

キナクリン投与例では中島らの報告⁴⁾にみられるように覚醒度、追視などの改善に加えて驚愕反射、ミオクローヌスの頻度に改善がみられたが脳波所見、無言無動に至る臨床経過には改善はみられなかった。副作用は肝機能障害が強く、600mg/日投与は現実的ではないように思われた。ペントサン経口投与については今後、症例導入を急ぎたい。

ミオクローヌスや驚愕反応、追視などの神経学的症候は日内変動・日差変動が大きく、数日間の平均を数値化するなどの臨床症状の評価法の検討が課題と思われる。

現在、早期診断においてはMRI、髄液検査で早期診断がある程度可能になったが、治療効果の判定のための病態評価マーカーの確立が重要であると思われた。

2) 既存薬剤の脳内送達性向上のための併用薬剤の探索

キナクリンは、脳に移行する場合、能動的な細胞外排出輸送系によって排出されているが、排出輸送系としてP-gpが関与している。従って、P-gp阻害によりキナクリンの脳内移行量が増大する可能性が考えられる。この知見によってキナクリン療法をより効果的なものとする新たな戦略を提案するものとする。

3) 既存薬剤の改変による脳内送達性を向上させた薬剤の創薬の試み

PPSの酸加水分解により、PPSを硫酸基を保持したまま低分子化することが可能であり、高速液体クロマトにて分画として分取可能なことが明らかになった。これによって低分子量PPSの経口投与によって脳内送達できる可能性が示された。今後、更に他の分画の検討、分取された分画の大量抽出と、得られた低分子量ペントサンの脳内移行性と持続感染細胞系での検討が必要である。

【参考文献】

- 1) 疾病対策研究会 難病の診断と治療指針3、クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) の診断基準 六法出版社 138-140,2002
- 2) Rebecca Love: Old drugs to treat new variant Creutzfeldt-Jakob disease, *Lancet*(18)563,2001
- 3) Chistine Farquhar, Alan Dickinson, Moria Bruce: Prophylactic potential of pentosan polysulfate in transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet*,353,117, 1999
- 4) 古川ひさ子、中島雅士、高橋美津雄、山田達夫.クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) に対する診療法 (マラリア治療薬) の開発展望. *日本臨床*60,1649-1657,2002

【研究発表】

論文発表

- 1) Fujimoto T., Nakamura T., Nishiura Y., Ichinose K., Furuya T., Shirabe S., Eguchi K.: Up-regulation of interleukin-12 receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci*. 196: 21-26, 2002
- 2) Kambara C., Nakamura T., Furuya T., Nishiura Y., Kawakami A., Ichinose K., Shirabe S., Eguchi K.: Increased sialyl Lewis x antigen-positive cells mediated by HTLV-1 infection in peripheral blood CD4+ T lymphocytes in patients with HTLV-1-associated myelopathy. *J Neuroimmunol*. 125: 179-184, 2002
- 3) 調 漸, 片峰 茂: プリオン病のモデルマウスにおける運動失調. *Clinical Neuroscience*. (21) 171-173, 2003

学会発表

- 1) Satoh Katsuya, Susumu Shirabe Shinji Hamasaki, Yoshihiro Nishiura, Akira Tsujino, Tatsufumi Nakamura, Toshiro Yoshimura and Katsumi Eguchi, Tooru Iwaki Discordant outcome of neurological and neuro-pathological phenotypes in familial cases of GSS with P102L mutation. Keystone Symposia, Molecular Aspects of Transmissible Spongiform Encephalopathies (Prion Diseases) (Denver, USA), 2003

2) 日本薬理学会総会 シンポジウム 「抗プリオン病薬」 調 漸、佐藤克也、江口勝美、片峰 茂、丹羽正美：既
存薬剤によるプリオン病治療の試み、日本薬理学会総会、福岡。

〔知的財産所有権の取得状況〕

なし

図.1

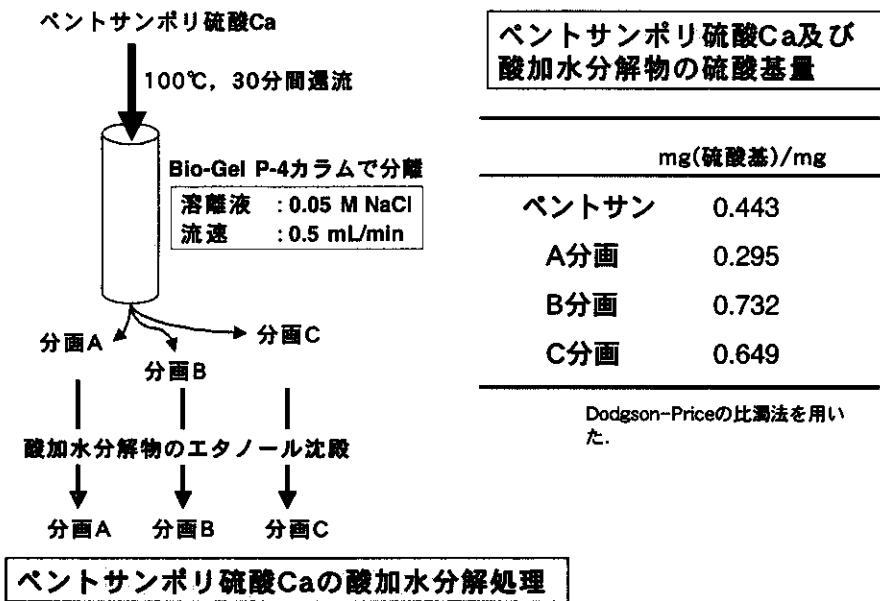


図.2

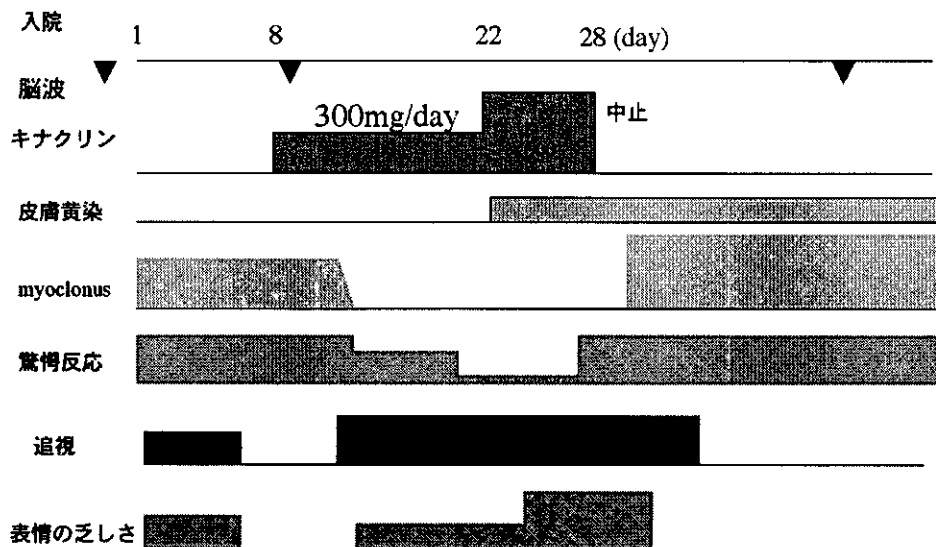


図. 3

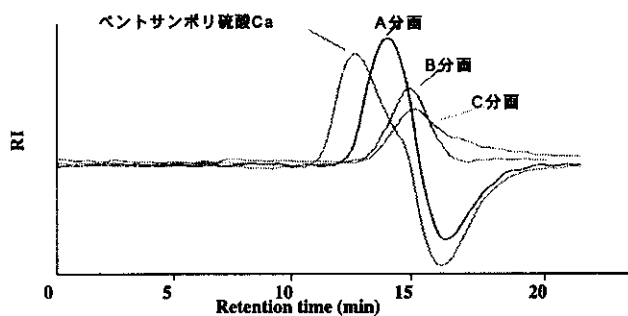
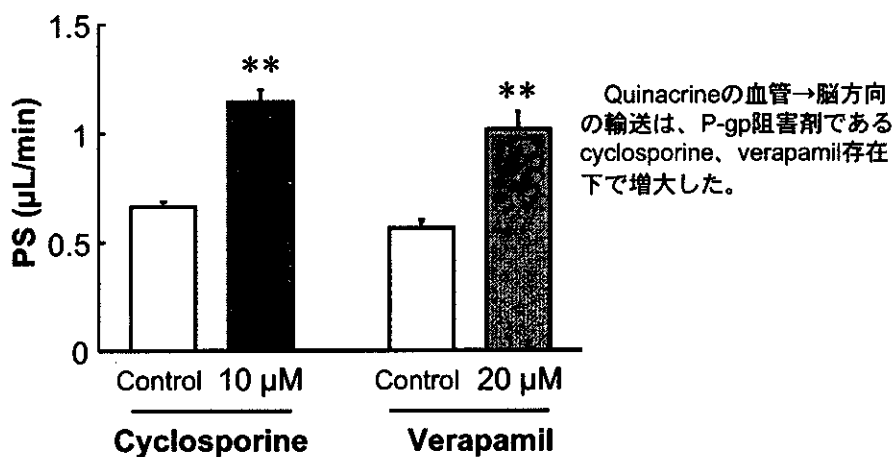


Figure 2.. PPS-Ca酸加水分解物のGPCクロマトグラム
column: Shodex KS-804+KS-802, 80°C
mobile phase: 0.01M NaCl
flow rate: 1.0 mL/min
detector: Shimadzu RID-6A (differential refractometer)

図.4 Quinacrine透過に対するP-gp阻害薬の効果



Quinacrineの血管→脳方向の輸送は、P-gp阻害剤であるcyclosporine、verapamil存在下で増大した。

Mean ± S.E.M. (n = 8); Quinacrine concentration 100 µM; **p < 0.01 vs Control

pentosan polysulfate 脳室内投与によるプリオン病の 病態修飾に関する研究

班 員：堂浦 克美（九州大学・大学院医・脳研病理）

研究協力者：佐々木健介、石川 謙介、久保 郁子、岩城 徹（同・脳研病理）

【研究要旨】

新規な治療法や早期診断法の開発のための基盤となる情報を収集することを目的として、末梢感染において治療的効果があることが知られている高分子化合物であるpentosan polysulfate (PPS)を、プリオン病の標的臓器である中枢神経系へ直接投与することによりプリオン病の病態がどのように修飾されるかを検討した。その結果、PPSは脳室内投与により投与側で異常プリオン蛋白沈着を抑制し、生命予後を著明に改善した。PPS投与長期生存個体では、投与側と反対側でプリオン蛋白沈着の増加が、特に大脳皮質において観察された。以上のことより、より有効な治療薬剤の開発において、プリオン病の標的組織である脳組織への薬剤のび漫性の浸達が極めて重要であると考えられた。

Modification of Prion Disease by Intraventricular Pentosan Polysulfate Infusion

Katsumi DOH-URA

Department of Neuropathology, Neurological Institute, Kyushu University

ABSTRACT

To obtain experimental evidence for the development of effective therapeutics, modification in the pathology by intraventricular administration of anionic polymer, pentosan polysulfate (PPS), was examined. Intraventricular PPS demonstrated a prominent effect both in prolonging the incubation period of intracerebrally infected mice and in inhibiting the deposition of abnormal prion protein in the PPS-infused hemisphere of the brain. However, the other hemisphere, which is contralateral to the PPS-infused site, showed prominently advanced deposition of abnormal prion protein, especially in the cerebral cortex. These findings indicate that diffuse drug delivery in the whole brain is very important to obtain better outcome in the treatment.

【はじめに】

より有効な治療法・診断法を開発するための基盤となる情報を収集することを目的として、罹患個体への治療的処置により病態がどのように変化するかを検討した。末梢感染において治療的効果があることが知られている pentosan polysulfate (PPS) (1-4)は、高分子化合物であることからプリオン病の標的臓器である中枢神経系への移行は期待できない。そこで、罹患個体の脳室内に PPS を直接投与することによりプリオン病の神経変性所見や病理像がどのように変化するかを組織学的及び生化学的に検討を行った。

[材料および方法]

脳内接種により罹患させた早発系マウスに浸透圧ポンプを用いて PPS を4週間連続投与を行い、潜伏期間への影響、異常型プリオン蛋白沈着への影響を解析した。異常型プリオン蛋白沈着は免疫組織学的方法と Western blot 法で調べた。

(倫理面への配慮)

動物実験は、九州大学大学院医学研究院動物実験委員会の指針の範囲内で行った。

[結果および考察]

pentosan polysulfate は、脳内罹患マウスの潜伏期間を著明に延長し、高濃度投与において感染早期の投与群では非投与群に比しおよそ 2.7 倍の期間まで生き延びるものがいた。また、感染中期以降の投与群でさえ非投与群に比しおよそ 2 倍の期間まで生き延びた。

異常型プリオン蛋白沈着への影響を調べたところ、投与群では非投与群に比べて新たな異常型プリオン蛋白の沈着が PPS 投与側の脳半球で著明に抑制されていた。しかしながら、投与を開始する時点ですでに沈着している異常型プリオン蛋白に対しては影響が明らかではなかった。一方、PPS 投与側とは反対側の脳半球では、PPS 投与により罹患マウスの潜伏期間が長くなるにつれて、粗大顆粒状の異常プリオン蛋白沈着やグリアのプリオン蛋白沈着が目立つ傾向が認められ、特に大脳皮質病変は著明に増悪していた。また、PPS の投与側に関係せず、血管や髄膜への異常プリオン蛋白沈着が新たに観察されるようになった。しかしながら、脳幹の異常プリオン蛋白沈着は左右差がなく、対照群においても PPS 投与群においても末期においては同程度であった。これらの所見は、片側の脳皮質や視床の病変が必ずしも生命予後と関係せず、脳幹の病変が生命予後と関係していることを示している。なお、PPS の作用としては、新たな異常型プリオン蛋白の産生・沈着を阻害し、神経変性を抑制していることが考えられた。

以上の結果は、PPS 脳室内投与はプリオン病患者、特に硬膜移植に伴う医原性ヤコブ病患者のように脳内感染で発症する患者には有効な治療法である可能性を示しているが、より一層の効果を得るためには、プリオン病の標的組織である脳組織への薬剤のび漫性の浸達が極めて重要であると考えられた。

[結論]

pentosan polysulfate 脳室内投与による病態修飾を解析し、薬物の脳組織浸達性の改善がより有効な治療法の確立に重要であることを明らかにした。

[参考文献]

- 1) Ehlers B, Diringer H : Dextran sulphate 500 delays and prevents mouse scrapie by impairment of agent replication in spleen. J Gen Virol 1984;65(Pt 8):1325-1330.
- 2) Diringer H, Ehlers B : Chemoprophylaxis of scrapie in mice. J Gen Virol 1991;72(Pt2):457-460.
- 3) Ladogana A, Casaccia P, Ingrosso L, et al : Sulphate polyanions prolong the incubation period of scrapie-infected hamsters. J Gen Virol 1992;73(Pt 3):661-665.
- 4) Farquhar C, Dickinson A, Bruce M : Prophylactic potential of pentosan polysulphate in transmissible spongiform encephalopathies. Lancet 1999;353(9147):117.

【研究発表】

1.論文発表

- 1) Sasaki K, Doh-ura K, Ironside WJ, Iwaki T : Increased clusterin (apolipoprotein J) expression in human and mouse brains infected with transmissible spongiform encephalopathies. Acta Neuropathol 103:199-208, 2002

2.学会発表

- 1) Doh-ura K, et al : Intraventricular infusion of PPS: an immediately available therapy for TSEs. International Conference on TSEs, Edinburgh, 2002
- 2) Kubo I, Doh-ura K, et al : Chemicals with a quinoline ring are potent inhibitors of abnormal prion protein formation. International Conference on TSEs, Edinburgh, 2002
- 3) Ishikawa K, Doh-ura K, et al : BSB as a therapeutic and diagnostic chemical for TSEs. International Conference on TSEs, Edinburgh, 2002
- 4) Sasaki K, Doh-ura K, et al : Clusterin/apolipoprotein J is associated with accumulation of prion protein in the follicular dendritic cells. International Conference on TSEs, Edinburgh, 2002
- 5) 堂浦克美：プリオン病の治療薬剤の開発。第75回日本生化学会大会、2002年、京都
- 6) Doh-ura K, et al : Intraventricular infusion of PPS as an immediately applicable treatment for prion diseases. International Conference New Perspectives for Prion Therapeutics, Paris, 2002

【知的所有権の取得状況】

1.特許取得

堂浦克美、久保郁子「病原性プリオンタンパク質生成阻害剤およびその使用方法」、特許願 2002-265321、2002年9月

プリオン病の診断および治療効果判定に対する 尿中プリオン蛋白解析の有用性に関する検討

班 員：古川 ひさ子（長崎大学大学院・医歯薬総合・薬理学第1講座）
研究協力者：高橋 三津雄（福岡大学・薬・臨床薬物治療学）
山田 達夫（福岡大学・医・第5内科）
丹羽 正美（長崎大学大学院・医歯薬総合・薬理学第1講座）

【研究要旨】

尿中プロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白(UPrP^{Sc})のプリオン病臨床診断における有用性と治療効果判定ツールとしての可能性について検討した。散发性 CJD および硬膜移植関連 CJD の 80%と家族性 CJD の全例から UPrP^{Sc} が検出された。同一患者群に対して施行された他の検査所見との比較では、脳 MRI（拡散強調画像）での皮質・基底核の異常高信号と同程度の陽性率であったが脳脊髄液中 14-3-3 蛋白質（92.9%）には劣っていた。性別や発症年齢は陽性率に影響しなかった。診断のつかない不明の痴呆性疾患の 2 例で UPrP^{Sc} が検出された。疾患特異性についてはまだ検討すべき点が残っているが陽性率の点からは、本検査がプリオン病診断に有用であることが示された。キナクリン治療症例の尿解析結果の推移では多くの症例で治療開始後に UPrP^{Sc} の陰性化や減弱を認めたものの臨床的重症度を反映してはならず、治療による短期的な効果判定には有用でないと考えられた。

Evaluation of the diagnostic and clinical usefulness of protease-resistant prion protein in urine of prion diseases.

Hisako FURUKAWA¹, Mitsuo TAKAHASHI², Tatsuo YAMADA³, and Masami NIWA¹.

¹Department of Pharmacology 1, School of Medicine, Nagasaki University

²Department of Clinical Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Fukuoka University

³Fifth Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Fukuoka University

ABSTRACT

We evaluated the diagnostic significance of protease-resistant prion protein in the urine (UPrP^{Sc}), and changes in UPrP^{Sc} excretion were also detected in prion diseases. In eighty percent of sporadic CJD or CJD patients after dural graft transplantation UPrP^{Sc} was detected with our methods. We have also found UPrP^{Sc} in two genetic patients carrying E200K mutation. In comparison with diagnostic examinations used clinically, UPrP^{Sc} was more sensitive as a diagnostic tool than signals in cerebral cortices and basal ganglia on diffusion weighted imaging MRI, and less sensitive than 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid. The detection ratio of UPrP^{Sc} was not influenced by gender or ages at disease onset. Besides CJD cases, we found two UPrP^{Sc}-positive patients with dementia of unknown etiology, being not fulfill the diagnostic criteria for prion diseases. Thus, the possibility that UPrP^{Sc} distinguish CJD from neurological disorders with dementia would have to be considered. We also examined UPrP^{Sc} of patients with oral quinacrine treatment. UPrP^{Sc} found in SDS-Gel became weak or disappeared during the course of quinacrine administration, but changes in UPrP^{Sc} seemed not to reflect the clinical improvement or deterioration. We concluded that UPrP^{Sc} analysis is sensitive as a diagnostic examination for prion diseases.

【はじめに】

プリオン病治療薬剤の開発とその臨床応用が進められる中、プリオン病診断のための疾患マーカー開発が急がれている。我々は Shaked らによって報告された尿中プロテアーゼ抵抗性プリオン蛋白 (UPrP^{Sc}) に着目し、昨年度までに数症例のプリオン病尿から UPrP^{Sc} が検出されることを明らかにしてきた。本年度は症例数を増やし、散发性 CJD、硬膜移植関連 CJD、家族性 CJD において 80%以上が陽性率であることを明らかにし、他の既存の検査と比較した。また治療効果判定マーカーとしての有用性についてはキナクリン治療患者尿を治療前および開始後で検査しこれを臨床症状の変化と比較した。

【目 的】

プリオン病診断のための疾患マーカー開発を目的とする。

【材料と方法】

研究の対象

全国の複数施設から集められた患者尿を用いた。このうち臨床情報が得られている 34 例を統計的解析の対象とした。34 例の内訳を表 1 に示す。

尿中プリオン蛋白解析

早朝尿または随時尿を採取後 4°C 冷蔵保存し、十分量の生理食塩水で 1 晩透析した後 100,000xg 1 時間の超遠心により得られた沈殿をプロテナーゼ K 40μg/ml で 1 時間消化し、ウエスタンブロット法で解析した。1 次抗体には 3F4 (PrP109-112 を epitope とする)、PrP2B (PrP89-103 fragment に対するウサギポリクローナル抗体)、6H4 を用いた。

統計処理

散发性 CJD 群について陽性群・陰性群間の①発症から採尿までの期間②発症年齢③性別による差について Welch の t 検定 (①②) または χ^2 検定 (③) を用いて判定した。

キナクリン治療患者尿の解析

福岡大学および同大学との共同研究によるキナクリン治療患者について、治療開始前と (可能な限り) 開始後は 2 週毎に採尿し前述の方法でプリオン蛋白解析を行った。

(倫理面への配慮)

患者からの検体提供にあたっては、研究の内容、検体の保管、検査データの取り扱いについての十分な説明を患者本人あるいは患者家族に行い同意を得た。

【結 果】

病型別陽性率

散发性 CJD の 80% (20 例中 16 例)、硬膜移植関連 CJD の 80%(5 例中 4 例)、家族性 CJD (E200K) 別家系の 100% (2 例中 2 例) に UPrP^{Sc} を認めた (図 1)。

散发性 CJD における陽性率に影響を及ぼす因子

比較的症例数の多い散发性 CJD 群について検討した。

1) 発症年齢 陽性群: 平均 65.5 (46-82)、陰性群: 平均 68.3 (64-75) → Welch の t 検定において $P=0.489$ (図 4)

2) 性別 χ^2 検定にて $P=0.736$

3) 発症から採尿までの期間 (月)

陽性群: 平均 5.5 ヶ月 (1.5-12)、陰性群: 平均 3.13 ヶ月 (2-4) → Welch の t 検定において $P=0.024$

以上から、性別および発症年齢は陽性率に影響を及ぼさないが発症から採尿までの期間については両群間に有意差を認めた (図 2,3)。

散发性 CJD における既存の諸検査との比較

対象とした 20 例中、拡散強調画像 MRI は 19 例、脳脊髄液 NSE は 10 例、14-3-3 蛋白は 14 例で施行されていた。図 5 に示すように（施行された）全例で脳脊髄液 NSE が増加し、14-3-3 蛋白は 92.9%が 1+以上の陽性結果を示した。拡散強調画像脳 MRI における大脳皮質または基底核の異常高信号は 73.7%に認められた。UPrP^{Sc} の陽性率はこれらの中間的な値であった。

不明の痴呆における UPrP^{Sc}

集められた症例のうち、痴呆と他の神経症状を認めるものの脳波所見が非定型的であるかまたは経過が非常に長いなど、possible CJD の定義を満たさない症例が 7 例あった。そのうち 2 例から UPrP^{Sc} が検出された。1 例は 9 ヶ月の経過で死亡し（剖検なし）他の 1 例は現在経過観察中である。

キナクリン治療症例における UPrP^{Sc}

21 例のキナクリン治療症例の尿を解析した。このうち 4 例では UPrP^{Sc} が陰性であった（うち 2 例は治療開始前の 1 回尿のみ検査可能であった）。陽性所見が得られた 17 例中 12 例について開始前後の UPrP^{Sc} を検査し得た。12 例中 7 例が開始後陰性化または減弱化を認めたが 2 例では変化がなく 3 例はむしろ開始後に陽性化した。

[考 察]

散発性 CJD の 80% (16/20)、硬膜移植関連 CJD の 80%(4/5)、コドン 200 番変異をもつ家族性 CJD の 100%(2/2)において UPrP^{Sc} が陽性であった。陽性になる時期についてはもっとも早いもので発症から 1.5 ヶ月（散発性 CJD）であり比較的早期から検出可能であると考えられた。また経過が緩徐で長い硬膜移植関連 CJD の 1 例では発症から 72 ヶ月の検査で陽性であり比較的後期にまで尿中に排出されていることが示唆された。多数症例を検査しえた散発性 CJD について検討したところ、発症年齢・性別による陽性率の差はみられなかった。発症から採尿までの期間については統計学的には陽性群で長い傾向が示されたものの散布図では両群間の重なりが大きく、有意とは判断しえなかった。また対象症例群に行われた他の検査との陽性率の比較では、UPrP^{Sc} 検査は拡散強調画像 MRI の異常高信号検出率（73.7%）よりやや陽性率が高く脳脊髄液 14-3-3 蛋白(92.9%)には劣っていた。この数値から UPrP^{Sc} 検査はプリオン病診断に有用である可能性が強く示唆されるが、一方で不明の痴呆において陽性例が見られるなど疾患特異性についてのより詳細な検討が必要であると考えられた。正常対照について今年度は追加を行っていないが年齢のマッチした対照を集めることも必要だろう。

治療効果判定における有用性については、キナクリン治験患者を対象に治療開始前後で比較を行った。多数の症例で治療開始後 UPrP^{Sc} が陰性化する傾向が見られたが臨床的な改善度あるいは増悪と平行してはいなかった（一時的に臨床症状が改善したものでも増悪の一途をたどったものでも陰性化が観察された）。また、中には開始前は陰性であり開始後に陽性となる症例もみられ、少なくとも UPrP^{Sc} は治療効果を迅速に反映するとは言い難いと判断された。

[結 論]

散発性 CJD の 80% (16/20)、硬膜移植関連 CJD の 80%(4/5)、コドン 200 番変異をもつ家族性 CJD の 100%(2/2)において UPrP^{Sc} が陽性であった。これらは既存の諸検査とほぼ同等の検出感度であり UPrP^{Sc} はプリオン病疾患マーカーの 1 つとして有用であると判断された。一方 UPrP^{Sc} の疾患特異性について特に痴呆性疾患でのコントロール検討が必要であると考えられた。キナクリン治療症例では疾患の重症度または改善と UPrP^{Sc} の間に相関は見られず、治療効果判定には有用でないと考えられた。

[参考文献]

Shaked GM, Shaked Y, Kariv-Inbal Z, Halimi M, Avraham I, and Gabizon R.: A protease-resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion diseases. J Biol Chem. 276:31439-31482, 2001

[研究発表]

1.論文発表

Koide T, Ohtake H, Nakajima T, Furukawa H, Sakai K, Kamei H, Makifuchi T, Fukuhara N: A patient with Lewy bodies and codon 232 mutation of PRNP. *Neurology*. 59:1619-1621, 2002

2.学会発表

1) 古川ひさ子：非神経組織のプリオン蛋白に関する検討。第19回日本薬学会九州支部研修会 2002 福岡

2) Furukawa H, Takahashi M, Doh-ura K, Sasaki K, Iwaki T.: Accumulation of partially protease-resistant, detergent-insoluble prion protein in the rimmed vacuoles of experimental chloroquine myopathy. A possible in vivo model for conformational conversion of prion protein. The 32nd SFN Annual meeting, 2002 Orlando, USA

表 1. 対象

散発性 CJD	20 例
probable CJD	18 例
definite CJD	2 例
硬膜移植歴のある CJD	5 例
possible CJD	2 例
probable CJD	3 例
家族性 CJD(E200K)	2 例
不明の痴呆	7 例

possible, probable, definite は WHO 診断基準による。

図 1 病型別 UPrP^{Sc} 陽性率

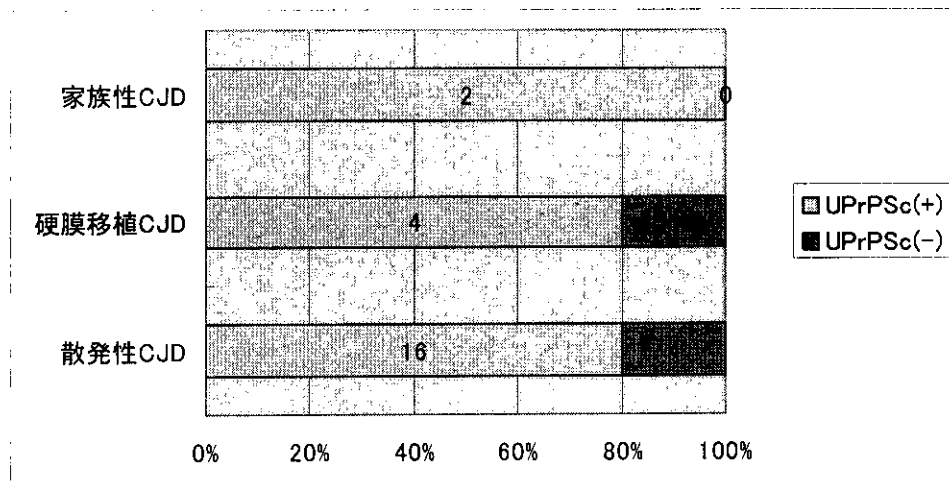


図2 採尿までの期間と UPrP^{Sc}

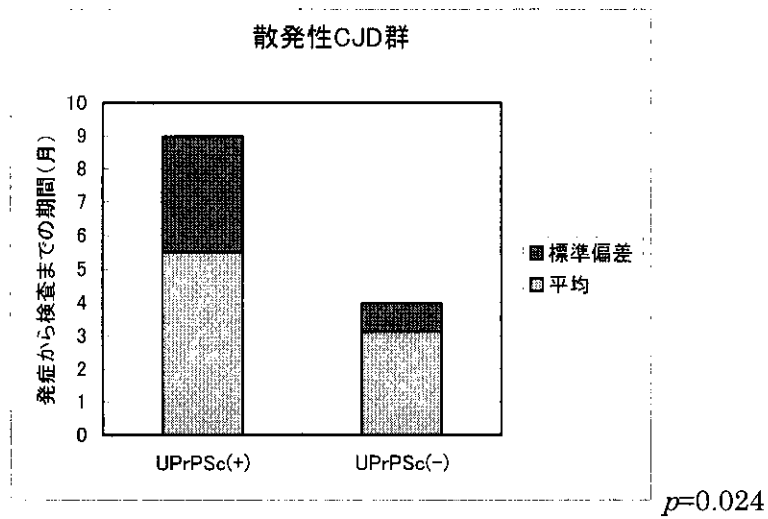


図3 採尿までの期間と UPrP^{Sc} データ散布図

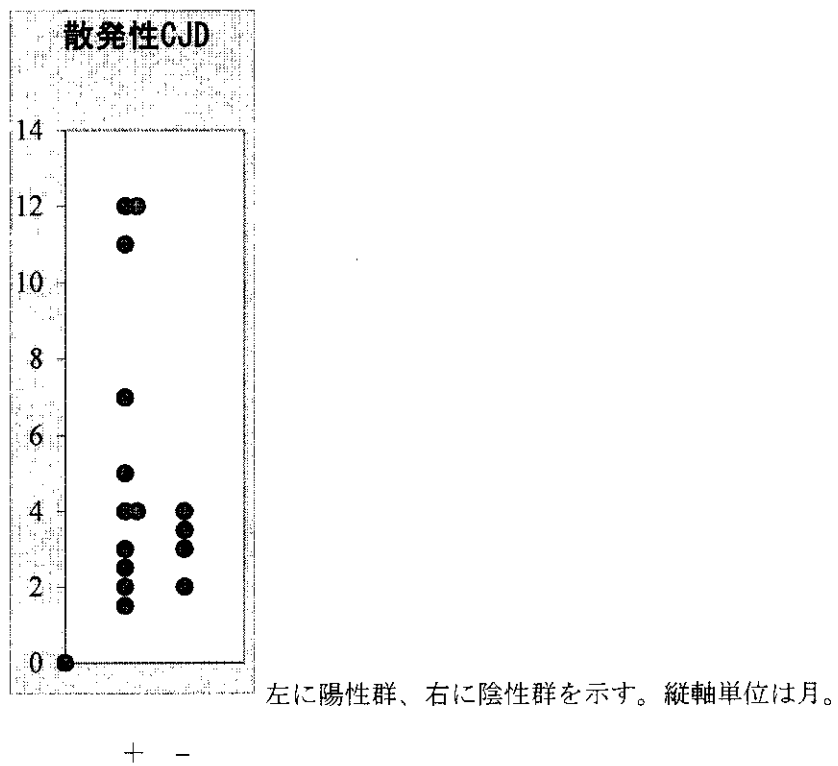


図4 発症年齢と UPrP^{Sc}

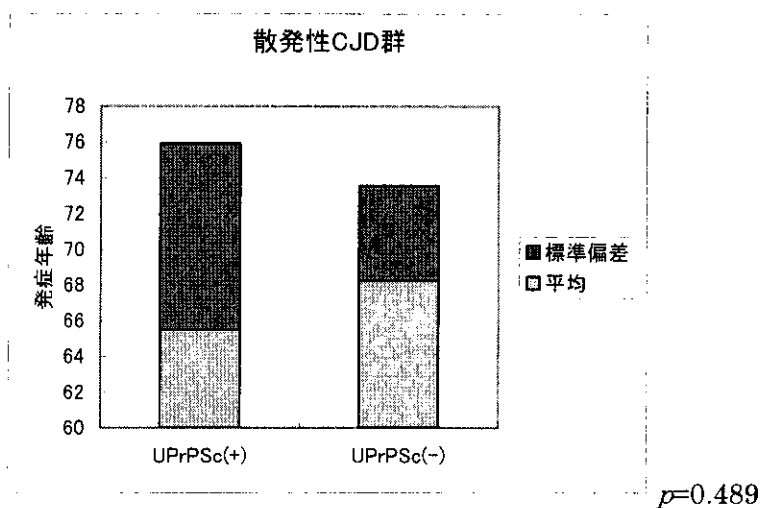
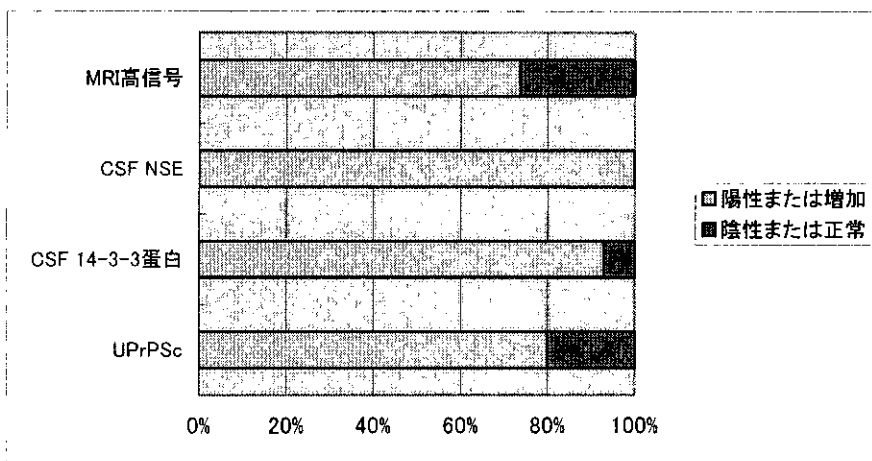


図5 散発性 CJD : 各種検査陽性率の比較



プリオン病の動的神経病理

研究協力者：村山 繁雄（東京都老人総合研究所・老化臨床神経科学）

〔研究要旨〕

クロイツフェルトヤコブ病（CJD）の diffusion weighted image（DWI）で皮質が高輝度を呈する病態の病理学的背景を検討した。症例は 82 歳男性。死亡 8 ヶ月前視覚障害で初発。ミオクローヌス、PSD+、髄液 14-3-3+、プリオン遺伝子 129 多型は M/M。死亡 12 日前の MRI で皮質がまだら状高輝度。肺炎で死亡。CJD プロトコールに従い脳のみ検索。凍結脳解析で、不溶性プリオン type 1>2 の所見。DWI 冠状断にあわせ割面標本作製。右中心前回外側及び同一割面での第三側頭回の DWI 高輝度に一致し、プリオン蛋白の集積を認め、海綿体状態、マイクログリオシスも高度で、周辺と明らかな差を認めた。高輝度に対応する病変として、これまで上記三病変に相応するという三つの異なった報告がされてきたが、急性病変では三病変とも高度であることが本研究で示され、DWI の性格上、海綿体状態を反映する可能性が最も考えやすい。

Dynamic Neuropathology of Prion Disease

Shigeo Murayama M.D. Ph.D.

Geriatric Neuroscience Research Group, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

Abstract

Neuroradiological and neuropathological correlation was studied for high signal in the cerebral cortex of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) detected by MRI diffusion weighted image (DWI). The patient was an 82-year old man with typical clinical presentation of CJD. Coronal DWI, performed twelve days prior to death, demonstrated geographical high signal in the cerebral cortex. Careful matching of the high and low signal area showed difference in the deposition of prion protein and the grade of spongiformic changes as well as severity of microgliosis. Three independent reports claimed these three lesions as the cause of the high signal. Although these three lesions are commensurate with each other, the spongiformic change or water retention in the neuropil is most likely the lesion detected by DWI, which will detect the trapping of water molecule.

〔はじめに〕

ヒト Prion 病の画像診断において、MRI の拡散強調画像 (Diffusion Weighted Image : DWI) で皮質に広汎に高輝度を認めることが、最近注目されている(1)が、これらの所見に相応する病理の報告は少ない。また、海綿体状態(2)、マイクログリオシス、プリオン沈着(3)というそれぞれ異なった報告がなされており、一致をみない。

今回、孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 (sCJD) の一例で、剖検との時間差が 12 日と短く、MRI DWI を冠状断で撮像し、病理所見と正確に対応することが出来たので、報告する。

〔症例〕

82 歳男性。家族歴・既往歴：特記すべきことなし。

現病歴：2002 年 1 月道に迷うことがあった。2 月、目がみえにくくなり、眼科では白内障のせいといわれた。4 月、これまで普通にできていた電球の取り替え等の簡単な仕事ができなくなり、本人も気にやんでいた。5 月白内障手術するも、改善はみられず、洋服のボタンかけがうまくできないとか、杖をとろうとして 10cm 位前方をつかもうとするなどの症状が新たに出現した。脳 CT・血流シンチで Alzheimer 病の診断を受け、塩酸 donepezil 投与するも無効であった。6 月動作緩慢、トイレの場所・自分の布団が分からなくなった。7 月には昼夜逆転・徘徊・起きあがり困難・食事量減少・幻視が出現し、妻との二人暮らしでは在宅医療が困難で、子供のいる東京に転居、7 月下旬当科初診。初診時、著明なるいそぎを認め、MMSE0 点、指示は全く入らず、CT scan では異常を認めなかった。住所が遠方であるため在宅管理に移行。徐々に会話が成立しなくなった。8 月 20 日ころから左手ミオクローヌス頻発、車椅子への移動も全介助となった。9 月になり、全身ミオクローヌス出現、中旬より経口摂取困難となり、下旬に脱水で緊急入院となった。神経学的に、右利き。開口開眼し、呼名にうなり声で反応するが、注視はない。刺激で上肢に粗大なミオクローヌス出現。頸部固縮、四肢 Gegenhalten 著明。深部腱反射低下。Babinski 徴候右<左。MRI 所見：DWI にて大脳皮質に広範な高輝度を認め、右側に著明で後頭葉・頭頂葉・側頭葉皮質に高度、前頭葉にも及ぶ。固有海馬は免れている。脳波：PSD 陽性。髄液：14-3-3 蛋白 2+。Codon 129 は Met/ Met。入院後経過：診断を告げたところ、家族が一切の延命治療を希望せず、肺炎併発し、第 12 病日に死亡。

〔方法〕

我々の施設は 18 年間 CJD の診断が行われておらず、再開のためのコンセンサスとして、主治医からは、「現在治療法がない疾患に、病態解明に繋がる可能性のある臨床検査を行い、亡くなられた時剖検検索を行うことで、疾患解明への努力を行うことが、患者様及びご家族への最大の奉仕である」という意見、及び患者様のご家族から、「現在治療法のない病気で失われざるを得ないとしても、その死がこの病気の克服に役立つのであれば、この病気と戦った家族を誇りに思うことができる」という意見を元に、コンセンサスを得た。また剖検承諾書の中で、剖検組織を用

いて遺伝子検索を含む研究に用いることについても文書同意を得た。

CJD の剖検については、厚生労働省の手引きに従い、脳のみを剖検とし、シールドした環境下で dry condition で行い、器具は全てディスポを使うかたちとし、125°C オートクレーブ後廃棄した。脳は 20%ホルマリンに 2 週間固定後、水洗はせず、剖検と同様の条件でブレインカッティングを行った。この時に、画像とできるかぎりあわせるかたちで剖面をつくり、MRI 画像との対比が正確に行えるよう配慮した。切り出した標本は、99%蟻酸で 60 分処理し、その後再度中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン包埋、その後は通常の標本と同じ処理を行った。

6 μ m パラフィン包埋切片を作製し、H.E.、K.B.、Bodian、抗プリオン (3F4)、HLA-DR (CD68)、GFAP 免疫染色で CJD 病変の評価を行った。

〔結果〕

DWI で、固有海馬は両側性に病変から免れていた。右半球では中心前回内側面が正常で外側面が高輝度を呈していた。また左半球では第三側頭回が強い高信号を示し、それに比べると弱い高信号が、海馬支脚まで連続していた (図 1 左)。

この像に注目し、この剖面に出来る限り適合するように切片を作成し評価した。高輝度を呈さない海馬のプリオン沈着はほとんどなく (図 1 右下)、一方極めて強い高輝度を呈する第三側頭回は、プリオン沈着が極めて高度であった。中心前回では、高輝度を呈する外側部分のプリオン沈着は強かったが、内側の高輝度を呈さない部分では、プリオン沈着は弱い傾向を示した (図 1 右上)。このプリオン沈着と、海綿状変性の程度、さらには活動性ミクログリアの数は、極めてよく一致していた。

〔考察〕

本例の特徴は、MRI DWI 撮像と死亡までの期間が近接していることである。他自験例との比較では、MM2 の症例で、DWI 高輝度持続部位は、海綿状変化を認めるのに対し、高輝度が消えた部位は神経細胞脱落とグリオシスを認め、海綿状変化はむしろ軽くなっていた。プリオン遺伝子変異 M180I の症例は、FLAIR 画像で皮質の高吸収域が移動する経過をとったが(4)、最終的に高輝度であった部位は皮質全層にわたる海綿状変化を示し、高輝度が消えた部位は細胞脱落と萎縮が強く海綿状変化に乏しかった。この M180I 例においては、プリオン沈着は極めて軽度であった。既往例の電顕的検討では、海綿状変化は樹状突起の膨化からなっており、神経細胞脱落が進むと海綿状変化が目立たなくなった。DWI の高輝度が水分子の拡散性の低下を反映すると考えると、DWI での高輝度は海綿状変化を反映すると考えた方が素直であり、海綿状変化の強いところは、プリオン沈着も強く、従ってミクログリアの反応も激しいと考えれば、報告例はそれぞれ一面のみを強調している可能性がある。今後さらに症例を増やし検討する予定である。

〔参考文献〕

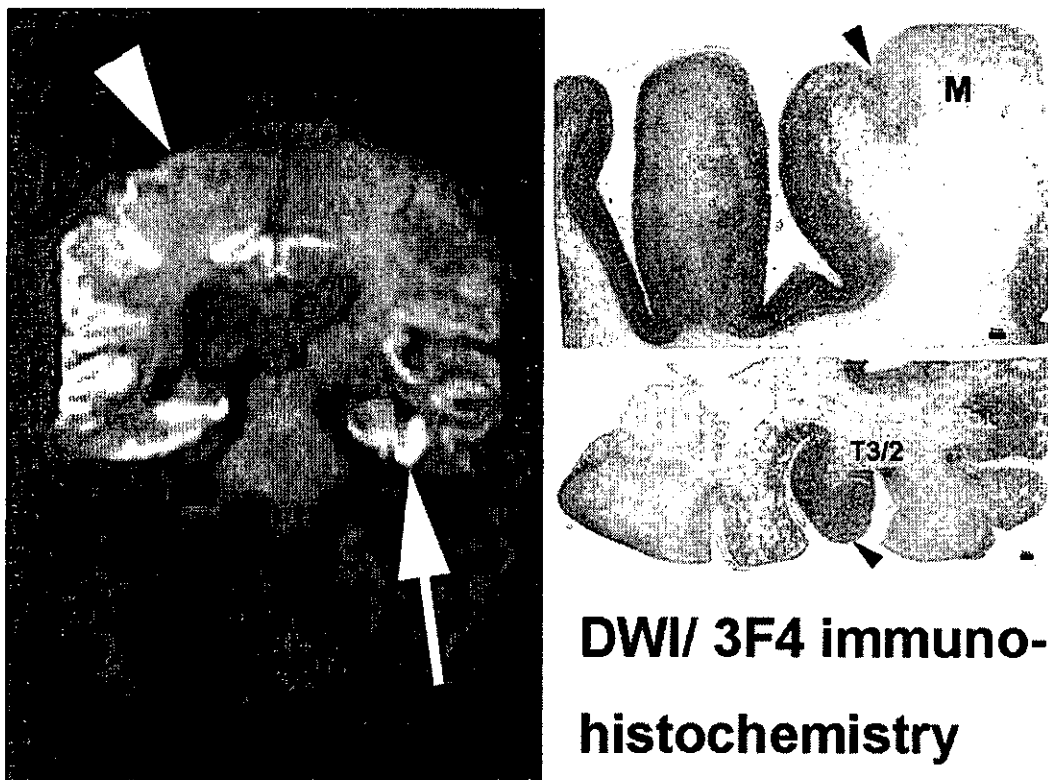
1. Demaerel P, Baert AL, Vanopdenbosch L, Robberecht W, Dom R. Diffusion-weighted

magnetic resonance imaging in Creutzfeldt-Jakob disease. Lancet 1997;349(9055):847-848.

2. 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 2002;59(1):128-134.

3. Haik S, Dormont D, Faucheux BA, Marsault C, Hauw JJ. Prion protein deposits match magnetic resonance imaging signal abnormalities in Creutzfeldt-Jakob disease. Ann Neurol 2002;51(6):797-799.

4. Kobayashi S, Ohuchi T, Maki T. [A case of probable Creutzfeldt-Jakob disease with a point mutation of prion protein gene codon 180 and atypical MRI findings]. Rinsho Shinkeigaku 1997;37(8):671-674.



DWI/ 3F4 immuno- histochemistry

図 1. MRI Diffusion weighted image (DWI)とプリオン染色との対比。

左：MRI DWI では海馬は両側性に免れ、左半球では海馬支脚より亢進号がはじまり、第三側頭回（矢印）が非常に強い高信号を呈している。一方右半球では海馬支脚より亢進号がはじまり、第二側頭回と、中心前回の内側面（矢尻）が免れる以外はび慢性に高信号を呈している。

右上：抗プリオン抗体免疫染色では、中心前回の一部よりプリオン沈着が減じることが確認できる（bar = 1mm）。

右下：左図とほぼ同じ断面では海馬はプリオン沈着から免れており、第三側頭回は極めて強いプリオン沈着を示している（bar = 1mm）

プリオン病の神経病理

天野 直二 (信州大学医学部精神医学教室)

【研究要旨】

プリオン病は孤発性、家族性、伝達性(感染性)に分類される。孤発性の Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) の病理の基本像は、神経網の海綿状変化、神経細胞の変性脱落、星形グリアの反応であり、プリオンの免疫組織による染色性が診断に大きく寄与し、プリオン異常蛋白の proteinase K 処理後の分子量の異同とプリオン蛋白遺伝子 codon 129 の多型との組み合わせから、その臨床病理学的相関がより明確になった。家族性プリオン病は、P102L と P105L に代表される Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS) ではクル斑に似た特異なアミロイド斑が出現する。感染性プリオン病の変異型 CJD は、アミロイド沈着の周囲に空胞が取り囲んで花弁状を成す florid plaque が特徴である。硬膜移植後 CJD は大脳皮質に高度な海綿状変化を認めるが、florid plaque をみる例 (dura-variant CJD) もみられる。このようにプリオン病の病理は、血管性変化、炎症性変化、神経変性が包含されており、異常プリオン蛋白が神経網の傷害におよぼす機序の検討が重要である。

今回は各タイプのプリオン病の特徴を近年の分子生物学的な知見を参考しながら検討を加えた。多彩な所見を提示するとともに、今後の研究、とくに初期病変についてその背景を検討した。

Neuropathology of prion diseases

Naoji AMANO

Department of Psychiatry, Shinshu University School of Medicine

ABSTRACT

Prion diseases include sporadic CJD of obscure infectious and genetic origins, infectious diseases such as variant CJD, CJD after dura transplantation and kuru, and familial inherited diseases. The main histological features of prion diseases are spongiform change, marked neuronal loss and astrogliosis. Anti-prion staining reveals synaptic and plaque types of abnormal prion protein deposits. Sporadic CJD shows synaptic type in most cases, but sometimes plaque type. Sporadic CJD has been classified by different molecular weights of abnormal prion proteins after proteinase K treatment. Many postoperative patients, particularly in Japan, developed CJD after receiving artificial dura mater. They developed classic CJD (dura-classic type) or CJD with plaque type (dura-variant). Variant CJD has not been reported in Japan. Numerous florid plaques appear in the cerebral cortex. Kuru was seen in native tribes of Papua New Guinea, and transmitted human-to-human through ritualistic cannibalism. The main lesion is cerebellar degeneration, with kuru plaques in cerebellar granular layers.

Familial CJD is characterized by substitution mutations in codons 180, 200, and 210. Similar to classic MM1-type sporadic CJD, the lesions show synaptic-type prion deposits with marked spongiform degeneration, marked neuronal loss and fibrillary gliosis in cerebral cortex, striate body, and thalamus. In GSS with a mutation in codon 102, numerous amyloid plaques resembling kuru plaques appear in cerebellar and cerebral

cortices. In GSS associated with codon 105 mutation, numerous amyloid plaques similar to kuru plaques are also found in cerebral and cerebellar cortices, but cerebellar lesions are mild. Basically, no spongiform change is observed in cerebral cortex. Fatal familial insomnia with a substitution mutation of codon 178 is known, and the main lesion is thalamic degeneration. Neuronal loss and fibrillary gliosis are virtually confined to thalamic nuclei and inferior olivary nucleus. Abnormal prion proteins are often difficult to demonstrate.

As described above, the histopathology of definitively diagnosed prion diseases is diverse. In summary, abnormal prion proteins deposit diffusely, in aggregates, or in plaques. These deposits trigger severe degeneration in neural nets. Small spongiform vacuoles appear in gray matters, and grow coarse. Eventually, spongiform change is completed. On the other hand, astroglial reaction is also diverse. Advanced fibrillary gliosis is seen in some areas, while in other areas, changes reflect the acute phase in which gemistocytic astrocytes and phagocytes appear. Prion diseases are serious conditions presenting with extensive, progressive lesions throughout the entire brain: the cerebral cortex and white matter, diencephalon, basal ganglia, and cerebellum.

【はじめに】

プリオン病は Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) に代表され、そのほとんどは感染の既往や遺伝歴のはっきりしない孤発性（散発型）である。プリオン病としての特徴は、ヒトや動物の種の壁を越えた伝達（感染）が証明されたことであり、プリオン蛋白遺伝子 prion protein gene (PRNP) の検索が進んで遺伝性の側面が浮彫りになってきたことである。この症候群には共通して存在する特異なタンパク質、すなわち異常プリオン蛋白が強く関与しているが、その発症や伝達の機序は未だ不明である。1996年にイギリスで最初に報告された変異型 CJD (variant CJD: vCJD) は、ウシ海綿状脳症 bovine spongiform encephalopathy (BSE) との関連が世界的に問題となり、本邦でも厚生省（当時）で緊急に全国レベルの調査が実施された。その際に vCJD と確認された例はなかったが、脳外科手術時にヒト乾燥硬膜の移植を受けた CJD が多く発症していることが判明した。さらに 2001年には本邦でも BSE が確認され、プリオン病に関する診断と病理に関心が強く寄せられるようになった。本研究ではプリオン病を孤発性、家族性、感染性（伝達性）に分類し、その分子生物学的な特徴も踏まえながら検討した。

【目的】

プリオン病の多彩な病理所見を各タイプ別に検討することがまず最初の視点である。異常プリオン蛋白の蓄積により神経網は急激に障害されていく。そのプロセスを正確に検討することは、プリオン病の発症機序を研究する上では必須である。また、障害部位は脳内によって随分と異なり、病変を起こしやすい部位、起こしにくい部位、初期病変などの検討は、プリオン病の進行防止、治療方法の獲得に貢献するものと考えられる。

【対象と方法】

今までに剖検され蓄積されてきた症例が主である。孤発性、家族性、感染性の各タイプの剖検例の脳皮質、脳白質、間脳、脳基底核、脳幹、小脳全体を詳細に検討した。また、異常プリオン免疫染色や電子顕微鏡も用いて、神経変性のプロセスを比較検討した。

（倫理面への配慮）

今までの剖検例の検討が主な作業であるが、医倫理委員会を通して研究の妥当性を検討する。さらに新しい剖検についてはこの研究の趣旨の理解を取り付けることとする。さらに個人の情報は表に出ることのないように十分に配慮し、その個人及び関連する人に弊害が及ばないようにする。