

Table 1. Summary of clinical data of all current patients with PPS administration.

Patient number	Sex	Age at Dx* (years)	Diagnosis and clinical course after start of PPS	Survival (months after Tx*)	Maximum PPS dose ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$)
1	M	17	vCJD. Stable disease, swallowing and myoclonus improved, brain stem function improved. PPS started at very advanced stage of disease.	23	11
2	M	19	sCJD. Initially neurological improvement, later slow progression. Weight gain 10 kg. Reduction of myoclonus. Partial seizures occurring a few months after start of PPS, currently on phenytoin.	10	11
3	F	12	vCJD. Stable disease, wheelchair bound. Currently speech deficit, stable weight, swallowing remained intact.	13	11
4	M	15	vCJD. Stable after PPS, but disease progressed rapidly before PPS started.	9	11
5	F	34	GSS Stable disease, but surgical complications (brain haemorrhage) giving rise to neurological deficits.	10	11
6	F	32	GSS Stable disease. Initially only very mild neurological symptoms present.	3	11
7	M	37	Iatrogenic CJD (GH ^b administration) Cerebellar syndrome, initially stable condition. Rapid deterioration despite PPS.	6	110
8	F	27	Iatrogenic CJD (GH ^b administration) Stable disease, but rapid progression before start of PPS. Alive but in state of limited awareness.	9	110
9	F	39	vCJD. Presented with psychiatric syndrome. Continuous neurological deterioration while on PPS. Generalized seizures occurring 2 months after start of PPS. Died of disease progression.	4 ^c	110
10	M	44	GSS Continued neurological deterioration. Increase in mental symptoms and disorientation while on PPS.	4	110
11	M	34	Iatrogenic CJD (GH ^b administration) Stable disease.	1	110
12	F	39	GSS Mild neurological deficits at start of PPS.	. ^d	110
13	F	66	sCJD	. ^d	110

^a - Dx/Tx - Diagnosis/Therapy.

^b - Growth hormone.

^c - Patient deceased.

^d - Follow-up period < 1 month.

References

1. Prusiner SB (1994) Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol* 48:655-686
2. Vorberg I, Priola SA (2002) Molecular basis of scrapie strain glycoform variation. *J Biol Chem* 277: 36775-36781
3. Harris DA (2001) Biosynthesis and cellular processing of the prion protein. *Adv Protein Chem* 57:203-228
4. Dormont D (2002) Prions, BSE and food. *Int J Food Microbiol* 78:181-189
5. Brown DR (1999) Prion protein peptide neurotoxicity can be mediated by astrocytes. *J Neurochem* 73:1105-1113
6. Collinge J, Whittington MA, Sidle KC, Smith CJ, Palmer MS, Clarke AR, Jefferys JG (1994) Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 370:295-297
7. Weissmann C, Bueler H, Fischer M, Sailer A, Aguzzi A, Aguet M (1994) PrP-deficient mice are resistant to scrapie. *Ann NY Acad Sci* 724:235-240
8. Prusiner SB (1998) Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13363-13383
9. Weissmann C, Raeber AJ, Montrasio F, Hegyi I, Frigg R, Klein MA, Aguzzi A (2001) Prions and the lymphoreticular system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:177-184
10. Brandner S, Isenmann S, Raeber A, Fischer M, Sailer A, Kobayashi Y, Marino S, Weissmann C, Aguzzi A (1996) Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 379:339-343
11. Clarke AR, Jackson GS, Collinge J (2001) The molecular biology of prion propagation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:185-195
12. Caughey B (2003) Prion protein conversions: insight into mechanisms, TSE transmission barriers and strains. *Brit Med Bull* 66:109-120
13. Come JH, Fraser PE, Lansbury PT Jr (1993) A kinetic model for amyloid formation in the prion diseases: importance of seeding. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:5959-5963
14. Cohen FE, Pan KM, Huang Z, Baldwin M, Fletterick RJ, Prusiner SB (1994) Structural clues to prion replication. *Science* 264:530-531
15. Huang Z, Prusiner SB, Cohen FE (1996) Scrapie prions: a three-dimensional model of an infectious fragment. *Fold Des* 1:13-19
16. Deleault NR, Lucassen RW, Supattapone S (2003) RNA molecules stimulate prion protein conversion. *Nature* 425:717-720
17. Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA (1996) Role of microglia and host protein in neurotoxicity of a prion protein fragment. *Nature* 380:345-347
18. Brown DR, Kretzschmar HA (1997) Microglia and prion disease: a review. *Histol Histopathol* 12:883-992
19. Aguzzi A, Klein MA, Musahl C, Raeber AJ, Blattler T, Hegyi I, Frigg R, Brandner S (1998) Use of brain grafts to study the pathogenesis of prion diseases. *Assays Biochem* 33:133-147
20. Rezaie P, Lantos PL (2001) Microglia and the pathogenesis of spongiform encephalopathies. *Brain Res Brain Res Rev* 35:55-72

21. Brown DR (1999) Prion protein peptide neurotoxicity can be mediated by astrocytes. *J Neurochem* 73:1105-1113
22. Raeber AJ, Race RE, Brandner S, Priola SA, Sailer A, Bessen RA, Mucke L, Manson J, Aguzzi A, Oldstone MB, Weissmann C, Chesebro B (1997) Astrocyte-specific expression of hamster prion protein (PrP) renders PrP knockout mice susceptible to hamster scrapie. *EMBO J* 16:6057-6065
23. Giese A, Brown DR, Groschup MH, Feldmann C, Haist I, Kretzschmar HA (1998) Role of microglia in neuronal cell death in prion disease. *Brain Pathology* 8:449-457
24. Heppner FL, Aguzzi A. Prion Diseases. In: *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. London: Nature Publishing Group. <http://www.els.net/> [doi:10.1038/npg.els.0000428]
25. Kubler E, Oesch B, Raeber AJ (2003) Diagnosis of prion diseases. *Br Med Bull* 66:267-279
26. Knight R (1998) Creutzfeldt–Jakob disease: clinical features, epidemiology and tests. *Electrophoresis* 19:1306-13010
27. Gambetti P, Parchi P, Petersen RB, Chen SG, Lugaresi E (1995) Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: clinical, pathological and molecular features. *Brain Pathol* 5:43-51
28. Brown P, Preece M, Brandel JP, Sato T, McShane L, Zerr I, Fletcher A, Will RG, Pocchiari M, Cashman NR, d'Aignaux JH, Cervenakova L, Fradkin J, Schonberger LB, Collins SJ (2000) Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millennium. *Neurology* 55:1075-1081
29. Smith PG (2003) The epidemics of bovine spongiform encephalopathy and variant CJD; current status and future prospects. *Bull World Health Organ* 81,123-130
30. Medori R, Tritschler HJ, LeBlanc A, Villare F, Manetto V, Chen HY, Xue R, Leal S, Montagna P, Cortelli P (1992) Fatal familial insomnia, a prion disease with a mutation at codon 178 of the prion protein gene. *N Engl J Med* 326:444-449
31. Fiorino AS (1996) Sleep, genes and death: fatal familial insomnia. *Brain Res Brain Res Rev* 22:258-264
32. Larner AJ, Doran M (2003) Prion diseases: update on therapeutic patents (1999-2002). *Exp Opin Ther Pat* 13:67-78
33. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith PG (1996) A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347:921-925
34. Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCardle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens S, Fraser H, Bostock CJ (1997) Transmission to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 389:498-501
35. Weissmann C, Aguzzi A (1997) Bovine spongiform encephalopathy and early onset variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Curr Opin Neurobiol* 7:695-700
36. Ironside JW (2000) Pathology of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Virol Suppl* 16:143-151

37. Spencer MD, Knight RSG, Will RG (2002) First hundred cases of variant Creutzfeldt-Jakob disease: retrospective case note review of early psychiatric and neurological features. *Br Med J* 324:1479-1482
38. Wadsworth JD, Hill AF, Beck JA, Collinge J (2003) Molecular and clinical classification of human prion disease. *Br Med Bull* 66:241-254
39. Müller WEG, Laplanche JL, Ushijima H, Schroder HC (2000) Novel approaches in diagnosis and therapy of Creutzfeldt Jakob disease. *Mechanisms of Ageing and Development* 16:193-218
40. Head MW, Ironside JW (2000) Inhibition of prion-protein conversion: a therapeutic tool? *Trends Microbiol* 8:6-8.
41. Love R (2001) Old drugs to treat new variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 358:563
42. Gilch S, Schatzl HM (2003) Promising developments bringing prion diseases closer to therapy and prophylaxis. *Trends Mol Med* 9:367-369
43. Rossi G, Salmona M, Forloni G, Bugiani O, Tagliavini F (2003) Therapeutic approaches to prion diseases. *Clin Lab Med* 23:187-208
44. McKenzie D, Kaczowski J, Marsh R, Aiken J (1994) Amphotericin B delays both scrapie agent replication and PrP-res accumulation early in infection. *J Virol* 68:7534-7536
45. Demaimay R, Race R, Chesebro B (1999) Effectiveness of polyene antibiotics in treatment of transmissible spongiform encephalopathy in transgenic mice expressing Syrian hamster PrP only in neurons. *J Virol* 73:3511-3513
46. Adjou KT, Demaimay R, Deslys JP, Lasmezas CI, Beringue V, Demart, S., Lamoury F, Seman M, Dormont D (1999) MS-8209, a water-soluble amphotericin B derivative, affects both scrapie agent replication and PrPres accumulation in Syrian hamster scrapie. *J Gen Virol* 80:1079-1085
47. Caughey B, Race RE (1992) Potent inhibition of scrapie associated PrP accumulation by Congo Red. *J Neurochem* 59:768-771
48. Caspi S, Halimi M, Yanai A, Sasson SB, Taraboulos A, Gabizon R (1998) The anti-prion activity of Congo red. Putative mechanism. *J Biol Chem* 273:3484-3489
49. Tagliavini F, McArthur RA, Canciani B, Giaccone G, Porro M, Bugiani M, Lievens PM, Bugiani O, Peri E, Dall'Ara P, Rocchi M, Poli G, Forloni G, Bandiera T, Varasi M, Suarato A, Cassutti P, Cervini MA, Lansen J, Salmona M, Post C (1997) Effectiveness of anthracycline against experimental prion disease in Syrian hamsters. *Science* 276:1119-1122
50. Manuelidis L, Fritch W, Zaitsev I (1998) Dapsone to delay symptoms in Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 352:456
51. Guenther K, Deacon RM, Perry VH, Rawlins JN (2001) Early behavioural changes in scrapie-affected mice and the influence of dapsone. *Eur J Neurosci* 14:401-409
52. Shyng SL, Lehmann S, Moulder K, Harris D (1995) Sulfated glycans stimulate endocytosis of the cellular isoform of the prion protein PrP^c in cultured cells. *J Biol Chem* 270:30221-30229
53. Priola SA, Raines A, Caughey WS (2000) Porphyrin and phthalocyanine antiscrapie compounds. *Science* 287:1503-1506

54. Perovic S, Pergande G, Ushijima H, Kelve M, Forrest J, Muller WE (1995) Flupirtine partially prevents neuronal injury induced by prion protein fragment and lead acetate. *Neurodegeneration* 4:369-374
55. Perovic S, Schleger C, Pergande G, Iskric S, Ushijima H, Rytik P, Muller WE (1994) The triaminopyridine flupirtine prevents cell death in rat cortical cells induced by N-methyl-D-aspartate and gp120 of HIV-1. *Eur J Pharmacol* 288:27-33
56. Otto M, Cepek L, Ratzka P, Doehlinger S, Boekhoff I, Wiltfang J, Irle E, Pergande G, Ellers-Lenz B, Windl O, Kretzschmar HA, Poser S, Prange H (2004) Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study. *Neurology* 62:714-718
57. Enari M, Flechsig E, Weissmann C (2001) Scrapie prion protein accumulation by scrapie-infected neuroblastoma cells abrogated by exposure to a prion protein antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9295-9299
58. Sigurdsson EM, Brown DR, Daniels M, Kascsak RJ, Kascsak R, Carp R, Meeker HC, Frangione B, Wisniewski T (2002) Immunization delays the onset of prion disease in mice. *Am J Pathol* 161:13-17
59. Gilch S, Wopfner F, Renner-Muller I, Kremmer E, Bauer C, Wolf E, Brem G, Groschup MH, Schatzl HM (2003) Polyclonal anti-PrP auto-antibodies induced with dimeric PrP interfere efficiently with PrPSc propagation in prion-infected cells. *J Biol Chem* 278:18524-185231
60. Heppner FL, Musahl C, Arrighi I, Klein MA, Rulicke T, Oesch B, Zinkernagel RM, Kalinke U, Aguzzi A (2001) Prevention of scrapie pathogenesis by transgenic expression of anti-prion protein antibodies. *Science* 294:178-182
61. Peretz D, Williamson RA, Kaneko K, Vergara J, Leclerc E, Schmitt-Ulms G, Mehlhorn IR, Legname G, Wormald MR, Rudd PM, Dwek RA, Burton DR, Prusiner SB (2001) Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature* 412:739-743
62. White AR, Enever P, Tayebi M, Mushens R, Linehan J, Brandner S, Anstee D, Collinge J, Hawke S (2003) Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature* 422:80-83
63. Doh-Ura K, Iwaki T, Caughey B (2000) Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J Virol* 74:4894-4897
64. Korth C, May BC, Cohen FE, Prusiner SB (2001) Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9836-9841
65. Turnbull S, Tabner BJ, Brown DR, Allsop D (2003) Quinacrine acts as an antioxidant and reduces the toxicity of the prion peptide PrP106-126. *Neuroreport* 14:1743-1745
66. Collins SJ, Lewis V, Brazier M, Hill AF, Fletcher A, Masters CL (2002) Quinacrine does not prolong survival in a murine Creutzfeldt-Jakob disease model. *Ann Neurol* 52:503-506
67. Barret A, Tagliavini F, Forloni G, Bate C, Salmona M, Colombo L, De Luigi A, Limido L, Suardi S, Rossi G, Auvre F, Adjou KT, Sales N, Williams A, Las-

- mezas C, Deslys JP (2003) Evaluation of quinacrine treatment for prion diseases. *J Virol* 77:8462-8469
68. Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, Furukawa H, Takahashi M, Yamauchi A, Kataoka Y (2004) Results of quinacrine administration to patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 17:158-163
 69. <http://www.ctu.mrc.ac.uk/studies/cjd.asp>
 70. Diringer H, Ehlers B (1991) Chemoprophylaxis of scrapie in mice. *J Gen Virol* 72:457-460
 71. Caughey B (1994) Protease-resistant PrP accumulation and scrapie agent replication: a role for sulphated glycosaminoglycans? *Biochem Neurodegen Disord* 22:163-167
 72. Caughey B, Brown K, Raymond GJ, Katzenstein GE, Thresher W (1994) Binding of the protease-sensitive form of PrP (prion protein) to sulfated glycosaminoglycan and congo red. *J Virol* 68:2135-2141
 73. Caughey B, Raymond G (1993) Sulfated polyanion inhibition of scrapie associated PrP accumulation in cultured cells. *J Virol* 67:643-650
 74. Perez M, Wandosell F, Colaco C, Avila J (1998) Sulphated glycosaminoglycans prevent the neurotoxicity of a human prion protein fragment. *Biochem J* 335:369-374
 75. Farquhar C, Dickinson A (1986) Prolongation of scrapie incubation period by an injection of dextran sulphate 500 within the month before or after infection. *J Gen Virol* 67:463-473
 76. Ehlers B, Diringer H (1984) Dextran sulphate 500 delays and prevents mouse scrapie by impairment of agent replication in spleen. *J Gen Virol* 65:1325-1330
 77. Kimberlin RH, Walker CA (1988) Pathogenesis of experimental scrapie. *Ciba Found Symp* 135:37-62
 78. Ladogana A, Casaccia P, Ingrosso L, Cibati M, Salvatore M, Xi YG, Masullo C, Pocchiari M (1992) Sulphate polyanions prolong the incubation period of scrapie infected hamsters. *J Gen Virol* 73:661-665
 79. Farquhar C, Dickinson A, Bruce M (1999) Prophylactic potential of pentosan polysulphate in transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet* 353:117
 80. Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, Sasaki K, Mohri S, Race R, Iwaki T (2004) Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol* 78:4999-5006
 81. Dawes J, Prowse CV, Pepper DS (1986) Absorption of heparin, LMW heparin and SP54 after subcutaneous injection, assessed by competitive binding assay. *Thromb Res* 44:683-693
 82. Dawes J, Pepper DS (1992) Human vascular endothelial cells catabolise exogenous glycosaminoglycans by a novel route. *Thromb Haemost* 67:468-472
 83. McGregor IR, Dawes J, Pepper DS (1985) Metabolism of sodium pentosan polysulphate in man measured by a new competitive binding assay for sulphated polysaccharides - comparison with effects upon anticoagulant activity, lipolysis and platelet A-granule proteins. *Thromb Haemost* 53:411-414
 84. Sie P, Albarede JL, Robert M, Bouloux C, Lansen J, Chigot C, Correll S, Thouvenot JP, Boneu B (1986) Tolerance and biological activity of pentosan

- polysulphate after intramuscular or subcutaneous administration for ten days in human volunteers. *Thromb Haemost* 55:86-89
85. Mulholland SG, Hanno P, Parsons CL, Sant GR, Staskin DR (1990) Pentosan polysulfate sodium for therapy of interstitial cystitis. A double-blind placebo-controlled clinical study. *Urology* 35:552-558
 86. Tardy-Poncet B, Tardy B, Grelac F, Reynaud J, Mismetti P, Bertrand JC, Guyotat D (1994) Pentosan polysulfate induced thrombocytopenia and thrombosis. *Am J Haematol* 45:252-257
 87. Emmett CJ, Stewart GR, Johnson RM, Aswani SP, Chan RL, Jakeman LB (1996) Distribution of radioiodinated recombinant human nerve growth factor in primate brain following intracerebroventricular infusion. *Exp Neurol* 140:151-160
 88. Gill SS, Patel NK, Hotton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, Brooks DJ, Svendsen CN, Heywood P (2003) Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 9:589-595
 89. Cornford EM (1985) The blood-brain barrier, a dynamic regulatory interface. *Mol Physiol* 7:219-260
 90. Neuwelt EA (2004) Mechanisms of disease: the blood-brain barrier. *Neurosurgery* 54:131-142
 91. Kroll RA, Neuwelt EA (1998) Outwitting the blood-brain barrier for therapeutic purposes: osmotic opening and other means. *Neurosurgery* 42:1083-1100
 92. Kemper EM, Boogerd W, Thuis I, Beijnen JH, van Tellingen O (2004) Modulation of the blood-brain barrier in oncology: therapeutic opportunities for the treatment of brain tumours? *Cancer Treat Rev* 30:415-423
 93. Pakulski C, Dybkowska K, Drobnik L (1998) [Brain barriers. Part II. Blood/cerebrospinal fluid barrier and cerebrospinal fluid /brain tissue barrier]. *Neurol Neurochir Pol* 32:133-139
 94. Fossan G, Cavanagh ME, Evans CA, Malinowska DH, Mollgard K, Reynolds ML, Saunders NR (1985) CSF-brain permeability in the immature sheep fetus: a CSF-brain barrier. *Brain Res* 350:113-124
 95. Czosnyka M, Czosnyka Z, Momjian S, Pickard JD (2004) Cerebrospinal fluid dynamics. *Physiol Meas* 25:R51-76
 96. Fenstermacher JD, Gherzi-Egea JF, Finnegan W, Chen JL (1997) The rapid flow of cerebrospinal fluid from ventricles to cisterns via subarachnoid velae in the normal rat. *Acta Neurochir Suppl* 70:285-287
 97. Abbott NJ (2004) Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology. *Neurochem Int* 45:545-552
 98. Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O'Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG (2004) Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect* - in press

プリオンタンパク質

Summary プリオンをめぐる諸問題は現代社会を象徴しているといえる。タンパク質の立体構造とダイナミクスという多体問題の大域解をめぐる未解決の問題群が、人獣共通の感染疾患を通じて世界を震撼させている。

プリオンの背後に潜むメカニズムを解明するためには、数学、物理学、化学、薬学、医学の各学問の垣根を越えた全学問的な取り組みが必要である。また、このような真剣な研究を通じて、はじめて根本的に新しい技術やブレイクスルーが生まれる。したがって日本経済を再生するための千載一遇のチャンスが、今まさに到来している、といえよう。

1. プリオンをめぐる現状

2001年9月10日、酪農家で飼育されていた乳用ウシの中から、日本ではじめてウシ海綿状脳症(BSE)の疑いのあるウシが一頭見つかった。翌日には世界貿易センター爆破テロ事件が起きて、世界中がこの大惨事一色となったため、このBSE報道はあまり注目されなかった。しかし、国産ウシではじめてBSEが発生したという、小さいけれども恐るべきニュースは、ボディー・ブローのようにじわじわと日本中に浸透していった。同月22日、疑わしいウシは、欧州産外ではじめてBSEと断定され、この時点から日本は、BSEに汚染された国として世界的に認知されるようになった。その後から現在までの経過は、新聞、週刊誌、インターネット上で

詳しく紹介されている通りである。

ヒツジの「スクレイピー」、ウシの「BSE」、ヒトの「ヤコブ病」はいずれも「プリオン」という感染性のタンパク質によって引き起こされる疾病である¹⁾。これら「プリオン病」は致死性の感染疾患であり、現時点において、有効な治療法は確立されていない。また、種の壁を越えて伝達するいわゆる人獣共通感染症である可能性も指摘されている(変異型ヤコブ病)²⁾。

「プリオン」という感染性の粒子(タンパク質の一種)は、カリフォルニア大学サンフランシスコ校の神経学者、スタンリー・プルシナー(Stanley B. Prusiner)博士によって発見され、命名された。同博士は、その功績により、1997年、ノーベル賞を受賞した(コラム参照, p. 329)³⁾。

「スクレイピー」はヒツジとヤギがかかる致死性脳疾患である。ヨーロッパですでに250年前から知られていた。感染したヒツジは皮膚を擦ったり、引っ掻いたりするが、やがて脳の変性により死に至る。

BSEは最初、1986年にイギリスで報告された。スクレイピーにかかったヒツジの肉を食べたウシが発症したと考えられている。BSEにかかったウシは、現在までに、約18万頭に達している。

「クロイツフェルト・ヤコブ病」はヒトにおける致死性脳疾患である。これはきわめてまれな病気で、約100万人に1人の割合でおもに老年期に発症する。しかし、「変異型ヤコブ病」は、プリオンに感染したウシを食することにより起こると考えられており、比較的若い青年層に発症するのが特徴である。MRI、脳脊髄液などに変化が見られ、症状としては手足の痛み、しびれ感、ミオクローヌスなどが見られる。また、幻覚、妄想などの精神症状が初期に出現するため、まず精神科を受診する例が多い、と報告されている²⁾。先に述べたように、現時点でもいくつかの治療薬の候補はあるものの、確立された治療法はない。現在多くの研究者が、プリオン病治療薬の開発に凌ぎを削っている段階である⁴⁾。

プリオンには二種類の立体構造、すなわち「かたち」がある。正常な「かたち」と異常な「かたち」である。正常プリオンは、病原性をもつ異常プリオンへと「かたち」を変えることができる。正常プリオンがいったん、異常プリオンに変わると、ほかの正常プリオンを異常プリオンに変える能力をもつようになる。つまり、異常な性質は感染する力をもっている。したがって、この異常化反応が連鎖的に起きるようになり、やがて脳内のプリオンはほとんど異常型へと変化する。異常プリオンはその一部が分解されるものの、十分な量の異常プリオンが蓄積すると、今度は脳組織の破壊が始まる。すなわち、神経細胞が死んでゆく。やがて、脳では神経細胞が抜け

落ち、穴のあいたスポンジのような状態を呈するようになる〔伝達性海綿状脳症 (transmissible spongiform encephalopathy : TSE)〕。

正常プリオンは、健康な動物の脳内に多数存在しているが、その正常機能は現段階では不明である。プリオンをノックアウトしたマウスにおいても、通常の生理学的検査では異常は認められない²⁾。しかしプリオン遺伝子は、動物の進化を通してよく保存されている。このことは、プリオンの存在が動物の生存に必要であることを強く示唆している。日本史ではよく、「〇〇の飢饉」という言葉を耳にする。動物の歴史においても食料難の時代が何度もあったと考えられる。もしこのようなとき、生物同士が共食いを始めたらその種は生き残れない可能性がある。プリオン機構は、共食いによって感染が広がり、共食いを行った生物を死に迫りやるわけだから、少なくとも共食いを抑制する働きはあるだろう。いわば、有事の際に種を保存するための機構である。しかし、プリオンの平時における生理機能はいまだ不明である。

一方、異常プリオンはきわめて丈夫である。細菌やウイルスのように、紫外線照射や、沸騰処理、ホルマリン処理では、感染性はなくなる。プリオンは増殖するが、生物ではない。もともと生きていないので、殺すことはできない。プリオンは単なる化学物質なので、その立体構造を壊すか、共有結合を分解するしか手が無い⁵⁾。前者が変性剤(4Mグアニジン塩酸)処理、後者が加水分解(1N NaOH処理)処理に相当する。

タンパク質が原因で脳神経系が変性してゆく病気は、アルツハイマー病やハンチントン舞踏病など、ほかにも多数あるが、感染性が証明されているのは、今のところプリオンのみである。

1960年代後半、アンフィンセン(C. B. Anfinsen)は、タンパク質の構造は一次構造(アミノ酸配列)により一義的に決まると唱え、ノーベル賞を受賞した⁶⁾。しかし、同じアミノ酸配列でも複数の立体構造を有するプリオンの発見は、Anfinsenの仮説に見られるような従来からのタンパク質に対する概念を根底から変えつつある。

2. タンパク質ダイナミクス的一般概念

タンパク質は、多数の原子からなっている。たとえば、プリオンを構成する原子は1万個以上ある。この原子が結びついて1本の長い紐を形成している。タンパク質は、この紐が綺麗に丸まって、定まった「かたち」が取れるように進化してきた高分子である。

古典力学の研究から、多数の粒子からなる系は、われわれの想像を超えた複雑で奇妙な振舞いを示すことが知られている。三体問題がその例である。計算機シミュ

レーションの結果は、わずか三体といえどもきわめて複雑である。

タンパク質のような系では、原子核の運動が問題となるので、このような古典的カオスが支配的である。古典系は連続系であるから、そのエネルギーレベルも当然、連続的なスペクトルをもつと考えられがちである。しかしタンパク質のエネルギーレベルは、離散的である。たとえば、タンパク質が変性して伸びた構造から天然構造へと構造を形成して行く際に経由したエネルギー状態をシミュレーションすると、天然構造に至る途中に中間状態が複数存在していることがわかる。連続な古典系であるにもかかわらず、そのエネルギーレベルは離散的である⁷⁾。

実際、連続な古典カオス系に離散的なエネルギーレベルが存在することは、基本的なトレース公式により示される⁸⁾。それによれば、鞍状点付近では、系のダイナミクスは周期 $T_p \sim \ln(p)$ を有する周期軌道で記述できる。ここで p は素数を表す。さらに、無限次元ガウスユニタリ行列 (GUE) はカオスを表現するが、その固有値間隔の間隔がリーマン ζ 関数の零点の間隔とほぼ一致することが計算機実験により示されている⁹⁾。

このように古典カオス系一般に離散的なエネルギーレベルが存在することは、タンパク質においても、離散的なエネルギーレベルが存在し、複数の立体構造の間で遷移(交換)が起きているというNMRなどによる観測結果を理論的にも根拠のあるものにしていく。

プリオンにおいても、このような複数のエネルギーレベルに相当する立体構造(中間体構造)が正常プリオンと異常プリオンとの中間に存在するのではないかと推定されている¹⁰⁾。

3. タンパク質のミスフォールディングによる疾患群

ヒトの脳・脊髄神経細胞が徐々に変性してゆく疾患、いわゆる神経変性疾患は、20年前は原因がまったくわからないものがほとんどで、治療法も皆無であった。現在では、かなり多くの疾患で少なくとも原因だけはわかり始めている(表1)。しかし、根本的な治療法はほとんど確立されておらず、その点では昔とあまり変わらない。しかし、アルツハイマー病の治療薬開発などで多くの試みが進んできており、治療薬が出現するのもそれほど遠い未来ではないと期待されている。

表1の中で、「プリオン病」は唯一の感染性疾患であるが、はじめに述べたように、「プリオン」というタンパク質が原因である。

「アルツハイマー病」の有病率は、65歳以上では約2%であり、高齢化が進むに従い飛躍的に増加してきている。今後、高齢化社会の最大の問題となるだろう。この

表1 種々の神経変性疾患

病名	タンパク質	正常構造	異常構造	蓄積部位
プリオン病	プリオン	α ヘリックス (PrP ^C)	β シート (PrP ^{Sc})	細胞外
アルツハイマー病	A β ペプチド, τ タンパク質, APP, PS1, PS2, ApoE	α ヘリックス	β シート (アミロイド斑)	細胞外
筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	SOD1, ALS2	可溶	凝集 (ブニナ体)	細胞質
家族性ハンガリー痴呆	トランスサイレチン	α ヘリックスおよび β シート	β シート	細胞外
前側頭葉痴呆 (ピック病)	τ タンパク質	可溶	凝集 (ピック体)	細胞質
ハンチントン舞踏病	ハンチンチン	可溶 (CAG繰り返しが35以下)	凝集 (CAG繰り返しが35以上)	核内
パーキンソン病	α シヌクレイン, パーキン	可溶	凝集 (ルイ体)	細胞質
脊髄小脳麻痺	SCA1, SCA2, SCA3	CAG繰り返しがわずか	CAG繰り返しが多い	核内
歯状球淡蒼核ルイス体萎縮	アトロフィン1	CAG繰り返しが36以下	CAG繰り返しが49以上	核内
脊髄球筋萎縮	アンドロジェンレセプター	CAG繰り返しが36以下	CAG繰り返しが40以上	核内

疾患の原因は、「アミロイド β ペプチド」の蓄積による神経細胞死であると考えられている。

映画「BACK TO THE FUTURE」のヒーロー、マイケル・J・フォックスが罹患したことで有名な「パーキンソン病」は、「 α -シヌクレイン」というタンパク質の構造異常が原因である。

一方、ハンチントン舞踏病では、グルタミン(表1参照)というアミノ酸をコードしているCAGというコドンの繰り返しが異常に増加する疾患(トリプレットリピート病とよばれる疾患群の中の一つ)であり、繰り返しの数が40に近づくと、病気になる可能性が高くなると考えられている。そのほかにも、同様の機構で発症する疾患として、フリードライヒ (Friedreich) 失調症、脆弱X症候群、筋緊張性ジストロフィー症などが知られている。

このグルタミンの繰り返しの数は世代とともに増加する傾向にある。その原因は

今のところよくわかっていないが、遺伝子が進化する際の内部規則とどうも関連があると考えられている。もちろん、「プリオン病」以外の「アルツハイマー病」、「パーキンソン病」、「ハンチントン舞蹈病」などの「トリプレットリピート病」には、感染性は確認されていない。

これらの神経変性疾患におけるタンパク質構造異常の共通の特徴は、「分子間の β シート」とよばれる構造が増加し、タンパク質が凝集する傾向が強くなる点にある。しかし、 β シート構造は、正常なタンパク質にごくふつうに見られる構造であり、 β シートがつねに病気を引き起こすわけではない。

4. プリオンの正常と異常立体構造

4.1 分光学的性状

赤外線やラマンスペクトルでは、第2章で述べた α ヘリックスや β シートの量を大雑把に推定することが可能になる。図1はフーリエ変換赤外スペクトルのアミドIバンドを示す²⁾。実線は正常プリオン(PrP^{C})で、 1653 cm^{-1} にピークがあり、 α ヘリックスが多いことを表している。一方破線は異常プリオン、点線は PrP^{27-30} (アミロイド型の異常プリオン)で、ともに β シートが多いことを表している。スペクトルから計算すると、 PrP^{C} は α ヘリックスが42%、 β シートが3%であるが、 PrP^{Sc} や PrP^{27-30} では、それぞれ43%、54%であり、 β シートが著しく増加していることがわかる。

図2に円二色性スペクトルを示す²⁾。 PrP^{C} を▲で示すが、208 nmに極小が、また222 nmに肩があり、1本以上の α ヘリックスの存在を示している。平均の α ヘリッ

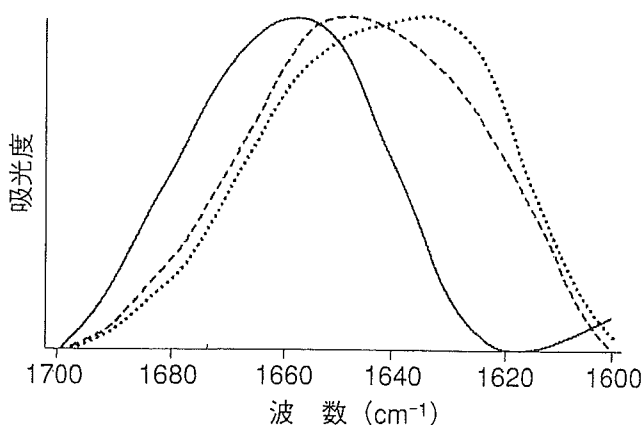


図1 フーリエ変換赤外スペクトル(FTIR)

実線： PrP^{C} 、鎖線： PrP^{Sc} 、点線： PrP^{27-30} (N末端が切断されてアミロイド状になったもの)。

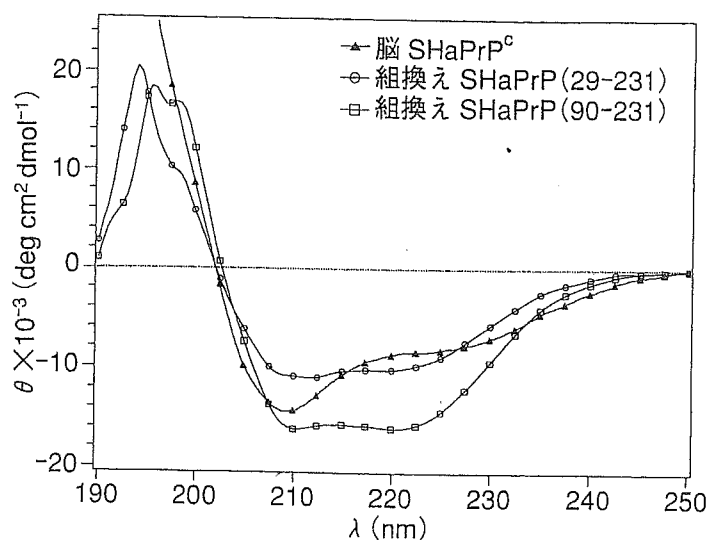


図2 円二色性スペクトル(CD)

表2 プリオンにおける正常および異常立体構造の差

性質	PrP ^C	PrP ^{Sc}
プロテアーゼ耐性	なし	残基90-231を含む安定核
S-S結合	あり	あり
糖鎖除去後の分子量	16kD[rPrP(90-231)]	16kD(PrP27-30)
二次構造	α ヘリックス優勢	β シートに富む
超遠心	単量体	多量体, 凝集体
結合可能なエピトープ	109-112 138-165 225-231	225-231
自由エネルギー	$\Delta G = 6 \sim 8 \text{ kcal/mol}$	

クスの長さを14残基とすると, 36%が α ヘリックスと計算できる。

現在までわかっている, 正常プリオンと異常プリオンの構造の違いをまとめて, 表2に示す²⁾。簡単にいえば, 異常プリオンは正常プリオンとアミノ酸配列が等しく, S-S結合もきちんと保存している。しかし異常プリオンは, タンパク質分解酵素(プロテアーゼK)に耐性であり, β シート構造をたくさん含んでいる。

ちなみに現時点では, アミロイド構造と異常プリオン構造とはあまり関係がないと考えられている。その理由は以下のようなものである¹¹⁾。

- (1) 異常プリオンはアミロイド線維をつくりやすい性質がある。したがって、アミロイドは感染性を有することができる。しかし一方で、感染性をもたないアミロイドも多数存在する。したがって、アミロイド形成と感染性とは直接の関連がない。
- (2) N端を取り除かれた異常プリオンPrP²⁷⁻³⁰はアミロイドを形成するが、全長の異常プリオンはアミロイドを形成しない。しかし、ともに感染性を有する。したがってアミロイドは感染性をもちうるが、感染性をもつためにアミロイドが必須なわけではない。
- (3) 病理学的にアミロイドが見られないプリオン病は進行が速く、症状も強い。実際、ヒトのプリオン病ではアミロイドはあまり観測されない。アミロイドが出現する例では、進行も遅く、症状もマイルドである。したがってアミロイド形成や小体形成は、異常立体構造の毒性、あるいはオリゴマーの毒性を抑える生体防御反応機構の一部と考えることができる。
- (4) たとえばヘモグロビンで考えてみると、確かに鎌状赤血球症では、異常ヘモグロビンの結晶化が見られる。しかし、よく知られているように、正常ヘモグロビンでも結晶化することは可能である。すなわち、タンパク質が結晶化する現象と病原性とは、本来、独立の事象である。実際、条件さえ選べば、多くの正常タンパク質が結晶化することはよく知られている。アミロイド自体は、何十年も前からその存在は認識されており、一般に一次元の結晶と考えられる。プリオン研究において重要なのは、このようなアミロイドではなく、単量体、若しくはオリゴマーの異常立体構造が原子レベルでどのようになっているかを理解することにある。ドブソン(C. Dobson)らは、どのようなタンパク質でも、条件さえ選べば、アミロイド形成が可能であると考えている¹²⁾。ほかの神経変性疾患においてもおそらく単量体、もしくはオリゴマーの異常立体構造の病原性が問題であろうと考えられる。

4.2 NMR構造

核磁気共鳴(NMR)法により、はじめて正常プリオンのタンパク質立体構造が解かれた。正常プリオンの二次元¹H-¹⁵N相関NMRスペクトルを図3に示す。このスペクトルには、ペプチド結合のアミド基(NH基)の部分のみが見えている。タンパク質の中では、各原子のおかれている電子環境が微妙に異なるため、核スピンの共鳴位置が異なる。つまり、この1枚のスペクトルには、プリオンを構成する全アミノ酸のアミド基が分離して見えている。スペクトル中のピークがどのアミノ酸に対

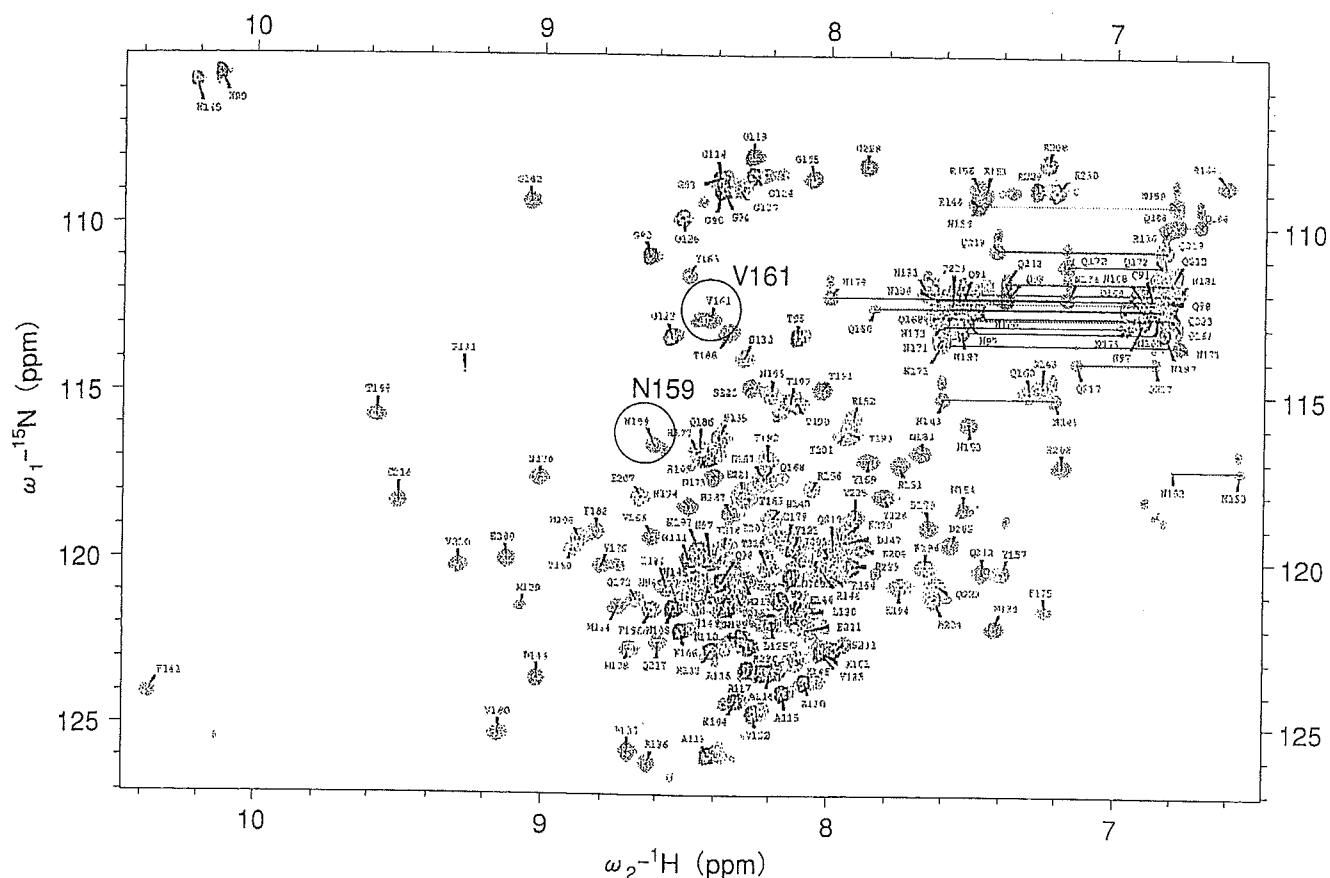


図3 核磁気共鳴(NMR)スペクトル

応しているのかは、多次元(三次元以上)多核NMRスペクトルを解析することにより明らかとなる。

興味深いことに、いくつかのアミノ酸のNH基は、複数のピークを有している。たとえば、図3でアスパラギンの159番や、バリンの161番がそれである。このことは、生理的条件下でも、プリオン立体構造がすでに複数あることを示している。

スペクトル上の $^{13}\text{C}_\alpha$ や $^1\text{H}_\alpha$ のピーク位置から、それが属するアミノ酸が、 α ヘリックスか、あるいは β シートを形成しているかを判別することが可能となる。図4に、その結果が示してある²⁾。 C_α (図4上段)と CO (図4中段)では上向きの棒が α ヘリックス、下向きの棒が β シートを示す。 H_α (図4下段)ではその逆である。これから、アミノ酸の番号で、144~156番、172~194番、200~227番の3本の α ヘリックスがあることがわかる。また、159~164番が β 鎖になっていることもわかった。しかし、 β シートをつくるためには、もう1本のかたわれの β 鎖が必要となる。これは、128~133番に相当することが構造計算をしてみてもわかった。

またNMRスペクトルを用いて、原子核間の距離を推定することが可能となる。多数の核間距離がわかると、その情報をもとにして、タンパク質の立体構造を計算

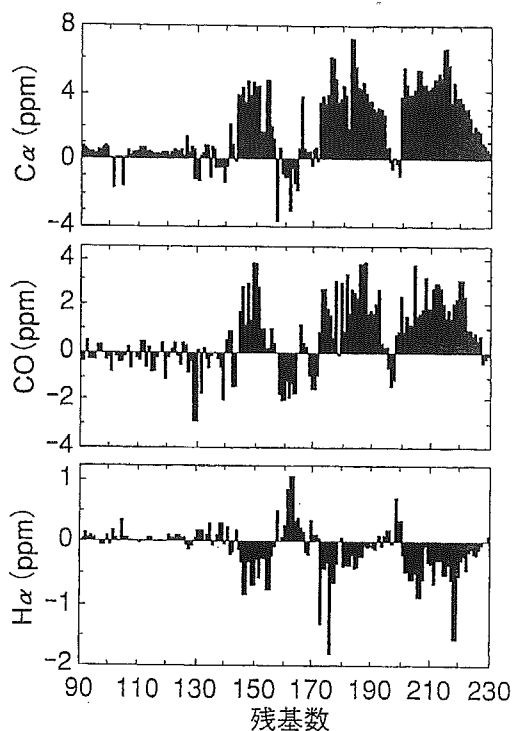


図4 化学シフトインデックス(CSI)

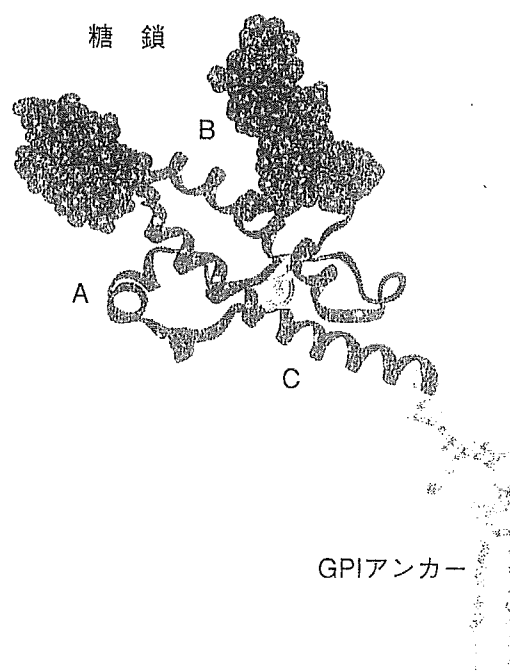


図5 NMRによって決定された正常立体構造

タンパク質部分は実験的に得られたが、糖鎖部分は予想。

機上で作りあげることが可能となる。また、上に述べた二次構造などに関する情報などとも矛盾しないように、立体構造をつくりあげることが可能である。

このようにして決定された構造を図5に示す²⁾。N末端から、 β ストランドS1、ヘリックスA、 β ストランドS2、ヘリックスB、Cからなっている。

4.3 X線構造

21世紀に入ってはじめて、正常プリオン二量体のX線構造が決定された¹³⁾。この構造は二量体ではあるが、正常プリオンと考えられる。特徴的なことは「ドメインスワッピング」といわれる特徴的な分子間相互作用を起こしていることである。しかしこの構造が、異常プリオンとどのような関係にあるかはまだわかっていない。

4.4 電子顕微鏡構造

電子顕微鏡を用いて、異常プリオン(PrP^{Sc})立体構造が推定された(図6)。ホルガー(Holger)らは、電子線画像へのフィッティングから左巻きの β ヘリックス構造を提案している¹⁴⁾。

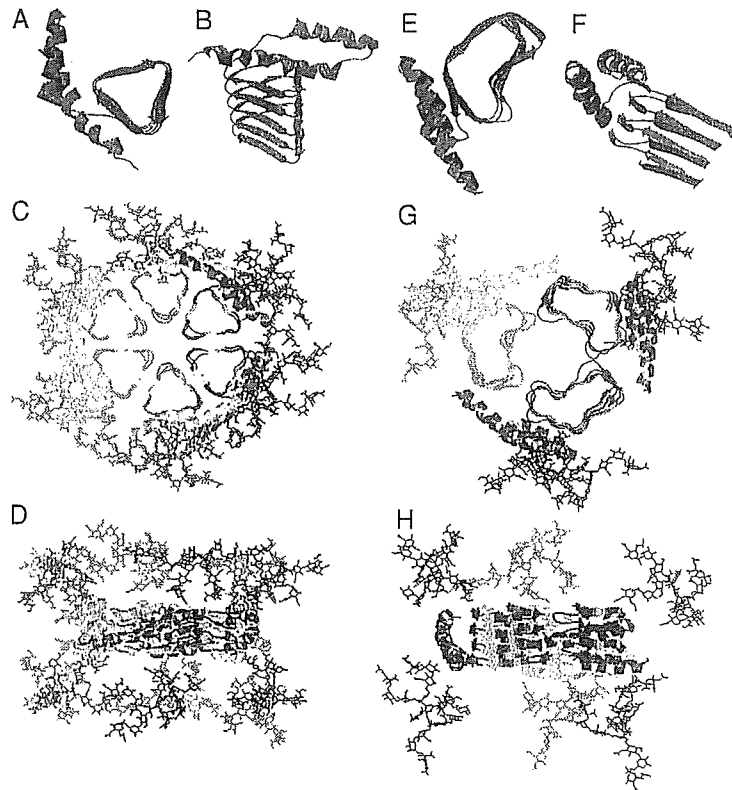


図6 電子顕微鏡により解析された異常立体構造のモデル

4.5 銅との結合部位の構造

第2章で述べたように、プリオンは銅と結合する。銅と結合することにより、アミノ末端の構造が安定化される。結合部位近傍の構造は電子スピン共鳴(ESR)により決定された¹⁵⁾。

4.6 立体構造揺らぎと熱安定性

正常立体構造(PrP^{C})から異常立体構造(PrP^{Sc})への変換には、タンパク質の大きな構造変化が関与する。したがって、 PrP^{C} の熱揺らぎ、熱安定性、ほかのタンパク質との相互作用などを原子分解能で明らかにすることが重要であり、かつ薬剤開発などに役立つ。現在までに、明らかになった情報を図7にまとめた¹⁰⁾。

5. プリオン病治療薬開発への挑戦

プリオン病に対する確立した治療法はいまだ存在しない。しかし現在、すでに多くの治療法が試みられている。大きく分けて三つあると考えられる。

- (1) 異常プリオンに対する抗体療法
- (2) ドミナントネガティブインヒビションの応用
- (3) 低分子化合物の探索

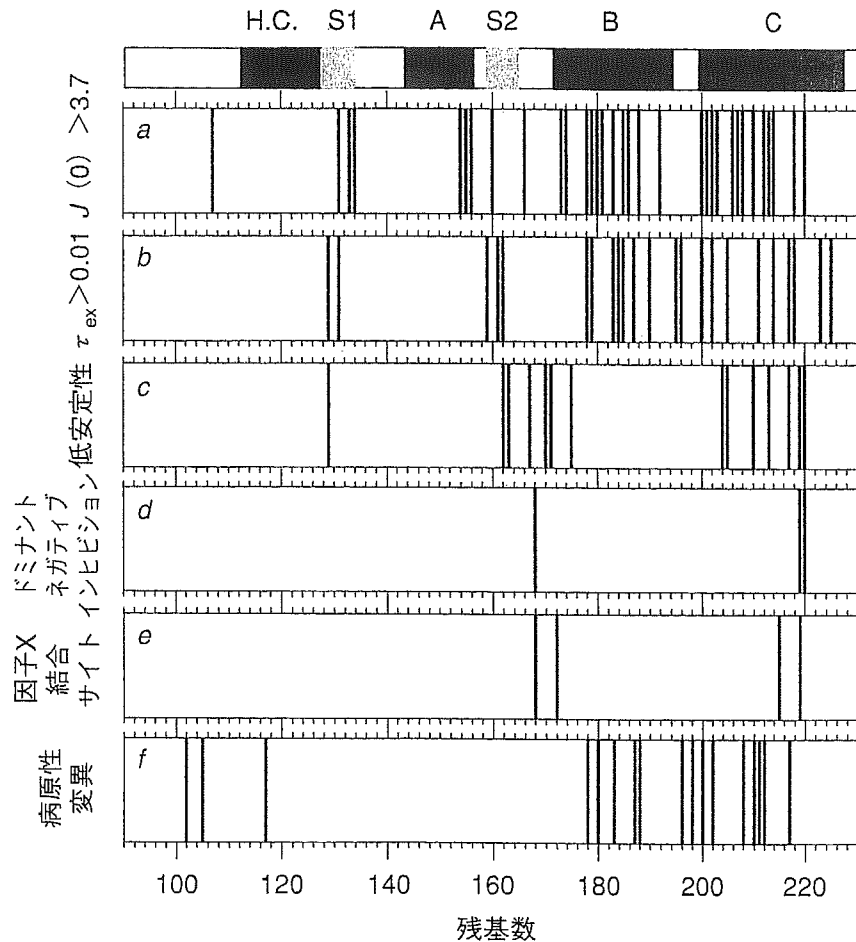


図7 PrP^Cにおける立体構造揺らぎと熱安定性との関係

$J(0)$ ：スペクトル密度関数の0 Hzでの値， τ_{ex} ：立体構造揺らぎを示す遅い交換反応の時間定数が0.01秒以上，低安定性：高压NMRの実験結果より得られた熱安定性の低いアミノ酸部位，因子X結合サイト：プリオンの正常から異常への構造変換を触媒すると考えられている因子Xのプリオンへの結合サイト，病原性変異：その部位のアミノ酸に変異があると、何らかの疾患を引き起こすことがわかっている部位。

実際、抗体療法はプリオン産生抑制に有効であることが示されたが、*in vivo*テストでの有効性、および脳への移行性はいまだ不明である。

ドミナントネガティブインヒビション効果は、マウスではQ167R, Q218K, ヒツジでは171コドンがQ/RまたはQ/Q, ヒトでは219コドンがE/K(日本人の12%, 残りはE/E), ウシではQ179R, Q230K(予想)の変異を有する個体がプリオン病を発病しにくいという観測に基づくものである。これらは、直接応用するのは難しいかもしれないが、将来、このような変異プリオンを過剰に発現することが脳内で安全に行えるようになれば、治療につながる可能性がある。

最後の低分子化合物の探索は、プリオンタンパク質の立体構造変換機構に関連する特定の部位に、選択的に結合することにより、プリオンタンパク質の立体構造変

換を抑制する薬剤を，プリオンの立体構造とその熱安定性に基づいて論理的にデザインし，実際に有機合成する方法である。

6. おわりに

雑誌『Time』に何回も掲載されたタンパク質は，プリオンだけである。また，一般の人が最もよく知っているタンパク質はおそらくプリオンである。プリオンは，なぜ，注目されるのだろうか？

プリオンは，タンパク質であるのに増殖能を有する。この事実が，プリオンをタンパク質の代表格ともいうべき，特別な地位に押し上げている。また，感染のメカニズムがよくわかっていないため，種々の謎めいた側面を含んだまま研究が進行している。

一方で，タンパク質科学において，あまりにも多くの問題が未解決である。熱力学は現象を整理するのには役立つが，熱力学の言葉で語られるかぎり，個々の原子のダイナミクスに関しては類推の域をでない。同様に，立体構造形成過程は，フォールディングファネルを用いてモデル化されることが多いが，ファネル形成に必要なバイアスが生じる根拠を現段階では理論的に正当化することは難しい。このようなことを考えると，プリオン機構を説明する言葉は，現在のタンパク質科学にはいまだ存在しないといえるのではないだろうか？ プリオンにまつわる謎と，タンパク質科学の未発達——この両者の事情が相俟って一層謎めいた様相を呈している。

さらにprionという名称は，Prusiner博士が名づけたものであるが，非常によく考えられた名称である。pri-という接頭語は，priority, princeなどに見られるように，第一の格づけの意味を暗に含んでいる。

タンパク質科学理論は，多体問題という根本的なテーマにはそもそも触れないように発展してきた。それは，もともと解けないものには触れないという学問的な理由もあっただろう。しかし，タンパク質の立体構造形成過程，遅い揺らぎ，プリオン機構などの問題を真に理解するために，多体問題の大域解を何らかの形で把握する必要性が，今，でてきているのではないだろうか？

近年サイエンスにおいて，“百聞は一見に如かず”といった考え方が増えているように思われる。確かに，見えないより見えるに越したことはない。これはサイエンスの大衆化とも大きく関連しているともいえるだろう。しかし，よくよく考えて見ると，たとえば“見えた”ことによりその存在を“受容”することはできたとしても，論理的に“理解”できるとはかぎらないのではないだろうか？ むしろ量子力学の歴史が示すように，たとえ“見え”なくても理論が整理されていればその現象を論理的