

厚生労働省科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

プリオン病の画期的治療法に関する臨床研究と基礎研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 堂浦 克美

平成17年(2005年)4月

目 次

ページ

I.	総括研究報告書	
	プリオン病の画期的治療法に関する臨床研究と基礎研究	・・・ 1
	堂 浦 克 美 (東北大学大学院医学系研究科)	
II.	分担研究報告書	
	ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の臨床試験に関する研究	・・・ 8
	山 田 達 夫 (福岡大学医学部)	
	ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法のための脳神経外科手術に関する研究	・・・ 10
	福 島 武 雄 (福岡大学医学部)	
	孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病MM2皮質型の臨床診断と経口ペントサン硫酸治療に関する研究	・・・ 11
	山 田 正 仁 (金沢大学大学院医学系研究科)	
	キナクリン療法の効果増強・副作用軽減対策に関する研究	・・・ 15
	片 岡 泰 文 (福岡大学薬学部)	
	治療ネットワークの支援に関する研究	・・・ 18
	水 澤 英 洋 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科)	
	山 田 正 仁 (金沢大学大学院医学系研究科)	
	児玉南海雄 (福島県立医科大学医学部)	
	末梢投与可能な次世代型プリオン病治療薬開発に関する研究	・・・ 20
	堂 浦 克 美 (東北大学大学院医学系研究科)	
	膜貫通型プリオン蛋白の神経変性形成能に関する研究	・・・ 24
	村 本 環 (東北大学大学院医学系研究科)	
	新たな治療戦略としての病原体株間の干渉現象に関する研究	・・・ 30
	西 田 教 行 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	・・・ 32
IV.	研究成果の刊行物・印刷	・・・ 37

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16年度 総括研究報告書

プリオン病の画期的治療法に関する臨床研究と基礎研究

主任研究者：堂浦克美 東北大学大学院医学系研究科・教授

研究要旨

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法を日本のCJD患者で実施して、その効果と安全性について検討を行い、同治療法を普及させ、治療プロトコルを完成させることが本研究の目的の一つである。平成16年度は、臨床研究のための環境整備を完成させ、2例のCJDの患者において同治療法を実施した。また、日本における治療ネットワーク構築を目指し、関連学会における啓発活動や、CJDサーベイランスと協力して適応症例の発掘を行った。

一方、本研究のもう一つの目的である次世代型治療薬開発においては、末梢投与で治療効果および予防的効果を発揮する薬効成分を同定した。また、画期的治療法開発の基盤研究においては、プリオン病原体株間において感染干渉現象が起こりうることを明らかにした。さらに、プリオン病における神経変性を抑制する手段を開発するための実験系整備に着手した。

分担研究者

山田達夫 福岡大学医学部・教授
福島武雄 福岡大学医学部・教授
片岡泰文 福岡大学薬学部・教授
水澤英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授
山田正仁 金沢大学大学院医学系研究科・教授
児玉南海雄 福島県立医科大学医学部・教授
村本 環 東北大学大学院医学系研究科・助教授
西田教行 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助手

A. 研究目的

英国をはじめ本邦では、多数の後天性プリオン病(man-made disease)が若年層でも発生しており、実効性のある予防治療法が至急に求められている。本研究は、主任研究者が開発したペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法を日本のCJD患者に実施して、その効果と安全性について検討を行い、同治療法を普及させ治療プロトコルを完成させることを目的としている。また、ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法に取って代わる末梢投与可能な治療薬の開発と次世代型の画期的治

療法となる方策の探索を行うことも目的としている。

B. 研究方法

(1)画期的治療法の臨床研究

山田(達)、福島はペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の臨床研究のための環境整備を行い、2例のCJD患者に同治療法を実施した。山田(正)は、脳室内投与療法を実施できなかった2例のCJD患者でペントサンポリサルフェート経口投与の効果を検討した。片岡はペントサンポリサルフェートの脳室内投与

における薬物動態を解析するための髄液中薬物濃度測定法の開発を担当した。また、キナクリン経口投与療法に関して、より安全な投与方法について検討した。児玉、水澤、山田(正)は日本脳神経外科学会、日本神経学会、CJDサーベイランスの各情報網を利用して、本治療法について啓発活動を行うと共に適応症例の早期発掘に努めた。

(2) 次世代型治療法開発の基礎研究

堂浦は疾患モデル動物において末梢投与で画期的な治療効果を示した4つの薬剤について、その治療効果に関するさらに詳細な検討を行うとともに、薬効成分に関する研究を行った。西田は、異なるプリオン病原体株の重感染がときにワクチン様の効果を示すとの報告に注目し、真にワクチン様の免疫系を介する作用であるか、ウイルス学で言うところの干渉作用であるのかを培養細胞系を用いて検討を行った。また、骨髄間質細胞を用いた神経幹細胞治療のための基礎的研究を行った。村本は、プリオン病の神経変性の抑制手段を開発するために、各種の膜貫通型プリオン蛋白をデザインし、それらの異常化能の検討を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験は、研究者所属施設の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、患者が入院中の各施設における倫理審査委員会の承認を得て行われ、患者・家族にインフォームドコンセントを行い、同意を得た場合にのみ治療研究が開始された。

C. 研究結果

(1) 画期的治療法の臨床研究

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の臨床研究のための環境整備である倫理審査委員会の承認取得、手術者・手術場関係者への説明・同意と持続注入器具装着手術シミュレーションの実施、体内埋め込み型持続注入器具 (Johnson & Johnson 社製、Archimedes)

およびペントサンポリサルフェート剤 (Bene Arzneimittel GmbH 社製、SP54) の入手、SP54の脳室内投与用への製剤化の実施、診断プロトコール作成、患者への説明と同意のプロトコール作成、効果・副作用評価のプロトコール作成を完了し、2名の進行期のCJD患者において臨床試験を開始した。治療は、ペントサンポリサルフェート脳室内投与用製剤を、腹部に埋め込んだ持続注入器具より前頭部脳室内に持続注入を行った。脳室内持続注入器具等の装着手術後1週目よりペントサンポリサルフェートの投与を開始、漸増しながら22 µg/kg/日の維持量で投与を継続し、2週間おきに臨床的評価を加えた。これまでに、この維持量で明らかな症状改善を認めていないが、合併症や副作用も出現していない。10月末に英国の治療研究者 (Rainov N, Knight R) と会議を持ち、安全でより一層の効果が期待できる治療の実際について情報交換を行った。なお、ペントサンポリサルフェートの経口投与は、効果がなかった。ペントサンポリサルフェートは血液脳関門をほとんど透過しないため、経口投与では脳内濃度が不十分であった可能性が高い。経口投与に伴う合併症として便潜血が陽性になることがあった。

脳室内に投与したペントサンポリサルフェートの動態を解析するための定量法の開発に取り組んだが、測定条件の最適化などに課題を残した。一方、キナクリン療法の効果増強・副作用軽減対策としてP-gp阻害剤ベラパミルおよびOCTN1阻害剤シメチジンとの3剤併用療法の有用性を示唆する結果が得られた。

治療ネットワーク構築に関しては、日本神経学会、日本脳神経外科学会ならびに「プリオン病および遅発性ウイルス感染に関する調査研究」班との連携により、プリオン病治療に関する啓発が着実に進展した。また、適応症例を増やすために早期診断の推進にも努め、有る程度の啓発効果が認められた。

(2) 次世代型治療法開発の基礎研究

末梢投与でプリオン病治療効果がある4種類の薬剤において、最適投与量や投与時期などを明らかにするとともに、予防的効果を発見した。それらの薬剤に共通する薬効成分について解析をすすめ、薬効成分を同定した。より一層の有効性が得られるものを求めて構造活性相関研究を展開すると共に、その作用機序解明を開始した。

また、次世代型の画期的治療法となる方策の開発における基盤となる研究では、以下のような萌芽的成果が得られた。異なるプリオン病原体株の重感染を培養細胞系を用いて調べたところ、プリオン株間において病原体の組み合わせによっては感染の干渉が起こることを見いだした。また、プリオン感染モデル動物において G-CSF 投与が病態の進行を弱いながらも抑えることを明らかにした。さらに、プリオンによる神経変性の抑制手段を開発するためにデザインした種々の膜貫通型プリオン蛋白が、異常化能を持つことを明らかにした。

D. 考察

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法に関しては、投与量の上限をどうするのか、片側脳室への注入で十分なのかなど、解決すべき課題がある。症例を蓄積して、効果の程度や副作用の頻度等を十分に検討していく必要がある。英国の治療研究者との情報交換も、安全で最大効果を生む治療法の確立のためには極めて有効と考えられる。また、脳室内に投与したペントサンポリサルフェートの動態を解析するための定量法の開発が、早急に必要である。

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法に関する啓発は着実に進展しているものの、この臨床試験を実施できるのはまだ九州の1施設のみである。治療ネットワークを整備する上で、参加施設を増加させるような働きかけが必要であり、特に地理的バランスから言っても東日本に臨床試験を実施できる拠点施設

が一箇所必要である。また、適応症例を増やすためにもこれまで以上に早期診断の推進や啓発に努める必要がある。

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法にとって代わるべき次世代の治療薬としては、治療効果だけでなく予防的効果を発揮する末梢投与薬剤が望まれる。今回報告した4つの薬剤に共通していた薬効成分は、有望である可能性があるものの最適化と作用機序解明が今後の課題である。

プリオン株間において病原体の組み合わせによっては感染の干渉が起こる現象の発見は、プリオン病のワクチン療法の可能性について示唆を与えるものである。また、発症期の G-CSF 投与に治療効果が見られたことは、その機序解明は今後の課題であるものの、新たな治療法の開発に結びつく可能性がある。

膜遊離型プリオン蛋白は異常化しても神経変成作用（病原性）に乏しいことが明らかにされており、膜貫通型プリオン蛋白が異常化した際には神経変性が増強されるかどうかはプリオンによる神経変性機序の解明において重要な知見を与えてくれることになる。今回、種々の膜貫通型プリオン蛋白に異常化能が確認されたことより、来年度以降に予定されている研究内容（膜貫通型プリオン蛋白を発現するトランスジェニックマウスの作製と、同マウスへのプリオン接種実験）の成果が期待される。

E. 結論

プリオン病治療法としてペントサンポリサルフェート脳室内投与療法の臨床研究を開始し、治療ネットワークの構築に努めた。また、同治療法にとって代わる次世代型治療法の開発において、いくつかの有望な発見があった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O' Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG: Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect Dis* (in press), 2005
- Sasaki K, Doh-Ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T: Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern: an autopsy report with an experimental transmission study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 31:80-7, 2005
- Shiga Y, Miyazawa K, Sato S, Fukushima R, Shibuya S, Sato Y, Konno H, Doh-ura K, Mugikura S, Tamura H, Higano S, Takahashi S, Itoyama Y: Diffusion-weighted MRI abnormalities as an early diagnostic marker for Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.* 63:443-9, 2004
- Furukawa H, Doh-ura K, Sasaki K, Iwaki T: Accumulation of prion protein in muscle fibers of experimental chloroquine myopathy: in vivo model for deposition of prion protein in non-neuronal tissues. *Lab Invest.* 84:828-35, 2004
- Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, Sasaki K, Mohri S, Race R, Iwaki T: Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol* 78:4999-5006, 2004
- Ishikawa K, Doh-ura K, Kudo Y, Nishida N, Murakami-Kubo I, Ando Y, Sawada T, Iwaki T: Amyloid imaging probes are useful for evaluation and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Gen Virol* 85:1785-90, 2004
- Furukawa H, Doh-ura K, Okuwaki R, Shirabe S, Yamamoto K, Uono H, Ito T, Katamine S, Niwa M: A pitfall in diagnosis of human prion diseases using detection of protease-resistant prion protein in urine. Contamination with bacterial outer membrane proteins. *J Biol Chem.* 279:23661-7, 2004
- Murakami-Kubo I, Doh-ura K, Ishikawa K, Kawatake S, Sasaki K, Kira J, Ohta S, Iwaki T: Quinoline derivatives are therapeutic candidates for transmissible spongiform encephalopathies. *J Virol* 78:1281-1288, 2004
- Jin K, Shiga Y, Shibuya S, Chida K, Sato Y, Konno H, Doh-ura K, Kitamoto T, Itoyama Y: Clinical features of Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation. *Neurology* 62:502-505, 2004
- Tsuji Y, Kanamori H, Murakami G, Yokode M, Mezaki T, Doh-ura K, Taniguchi K, Matsubayashi K, Fukuyama H, Kita T, Tanaka M: Heidenhain variant of Creutzfeldt-Jakob disease: diffusion-weighted MRI and PET characteristics. *J Neuroimaging* 14:63-66, 2004
- Doh-ura K: Prion diseases: disease diversity and therapeutics. *Rinsho Shinkeigaku.* 44:855-6, 2004, Japanese
- Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T: Diffusion-Weighted MRI in Familial Creutzfeldt-Jakob Disease With the Codon 200 Mutation in the Prion Protein Gene. *J Neurol Sci* (in press)
- Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi M, Yamauchi A, Kataoka Y: Results of quinacrine administration to patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 17:158-163, 2004
- Ishida C, Kitamoto T, Yamada M: Sporadic

- Creutzfeldt-Jakob disease with MM1-type prion protein and plaques. Reply. *Neurology* 62:1239, 2004
- Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M: Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press)
- Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura, Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Uda F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M: Clinical diagnosis of MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* (in press)
- 山田正仁: プリオン蛋白高次構造を標的としたプリオン病の分子治療。 *医学のあゆみ* 208:463-468, 2004
- 山田正仁: トピックス/クロイツフェルト・ヤコブ病。 *Infectious Diseases Report No.14* (2004.4.7), 2004
- 山田正仁: 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の嗅上皮における異常プリオン蛋白の検出。 *Medical Briefs in Brain & Nerve. Vol.13, No.2, Article 6*, 2004
- 山田正仁: BSE 病原体に対する感受性の人種差。 *日本医事新報* 4204:90-91, 2004
- 山田正仁: プリオン病。松田博史, 朝田 隆(編) *痴呆の画像診断*。永井書店、大阪、pp220-233, 2004
- Dohgu S, Takata F, Yamauchi A, Nakagawa S, Egawa T, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Niwa M, Kataoka Y: Brain pericytes contribute to the induction and up-regulation of blood-brain barrier functions through transforming growth factor- β production. *Brain Res.*, 1038: 208-215, 2005
- Sato K, Shirabe S, Eguchi K, Yamauchi A, Kataoka Y, Niwa M, Nishida N, Katamine S: Toxicity of quinacrine can be reduced by co-administration of P-glycoprotein inhibitor in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Cell Mol Neurobiol.*, 24: 873-875, 2004
- Yamauchi A, Dohgu S, Shuto H, Oishi R, Kataoka Y: Tacrolimus-induced neurotoxicity and nephrotoxicity is ameliorated by the administration in the dark period in rats. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 24: 695-704, 2004
- Dohgu S, Yamauchi A, Nakagawa S, Takata F, Kai M, Egawa T, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Niwa M, Kataoka Y: Nitric oxide mediates cyclosporine-induced impairment of the blood-brain barrier in coculture of mouse brain endothelial cells and rat astrocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 505: 51-59, 2004
- Dohgu S, Yamauchi A, Takata F, Naito M, Tsuruo T, Higuchi S, Sawada Y, Kataoka Y: Transforming growth factor- β 1 supports maintenance of the blood-brain barrier function. *Cell. Mol. Neurobiol.* 24: 491-497, 2004
- Dohgu S, Yamauchi A, Takata F, Sawada Y, Higuchi S, Naito M, Tsuruo T, Shirabe S, Niwa M, Kataoka Y: Uptake and efflux of quinacrine, a candidate for the treatment of prion diseases, at the blood-brain barrier. *Cell. Mol. Neurobiol.* 24: 205-217, 2004
- Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi M, Yamauchi A, Kataoka Y: Results of Quinacrine Administration to Patients with Creutzfeldt-Jakob Disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 17: 158-163, 2004
- Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H,

Nakamura, Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M: Clinical diagnosis of MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 64:643-648, 2005

2. 学会発表

堂浦克美: プリオン病: 遺伝子異常と臨床像・病理像及び治療薬開発の展望。第45回日本神経学会総会、東京、2004年5月13日

堂浦克美: 治療開発の現状と展望。市民講座「ヤコブ病の対策の現状と克服へ向けての歩み」、仙台、2004年10月31日

Sasaki K, Doh-ura K, Iwaki T: New pretreatment method for immunohistochemistry for abnormal prion protein. *International Symposium of Prion Diseases -food and drug safety-*, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004

Furukawa H, Doh-ura K, Okuwaki R, Shirabe S, Yamamoto K, Udono H, Ito T, Katamine S, Niwa M: A pitfall in diagnosis of human prion diseases using detection of protease-resistant prion protein in urine: contamination with bacterial outer membrane proteins. *International Symposium of Prion Diseases -food and drug safety-*, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004

Miyamoto T, Sadatomi R, Tanaka H, Higuchi R, Kawatake S, Doh-ura K: Can Forage Grasses inhibit Prion Replication? *International Symposium of Prion Diseases -food and drug safety-*, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004

Ishikawa K, Kudo Y, Doh-ura K: Inhibition of abnormal PrP formation by amyloid-imaging probes in vitro. *International Symposium of Prion Diseases -food and drug safety-*,

Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004

Tsuboi Y, Fujiki F, Yamauchi A, Doh-ura K, Kataoka Y, Yamada T: Treatment with Anti-malaria Agents, Quinacrine and Quinine, for Creutzfeldt-Jakob disease patients. *International Symposium of Prion Diseases -food and drug safety-*, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004

堂浦克美: アミロイド結合化合物のプリオン病診断・治療への応用。第2回東北アミロイド研究会、仙台、2004年12月17日

堂浦克美: プリオン病治療法の開発。第7回生命化学研究会シンポジウム、仙台、2005年1月21日

Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M. MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: clinicoradiologic features and clinical diagnosis. *International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan*

Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M. Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. *International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan*

Sato T, Masuda M, Utsumi Y, Enomoto S, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T. Relationship between sites of grafts and initial clinical manifestations in dura mater related Creutzfeldt-Jakob disease.

International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31–November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan

Sodeyama N, Nakamura Y, Yamada M, Satoh T, Kitamoto T, Mizusawa H. Duration between initial manifestation of CJD and detection of PSD, specific findings on MRI, CSF 14-3-3 protein, or CSF high NSE. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31–November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan

Saito Y, Murayama S, Shimizu J, Hosino M, Takatsu M, Komatsuzaki Y, Nakano S, Arima K, Sasaki K, Takahashi K, Hara M, Hirayasu Y, Yamada M, Kanazawa I. Familial Creutzfeldt-Jakob disease with five octapeptide repeat insert. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31–November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan

浜口 毅, 中村好一, 佐藤 猛, 北本哲之, 水澤英洋, 山田正仁: わが国における変異型 CJD の有無とプリオン病若年発症例の特徴. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11–14 日

鈴木幹也, 津田笑子, 山内理香, 小泉 武, 静川裕彦, 野中道夫, 久原 真, 今井富裕, 千葉 進, 松本博之, 伊藤公晴, 堂浦克美, 浜口 毅, 山田正仁: 遺伝子検索で診断した致死性家族性不眠症の呼吸障害, 自律神経障害の検討. 第 45 回日本神経学会総会, 東京,

2004 年 5 月 11–14 日

道具伸浩, 高嶋修太郎, 笹原悦子, 田口芳治, 井上 博, 浜口 毅, 山田正仁: PrP 遺伝子に R208H 変異を認めたクロイツフェルト・ヤコブ病の 1 例. 第 41 回北陸神経内科懇話会, 金沢, 2004 年 11 月 27 日

野口もえ子, 吉田光宏, 古川裕, 岩佐和夫, 浜口 毅, 沖野惣一, 柳瀬大亮, 石田千穂, 飛梅実, 山田正仁: 孤発性 Creutzfeldt-Jacob 病に対するペントサンポリ硫酸治療, 第 23 回日本痴呆学会, 東京, 2004 年 9 月 30 日

野口もえ子, 吉田光宏, 古川裕, 岩佐和夫, 浜口毅, 北本哲之, 山田正仁: ペントサン硫酸治療を行った孤発性 Creutzfeldt-Jacob 病 MM2 皮質型の 2 生検例, 第 32 回臨床神経病理懇話会, 京都, 2004 年 11 月 28 日

Dohgu S, Takata F, Nakagawa S, Yamauchi A, Kataoka Y, Niwa M.: The brain pericytes contribute to the up-regulation of the blood-brain barrier functions through transforming growth factor- β (TGF- β) production. Potsdam, Germany, Sep., 2004

H. 知的所有権の出願・登録状況

横田博, 堂浦克美: 体外診断キット及び体外診断方法. 特願 2004-216510, 2004 年 7 月 23 日
竹中繁織, 野島高彦, 大塚圭一, 堂浦克美: 異常プリオンの電気化学的検出方法. 特願 2004-287562, 2004 年 9 月 30 日

分 担 研 究 報 告

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の臨床試験に関する研究

分担研究者：山田 達夫 福岡大学内科学第5教室・教授

研究協力者：坪井 義夫 福岡大学内科学第5教室・講師

研究要旨

平成16年度はペントサンポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与療法の臨床研究に関して、福岡大学脳神経外科と共にプロトコルの作成、倫理審査委員会の承認、手術者・手術場関係者への説明・同意と持続注入器具装着手術シミュレーション、体内埋め込み型持続注入器具の入手を行った。ペントサンポリサルフェートは入手後、薬学疾患管理学教室にて脳室内投与用の製剤化を行った。平成16年11月17日に第1例目の手術を行い、現在治療効果の経過を追っている。

A. 研究目的

現在クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)に有効な治療法なく、一方で孤発性CJDに加え、硬膜移植後の医原性CJDやウシ海綿状脳症の発生に伴う変異型CJD病発生の可能性は脅威であり、治療法の開発が急務である。今回、実験的に抗プリオン作用を有するPPS脳室内持続投与治療のCJD患者に対する効果と安全性を検討した。

B. 研究方法

PPS脳室内持続投与の治療プロトコルを英国で行われている同治療の経験を参考にして作成。プリオン病と診断された症例に対して同治療を施行した。PPSは手術後1週間の脳CTにおいて出血がないことを確認してから、低容量から治療を開始。注入濃度を漸増し、目標である $22\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の濃度まで増やした。期間は12週間を原則とし、この時点で重篤な福田用などがなければ同治療を維持することとした。痙攣の出現、骨髄抑制、高度肝機能障害、出血傾向、感染症等の出現時には、投与の中止を原則とした。

(倫理面への配慮)

本研究は倫理審査委員会の承認を得て行われ、患者・家族にインフォームドコンセントを行い、同意を得た場合にのみ治療研究が開始された。

C. 研究結果

これまで孤発性CJDの女性1例にPPS脳室内持続投与をおこなっている。PPS治療濃度は当初のプロトコル通りで現在 $22\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の濃度で継続投与中である。これまでほぼ2ヶ月の治療期間で臨床症状に明らかな改善は認めていない。副作用としても脳CTや血液検査上に明らかな副作用を認めていない。現在も治療効果、副作用の観察中である。

D. 考察

PPSのプロトコル作成と、その初めての臨床経験をしたことは意義があるが未知なる点が多い。まずPPSの治療濃度はどこに上限を置くべきであるか不明である。現在英国の症例は $110\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の濃度まで上げているが、副作用、効果の総括がまだ行われていない。片側の脳室に注入することで異常プリオンの蓄積が全脳で効果的に働くかどうかはまだ明らかでない。今後も症例の蓄積と効果の程度、副作用

の頻度等を十分検討してゆく必要がある。この点は英国の治療研究のチームと協力の上、プロトコルの改訂を考慮すべきであると思われる。

E. 結論

PPS 脳室内持続投与療法の治療プロトコールの作成と 1 例目の治療経過に関する報告を行った。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi M, Yamauchi A, Kataoka Y: Results of quinacrine administration to patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 17:158-163, 2004

Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T: Diffusion-Weighted MRI in Familial Creutzfeldt-Jakob Disease With the Codon 200 Mutation in the Prion Protein Gene. *J Neurol Sci* (in press)

2. 学会発表

Tsuboi Y, Fujiki F, Yamauchi A, Doh-ura K, Kataoka Y, Yamada T: Treatment with Anti-malaria Agents, Quinacrine and Quinine, for Creutzfeldt - Jakob disease patients. *International Symposium Prion Diseases-Food and Drug Safety*. Sendai, Oct 31-Nov. 2, 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
平成16年度 分担研究報告書

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法のための脳神経外科手術に関する研究

分担研究者：福島 武雄 福岡大学医学部脳神経外科・教授
研究協力者：山本 正昭 福岡大学医学部脳神経外科

研究要旨

プリオン病の新しい治療法として脳室内に抗プリオン薬を持続微量投与が近年英国で行われるようになった。本邦においても、プリオン病の開発が望まれるが、その前提として、脳室内薬物投与を可能にする脳神経外科手術法の確立が必要である。その安全性および確実に微量持続投与が可能な手術法および適切な各種器具の選択が求められる。今回、これまで確立されている脳室内チューブの留置にくわえて、体内埋込み型の微量持続注入器を用いて、脳室内への持続的な薬物投与を試みた。今回2症例に、側脳室前角にオンマイヤリザーバーを設置し、右下腹部に持続注入器を埋没させ持続的脳室内薬物投与を行った。

A. 研究目的

プリオン病の新しい治療法の開発、特に脳室内に抗プリオン薬を持続微量投与する。

テクニック、患者の入室および退出にたいし十分な検討およびシミュレーションを行なった。2人の患者に上記手術を施行した。今後、手術器具、手術法および消毒法について更に検討する。

B. 研究方法

脳神経外科手術法を用いて、右側脳室前核にオンマイヤリザーバーをおき、右下腹部に体内埋込み型の微量持続注入器を設置。

E. 結論

2人の患者に上記設置術を行った。今後症例を積み重ね、更に改良を加える。

(倫理面への配慮)

対象患者および家族に十分な説明を行い理解を得た上で実施される。またプライバシー保護には充分配慮する。

F. 健康危機情報

この手術に関して、現在のところ問題は出ていない。

C. 研究結果

プリオン病患者2名において、オンマイヤリザーバー設置術および右下腹部に体内埋込み型持続微量注入器設置術を行った。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

D. 考察

オンマイヤリザーバー設置およびArchimedes体内埋込み型持続微量注入器設置にたいし、手術室、手術器具、消毒法、ガウン

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 MM2 皮質型の臨床診断と
経口ペントサン硫酸治療に関する研究

分担研究者：山田 正仁 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：野口もえ子 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：浜口 毅 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：吉田 光宏 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：古川 裕 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：岩佐 和夫 金沢大学・大学院医・脳老化・神経病態（神経内科）
研究協力者：北本 哲之 東北大学・大学院医・病態神経

研究要旨

孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (sCJD) MM2 皮質型の臨床診断法とそれに対する経口ペントサンポリ硫酸 (PPS) の治療効果と安全性について検討した。症例1は、66歳時に物忘れで発症。11ヶ月後にはMMSEは0/30と痴呆が進行したが、脳波上周期性同期性放電 (PSD) は認めなかった。症例2は77歳時に物忘れで発症し緩徐に進行した。27ヶ月後にMMSEは2/30となり、脳波上PSDが出現した。両例とも頭部MRI拡散強調画像 (DWI) にて皮質高信号所見、髄液14-3-3蛋白の上昇を示し、CJDが強く疑われた。両例共にプリオン蛋白 (PrP) 遺伝子に変異はなく、コドン129はMet/Met、コドン219はGlu/Gluであった。2例とも臨床症候が不足したため現行のsCJD診断基準を満たさなかった。御家族よりプリオン病に対するPPS経口投与臨床試験への参加希望があり、診断確定のため右前頭葉より脳生検を施行し、海綿状変化、空胞周囲に強調される感染型PrP沈着、ウェスタンブロットで2A型のプロテアーゼ抵抗性PrPを認めた。以上の結果から、2例をsCJD MM2皮質型と診断した。PPS 300mg/日を経口的に24週間連続投与するも、症状は進行し、頭部MRI DWI上の皮質高信号病変も拡大した。sCJD MM2皮質型は、進行性痴呆以外の神経症候に乏しく、上記2例のように現行の診断基準ではsCJDと診断できない例が存在する。我々はsCJD MM2型の新しい診断基準（案）「(1) 進行性痴呆、(2) 頭部MRI DWIでの皮質高信号、(3) 髄液14-3-3蛋白高値の3項目を満たし、他のタイプのプリオン病を含む痴呆性疾患を除外できる」を提唱する。また、本2例では経口PPS投与により改善したととれる所見は無かった。PPSは血液脳関門をほとんど透過しないため、経口投与では脳内濃度が不十分であった可能性が高い。投与に伴う合併症として便潜血が陽性になることがあったが、出血が顕在化する等全身状態に影響を与えることはなかった。

A. 研究目的

孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病 (sCJD) のうち MM2 皮質型には現行の診断基準では臨床徴候を満たさず、臨床診断が困難な症例が存在する。また、sCJD は痴呆を中核とした神経症状の進行が早く致死的な疾患であるが、有効な治療法

がなく、その確立が急がれている。ペントサンポリ硫酸 (PPS) は脳室内投与による動物実験でプリオン病に対して劇的な治療効果が示されており、ヒトにおけるプリオン病での臨床応用が期待されている。PPS は血液脳関門 (BBB) を通過しにくい、プリオン病では BBB が破壊さ

れているとの報告がある。

本研究ではまず、脳生検で sCJD MM2 皮質型と確定診断し得た 2 例の経験をもとに、sCJD MM2 皮質型の臨床診断法を検討した。次に、それら 2 症例に対して PPS を経口的に投与し治療効果と安全性を検討した。

B. 研究方法

1) sCJD MM2 皮質型の診断基準の検討: sCJD MM2 皮質型と確定診断した 2 症例の臨床症候、脳波、頭部 MRI、髄液 14-3-3 蛋白の所見を検討した。

2) PPS の治療効果と安全性の検討: sCJD MM2 皮質型の 2 症例に対して倫理委員会承認のプロトコールに従い、PPS 300mg/日を経口的に 24 週間連続投与し、その治療効果および安全性について検討した。

(倫理面への配慮)

PPS 経口投与試験は金沢大学・医の倫理委員会において審査・承認を受けた。治験実施に際しては主治医が患者（家族）から文書で同意を得た後に行った。

C. 研究結果

1) sCJD MM2 皮質型の診断基準の検討: 症例 1 (女性) は、66 歳時に物忘れで発症。11 ヶ月後には MMSE は 0/30 と痴呆が進行したが、その他の神経症候や、脳波上周期性同期性放電 (PSD) は認めなかった。症例 2 (女性) は 77 歳時に物忘れで発症し緩徐に進行した。27 ヶ月後に MMSE は 2/30 となり、脳波上 PSD が出現した。両例とも頭部 MRI 拡散強調画像 (DWI) にて皮質高信号所見、髄液 14-3-3 蛋白の上昇を示し、CJD が強く疑われた。両例ともプリオン蛋白 (PrP) 遺伝子に変異はなく、コドン 129 は Met/Met、コドン 219 は Glu/Glu であった。御家族よりプリオン病に対する PPS 経口投与臨床試験への参加希望があったが、現行の CJD の診断基準では、進行する痴呆以外にミオクローヌス、錐体路/錐体外路障害、小脳症状/視覚異

常、無言・無動状態のうち 2 項目以上の症候を必要とするため、2 例とも臨床症候の項目を満たさなかった。診断確定のため右前頭葉より脳生検を施行し、海綿状変化、空胞周囲に強調される PrP 沈着、ウェスタンブロットで 2A 型のプロテアーゼ抵抗性 PrP を認めた。

2) PPS の治療効果と安全性の検討: 症例 1 は合計 17 週間経口 PPS 治療を行った。治験開始後便潜血が陽性となった為、PPS 副作用による消化管出血の可能性を考慮し 7 週間治験を中断した。神経症候は変化せず、ミオクローヌスや PSD は認めなかった。髄液 14-3-3 蛋白値は変動したが、一定の傾向がなかった。頭部 MRI では DWI 高信号域が拡大し、脳萎縮が進行した。治療期間中に貧血の進行など重篤な副作用は生じなかった。症例 2 は 24 週間経口 PPS 治療を継続できた。治験開始直前よりミオクローヌスが出現し、治験中にミオクローヌスの頻度は増加した。脳波、髄液 14-3-3 蛋白値はほぼ変化無かった。頭部 MRI 上 DWI 高信号域の拡大と脳萎縮進行を認めた。便潜血は陽性となることがあったが、貧血や明らかな消化管出血は生じなかった。

D. 考察

sCJD MM2 皮質型は、進行性痴呆以外の神経症候に乏しく、上記 2 例のように現行の診断基準では sCJD と診断できない例が存在する。我々の症例の頭部 MRI DWI での皮質の異常所見は、sCJD に比較的特異的な所見であり、臨床経過も併せて考えると、頭部 MRI DWI によって sCJD MM2 皮質型の診断が可能であることを示している。髄液 14-3-3 蛋白の結果も含めて、我々は sCJD MM2 型の新しい診断基準(案)「(1) 進行性痴呆、(2) 頭部 MRI DWI での皮質高信号、(3) 髄液 14-3-3 蛋白高値の 3 項目を満たし、他のタイプのプリオン病を含む痴呆性疾患を除外できる」を提唱する¹⁾。また、本 2 例は経口 PPS 治療中も症状および画像所見の増悪を認め、改善したととれる所見は無かった。PPS 経口投

与によるプリオン病の治療効果を正確に評価するには、二重盲検が必要であるが、両例とも改善効果はほとんどなかった可能性が考えられた。PPS は BBB をほとんど透過しないため、経口投与では脳内濃度が不十分であった可能性が高く、脳室内注入など投与方法変更の必要性が示唆された。投与に伴う合併症として便潜血が陽性になることがあったが、出血が顕在化する等、全身状態に影響を与えることはなかった。

E. 結論

- (1) sCJD MM2 皮質型の臨床診断基準案を提唱した。
- (2) PPS 経口治療では sCJD の症状改善は得られなかった。

[参考文献]

Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura, Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M. Clinical diagnosis of MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* (in press)

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ishida C, Kitamoto T, Yamada M: Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with MM1-type prion protein and plaques. Reply. *Neurology* 62:1239, 2004.

Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M: Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft-associated Creutzfeldt-Jakob

disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press)

Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura, Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M: Clinical diagnosis of MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* (in press)

山田正仁: プリオン蛋白高次構造を標的としたプリオン病の分子治療。医学のあゆみ 208:463-468, 2004

山田正仁: トピックス/クロイツフェルト・ヤコブ病。 *Infectious Diseases Report No.14* (2004. 4. 7), 2004

山田正仁: 孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の嗅上皮における異常プリオン蛋白の検出。 *Medical Briefs in Brain & Nerve. Vol.13, No.2, Article 6*, 2004

山田正仁: BSE 病原体に対する感受性の人種差。 *日本医事新報* 4204:90-91, 2004

山田正仁: プリオン病。松田博史, 朝田 隆(編) 痴呆の画像診断。永井書店、大阪、pp220-233, 2004

2. 学会発表

Hamaguchi T, Kitamoto T, Sato T, Mizusawa H, Nakamura Y, Noguchi M, Furukawa Y, Ishida C, Kuji I, Mitani K, Murayama S, Kohriyama T, Katayama S, Yamashita M, Yamamoto T, Udaka F, Kawakami A, Ihara Y, Nishinaka T, Kuroda S, Suzuki N, Shiga Y, Arai H, Maruyama M, Yamada M. MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: clinico-radiologic features and clinical diagnosis. *International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel*

- Hotel Tokyu, Sendai, Japan.
- Ishida C, Okino S, Kitamoto T, Yamada M. Involvement of the peripheral nervous system in human prion diseases including dural graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan
- Sato T, Masuda M, Utsumi Y, Enomoto S, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T. Relationship between sites of grafts and initial clinical manifestations in dura mater related Creutzfeldt-Jakob disease. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan
- Sodeyama N, Nakamura Y, Yamada M, Satoh T, Kitamoto T, Mizusawa H. Duration between initial manifestation of CJD and detection of PSD, specific findings on MRI, CSF 14-3-3 protein, or CSF high NSE. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan
- Saito Y, Murayama S, Shimizu J, Hosino M, Takatsu M, Komatsuzaki Y, Nakano S, Arima K, Sasaki K, Takahashi K, Hara M, Hirayasu Y, Yamada M, Kanazawa I. Familial Creutzfeldt-Jakob disease with five octapeptide repeat insert. International Symposium on Prion Diseases: Food and Drug Safety, October 31-November 2, 2004, Sendai Excel Hotel Tokyu, Sendai, Japan
- 浜口 毅, 中村好一, 佐藤 猛, 北本哲之, 水澤英洋, 山田正仁: わが国における変異型 CJD の有無とプリオン病若年発症例の特徴. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11-14 日
- 鈴木幹也, 津田笑子, 山内理香, 小泉 武, 静川裕彦, 野中道夫, 久原 真, 今井富裕, 千葉 進, 松本博之, 伊藤公晴, 堂浦克美, 浜口 毅, 山田正仁: 遺伝子検索で診断した致死性家族性不眠症の呼吸障害, 自律神経障害の検討. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11-14 日
- 道具伸浩, 高嶋修太郎, 笹原悦子, 田口芳治, 井上 博, 浜口 毅, 山田正仁: PrP 遺伝子に R208H 変異を認めたクロイツフェルト・ヤコブ病の 1 例. 第 41 回北陸神経内科懇話会, 金沢, 2004 年 11 月 27 日
- 野口もえ子, 吉田光宏, 古川裕, 岩佐和夫, 浜口 毅, 沖野惣一, 柳瀬大亮, 石田千穂, 飛梅実, 山田正仁: 孤発性 Creutzfeldt-Jacob 病に対するペントサンポリ硫酸治療, 第 23 回日本痴呆学会, 東京, 2004 年 9 月 30 日
- 野口もえ子, 吉田光宏, 古川裕, 岩佐和夫, 浜口毅, 北本哲之, 山田正仁: ペントサン硫酸治療を行った孤発性 Creutzfeldt-Jacob 病 MM2 皮質型の 2 生検例, 第 32 回臨床神経病理懇話会, 京都, 2004 年 11 月 28 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

キナクリン療法の効果増強・副作用軽減対策に関する研究

分担研究者：片岡 泰文 福岡大学薬学部・教授

研究要旨

プリオン病に対するキナクリン療法は、効果が一過性であり肝障害が高頻度に発現する。治療の成否は、キナクリンの脳移行性促進、肝移行性低減が鍵となる。我々は、キナクリンの脳移行が P-glycoprotein (P-gp) により制限されていること、及びその肝細胞内取り込みが organic cation transporter、OCTN1 を介して行われていること、を明らかにした。キナクリン療法の効果増強・副作用軽減対策として P-gp 阻害剤ベラパミルおよび OCTN1 阻害剤シメチジンの 3 剤併用療法の有用性を提案するものである。

A. 研究目的

福岡大学病院第 5 内科で実施されたプリオン病に対するキナクリン療法の臨床試験では、効果が一過性であること及び肝障害が高頻度に発現することが明らかとなった。キナクリンによるプリオン病治療の実効性を上げるには、その脳移行性と肝移行性の問題点を克服する必要がある。そこで、キナクリンの血液脳関門 (BBB) 透過機構及び肝細胞への取り込み機構を解析し、効果増強・副作用低減対策の構築を企てた。

B. 研究方法

細胞内取り込み実験：培養プレートの各 well に播種したマウス脳毛細血管内皮細胞株 (MBEC4) に各種薬液を加えて一定時間後 NaOH で可溶化し、キナクリン取り込み量を蛍光プレートリーダー (Ex(λ) 450 nm; Em(λ) 530 nm) で測定した。

経細胞透過実験：Transwell[®] に MBEC4 を播種し実験に用いた。血管側 (脳実質側) に薬液を入れ、脳実質側 (血管側) からサンプルを回収し、キナクリンの透過クリアランスを算出した。

肝細胞傷害：培養 Dish にヒト肝癌由来 HepG2 細胞を播種し実験に用いた。薬液を加えて 24

時間後の細胞傷害を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究施設に設置されている動物実験等倫理委員会の承認の元、実験を行った。

C. 研究結果

キナクリンの MBEC4 透過性は極めて低かった。その透過は、受動拡散ではなく、トランスポーターなどの輸送担体を介した取り込み輸送系と排出輸送系の net influx であることが判った。BBB の主要な排出輸送系として P-gp が知られ、多くの薬物の脳移行を制限している。P-gp の阻害薬であるベラパミルを併用すると、キナクリンの MBEC4 透過性が増加した。すなわちキナクリンの脳への低移行性には P-gp が関与することが判った。一方、キナクリンは有機カチオン性薬物であることから、その取り込み輸送系には有機カチオントランスポーター (OCT、OCTN) の関与が推測される。キナクリン輸送の温度や pH 感受性、駆動力などを調べた結果、OCTN1 による取り込み機構の介在が強く示唆された。OCTN1 は肝細胞にも発現しており、キナクリンの肝細胞取り込みにも機能することが予想された。HepG2 細胞に対するキナク

リンの細胞毒性実験では、OCTN1 阻害薬であるシメチジンとの併用で毒性が軽減された。以上の結果は、マウスを用いたオートラジオグラフィ及び組織分布実験でも支持された。

D. 考察

キナクリンの MBEC4 への低移行性は、P-gp による排出機構に基づくことが判明した。In vitro 及び in vivo 実験において、P-gp 阻害剤であるベラパミルがキナクリンの BBB 透過性を改善し脳への分布を増加させた。

キナクリンは OCTN1 の基質であり、この輸送系がキナクリンの HepG2 細胞内取り込みを担うことが示唆された。In vitro 及び in vivo 実験の成績は、キナクリンの肝細胞内取り込み及び肝臓への分布は OCTN1 阻害剤シメチジンにより減少し、細胞毒性が軽減することを示すものであった。

以上より、キナクリンの脳移行性亢進と肝障害低減に、ベラパミル及びシメチジンとの3剤併用が有効である可能性が提起される。

E. 結論

プリオン病に対するキナクリン療法の効果増強・副作用軽減対策として、ベラパミル及びシメチジンとの併用療法が有用かもしれない。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Dohgu S, Takata F, Yamauchi A, Nakagawa S, Egawa T, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Niwa M, Kataoka Y: Brain pericytes contribute to the induction and up-regulation of blood-brain barrier functions through transforming growth factor- β production. *Brain Res.*, 1038: 208-215, 2005

Satoh K, Shirabe S, Eguchi K, Yamauchi A,

Kataoka Y, Niwa M, Nishida N, Katamine S: Toxicity of quinacrine can be reduced by co-administration of P-glycoprotein inhibitor in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Cell Mol Neurobiol.*, 24: 873-875, 2004

Yamauchi A, Dohgu S, Shuto H, Oishi R, Kataoka Y: Tacrolimus-induced neurotoxicity and nephrotoxicity is ameliorated by the administration in the dark period in rats. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 24: 695-704, 2004

Dohgu S, Yamauchi A, Nakagawa S, Takata F, Kai M, Egawa T, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Niwa M, Kataoka Y: Nitric oxide mediates cyclosporine-induced impairment of the blood-brain barrier in coculture of mouse brain endothelial cells and rat astrocytes. *Eur. J. Pharmacol.*, 505: 51-59, 2004

Dohgu S, Yamauchi A, Takata F, Naito M, Tsuruo T, Higuchi S, Sawada Y, Kataoka Y: Transforming growth factor- β 1 supports maintenance of the blood-brain barrier function. *Cell. Mol. Neurobiol.* 24: 491-497, 2004

Dohgu S, Yamauchi A, Takata F, Sawada Y, Higuchi S, Naito M, Tsuruo T, Shirabe S, Niwa M, Kataoka Y: Uptake and efflux of quinacrine, a candidate for the treatment of prion diseases, at the blood-brain barrier. *Cell. Mol. Neurobiol.* 24: 205-217, 2004

Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi M, Yamauchi A, Kataoka Y: Results of Quinacrine Administration to Patients with Creutzfeldt-Jakob Disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 17: 158-163, 2004

2. 学会発表