス(3mm 厚ギャップレス)の画像の使用による更なる精度向上、存在確率マップなどによるマスキング処理の精度向上、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が必要と考えられた。

Endpoint dilution RT-QUIC 法による、プリオン蛋白(PrP)の 50% Seeding Dose(SD<sub>50</sub>)の定量により、sCJD 患者の臓器(脳・脾臓・肝臓・腎臓・肺・副腎)の非神経系組織においても 10<sup>4</sup>・10<sup>7</sup>/g tissue のシード活性が存在することを明らかにした。SD<sub>50</sub> は動物試験による LD<sub>50</sub> に相関し、かつ検出能は 100 倍ほど高いと考えられる。これまで sCJD の末梢臓器における感染性は検出限界以下とされてきたが、sCJD 患者の臓器には微量ではあるが、感染性プリオンが存在する可能性が示唆された。

CSF マーカーとして脳組織に特異的に発現する B-FABP について検討した。B-FABP 特異的かつ ELISA にも利用可能なマウス mAb を作出し、それ新規を用いたウエスタンブロッティングで CJD 等の脳疾患患者の CSF 並びに血清中の B-FABP の検出を試みたが、検出できなかった。今後、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。

プリオン病の診断精度向上のための剖検体制確立をめざして、美原記念病院ブレインバンクにプリオン病リソースを構築しプリオン病 44 剖検例を蓄積した。本邦では、プリオン病の剖検率は欧米と比較しても依然低く、サーベイランスの結果では剖検率は 16% (297/1846) である。プリオン病の剖検体制を継続・維持することは、プリオン病の正確な診断や適切な剖検体制をとることが可能となり、診断基準の策定・改訂や診療ガイドラインの策定・改訂に貢献する。

③ プリオン病の重症度及び治療法最適化についての研究：プリオン病に対するオールジャパン体制での臨床研究のために作られた JACOP によるプリオン病自然歴調査の検討では、JACOP 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。登録のスピードアップのため、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中である。

プリオン病患者で胃瘻造設術を施行した症例を後方視的に検討したところ、経管栄養を施行した患者の 17.6% で胃瘻が造設されており、胃瘻造設術に伴うトラブル、直接の合併症はなかった。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 sCJD 51 例の検討では、経管栄養が施行された例は 35 例(68.6%)であり、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。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。今後、わが国におけるプリオン病患者における経管栄養や胃瘻造設術の施行に関する全国的な疫学調査が必要である。

④ プリオン病の診療ガイドライン改訂のための研究：海外の多方面からの「プリオン病の治療」に関する情報収集では、英国で実施されたvCJD患者におけるPPS脳室内持続投与による臨床試験を受けた5例中4例で顕著な生存期間延長が観察された(Newman *et al.* *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 85:921, 2014)。脳室内投与を受けたvCJD患者における長期生存は、ケアの質・程度の違いだけで説明できるとは考え難く、PPS脳室内投与による効果である可能性を排除できない。PPS脳室内投与による効果であるとしても、そのメカニズムは不明であり、vCJDプリオンに特に有効であるのか、あるいは患者の年齢的な要素が関わっているのかも不明である。「プリオン病診療ガイドライン」の「プリオン病の治療」のPPS脳室内投与に関する記載に関しては、文献として今回のNewmanらの報告を追加する必要はあるものの、本文の改訂は必要ないと考えられる。

## 2) SSPE

① SSPEのサーベイランスと臨床病態：全国の医療機関のDPCデータを用いた疫学調査では、年齢は24.3±10.9歳であり、小児期に発症する疾患であるが、過半数の患者は成人となっていた。2012年のサーベイランス調査での平均年齢24歳10か月であり、今回の調査とほぼ同じ患者群であると考えられた。2013年3月までの2年9か月の間に、合計74名の患者が退院をしていた。2012年の本研究班でのサーベイランス調査では、その時点で88名の患者と報告されており、この中で74名に関する本調査のデータは、わが国のSSPEに関する医療の現状を反映するものと考えられる。このうち56名の退院の時点でのADLスコアのデータが得られたが、3名は歩行可能であったが、46例は寝たきりであった。人工呼吸器の使用や経管栄養を必要とする例は、若年でも既に必要とする例も認められた一方で、長期例でも必要としない例があり、寝たきりの中でも病状の進行度には多様性が認められた。治療内容では、全体の3割強

の患者が、入院期間を通じて特異的抗ウイルス治療を行っていなかった。本調査では、調査期間内に一時期でも抗ウイルス薬を使用した場合には、治療ありとしたが、この約3割の患者では一切の抗ウイルス薬が使用されていなかった。本研究では過去の使用歴については不明であるが、調査時に抗ウイルス治療を行っていない患者は、過去に治療を実施されたが病期が進行し、調査の時点では治療を行っていない可能性が高いと考えられる。仮説として抗ウイルス治療が奏功し経過がよい群があるのではないかと考えて本調査を行ったが、そうした治療有効群の存在を示す結果は得られなかった。なお、リバビリンは保険医療対象ではなく、本調査には含まれていない。その他の治療として、抗けいれん薬・眠剤・抗不安薬・筋弛緩薬等の多剤併用者が多く、抗痙攣剤だけでも3剤以上を使用しているなど、本疾患に特異的な痙攣や筋緊張亢進等に対して治療を要している現状を反映していた。

麻疹が流行した地域である沖縄においてSSPE発症率は10万人あたり16.3人(暫定値)と推計された。沖縄県では、SSPEは過去の国内報告よりも多く発生しており、海外の頻度と同等程度であった。SSPEの診療や療養支援、国内の麻疹排除状態の継続、根絶へ向けて、本疾患の実態を正確に把握するための情報収集が今後も重要である。また、新規SSPE発症者の把握を含めた、全国規模の情報把握のための方法についても検討を深める必要がある。

SSPEに対するリバビリン治療に関する全国アンケート調査を実施し25例のデータを解析した。SSPEの進行性の病態を考えると、改善例と不変例を合わせた7例に明らかな効果があると考えられ、またスコアが比較的低いまま維持できている4例についても何らかの効果が示唆された。一方、治療に伴う有害事象としては、脳室リザーバーからの頻回の注射が影響していると考えられる細菌性髄膜炎や、血圧低下、呼吸抑制に十分注意する必要があると考えられた。

② SSPEの診断基準についての研究：麻疹ウイルス抗体価の測定法の検討では、EIA/HI間、EIA/NT間共に正の相関を認めた。血清/CSF間の検討では、EIA法が最も強い相関を認め、血

清 EIA は髄液 EIA 価のおよそ 10 倍との知見が得られた。治療効果判定に抗体価の推移が利用できるかどうかは、今回、臨床症状の改善例がなく、明らかにできなかったが、SSPE の治療経過中は血清 EIA 価をフォローしながら臨床経過を追っていくことが治療効果判定に有用である可能性が示唆された。

③ SSPE の重症度についての研究：トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路の代謝産物の CSF 中濃度の検討では、病期の進行に伴って CSF 中キノリン酸の増加が認められ、SSPE の病態に関与している可能性が示唆された。代謝産物であるキノリン酸の増加はキヌレニン経路の活性化を示唆する。キヌレニン経路の活性化は SSPE における変異型麻疹ウイルスの持続感染に関与している可能性がある。さらにキノリン酸は NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニストとして興奮性神経毒性をもつため、SSPE における神経症状との関係が示唆される。

④ SSPE の診療ガイドライン改訂のための研究：SSPE の中枢神経系では、末梢血球と異なる intrinsic な自然免疫応答が起こっている可能性があり、患者由来 iPSC を神経細胞に分化させた系で麻疹ウイルス感染の病態を検討する必要がある。今後、nestin および Sox1 陽性の神経前駆細胞の豊富な Neural rosette clusters を作成し、これに FGF2 および EGF を添加して培養し、TUJ1 陽性の神経細胞を分離する。この iPSC 由来の神経細胞に麻疹ウイルスを感染させ、健常対照由来のものと比較し、SSPE の診断や治療に応用する。

### 3) PML

① PML のサーベイランスと臨床病態：国立感染症研究所ウイルス第一部における定量的リアルタイムPCR検査系によるJCV検査を介したPMLサーベイランスは、患者数の規模に限られる反面、詳細な臨床情報をリアルタイムで収集することができるという利点を有する。しかし、平成22年よりJCVの定量的リアルタイムPCR検査を実施する民間検査会社が増加しており、全数把握を目標とした包括的なサーベイランスは困難となってきた。平成27年1月から12月における検査の実施件数は203件であり、平成24年度からの3年間と同様に今年度も年間

200件を上回るペースで検査依頼に対応した。平成26年と比較した場合、同27年における検査対象者数は206名から166名へと減少した。ただし、平成27年におけるCSF-JCV陽性者数は22名であり、平成26年における18名よりも多くの陽性者を確認した。検査依頼数が少ないにも関わらず陽性者数が増加した理由については定かではない。平成27年ではコマーシャルベースのPCR検査においてCSF-JCV陽性を呈した患者の確認検査の実施数が多い傾向にあったことから、これらの民間施設による検査が部分的に一次スクリーニングとして機能した可能性は否定できない。また、平成27年に確認されたCSF-JCV陽性者においては、HIV感染症を有する男性患者が多い傾向にあった。年間20名程度のペースでCSF-JCV陽性者(PML患者)を確認している現状では、5年もしくは10年といった長期のデータについて統計学的解析を行い、国内のPMLの動向を解析する必要がある。

国立感染症研究所感染病理部で病理学的に診断確定されたPML 45例の解析結果はわが国におけるPMLの疫学的背景を反映するものと考えられた。また組織学的に診断確定されたPML症例の中には、脳組織採取前のCSF検査においてJCVゲノムが検出感度以下であった症例も認められたが、CSFの採取時期や病変部位との関係、CSF検査で陰性とされたため脳生検に至った症例が多く含まれること等の要素が関与する可能性が考えられた。

国立感染症研究所におけるCSFのJCV PCR検査によるサーベイランスおよび主治医からの相談によって情報収集された合計68例の解析では、従来とは異なる特徴をもつPMLが増加してきていることが示唆された。

今年度末に、PMLサーベイランス委員会によるPMLサーベイランスシステムが倫理委員会によって承認されたので、今後は、サーベイランス委員会を開催してPML症例を登録することになる。現在、当局と相談しながら情報収集ルートの拡大を図っている。これによってより効率的かつ緻密なサーベイランスが期待できる。

② PML の診療ガイドライン改訂のための研究：脳生検によるPMLの病理診断では、典型的なJCウイルス封入体を有するグリア細胞が認められない場合でも、PMLの初期病変である場合

があることを指摘した。特に、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>のバランスが保たれた T 細胞浸潤を伴う場合には、宿主の免疫応答が保たれた PML 症例の場合があり、診断に注意を要する。

PML 診療に関する情報収集では、ナタリズマブ関連 PML における抗 JCV 抗体指数や L-selectin 発現 CD4<sup>+</sup>細胞を利用した発症リスクの評価、無症候性のナタリズマブ関連 PML や早期 IRIS の頭部 MRI 上の特徴などについて、臨床に有用な知見が集積された。メフロキンの有用性の評価は症例報告レベルに留まっていた。これらの知見は「診療ガイドラインの改訂」に有用である。

#### 4) 診療ガイドラインの整備等

2014 年度に作成したロードマップに従って、3 対象疾患それぞれの分科会で、ガイドライン作成が順調に進捗した。現在、3 疾患それぞれのガイドラインが第一次改訂版の段階である。これについてコメントを得て再度改訂を行い、暫定版とする。暫定版を公表し、それに対するパブリックコメント(関連学会からのコメントを含む)を得て最終改訂を行い、完成版を 2016 年度中に発刊する。

### E. 結論

#### 1) プリオン病：

① 疫学と臨床病態：プリオン病サーベイランス調査が進捗した。調査票の回収率を増加させるためには地域別の対策が必要である。dCJD プラーク型では硬膜移植部位と発症時の DWI 高信号の領域には関連があった。九州地区における GSS 多発の解明が進んだ。

② 診断基準：プリオン病の MRI 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した。Endpoint dilution 法と RT-QUIC 法を組み合わせることで prion seeding activity 定量法(SD<sub>50</sub>)を確立し、微量のプリオンの検出が可能になった。プリオン病診断マーカーとして CSF 中の B-FABP の検討が進んだ。プリオン病の診断精度向上のための剖検体制が研究分担者関連施設において確立された。

③ 重症度分類及び治療法最適化：JACOP におけるプリオン病患者登録数増加のために、患者(家族)からの直接登録を開始した。プリオン病

患者に対する胃瘻造設の実態を報告した。

④ 診療ガイドライン改定：PPS 脳室内持続投与試験の臨床試験報告の総括では、vCJD 患者において長期生存効果がある可能性を排除できなかった。

#### 2) SSPE：

① 疫学と臨床病態：DPC データを用いた調査で 74 名の患者を解析し、重症で寝たきりの成人患者が増加している実態が明らかになった。沖縄における発生状況、リバビリン治療の全国アンケート調査を実施した。

② 診断基準：各種麻疹抗体測定法について SSPE の診断や治療効果の判定における有用性等を検討した。

③ 重症度分類：病期の進行に伴って CSF 中キノリン酸の増加が認められた。

④ 診療ガイドライン改定：病理神経細胞に分化させた系で持続感染の病態を解析するために個々の患者由来 iPSC を樹立した。

#### 3) PML：

① 疫学と臨床病態：国立感染症研究所における CSF 中の JCV の PCR 検査による PML サーベイランスを 9 年間継続し、わが国の PML の発症動向を明らかにした。PML 病理診断例を解析した。PML サーベイランス委員会による新規 PML サーベイランスシステムが承認された。

② 診療ガイドライン改定：PML の脳生検では非典型的な所見の例があることに注意を喚起した。ナタリズマブ関連 PML について海外からの情報を集積した。

#### 4) 診療ガイドラインの整備等

3 対象疾患それぞれの分科会において診療ガイドラインを 2016 年度に改訂・出版するための作業が順調に進捗した。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

(主要論文のみを下に示す。発表の詳細は分担研究報告を参照のこと)

1) 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, Haïk 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.
- 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) 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.
- 4) 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.
- 5) Hamanaka T, Nishizawa K, Sakasegawa Y, Teruya K, Doh-ura K. Structure-activity analysis and antiprion mechanism of isoprenoid compounds. *Virology* 486:63-70, 2015.
- 6) 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.
- 7) Kimura T, Nishizawa K, Oguma A, Nishimura Y, Sakasegawa Y, Teruya K, Nishijima I, Doh-ura K. Secretin receptor involvement in prion-infected cells and animals. *FEBS Lett* 589:2011-2018, 2015.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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 <sup>99m</sup>Tc-ECD-SPECT images in a case of MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 358:447-452, 2015.
- 11) Yoshida T, Kawamoto M, Togo M, Kohara N, Ito T, Nakamichi K, Saijo M, Mizuno T. Progressive multifocal leukoencephalopathy developing after liver transplantation showing marked neurological symptom improvement and arrest of further deterioration of imaging findings: A case report. *J Neurol Sci* 359:1-3, 2015.
- 12) Teruya K, Wakao M, Sato M, Hamanaka T, Nishizawa K, Funayama Y, Sakasegawa Y, Suda Y, Doh-ura K. Heparinase I-specific disaccharide unit of heparin is a key structure but insufficient for exerting anti-prion activity in prion-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun* 460:989-995, 2015.
- 13) 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.
- 14) Shishido-Hara Y. Progressive multifocal leukoencephalopathy: Dot-shaped inclusions and virus-host interactions. *Neuropathology* 35:487-496,

2015.

15) Sanjo N, Kina S, Shishido-Hara Y, Nose Y, Ishibashi S, Fukuda T, Maehara K, Eishi Y, Mizusawa H, Yokota T. A case of progressive multifocal leukoencephalopathy with balanced CD4/CD8 T-cell infiltration and good response to mefloquine treatment. *Intern Med*, in press.

16) Sano Y, Nakano Y, Omoto M, Takao M, Ikeda E, Oga A, Nakamichi K, Saijo M, Maoka T, Sano H, Kawai M, Kanda T. Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy derived from non-Hodgkin lymphoma: neuropathological findings and results of mefloquine treatment. *Intern Med* 54:965-970, 2015.

17) Hamanaka T, Nishizawa K, Sakasegawa Y, Kurahashi H, Oguma A, Teruya K, Doh-ura K. Anti-prion activity found in beetle grub hemolymph of *Trypoxylus dichotomus septentrionalis*. *Biochem Biophys Rep* 3:32-37, 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