

20020888

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

即戦力的クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 堂浦 克美

平成15年(2003年) 4月

## 目 次

	ページ
I. 総括研究報告書	
即戦力的クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究 堂浦克美（九州大学大学院医学研究院）	・・・1
II. 分担研究報告書	
キノリン環化合物のプリオン病治療への応用に関する研究 堂浦克美（九州大学大学院医学研究院） 久保郁子、石川謙介、川竹悟史、西村有起、岩城 徹（同上）	・・・7
金属特異的錯体形成能と抗プリオン活性との相関に関する研究 太田 茂（広島大学大学院医歯薬学総合研究科）	・・・10
チオフラビン類似化合物によるプリオン・バイオイメージングの開発 およびブローブ化合物の予防治療薬への応用に関する研究 堂浦克美（九州大学大学院医学研究院） 石川謙介、岩城 徹（同上）、工藤幸司、澤田 徹（BF 研究所）	・・・11
表面プラズモン共鳴法を用いたプリオン病治療薬の開発に関する研究 堂浦克美（九州大学大学院医学研究院） 川竹悟史、西村有起、岩城 徹（同上）	・・・13
キナクリンによるクロイツフェルト・ヤコブ病治療に関する研究 山田達夫（福岡大学医学部） 中島雅士（同上）	・・・15
ペントサン硫酸脳室内投与療法の効果と安全性に関する研究 吉良潤一（九州大学大学院医学研究院） 村井弘之、佐々木健介、堂浦克美（同上）	・・・18
Computer-Aided Drug Design 手法によるプリオン蛋白結合分子の探索 に関する研究 広野修一（北里大学薬学部）	・・・21
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・23
IV. 研究成果の刊行物・別刷	・・・25

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
「即戦力的クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究」  
平成14年度班会議

平成15年1月28日（火）午後2時から5時  
九州大学医学部図書館3階会議室

プログラム

1. はじめに

堂浦克美  
(九州大学脳研病理)

2. 表面プラズモン共鳴法を用いたプリオン病治療薬の開発

川竹悟史、西村有起、岩城 徹、堂浦克美  
(九州大学脳研病理)

3. キノリン環化合物のプリオン病治療への応用

久保郁子、石川謙介、川竹悟史、西村有起、岩城 徹、堂浦克美  
(九州大学脳研病理)

4. チオフラビン類似化合物によるプリオン・バイオイメーキングの開発  
およびプローブ化合物の予防治療薬への応用

石川謙介、工藤幸司\*、岩城 徹、澤田 徹\*、堂浦克美  
(九州大学脳研病理、\*BF研究所)

5. 金属特異的錯体形成能と抗プリオン活性との相関

太田 茂  
(広島大学大学院医歯薬学総合研究科)

6. 疎水性ポテンシャルを用いたプリオン蛋白質上のリガンド結合部位の同定  
と複合体立体構造の構築

山乙教之、李 洪涛、広野修一  
(北里大学薬学部創薬物理化学)

7. キナクリン治療結果とキニーネ治療の現況

中島雅士、山田達夫  
(福岡大学医学部第5内科)

8. ペントサン硫酸脳室内投与療法の効果と安全性

村井弘之、吉良潤一、佐々木健介\*、堂浦克美\*  
(九州大学神経内科、\*脳研病理)

# 総括研究報告

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
平成14年度 総括研究報告書

即戦力的クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究

主任研究者 堂浦克美 九州大学大学院医学研究院・助教授

研究要旨

硬膜移植後のクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）が多発し、変異型 CJD 発生の脅威が迫っている本邦の現況では、即戦力的なプリオン病治療法が求められている。そこで治療法開発の基盤となる研究を昨年度に続き実施した。その結果（1）キノリン環含有化合物について新たに16種の有効化合物を発見し、これらの有効化合物は選択的に銅イオンと錯体形成能を持つことを明らかにした。臨床薬剤であるキニーネで、病原因子株に依存しない抗プリオン作用を *in vivo* で確認した。（2）チオフラビン類似化合物について新たに多数の有効化合物を発見した。これらは脳移行性が良好で毒性が低く末梢投与にて罹患マウスの脳内プリオン凝集体と特異的に結合することを明らかにし、治療薬としてだけでなく早期診断のための核医学的イメージング用プローブとしても応用可能であることを示した。（3）表面プラズモン共鳴法を用いて、既知の抗プリオン化合物がプリオン蛋白と結合親和性を有することを明らかにし、同法を抗プリオン化合物のハイスループット・スクリーニングに応用できることを示した。（4）6例の患者においてキナクリン臨床治療試験を行い、認知機能等に一過性の改善効果が認められることを明らかにした。キナクリン血中濃度は投与総量依存的に上昇し体内に蓄積すること、 $1\mu\text{M}$ 以下の血中濃度で有効性が発現しており、それ以上では無効で副作用が発現することを明らかにした。（5）ペントサン硫酸脳室内投与療法について、効果の病理学的裏付け、病原因子株に依存しない効果の普遍性、防腐剤を除いたペントサン硫酸硫酸製剤での有効濃度域での安全性を確認した。（6）プリオン蛋白上の薬物結合部位として二ヶ所の結合ポケット（SとL）を同定し、有効な抗プリオン化合物はSポケットに強い結合能を示すことを明らかにし、*in silico* スクリーニングの基盤を整えた。

分担研究者

吉良潤一 九州大学大学院医学研究院・教授

山田達夫 福岡大学医学部・教授

広野修一 北里大学薬学部・教授

太田 茂 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

関する以下の2点の研究を行う。

（1）他の目的に使用されている臨床薬剤の中で抗プリオン作用を持つ薬剤による第1世代型 CJD 治療法を確立するための臨床研究を行う。この研究は疾患モデル動物による *in vivo* 薬効評価の成果を踏まえたものであり、同薬効評価にて有効性を確認した臨床薬剤を患者に応用する。なお、脳血液関門を通りにくい臨床薬剤は CJD の標的臓器である脳に直接持続投与する方法を確立する。

（2）次世代型の治療薬候補化合物を *in vitro* 系スクリーニングで探索するとともに、発見した治療薬候補化合物をもとにより強力な抗プリオン作用を持ち脳移行の良い医薬分子をコンピュータを使った合理的医薬分子設計技術を駆使して開発する。本年度は、昨年度に続きこれらの研究を遂行した。

A. 研究目的

クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）は稀少な神経難病であるが、不幸にも本邦では多数のヒト乾燥硬膜移植後の CJD 患者が発生しており潜在的に危険な硬膜移植患者は10万人を越える。また、本邦でも狂牛病が発生し変異型 CJD 勃発の脅威が迫っている。このような急迫した状況にあり CJD の即戦力的治療法が至急に必要である。本研究では CJD の発症予防と発症患者の生命予後改善をめざし、即戦力的治療法の確立に

## B. 研究方法

(1) 薬物スクリーニング及び *in vitro/in vivo* 薬効評価 (担当: 堂浦) および抗プリオン化合物の作用機序解明 (担当: 堂浦、太田)

*in vitro* システム (プリオン持続感染培養細胞) を用いて抗プリオン作用を持つ新規な臨床薬や化合物及びそれらの誘導体の探索を行った。特にキノリン環含有化合物やチオフラビン類似化合物を重点的にスクリーニングした。In vitro 実験で有効性が見られた代表的なものについて脳内投与による *in vivo* 薬効評価システム (ハムスター型プリオン蛋白過剰発現マウス (Tg7) と 263K 株病原因子、あるいはマウス型プリオン蛋白過剰発現マウス (Tg20) と福岡 1 株病原因子/RML 株病原因子よりなる動物疾患モデル) によりプリオン病治療効果の評価を行った。

また、ハイスループット・スクリーニング法の開発に関する検討を表面プラズモン共鳴法を用いて行った。

さらに、有効な抗プリオン化合物について、その作用機序を構造活性相関より推測し、実験にて検証した。特にプリオン蛋白との相互作用について、表面プラズモン共鳴法や円二色性スペクトルで解析した。

(2) 患者における臨床研究 (担当: 吉良、山田、堂浦)

末梢投与型薬剤の臨床試験としてキナクリンを用いた臨床試験を CJD 患者において行った。治療効果と副作用について血中キナクリン濃度との関係を分析した。

一方、脳内投与型薬剤の臨床試験については、ペントサン硫酸の脳内投与の効果に関して病理学的検証を行うとともに、病原因子株に依存しない普遍性が見られるかどうかを検討した。また、安全性については昨年度の成果を踏まえ防腐剤を除いたペントサン硫酸製剤で安全性を検討した。さらに、脳内投与は Ommaya チューブを用いて行うが、チューブ留置のための脳外科手術に関して、術場の汚染管理、術者の安全管理のためのプロトコル作製や環境づくりを継続した。

(3) 次世代型治療薬の開発 (担当: 広野、堂浦)

表面プラズモン共鳴法や円二色スペクトル法でプリオン蛋白への直接作用を確認した抗プリオン化合物について検討を行い、プリオン蛋白上の結合部位を求めた。さらに、得られた結合部位に対して、SYBYL FlexX/CScore を用いて抗プリオン化合物をドッキングさせ、結合様式を明らかにした。

(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われた。患者に対する臨床試験は福岡大学医学部倫理委員会および同治験審査委員会の承認を得た。治療の施行にあたっては患者および家族に対し研究の目的・内容・危険性および得られたデータの取り扱いについて十分な説明を行い書面での同意を得た。

## C. 研究結果

(1) キノリン環含有化合物について、構造活性相関を展開して新たに 16 種の有効化合物を発見した。それらの作用機序について、化学構造から金属キレート効果が予測されたがそれを裏付ける直接的データは得られなかった。しかし、全ての有効化合物は選択的に銅イオンと錯体形成能を持つことを明らかにした。表面プラズモン共鳴法と円二色性スペクトルを用いた解析より、これらの化合物がプリオン蛋白に直接作用し、異常型プリオン蛋白への変換を阻害していることが示唆された。なお、代表的化合物であるキニーネについて、病原因子株に依存しない抗プリオン作用を *in vivo* で実証した。

一方、チオフラビン類似化合物では、異常型プリオン蛋白の産生を 10nmol 以下の低濃度で阻害する 39 種の化合物を発見した。また、プリオン病の早期診断及び病勢診断のためのプリオン・バイオイメージング法のプローブとして、30 種で有効性を確認した。疾患マウスにおいて末梢より微量投与して、極めて特異的かつ鋭敏に長時間安定して脳内の異常プリオン蛋白を描出できることを明らかにした。

また、表面プラズモン共鳴法を用いて、キナクリンやアミロイド結合化合物などの抗プリオン化合物が、プリオン蛋白と結合

親和性を有することを明らかにした。プリオン蛋白との相互作用の強さと抗プリオン活性が相関することを発見し、同法を用いて抗プリオン化合物のハイスループット・スクリーニングが可能であることを示した。

(2) 福岡大学では6例のCJD患者においてキナクリン臨床治療試験を行い、認知機能等に一過性の改善効果が認められることを明らかにした。キナクリン血中濃度は投与総量依存的に上昇し体内に蓄積すること、1  $\mu\text{M}$  以下の血中濃度で有効性が発現しており、それ以上では無効で副作用が発現することを明らかにした。

一方、ペントサン硫酸脳室内投与療法について、効果の病理学的裏付け、効果の普遍性（検討した3種の病原因子株の全てで有効）、防腐剤を除いたペントサン硫酸製剤での有効濃度域での安全性を確認した。

(3) プリオン蛋白に相互作用する抗プリオン化合物の構造解析より、これらは水素結合性がほとんど無く疎水的なリガンドが多いことをつきとめ、疎水性ポテンシャルを用いた結合サイト探索プログラム HBOP を開発した。このプログラムを正常型プリオン蛋白の X 線構造に対して適用して、リガンド結合部位についての情報を得たところ、二ヶ所の結合ポケット (S と L) を同定した。得られた結合部位に対して、抗プリオン化合物をドッキングさせ結合様式を明らかにしたところ、有効化合物は S ポケットに強い結合能を示すことを明らかにした。

#### D. 考察

(1) キノリン環含有化合物の構造活性相関より、有効化合物ではキノリン環の窒素原子と含窒素側鎖中の窒素原子がある一定の距離を保って配列することが、プリオン産生阻害活性に重要であるとの結果が得られた。また、有効化合物は銅イオンに選択性があるという特徴を有していた。プリオン蛋白は銅イオンを選択的に結合し、生理的機能を担っていることが既に明らかになっているので、銅イオン選択的錯体形成能が治療薬の持つべき性質として重要である可能性が指摘できる。今後は、これらの知見をもとにより有効な臨床応用できる化合物を探索する。

一方、これらの有効化合物の作用機序として、正常型プリオン蛋白に直接作用して高次構造を修飾し、プリオンの増殖・複製過程である正常型から異常型プリオン蛋白への変換を阻害する可能性があることを示した。特に、正常型プリオン蛋白の中央あるいは C 末側に直接作用することにより阻害活性を発揮している事が考えられ、今後は有効化合物が結合するプリオン蛋白上のドメインについて、さらに詳細に解析を進める。

また、多数のチオフラビン類似化合物に強力な抗プリオン活性と異常プリオン蛋白描出用プローブとしての有効性が認められた。これらの化合物はいずれも代謝半減期が短く脳に蓄積しないこと、脳移行が極めて良好であることがわかっており、予防治療薬としてだけでなく診断用プローブとして臨床への応用が期待される。しかし、蛍光顕微鏡下では微細ないわゆるシナプス型の異常プリオン蛋白沈着を描出することはできなかった。このことは、蛍光検出の感度の問題であるのか、あるいはシナプス型異常プリオン蛋白には結合し得ないのか、解決すべき今後の課題である。

さらに、既知の抗プリオン化合物は全てプリオン蛋白と直接相互作用することを明らかにした。このことは、これらの化合物がプリオン蛋白に直接作用して治療効果を発揮することを示す。抗プリオン活性とプリオン蛋白との相互作用の強さが相関することを発見したが、このことは、プリオン蛋白との相互作用を調べることにより抗プリオン活性を有する新たな化合物や薬物を見つけだすことが可能である事を示す。全自動式の表面プラズモン共鳴解析装置を用いれば、一日 200 種以上の化合物や薬物を容易にスクリーニングすることができるため、抗プリオン作用化合物のハイスループット・スクリーニングが可能である。

(2) キナクリンには組織蓄積性があり、組織/血漿比はきわめて高い。また、キナクリンは血液脳関門を通過し、慢性投与では脳にも蓄積することが知られている。キナクリンの副作用として精神症状があり、その発生頻度は 1,000 人あたり 0.9 から 4 と報告されている。初期には精神運動興奮が

起こるとされており、今回の研究でみられた覚醒度と発動性の上昇はキナクリンの直接作用と考えることもできる。しかし家族や医療スタッフにたいする疎通性の回復は精神運動興奮だけでは説明できず、またキナクリン精神障害の発生頻度も低いことから抗プリオン効果も否定できない。血中濃度と効果が関連していたことより、血中濃度モニターによる最適な投与量を求める必要がある。

一方、ペントサン硫酸の作用として、新たな異常型プリオン蛋白の産生・沈着を阻害し、神経変性を抑制することが明らかとなった。このことはペントサン硫酸の効果と投与開始時期が相関すること、すなわち感染早期に投与を開始した方が効果が高いことを説明できる。また、ペントサン硫酸脳室内投与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物のび漫性の浸達が極めて重要であることが判明した。ペントサン硫酸脳室内投与療法は他の病原因子株にも有効であり、その安全性について防腐剤を除いたペントサン硫酸製剤で確認が取れたことより、患者、特に硬膜移植に伴う CJD 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り、臨床応用への基盤が整った。

(3) 種々の抗プリオン化合物について検討を行なった結果、正常型プリオン蛋白の S ポケットに強く結合するものは強いプリオン産生阻害活性を示し、L ポケットに結合するものは強い結合能を持っていても阻害活性が無い、もしくは弱いことが判明した。S ポケットにおいては、Leu130、Pro158、Val161 との疎水性相互作用、および、Gln160、Tyr162 との水素結合が化合物との結合に重要であると予測された。L ポケットにおいては、Phe141、Pro158、Val161、Val180、Ile184 の疎水性アミノ酸残基が結合に関与すると予測された。また、スコアリング関数に基づいた良好なリガンド結合能予測式も得られたことより、得られた結合様式と結合能予測式に基づいた合理的な薬物設計や既存の化合物データベースに対する *in silico* スクリーニングが可能となった。

## E. 結論

(1) キノリン環含有化合物について新たに 16 種の有効化合物を発見した。これらの化合物は、銅イオンに選択的な錯体形成能を持っており、プリオン蛋白に直接作用し、異常型プリオン蛋白への変換を阻害していることが示唆された。

予防・治療薬候補化合物およびプリオン・バイオイメージング用プローブとして、チオフラビン類似化合物に多数の優れたものが存在することを明らかにした。

表面プラズモン共鳴法を用いて、既知の抗プリオン化合物が、プリオン蛋白と結合親和性を有することを明らかにした。また、同法が抗プリオン化合物探索のハイスループット・スクリーニングに応用できることを示した。

(2) 進行した CJD 患者 6 例にキナクリンを投与し、5 例に一過性ではあるが認知機能の改善を認めた。副作用として 1 例は嘔気のため投与を中断した。他の 5 例に皮膚横染を、4 例に肝機能障害を認めた。今回認められた臨床効果がキナクリンの中枢神経作用によるものか、抗プリオン効果によるものかは明らかではなかった。

ペントサン硫酸脳室内投与療法について、効果の病理学的裏付け、効果の普遍性、防腐剤を除いたペントサン硫酸製剤での有効濃度域での安全性を確認し、臨床試験への基盤を整備した。

(3) 抗プリオン化合物の正常型プリオン蛋白上の結合サイトを同定し、異常型プリオン蛋白産生を阻害する医薬分子設計の実現が可能となった。

## F. 健康危険情報

キナクリンは組織蓄積性が高く、また肝機能障害の頻度は高い。キナクリンを用いた臨床試験を行っている他施設では、一部の症例に治療中止基準を満たす高度の肝機能障害が報告されている。また、キナクリンとの因果関係は明らかでないものの死亡例も 2 例報告されている。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

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
- Nakajima M., Yamada T., Kusuhara T., Furukawa H., Takahashi Y., Kataoka Y., Doh-ura K: Returned cognition after quinacrine in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol.* 52 (suppl):S68, 2002
- Masayo Tanaka, Takao Orii, Hiroyoshi Kobayashi, Motoko Kanke and Shuichi Hirono: Clinical estimation of vancomycin measurement method on hemodialysis patient. *YAKUGAKU ZASSHI*, 122, 269-275 (2002)
- Akifumi Oda and Shuichi Hirono: The introduction of atom types and calculations of new parameters for charge equilibrium method. *Journal of Computer Chemistry, Japan*, in press (2003)
- 堂浦克美: ヒトのプリオン病とその治療薬剤開発の現状. *ファルマシア* 38:635-639, 2002
- 堂浦克美: プリオン病の治療薬開発. *医学のあゆみ* 203(10):923-930, 2002
- 堂浦克美: プリオン病治療薬の開発. *神経研究の進歩* 47(1):109-118, 2003
- 町田郁子、福田安雄、重松和人、堂浦克美、河野 茂: 発症早期に脳病理所見を検討し得た散発性 Creutzfeldt-Jakob 病の 1 剖検例. *神経内科* 56(6):517-522, 2002
- 中島雅士、山田達夫: Creutzfeldt-Jakob 病治療の可能性: 最近の治験からみた治療への展望. *神経内科*. 57:413-418, 2002
- 中島雅士、山田達夫. プリオン病治療の現状と今後の展望. *最新医学* 58(5), 2003 (in press).
- 村井弘之 クロイツフェルト・ヤコブ病の臨床診断. *臨床検査* 46:1509-1515, 2002
- 村井弘之 CJD と vCJD. *Medical Briefs in Virus Infection* 15:6-7, 2002
2. 学会発表
- Doh-ura K: Therapeutic approaches to the prion disease. International Seminar on BSE and v CJD, Tokyo, Jan., 2002
- Doh-ura K, et al: Intraventricular infusion of PPS: an immediately available therapy for TSEs. International Conference on TSEs, Edinburgh, Sept., 2002
- 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, Sept., 2002
- Ishikawa K, Doh-ura K, et al: BSB as a therapeutic and diagnostic chemical for TSEs. International Conference on TSEs, Edinburgh, Sept., 2002
- 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, Sept., 2002
- Doh-ura K: Development of the chemotherapy for human prion diseases. Prion Symposium-Front of Prion Disease Research, Nagasaki, Oct., 2002
- 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, Dec., 2002
- Nakajima M., Yamada T., Kusuhara T., Furukawa H., Takahashi Y., Kataoka Y., Doh-ura K: Restored cognition after quinacrine administration in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. International Conference on Transmissible Spongiform Encephalopathies. Edinburgh, September 15-18, 2002
- Nakajima M., Yamada T., Kusuhara T., Furukawa H., Takahashi Y., Kataoka Y., Doh-ura K: Restored Cognition in Patients with Creutzfeldt-Jakob Disease after Quinacrine Treatment. 127th Annual Meeting of the American Neurological Association. New York, October 12-16,

2002

Nakajima M., Yamada T., Kusuhara T., Furukawa H., Takahashi Y., Kataoka Y., Doh-ura K: Restored cognition after quinacrine administration in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. New Perspectives for Prion Therapeutics. Paris, December 1-3, 2002

Hirono S: Estimation of the binding conformation of ligand molecules to the transporter cMOAT (MRP2) by conformational analyses and molecular superposition. 14th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships (Bournemouth, United Kingdom) September 8-13, 2002

堂浦克美: variant CJD -日本の現状と治療法-. 第16回 Transfusion Medicine Conference, 東京, 2002年1月

堂浦克美: プリオンとプリオン病の謎. 第25回日本神経科学大会, 東京, 2002年7月

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, 京都, 2002年10月

堂浦克美: プリオン病の謎、プリオンは本当に存在するのか? 第5回若手研究者のための薬理学セミナー, 京都, 2002年10

月

堂浦克美: ヒトプリオン病の治療と診断の現状. フォーラム 2002: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 広島, 2002年10月

堂浦克美: 新しい感染症の波 -プリオン病-. 第26回大阪府医師会医学会総会, 大阪, 2002年11月

堂浦克美: 病理標本から見た感染症 -ヒト・プリオン病の病理像-. 2002年度病理学教育セミナー, 岡山, 2002年11月

堂浦克美: プリオン病の治療薬剤開発. 人獣共通感染性脳症セミナー, 東京, 2002年11月

堂浦克美: 蛋白質フォールディングとプリオン病. 13th フォーラム・イン・ドージン, 熊本, 2002年11月

福内、奥田、堂浦、太田 プリオン病治療薬候補物質の金属選択的キレート作用、日本薬学会第123年会、長崎、2003年3月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 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」、特願2002-265321、2002年9月

##### 2. 実用新案登録

なし

# 分 担 研 究 報 告

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
平成14年度 分担研究報告書

キノリン環化合物のプリオン病治療への応用に関する研究

主任研究者 堂浦克美 九州大学大学院医学研究院・助教授  
研究協力者 久保郁子、石川謙介、川竹悟史、西村有起、岩城 徹  
九州大学大学院医学研究院

研究要旨

昨年度報告した抗プリオン作用を持つキノリン環含有化合物について、構造活性相関を展開して新たに16種の有効化合物を発見した。その作用機序について、化学構造から金属キレート効果が予測されたがそれを裏付けるデータは得られなかった。一方、表面プラズモン共鳴法と円二色性スペクトルを用いて解析を行ったところ、これらの化合物がプリオン蛋白に直接作用し、異常型プリオン蛋白への変換を阻害していることが示唆された。なお、代表的化合物であるキニーネについて、病原因子株に依存しない抗プリオン作用を *in vivo* 実験で実証した。

A. 研究目的

昨年度の研究成果を踏まえ、新規に発見したプリオン病化学療法剤リード化合物群の中でも、新規性と有効性の点から特に注目されるキノリン環含有化合物について、各種誘導体・修飾体の構造活性相関を展開すると共に、その作用機序について検討を行った。また、代表的化合物であるキニーネについて昨年度検討した 263K 株以外のプリオン病原因子株に対する効果を *in vivo* で検討し、抗プリオン作用の普遍性を調べた。

B. 研究方法

I. *in vitro* 実験による構造活性相関

市販されている化合物から、できうる限りのキノリン環含有化合物を入手し、プリオン持続感染培養細胞を用いて抗プリオン活性(IC50)を測定した。

II. 作用機序の解明

マウス組換え体プリオン蛋白 moPrP(121-231)と有効化合物との相互作用、および相互作用時におけるプリオン蛋白の高次構造変化を表面プラズモン共鳴法と円二色性スペクトルを用いて解析を行った。

III. *in vivo* 実験

マウスで継代されているプリオン株である福岡1株と RML 株の1%脳乳剤を、マウス型プリオン蛋白を過剰発現する Tg20マウスの脳内に接種した疾患モデルマウスを用

いた。1%脳乳剤を、Tg20マウスの脳内に接種すると、9.5週(RML株)あるいは15週(福岡1株)の潜伏期の後に死亡する。これらのマウスに脳内接種後2週あるいは7週よりキニーネを昨年度報告した脳室内投与方法により投与を行い、マウスが死亡するまでの潜伏期間を測定して治療効果を検討した。

(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。

C. 研究結果

I. *in vitro* 実験による構造活性相関

プリオン持続感染細胞を用いたアッセイ法で、多数のキノリン環含有化合物をスクリーニングし、プリオン産生阻害活性を有するものを新たに16種同定した。これらの化合物は、キノリン環の2位あるいは4位に含窒素側鎖(キノクリジン環やピリジン環のような含窒素複素環式基を持つものや、脂肪族アミノ基あるいは芳香族アミンを持つもの)を有すると云う共通点があった。

II. 作用機序解明

有効化合物の構造上の共通性からは金属キレート作用が阻害活性に関与していることが示唆された。しかし、有効化合物を各種金属イオンで前処理しても抗プリオン活

性に変化は見られなかったことから、キレート作用とプリオン産生阻害活性の関係を支持する結果は得られなかった。

一方、表面プラズモン共鳴法や代謝標識法で有効化合物のプリオン蛋白への直接作用を解析したところ、プリオン産生阻害効果のきわめて強い化合物はプリオン蛋白の121番アミノ酸残基よりC末側に強く結合するものの、正常型プリオン蛋白の代謝には影響しないことが明かとなった。一方、有効化合物の中には正常型プリオン蛋白との相互作用がそれほど強くない化合物もあり、円二色性スペクトルによる解析を行ったところ、そのような化合物でも正常型プリオン蛋白に作用し、ベータシート構造の減少をもたらすような高次構造変化を引き起こしていることが判明した。

### III. in vivo 実験

キニーネは、福岡1株やRML株に対しても、脳内接種後2週あるいは7週からの脳室内投与で、15~20%程度の有意な潜伏期間の延長を認めた。

### D. 考察

キノリン環含有化合物の構造活性相関を展開した結果、有効化合物ではキノリン環の窒素原子と含窒素側鎖中の窒素原子がある一定の距離を保って配列することが、プリオン産生阻害活性に重要であるとの結果が得られた。今後は、この知見をもとにより有効な化合物を得るため、出来るだけシンプルな構造を持つ有効化合物の構造類似体についてさらに詳細な構造活性相関を展開するとともに、臨床応用できる化合物を探索する。

一方、今年度の研究より、これらの有効化合物の作用機序として、正常型プリオン蛋白に直接作用して高次構造を修飾し、プリオンの増殖・複製過程である正常型から異常型プリオン蛋白への変換を阻害する可能性があることが示された。特に、正常型プリオン蛋白の中央あるいはC末側に直接作用することにより阻害活性を発揮していると考えられる。今後は有効化合物が結合するプリオン蛋白上のドメインについて、プリオン蛋白ペプチド断片等を用いてさらに詳細に解析を行い、部位を特定する。

### E. 結論

キノリン環含有化合物について新たに16種の有効化合物を発見した。これらの化合物は、プリオン蛋白に直接作用し、異常型プリオン蛋白への変換を阻害していることが示唆された。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

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

堂浦克美: ヒトのプリオン病とその治療薬開発の現状. *ファルマシア* 38:635-639, 2002

堂浦克美: プリオン病の治療薬開発. *医学のあゆみ* 203(10):923-930, 2002

堂浦克美: プリオン病治療薬の開発. *神経研究の進歩* 47(1):109-118, 2003

町田郁子、福田安雄、重松和人、堂浦克美、河野 茂: 発症早期に脳病理所見を検討し得た散发性Creutzfeldt-Jakob病の1剖検例. *神経内科* 56(6):517-522, 2002

#### 2. 学会発表

Doh-ura K: Therapeutic approaches to the prion disease. *International Seminar on BSE and v CJD*, Tokyo, Jan., 2002

Doh-ura K, et al: Intraventricular infusion of PPS: an immediately available therapy for TSEs. *International Conference on TSEs*, Edinburgh, Sept., 2002

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, Sept., 2002

Ishikawa K, Doh-ura K, et al: BSB as a therapeutic and diagnostic chemical for

TSEs. International Conference on TSEs, Edinburgh, Sept., 2002

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, Sept., 2002

Doh-ura K: Development of the chemotherapy for human prion diseases. Prion Symposium-Front of Prion Disease Research, Nagasaki, Oct., 2002

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, Dec., 2002

堂浦克美: variant CJD -日本の現状と治療法-. 第 16 回 Transfusion Medicine Conference, 東京, 2002 年 1 月

堂浦克美: プリオンとプリオン病の謎. 第 25 回日本神経科学大会、東京、2002 年 7 月

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、京都、2002 年 10 月

堂浦克美: プリオン病の謎、プリオンは本

当に存在するのか? 第 5 回若手研究者のための薬理学セミナー、京都、2002 年 10 月

堂浦克美: ヒトプリオン病の治療と診断の現状. フォーラム 2002: 衛生薬学・環境トキシコロジー、広島、2002 年 10 月

堂浦克美: 新しい感染症の波 -プリオン病-. 第 26 回大阪府医師会医学会総会、大阪、2002 年 11 月

堂浦克美: 病理標本から見た感染症 -ヒト・プリオン病の病理像-. 2002 年度病理学教育セミナー、岡山、2002 年 11 月

堂浦克美: プリオン病の治療薬剤開発. 人獣共通感染性脳症セミナー、東京、2002 年 11 月

堂浦克美: 蛋白質フォールディングとプリオン病. 13th フォーラム・イン・ドーজন、熊本、2002 年 11 月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 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」、特願 2002-265321、2002 年 9 月

##### 2. 実用新案登録

なし

金属特異的錯体形成能と抗プリオン活性との相関に関する研究

分担研究者： 太田 茂 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究要旨

抗プリオン活性を有するキノリン環含有化合物群の物理化学的性質について検討を行い、選択的に銅イオンに対して錯体形成能を有するという性質を明らかにした。

A. 研究目的

クロイツフェルト・ヤコブ病治療薬の開発のために、新規治療薬候補の合成を行い、薬効評価のための検体創出を目的とする。当面は規範となる分子構造とその化合物が持つべき物理化学的性質について検討し、新規治療薬が有すべき条件を描出する。

B. 研究方法

生物活性評価を既に行ったキノリン環含有化合物群から活性の高いものとしてターピリジンに着目し、窒素の配位力に変化を付けるべく4種類の置換基の合成を行った。具体的に置換基の無いターピリジンの他、電子吸引性基としてスルフォニル基、シアノ基、電子供与基としてメチルチオ基の置換したターピリジンを合成した。錯体形成能評価として、一定量の治療薬候補を計りとり、等量の金属イオン（ $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ru^{2+}$ ,  $Pd^{2+}$ ,  $Ag^+$ ）を加えてUVスペクトルを測定した。

（倫理面への配慮）：

今回行った研究は動物実験を行っておらず、倫理的には全く問題ないと判断している。

C. 研究結果

上記4種のターピリジン誘導体に対して、プリオン持続感染細胞における異常型プリオンタンパク産生阻害作用を九州大・堂浦グループで検討した結果、活性を持った化合物は全く存在していなかった。上記の阻害作用を有している化合物は全て錯体形成能を持ち、特に選択的に銅イオン

に対して錯体形成能を有するという性質が明らかとなった。

D. 考察

錯体形成能を評価したところ、阻害活性のない化合物は全ての金属と錯体を形成し、選択性が存在していないことが明らかとなった。それに対して阻害活性のある化合物は銅イオンに選択性があるという特徴を有していた。プリオンタンパクは銅イオンを選択的に結合し、生理的機能を担っていることが既に明らかになっているので、銅イオン選択的錯体形成能が治療薬の持つべき性質として重要である可能性が指摘できる。

E. 結論

クロイツフェルト・ヤコブ病治療薬の持つべき条件として、銅イオンに選択的な錯体形成能が指摘された。今後、医薬品候補の合成の際には、上記の条件を満たす化合物に標的を絞ることが必要であろう。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

福内、奥田、堂浦、太田 プリオン病治療薬候補物質の金属選択的キレート作用、日本薬学会第123年会、長崎、2003年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
平成14年度 分担研究報告書

チオフラビン類似化合物によるプリオン・バイオイメージングの開発および  
プローブ化合物の予防治療薬への応用に関する研究

主任研究者 堂浦克美 九州大学大学院医学研究院・助教授  
研究協力者 石川謙介、岩城 徹 九州大学大学院医学研究院  
工藤幸司、澤田 徹 BF 研究所

研究要旨

プリオン病の早期診断及び病勢診断のための簡便で非侵襲的な新規検査法としてプリオン・バイオイメージングの開発をめざしてスクリーニングを行い、チオフラビン類似化合物30種で有効性を確認した。疾患マウスの末梢より微量投与を行い、極めて特異的かつ鋭敏に長時間安定して脳内の異常プリオン蛋白を描出できること明らかにした。一方、プリオン持続感染培養細胞を用いてスクリーニングを行い、異常型プリオン蛋白の産生を10nmol以下の低濃度で阻害する39種のチオフラビン類似化合物を発見した。これらの化合物は診断用プローブとしてだけでなく予防治療薬としても有用である可能性がある。

A. 研究目的

ヒトプリオン病の早期診断及び病勢診断のための簡便で非侵襲的な新規検査法として、PET・SPECTと云った核医学的検査法による生体内の異常型プリオン蛋白描出を行うプリオン・バイオイメージング法の開発と、そのプローブ化合物の予防薬・治療薬への応用をめざし、その基礎研究を行った。アミロイド結合化合物の中でも安全性や脳移行性が期待できるチオフラビン類似化合物に注目して、種々の誘導体のスクリーニングを行いイメージングプローブとして有用なものと予防薬・治療薬候補となる化合物を探索した。

B. 研究方法

I. プリオン・バイオイメージングの開発

スクレイピー罹患 Tg7マウス脳の凍結切片とヒトプリオン病 (GSS, sCJD) の剖検脳ホルマリン固定切片を種々のチオフラビン類似化合物の1  $\mu$ mol 溶液で染色を行い蛍光シグナルをコンフォーカル・レーザー顕微鏡で観察した。蛍光シグナルを観察した切片と同一または連続する切片を抗プリオン蛋白抗体を用いて、異常なプリオン蛋白沈着の免疫組織化学的検索を行い、化合物による蛍光シグナル像と比較検討した。また、有効化合物については、スクレイピー罹患 Tg7マウスの尾静脈より0.05 mg/kg 体重の化合物量を投与し、投与後1時間から8時間に動物を屠殺して凍結脳切片を蛍光顕微鏡

下に観察した。

II. 予防・治療薬候補化合物の探索

プリオン持続感染細胞を用い、培養上清中に化合物を加え、異常プリオン蛋白産生阻害効果をWestern blot法で解析した。

(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。

C. 研究結果

I. プリオン・バイオイメージングの開発

ヒトプリオン病の剖検脳切片とプリオン病モデル動物凍結脳切片を用いて、67種のチオフラビン類似化合物をスクリーニングしたところ、30種で粗大顆粒状の異常プリオン蛋白の沈着を蛍光顕微鏡下で特異的に描出できることを確認した。そのうち特に有効と考えられた3種の化合物について、プリオン病モデル動物の尾静脈より化合物を投与し、投与後1時間から8時間に動物を屠殺して凍結脳切片を蛍光顕微鏡下に観察した。また、同一切片の異常プリオン蛋白沈着を免疫組織学的方法にて同定した。その結果、2種の化合物で極めて特異的かつ鋭敏に長時間安定して脳内の異常プリオン蛋白を描出できた。

II. 予防・治療薬候補化合物の探索

プリオン持続感染培養細胞を用いて、95種のチオフラビン類似化合物をスクリーニングしたところ、異常型プリオン蛋白の



産生を 10nmol 以下の低濃度で阻害する 39 種の化合物を発見した。

#### D. 考察

本研究において多数のチオフラビン類似化合物に異常プリオン蛋白描出用プローブとしての有効性が認められた。これらの化合物はいずれもバックグラウンドが低く、極めて特異的に粗大顆粒状の異常プリオン蛋白沈着を描出し得ることが明らかとなった。これらの化合物は、代謝半減期が短く脳に蓄積しないこと、脳移行が極めて良好であることがわかっており、臨床への応用が期待される。

また、これらの化合物の大半は、プリオン持続感染培養細胞を用いた実験において、異常プリオン蛋白の産生をナノモルオーダーの低濃度で阻害することが明らかとなった。異常プリオン蛋白と結合することにより新たな異常プリオン蛋白の産生を阻害することが示唆される。

本研究の結果より、これらのチオフラビン類似化合物は診断用プローブとしてだけ

でなく予防治療薬としても有用であると考えられる。しかし、蛍光顕微鏡下では微細ないわゆるシナプス型の異常プリオン蛋白沈着を描出することはできなかった。このことは、蛍光検出の感度の問題であるのか、あるいはシナプス型異常プリオン蛋白には結合し得ないのか、解決すべき今後の課題である。

#### E. 結論

プリオン・バイオイメージング用プローブおよび予防・治療薬候補化合物として、チオフラビン類似化合物に多数の優れた化合物が存在することを明らかにした。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

(前出)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(前出)

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
平成14年度 分担研究報告書

表面プラズモン共鳴法(SPR)を用いたプリオン病治療薬の開発に関する研究

主任研究者 堂浦克美 九州大学大学院医学研究院・助教授  
研究協力者 川竹悟史、西村有起、岩城 徹 九州大学大学院医学研究院

研究要旨

表面プラズモン共鳴法を用いて、キナクリン等の抗マalaria剤やアミロイド結合化合物などの抗プリオン化合物が、プリオン蛋白と結合親和性を有することを明らかにした。一方、同法を用いて多種の薬物から相互作用の強いものを探索して、プリオン持続感染細胞を用いたアッセイ法で抗プリオン活性を検定した。その結果、相互作用の強さと抗プリオン活性が相関することがわかった。同法を用いたスクリーニングが抗プリオン化合物の探索に有効であり、ハイスループット・スクリーニングに応用できることが判明した。

A. 研究目的

我々は、これまでプリオン病治療薬となる候補化合物探索のストラテジーとして、

(1) プリオン持続感染細胞を用いた1次スクリーニング、(2) 有効化合物を疾患モデル動物で検定する2次スクリーニングという方法を取ってきた。しかし、このストラテジーでは、膨大な数の化合物・薬物をハイスループットにスクリーニングすることが困難であり、上記の一次スクリーニングの前にハイスループット・スクリーニングの必要性を痛感している。そこで、本研究では表面プラズモン共鳴法(SPR)を用いたスクリーニングが抗プリオン化合物の探索に有効であるかどうかを検討し、ハイスループット・スクリーニング法としての適正を調べた。

B. 研究方法

I. SPRによる既知化合物の解析

センサーチップ上にマウス組換え体プリオン蛋白 moPrP(121-231)を固定化し、BIAcore Xを用いて既知の抗プリオン化合物についてプリオン蛋白との相互作用を調べた。調べた抗プリオン化合物は、抗マalaria薬であるキナクリン、キニーネ、クロロキン、アミロイド染剤であるチオフラビン T、チオフラビン S、コンゴレッド、抗生剤であるテトラサイクリンである。

II. SPRを用いた薬物スクリーニング

各薬物 100  $\mu$ Mでのプリオン蛋白との相互作用の強さをBIAcore Xを用いて解析した。また、各薬物の抗プリオン活性をプリオン持続感染培養細胞を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

本研究には、倫理面への配慮を必要とする実験は含まれていない。

C. 研究結果

I. SPRによる既知化合物の解析

キナクリン、キニーネ、クロロキン、チオフラビン T およびテトラサイクリンは、シグナル強度は低く、プリオン蛋白との結合および解離は早く、解離後の結合はほとんど残らない低親和型相互作用を示した。これらの化合物の相互作用の強さ(すなわちシグナル強度/分子量)とプリオン持続感染細胞での抗プリオン活性はほぼ相関した。一方、チオフラビン S とコンゴレッドは、シグナル強度は高く、結合は早いが見解が遅く、解離後も結合が残る中～高親和型相互作用を示した。これらの化合物はいずれも強い抗プリオン活性を示すものであった。

II. SPRを用いた薬物スクリーニング

臨床で使用されており、既知の抗プリオン化合物と化学構造に類似性が見られ、脳移行性が期待できる低分子化合物である薬物8種について検討を行った。その結果、

種で抗プリオン活性がプリオン持続感染培養細胞を用いた実験で証明された。残りの1種と、プリオン蛋白との相互作用の強さがキニーネ未満の5種の薬物では抗プリオン活性を認めなかった。

#### D. 考察

本研究から、検討した7種の既知の抗プリオン化合物は、全て組換え体プリオン蛋白と直接相互作用することを明らかにした。このことから、これらの化合物はプリオン蛋白に直接作用して治療効果を発揮すると推測される。一方、抗プリオン活性と相互作用の強さが相関することを発見したが、このことはプリオン蛋白との相互作用を調べることにより抗プリオン活性を有する新たな化合物や薬物を見つけだすことが可能である事を示している。実際、8種の薬物で SPR 解析にてスクリーニングを行った結果は、プリオン持続感染細胞を用いた結果と良く符合していた。全自動式の SPR 解析機械を用いれば、一日 200 種以上の化合物

や薬物を容易にスクリーニングすることができる。したがって、SPR を用いたスクリーニングは抗プリオン化合物の探索にとってハイスループット・スクリーニングとなりえる。

#### E. 結論

表面プラズモン共鳴法を用いて、既知の抗プリオン化合物が、プリオン蛋白と結合親和性を有することを明らかにした。また、同法を用いたスクリーニングが抗プリオン化合物探索のハイスループット・スクリーニングに応用できることを示した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

(前出)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(前出)

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
平成14年度 分担研究報告書

キナクリンによるクロイツフェルト・ヤコブ病治療に関する研究

分担研究者 山田達夫 福岡大学医学部・教授  
研究協力者 中島雅士 福岡大学医学部

研究要旨

キナクリンによる臨床治療試験を進行した CJD 患者 6 症例で行い、5 症例に一過性ではあるが認知機能の改善を認めた。副作用として 1 例は嘔気のため投与中断、4 症例に肝機能障害を認めた。血中キナクリン濃度は投与総量依存的に増加し、効果は  $1\mu\text{M}$  以下の濃度で観察された。

A. 研究目的

Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) は致死性のヒト・プリオン病であり、散发性 CJD に加えて汚染硬膜の移植による医原性 CJD、牛海綿状脳症による変異型 CJD は今後の発症が予測され、有効な治療法が求められている。本研究は Creutzfeldt-Jakob 病 (CJD) の治療方法を確立するための臨床的治療試験である。

B. 研究方法

Creutzfeldt-Jakob 病の 6 症例を対象とした。症例 1 から 3 は Master's、French、および European の診断基準 "clinically probable" を満たす散发性 CJD である。症例 4 は上記診断基準の "clinically possible" CJD である。症例 5 は 1991 年 7 月に右小脳橋角部腫瘍の摘出と硬膜移植を受けた。移植硬膜は B. Braun Melsungen AG で 1987 年以前に製造された LYODURA である。この硬膜移植から 66 ヶ月後に患者は進行性の痴呆を発症し、2 年以内に家族に対しても反応しない高度の痴呆に至った。症例 6 はプリオン蛋白遺伝子の codon 200 に変異を持つ遺伝性 CJD である。この家系の 3 世代にわたって CJD の発症が認められる。

研究試薬として市販されているキナクリン 2 塩酸 (東京化成工業および和光純薬) を購入し、福岡大学薬学部薬剤学教室 (片岡泰文教授) で 1 カプセル 100 mg に製剤化した。一日の投与量は

300 mg とし、毎食後に 1 回 1 カプセル経口、または経管栄養患者では  $37^{\circ}\text{C}$  の温水 20ml に溶解して注入した。治療期間は 12 週間とした。副作用監視のために血算と血液生化学検査を毎週行った。脳波は 2 週毎に検査し、頭部 MRI は開始後 4 週目と 12 週目に再検査した。

治療の中止基準はこれまでに報告されている重篤な副作用、すなわち痙攣、骨髄抑制 (白血球数  $< 2000/\text{mm}^3$ )、または高度肝機能障害 (aspartate aminotransferase (AST) または alanine aminotransferase (ALT) が正常上限の 5 倍以上) 出現時とした。また感染症、電解質異常、消化管症状の合併時には治療を中断し、これらの異常が改善した後にキナクリンを再開した。キナクリン投与期間中は他の薬物を投与しなかった。

(倫理面への配慮)

この研究は 2001 年 10 月に学内倫理委員会の承認を得て行われた。対象とした 6 例は既に高度の痴呆を呈していたために、その法的身元引受人である配偶者、兄弟、または子を代諾者としてこの治療研究に対する同意を得た。

C. 研究結果

症例 6 はキナクリン投与開始一週間後から嘔気を訴え、2 週間目には食事がとれなくなったために投与を中止した。この間、認知機能に明らかな変化