

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～18年度 総合研究報告書

主任研究者 堂浦 克美

平成19年（2007年）4月

目 次

ページ

I. 総合研究報告書	
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 堂 浦 克 美（東北大学大学院医学系研究科）	・・・ 1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・ 21
III. 研究成果の刊行物・印刷	・・・ 38

総合研究報告

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
総合研究報告書

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

実効性のあるプリオン病治療法の確立を目指して、臨床研究としてペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法（PPS療法）等をプリオン病患者に実施し、その効果と安全性を検討した。また、基礎研究として末梢投与で有効な治療薬開発等を行った。臨床研究では、PPS療法は若年発症者で生命予後改善効果があること、長期治療例で硬膜下水腫を高率に合併することを明らかにした。また、標識化合物 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ を用いた脳内プリオンアミロイドPET画像検査を実施し、病勢診断や治療評価に応用できる可能性を明らかにした。一方、末梢投与できる治療薬の開発研究では、治療効果や発症予防効果のある治療候補化合物を4種類発見した。その中の2種類は近い将来の臨床応用が期待できるものである。

分担研究者

山田達夫	福岡大学医学部・教授（平成16年－18年度）
福島武雄	福岡大学医学部・教授（平成16年－18年度）
片岡泰文	福岡大学薬学部・教授（平成16年－18年度）
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（平成16年度）
山田正仁	金沢大学大学院医学系研究科・教授（平成16年度）
児玉南海雄	福島県立医科大学医学部・教授（平成16年度）
村本環	東北大学大学院医学系研究科・助教授（平成16－17年度）
西田教行	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教授（平成16－18年度）
志賀裕正	東北大学病院・講師（平成18年度）
坂口末廣	徳島大学分子酵素学研究センター・教授（平成18年度）

A. 研究目的

多数の医原性プリオン病が発生している我国において、実効性のある予防治療法が求められているが、本研究では日本発の画期的治療法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（PPS療法）をプリオン病患者に実施し、その効果と安全性について検討を行い、同治療法の普及と治療プロトコールの完成をめざす。また、末梢からの投与が可能な次世代型治療薬の開

発や基礎研究の視点から画期的治療法となる方策の開発を行い、臨床応用に向けて基盤を整える。

B. 研究方法

臨床研究

臨床研究の開始に先立ち、実務に携わる医療スタッフ全員への教育と使用器具類の取扱注意を徹底し、入念にシミュレーションを繰り返した（福島、山田）。診断はWHO診断基準に従い、実験的治療への同意

が得られた患者で、腹部皮下への微量注入器具の埋め込みと脳室内カテーテル留置を行い、PPS療法を実施した（福島、山田）。120 ug/kg/日を標的維持量として神経学的所見、血液生化学所見、頭部画像所見、神経生理学所見、各種神経学的スクリーニングによる治療効果及び副作用の評価を行った（山田）。主任研究者が関与した海外実施例について効果と安全性を同様に調査した（山田、堂浦）。脳室内投与における薬物動態を解析するため患者髄液中のPPS濃度を測定した（片岡）。

また、病勢診断の手段として、同意の得られた患者で標識化合物 $[^{11}\text{C}]$ BF-227を用いたPET法による脳内プリオンアミロイド画像検査を実施し、その有用性と安全性を検討した（志賀）。日本脳神経外科学会、日本神経学会、CJDサーベイランス委員、「プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究班」班員に本治療法の啓発活動を行うと共に適応症例の早期発掘に努めた（児玉、水澤、山田（正））。

基礎研究

プリオン持続感染細胞等を用いて化合物のスクリーニングを行い、治療効果のあるものについて疾患マウスへの末梢投与で治療予防効果を評価した（堂浦）。RNA干渉による遺伝子スクリーニングを行い、新たな治療開発のターゲットとなる宿主因子を探索した。また *in vitro* プリオン蛋白アンフォールディング活性測定法を開発しプリオン蛋白構造変換に関わる宿主因子を探索した（堂浦）。さらに PPS等の硫酸多糖が作用するプリオン蛋白部位を解析した（堂浦）。効率的な候補化合物の絞り込みのため、プリオン蛋白の構造解析を行い構造的揺らぎ部位の同定と、その領域を標的とした化合物のインシリコ・ス

クリーニングを実施した（西田）。感染マウスで観察されているプリオン感染干渉現象の機序解明のため、培養細胞で同現象を再現し、自然免疫系の関与を検討した（西田）。また、神経再生療法開発の基礎研究として神経分化能を持つ骨髄間質細胞について、プリオン感染能を検討した（西田）。さらに、治療効果を持つ抗プリオン蛋白抗体を利用した治療法として、同抗体を効率的に脳内にデリバリーするためにミクログリアを応用する方法の開発に着手した（坂口）。薬物脳移行性を簡便に評価できる検定キットを開発した（片岡）。プリオンの神経変性における *fyn* の関与をノックアウトマウスを用いて検討した（村本）。また、神経変性機序解明と治療薬開発の迅速化に欠かせない疾患早発動物の候補として、プリオン蛋白とインフルエンザウイルス HA 蛋白との融合蛋白を発現する遺伝子改変マウスを作出した（村本）。

（倫理面への配慮）

臨床研究は、各施設の倫理審査委員会の承認のもと、副作用が出現する可能性について十分な説明を行い、患者あるいは患者家族のインフォームドコンセントを取得した上で実施した。動物を用いた研究は、各施設の動物実験審査委員会の承認の元、動物愛護に十分配慮して実験を行った。

C. 研究結果

(1)画期的治療の臨床研究

我国の9名の患者（男：女=2：7、55～73歳）でPPS療法を実施した。周術期の合併症として1例で脳室内カテーテルの留置不全があり、再留置術を必要とした。埋め込み・留置手術に起因する有害事象はなかった。PPS投与開始後も、注入ポンプ不全やカテーテル閉塞などはな

かった。投与慢性期において、6名の患者で硬膜下水腫、1名でけいれん、1名で少量の脳室内出血が認められた。これらは経過観察中に消失するものがほとんどであったが、1名では硬膜下水腫が進行するためPPS治療を中止し、中止後も水腫が残存した。PPS治療開始後も進行性経過を示したのは孤発性または医原性症例の5例で、神経学的検査等の諸検査で治療効果を証明できなかった。一方、元々経過が緩徐進行であるV180I家族性プリオン病患者やMM2型と考えられる孤発性CJD患者では、PPS治療開始後も臨床症状の変化は見られていない。残り2例は、PPS治療を最近開始したため評価には尚早である。

我国の治療例の成績を海外症例と比較検討するため、主任研究者が関与した欧米のPPS治療症例の情報を解析した。変異型CJD、医原性CJD、GSS、孤発性CJD患者の16症例（男：女=8：8、17～60歳）（PPS維持量、11～220ug/kg/日）で、病型別に治療効果を見たところ、どの病型でも明らかに若年者ほど長期生存する傾向があった。特に、変異型CJDでは治療例は他の症例より遥かに長期生存しており、生存期間から判断してPPS療法の効果は明らかである。ただし、大脳や小脳の萎縮を止めたり、高次機能障害を回復させることは出来なかった。また、我国の症例と同様に、長期投与例では硬膜下水腫を合併し、一時的なPPS投与中止で水腫の消失が観察された。

治療評価手段にもなり得る病勢診断の新ツールとして脳内プリオンアミロイドのPETを用いた画像化を2名のプリオン病患者で実施した。1名は孤発性CJD患者で、大脳皮質、視床、小脳皮質でシグナル亢進が観察された。もう1名はGSS患者で、大脳皮質及び小脳皮質に強

いシグナル亢進が観察された。有害事象は観察されなかった。

(2)次世代型治療法開発の基礎研究

脳内感染マウスへの経口投与で延命治療効果のある化合物compBを発見した。compBは検討した4種類のプリオン株の中で1種類に無効であった。また、compBは高いCYPアイソザイム阻害活性を持ち脂溶性が高すぎるなど安全性に問題があり、物性を改善する必要があることも判明した。

経口・外用以外の投与方法で著明な治療効果と予防的効果を持つ化合物を発見した。検討した4種類のプリオン株による脳内感染の全てに有効で、末梢からの感染では極めて優れた発症予防効果を発揮した。マウスでの単回投与毒性試験では8g/kgまでの皮下投与で毒性がなく、静脈内に投与した際には数時間内に大半が尿中に排泄されること、皮下に投与した際には徐放的に徐々に血管内に吸収されていくことを確認し、ヒトへの応用が可能であるとの感触を得た。

異常型プリオン蛋白構造を緩解する効果のある臨床薬については、腹腔内感染動物で、皮下への単回の投与にもかかわらず有意な発症遅延効果が観察された。また、この臨床薬のどの成分が抗プリオン活性を持っているのか、有効成分の絞込みを行った。その結果、有効成分は20kDa以上の分子サイズを持つ蛋白質であることが判明した。

RNA干渉技術を用いた遺伝子スクリーニングでは、新たな治療薬開発の標的となる4つの候補を同定した。そのうちの3つは受容体関連蛋白であり、そのうちの1つでは受容体阻害化合物の投与によりプリオン持続感染細胞でプリオン産生阻害効果が確認できた。

In vitro プリオン蛋白アンフォールディング活性測定法を用いて、

正常プリオン蛋白をアンフォールドする分子として Hsp90 と Grp94 を見出した。これらのシャペロン蛋白質は、プロテアーゼに部分耐性をもつ銅イオン結合型プリオン蛋白をヌクレオチド存在下でアンフォールドし、プリオン蛋白の代謝や機能調節に関与する可能性を示した。

硫酸多糖体であるヘパリンについて、プリオン蛋白の相互作用部位について解析したところ、ヘパリンの特徴的な二糖構造がプリオン蛋白 N 末端ドメインに結合することを発見した。

プリオン蛋白の構造ダイナミクスに基づく論理的創薬の手法を用いて治療化合物を絞り込み、その中のいくつかを検討したところ、特異的にプリオン蛋白に結合し疾患マウスへの末梢投与で治療効果を認める新規化合物 GN8 を発見した。

ワクチン療法に結びつく可能性のあるプリオン感染干渉現象について、培養細胞で同現象を再現することに成功した。この現象への自然免疫系の関与を検討したが、有意な発見はなかった。さらに、神経再生治療に関しては、神経分化能を持つ骨髄間質細胞がプリオンに持続感染すること、罹患動物の同細胞がプリオンに感染していることを発見し、同細胞はプリオン病治療には不適であることを明らかにした。

また、抗プリオン蛋白抗体を用いた治療法開発研究では、同抗体の脳室内への持続注入が疾患マウスの生命予後を改善することを発見した。同抗体を効率的に脳内にデリバリーするため同抗体過発現マイクログリアの作製準備を行い、同抗体遺伝子の細胞での発現による同抗体の再構成に成功した。

プリオン病治療候補薬物の探索には、薬物の脳移行性の評価が必要不可欠であり、血液脳関門 (BBB) の構成細胞 (脳血管内皮細胞、ペリ

サイト、アストロサイト) から再構築した *in vitro* BBB モデルを開発した。

GPI アンカーを欠いたプリオン蛋白を発現するマウスの実験より、プリオン蛋白から GPI アンカーを介した何らかのシグナル伝達が神経変性に必要であることが判明しており、そのシグナル伝達系として *fyn* の関与をノックアウトマウスを用いて検討したが、*fyn* はプリオンの病原性発現に影響を与えないことが明らかとなった。また、神経変性機序解明と治療薬開発の迅速化に欠かせない疾患早発動物の候補として、プリオン蛋白とインフルエンザウイルス HA 蛋白との融合蛋白を発現する遺伝子改変マウスを作出に成功した。

D. 考察

(1) 画期的治療の臨床研究

PPS 治療の安全性検討については、手術期、投与開始期、投与慢性期の各時期での安全性について問題点の抽出が行える程度に検討が行えた。当初予定していた髄液中の PPS 濃度モニターについては、PPS 濃度測定法が確立でき 4 名の患者試料の測定を開始できているものの、経過を追っての測定や複数の患者での測定にまで至らなかったため、PPS 濃度と合併症 (硬膜下水腫、けいれん等) との関係性を明らかにすることが残された課題の一つである。

PPS 治療の効果検討については、疫学的データが揃っている欧州症例で PPS 治療の効果を確認できたものの、疫学的データの欠落している我国では当初予定していた各種の臨床的評価法での評価が困難であったこともあり、治療効果について十分に根拠のある評価を行えなかった。

治療評価方法として検討した臨

床検査や神経学的所見、各種スケールリングのデータは症例間のばらつきが大きく、評価方法に工夫が必要であることが判明した。国際プリオン病治療ワークショップでは、最も信頼できる治療評価項目は「生存期間」であるとしており、残念ながら我国では病型別、発症年齢別、性差別の患者の生存期間に関する疫学データが欠落しているため、「生存期間」測定に代わる治療評価方法の確立が重要である。ところで、硬膜下水腫を高率に合併したが、これはPPSそのものが原因か、あるいは進行性萎縮をきたす脳に持続的な送液を行うことが原因なのかは不明であり、原因解明は今後の課題である。

PPS治療の普及については、当初は3年間で30例程度を予定していた。これは、以前のキナクリン・キニーネによる実験的治療で3年間約30例を経験したことに基づいていた。しかし、実際には3年間で9例と予定の3分の1にとどまった。CJDサーベイランス委員、「プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究班」班員、患者家族会等への啓蒙活動を行い、主治医や患者家族への相談に丹念に対応してきたにもかかわらず、PPS治療が実施できる施設が福岡の1施設に限られていたことと、脳外科的処置に対する医者側及び患者側の抵抗感に起因していた。前者に関しては関東以北で同治療を実施できる施設を設ける努力を行ったが、手術場関係者や脳外科医の協力を得ることはできなかった。

PPS治療の治療プロトコルの整備については、治療導入部分の整備は完了したが、前述したように合併症とPPS投与量との関係解析や治療評価の標準化が出来ていないため、合併症や治療評価に対応したプロトコル化は出来ていない。

PPS治療の効果を上げ合併症の発生を抑えるためには、PPSの脳実質内への移行を高め、投与量を減らす工夫が必要である。動物実験でも明らかのように片側の脳室内に投与したPPSの効果は対側まで十分に行き渡らない。PPSそのものの分子サイズを減らしたり、硫酸基の数を減らすと治療効果は大きく損なわれるため、脳室から脳実質への薬物送達を促進するような工夫を考える必要がある。

PPSは異常型プリオン蛋白（プリオン）の産生を阻害するものの、既に存在する異常型プリオン蛋白の分解の促進や神経変性の抑制には全く働いていないと考えられる。異常型プリオン蛋白の分解促進に働く治療薬（例えばドキシサイクリンやテトラサイクリン）や神経変性の抑制に働く治療薬（例えばメマンチンやフルピルチン）との併用による多剤療法により治療効果を上げるとともに、ペントサンポリサルフェートの投与量低減や休薬期間設定により合併症発生を抑えることが期待できる。したがって、今後は多剤療法も検討する必要がある。

新たな病勢診断ツールとしてのプリオンアミロイドPET画像化法の安全性及び有用性については、当初の予定にない研究項目であるが、通常臨床的治療評価では治療評価が出来ないことより、3年目より急遽導入したものである。試験的導入として2例の症例を経験でき、安全性及び有用性に期待を持てる結果が得られ、今後に繋がる成果である。

治療研究に関連して早急に開発を求められているのは、早期診断や病勢診断技術の開発である。本研究で臨床試験を開始したプリオンアミロイド画像化法は感度等に問題があり早期診断法としては即応できないが病勢診断法・治療評価法と

しては期待できる。治療評価の基準として「生存期間」測定が国際的にコンセンサスを得ているが、詳細な「生存期間」に関する疫学的データを完備している欧州に対して、そうでない我国では「生存期間」測定に代わる信頼できる治療評価手段が必要であり、プリオンアミロイド画像化法はその候補である。

(2) 次世代型治療法開発の基礎研究

末梢投与で効果のある治療候補化合物の開発については、compB、GN8等の4種の新たな化合物について疾患マウスで評価を行い、臨床応用への可能性についても各化合物の問題点を抽出することが出来た。compBおよびGN8は安全性に問題があり物性を改良する必要があるものの、残りの2種の化合物については問題となるような毒性は観察されず、その中の1種は既に別の目的で臨床薬として使用されていることよりプリオン病患者への応用が近い将来可能であると考えられる。

新たな治療薬開発の標的となる宿主因子候補やプリオン蛋白のドメインに関する情報が得られたことは、治療に結びつく新たな基礎研究の成果である。今後これらの発見の芽を実用化にまで育てていくことが必要である。

一方、画期的治療法の開発においては、新たな治療法に結びつく可能性のあるプリオン感染干渉現象を培養細胞で再現でき、メカニズム解明の進展が期待される。さらに、治療開発には結びつかなかったが、骨髄間質細胞が容易にプリオンに感染することの発見は、新たな診断や研究ツールの提供に結びつく可能性があり、当該分野の研究進展には貢献する。抗体を用いた治療法の開発はアイデアとしては新しいとはいえず、また研究も端緒についた

ばかりであるが、脳内への抗体デリバリーの方法を確立できれば、他の疾患への応用も可能である。

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)に乏しいことより、膜貫通型プリオン蛋白が異常化した際には神経変性が增強され、感染早期より発症する可能性がある。プリオン蛋白とインフルエンザウイルスHA蛋白との融合蛋白を発現する遺伝子改変マウスは治療薬開発の迅速化に欠かせない疾患早発動物である可能性があり、今後の感染実験の結果が期待される。

プリオン複製とその阻害の分子メカニズム解明は当該分野でもっともホットな研究領域であるが、本研究で得られた以下の成果は、この分子メカニズム解明に緊密に関連するものであり学術的意義として挙げられる。①機序解明のツールとしてcompB、GN8、他2種の新たな化合物を発見したこと、②プリオン複製に関連する可能性のある宿主因子を複数発見したこと、③プリオン蛋白の構造ダイナミクスに基づく論理的創薬が可能であることを証明したこと、④プリオン干渉現象には免疫系や異常型プリオン蛋白の相互作用が関与していないことを発見したこと、⑤プリオンのターゲットとして骨髄間質細胞を新たに同定したことなど。

E. 結論

多数の医原性プリオン病が発生している我国で、実効性のある治療予防法が求められていることを背景に、PPS療法をプリオン病患者に実施し、効果と安全性について検討を行った。また、末梢投与できる次世代型治療薬の開発と基礎研究の視点から画期的治療に結びつく方策の開発研究を行った。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

平成16年度

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*, 63:443-449, 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.*, 84:828-835, 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.*, 85:1785-1790,

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.*, 279:23661-23667, 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*, 44:855-856, 2004,

- Japanese
- Nakajima M, Yamada T, Kusuvara 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
- 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
- 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
- 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.*, 76:325-329, 2005
- 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*, 13(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
- 平成17年度
- Rainov NG, Whittle IR, Doh-ura K: Treatment options in patients with prion disease-the role of long term cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate. In: *Prions-Food and Drug Safety* (ed. Kitamoto T), Springer, pp.41-66, 2005
- 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.*, 50(5):394-396, 2005
- Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T: Diffusion-weighted MRI in familial Creutzfeldt-Jacob disease with the codon 200 mutation in the prion protein gene. *J. Neurol. Sci.*, 232:45-49, 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(1):80-87, 2005
- Nakano S, Yamashita F, Matsuda H, Kodama C, Yamada T: Relationship between delusions and regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, 21:16-21, 2006
- Hasegawa T, Ukai W, Jo DG, Xu X, Mattson MP, Nakagawa M, Araki W, Saito T, Yamada T: Homocysteic

- acid induces intraneuronal accumulation of neurotoxic Abeta42: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Res.*, 80:869-876, 2005
- Hirata K, Yamaguchi H, Takamura Y, Takagi A, Fukushima T, Iwakami N, Saitoh A, Nakagawa M, Yamada T: A novel neurotrophic agent, T-817MA [1-{3-[2-(1-benzothiophen - 5 - yl) ethoxy] propyl}-3-azetidino] maleate], attenuates amyloid-beta-induced neurotoxicity and promotes neurite outgrowth in rat cultured central nervous system neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 314:252-259, 2005
- Matsunaga Y, Yamada T: Hydrolytic activity of amyloid-beta and its inhibition with short peptides. *Curr. Med. Chem.*, 5:165-170, 2005
- Satoh K, Hata M, Shimizu T, Yokota H, Akatsu H, Yamamoto T, Kosaka K, Yamada T: Lib, transcriptionally induced in senile plaque-associated astrocytes, promotes glial transmigration through extracellular matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 335:631-636, 2005
- Yamauchi A, Shuto H, Dohgu S, Nakano Y, Egawa T, Kataoka Y: Cyclosporin A aggravates electroshock-induced convulsions in mice with a transient middle cerebral artery occlusion. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 25:923-928, 2005
- Nishida N, Katamine S, Manuelidis L: Reciprocal interference between specific CJD and scrapie agents in neural cell cultures. *Science* 310:493-496, 2005
- Arima K, Nishida N, Sakaguchi S, Shigematsu K, Atarashi R, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Yoon J, Watanabe K, Kobayashi N, Mouillet-Richard S, Lehmann S, Katamine S: Biological and biochemical characteristics of prion strains conserved in persistently infected cell cultures. *J. Virol.*, 79:7104-7112, 2005
- Miyamoto K, Nakamura N, Aosasa M, Nishida N, Yokoyama T, Horiuchi H, Furusawa S, Matsuda H: Inhibition of prion propagation in scrapie-infected mouse neuroblastoma cell lines using mouse monoclonal antibodies against prion protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 335(1):197-204, 2005
- 逆瀬川裕二、堂浦克美: プリオン病の治療法の現状. *医学のあゆみ*, 215(11):901-905, 2005
- 坪井義夫、山田達夫、堂浦克美: プリオン病の治療 - ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与 -. *神経内科*, 63 (5): 441-445, 2005
- 坪井義夫、山田達夫、堂浦克美: プ

- リオン病の治療－経口キナクリン療法とペントサン硫酸の脳室内持続投与方法の現状. *Brain Medical*, 17(3):259-264, 2005
- 吉田香織、中荘ひとみ、遠嶋由紀、小林誠子、糸永嘉子、吉田ユリ子、杉村美佳、中野正剛、山田達夫：安心院地区の独居老人における認知障害調査結果(第一報). *地域保健*, 36:80-85, 2005
- 田中美紀、坪井義夫、山田達夫：プリオン病の治療－キナクリン・キニーネ治療－. *神経内科*, 63:446-451, 2005
- 西田教行：プリオン株をめぐる謎. *Antibiotics & Chemotherapy*, 22(1):71-78, 2006
- 平成18年度
- Doh-ura K, Tamura K, Karube Y, Naito M, Tsuruo T, Kataoka Y: Chelating compound, chrysoidine, is more effective in both anti-prion activity and brain endothelial permeability than quinacrine. *Cell. Mol. Neurobiol.*, (in press), 2007
- Fukuuchi T, Doh-ura K, Yoshihara S, Ohta S: Metal complexes with superoxide dismutase-like activity as candidates for anti-prion drug. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 16:5982-5987, 2006
- Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K: Styrylbenzoazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J. Neurochem.*, 99:198-205, 2006
- Sasaki K, Doh-ura k, Ironside J, Mabbott N, Iwaki T: Clusterin expression in follicular dendritic cells associated with prion protein accumulation. *J. Pathol.*, 209(4):484-491, 2006
- Wakisaka Y, Santa N, Doh-ura K, Kitamoto T, Ibayashi S, Iida M, Iwaki T: Increased asymmetric pulvinar magnetic resonance imaging signals in Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques following a cadaveric dura mater graft. *Neuropathol.*, 26:82-88, 2006.
- Shintaku M, Yutani C, Doh-ura K: Brain stem lesions in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A histopathological and immunohistochemical study. *Neuropathol.*, 26:43-49, 2006
- Kawatake S, Nishimura Y, Sakaguchi S, Iwaki T, Doh-ura K: Surface plasmon resonance analysis for the screening of anti-prion compounds. *Biol. Pharm. Bull.*, 29(5):927-932, 2006
- Takata F, Dohgu S, Yamauchi A, Sumi N, Nakagawa S, Naito M, Tsuruo T, Shuto H, Kataoka Y:

- Inhibition of transforming growth factor- β production in brain pericytes contributes to cyclosporine A-induced dysfunction of the blood-brain barrier. *Cell. Mol. Neurobiol.*, (in press), 2007
- Yamauchi A, Dohgu S, Nishioku T, Shuto H, Naito M, Tsuruo T, Sawada Y, Kataoka Y: An inhibitory role of nitric oxide in the dynamic regulation of the blood-brain barrier function. *Cell. Mol. Neurobiol.*, (in press), 2007
- Nishioku T, Takata F, Yamauchi A, Sumi N, Yamamoto I, Fujino A, Naito M, Tsuruo T, Shuto H, Kataoka Y: Protective action of indapamide, a thiazide-like diuretic, on ischemia-induced injury and barrier dysfunction in mouse brain microvascular endothelial cells. *J. Pharmacol. Sci.*, (in press), 2007
- Atarashi R, Sim VL, Nishida N, Caughey B, Katamine S: Prion strain-dependent differences in conversion of mutant prion proteins in cell culture. *J. Virol.*, 80(16):7854-7862, 2006
- Shiga Y, Satoh K, Kitamoto T, et al.: Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution. *J. Neurol.*, (in press), 2007
- Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, et al.: 14-3-3 protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stages. *J. Clin. Neurosci.*, 13:661-665, 2006
- Sakaguchi S, Arakawa T: Recent developments in mucosal vaccines against prion diseases. *Expert Review of Vaccines*, (in press), 2007
- Ishibashi D, Yamanaka H, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, Yamaguchi Y, Shigematsu K, Katamine S, Sakaguchi S: Immunization with recombinant bovine but not mouse prion protein delays the onset of disease in mice inoculated with a mouse-adapted prion. *Vaccine*, 25:985-992, 2007
- Yoshikawa D, Kopacek J, Yamaguchi N, Ishibashi D, Yamanaka H, Yamaguchi Y, Katamine S, Sakaguchi S: Newly established *in vitro* system with fluorescent proteins shows that abnormal expression of downstream prion protein-like protein in mice is probably due to functional disconnection

- between splicing and 3' formation of prion protein pre-mRNA. *Gene*, 386:139-146, 2007
- Sakaguchi S: Roles of prion protein and prion protein-like protein in neurodegeneration: Implication in the pathogenesis of prion diseases. In: PRIONS: New Research (ed. by Doupher BV), Nova Science Publishers, pp. 53-71, 2006
- Yamanaka H, Ishibashi D, Yamaguchi N, Yoshikawa D, Nakamura R, Okimura N, Arakawa T, Tsuji T, Katamine S, Sakaguchi S: Enhanced mucosal immunogenicity of prion protein following fusion with B subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin. *Vaccine*, 24:2815-2823, 2006
- 逆瀬川裕二、堂浦克美: プリオン病の治療 —その現状と展望—. *Brain Medical*, 18(4):356-370, 2006
- 逆瀬川裕二、堂浦克美: 孤発性クロイツフェルトーヤコブ病と6種類のサブタイプ. *Medical Briefs in Brain & Nerve*, 15(4):5-6, 2006
- 石川謙介、堂浦克美: プリオンイメージングの試み. *Clinical Neuroscience*, 24(3):313-316, 2006
- 田中美紀、坪井義夫、山田達夫: Quinacrine. *Clinical Neuroscience*, 24(3): 333-335, 2006
- 坪井義夫、山田達夫: Pentosan polysulphate (PPS). *Clinical Neuroscience*, 24(3): 336-339, 2006
- 山田達夫: Flupirtine. *Clinical Neuroscience*, 24(3):340, 2006
- 坪井義夫: プリオン病に対する PPS 治療 - 全身性の影響はきわめて少ない -. *Medical Tribune*, 39(22):11, 2006
- 坪井義夫: クロイツフェルト・ヤコブ病—新しいペントサン・ポリサルフェート脳室内投与法の現状. *ヤコブ・ネット NEWS*, 11, 2006
- 坂口末廣: プリオン病. *感染症 The infection*. 36:9-13, 2006 (カラー図, 17-18)
- 坂口末廣: プリオン蛋白質の生理機能. *化学療法の領域*, 22:56-62, 2006
2. 学会発表
- 平成16年度
- 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
- 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-, Sendai, Oct.31-Nov.2, 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. International Symposium on Prion Diseases -food and drug safety-, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004
- 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-, Sendai, Oct.31-Nov.2, 2004
- 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-, Sendai, Oct. 31-Nov. 2, 2004
- 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-, Sendai, Oct. 31-Nov. 2, 2004
- 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
- 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
- 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
- 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

平成17年度

Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K: Amyloid imaging probes for detection of prion plaques and treatment of prion diseases. 2005 Japan-America Frontiers of Engineering Symposium, Hitachi Global Storage Technologies, San Jose, CA, Nov. 3-5, 2005

Hagihara M, Shuto H, Takata F, Shirabe S, Nakagawa S, Deli MA, Niwa M, Kataoka Y: Evaluation of pentosan polysulfate for the permeability of blood-brain barrier. The 79th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society, Yokohama, Mar. 8-10, 2006

Hirakawa C, Takata F, Shuto H, Nakagawa S, Deli MA, Niwa M, Kataoka Y: Regulation of blood brain barrier function with 17 β -estradiol. The 79th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society, Yokohama, Mar. 8-10, 2006

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

逆瀬川裕二、渡辺光太、八谷如美、堂浦克美、金子清俊：リコンビナントプリオン蛋白質を用いた蛋白質 unfolding 因子の探索。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日

坪井義夫、堂浦克美、山田達夫：CJDの新しい治療法の試み - ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日

照屋健太、堂浦克美：GPI アンカー型プリオン蛋白質アナログの調製。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日

逆瀬川裕二、渡辺光太、八谷如美、堂浦克美、金子清俊：The ATP-bound form of Hsp90 can unfold recombinant prion protein. 日本分子生物学会第28回年会、大阪、2005年12月7日-10日

坪井義夫：プリオン病治療の現状と展望。プリオン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究班 サーベイランス委員会・Creutzfeldt-Jakob 病(CJD)サーベイランスに関する全国担当者会議、東京、2005年2月10日

坪井義夫、堂浦克美、山田達夫：プリオン病の新しい治療法 ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与。第10回日本神経感染症学会、東京、2005年10月

平成18年度

Doh-ura K: Therapeutic strategies for prion diseases. SFB-596 Meeting for Molecular Mechanisms of Neurodegeneration, Munich, Oct. 16, 2006

Tsuboi Y, Doh-ura K, Yamada T: Experimental treatment with intraventricular pentosan

- polysulphate injection in prion disease. TheraPrion 2006, Paris, Nov. 21, 2006
- Doh-ura K, Rainov N, Ishikawa K, Kawasaki Y, Tsuboi Y: Pentosan polysulfate and amyloidophilic chemicals for prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, Oct. 3-6, 2006
- Sakasegawa Y, Doh-ura K: Aggregation and degradation of cellular prion protein by Novobiocin. NeuroPrion 2006, Torino, Oct. 3-6, 2006
- Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Iwaki T, Doh-ura K: Styrylbenzazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, Oct. 3-6, 2006
- Kawasaki Y, Kawagoe K, Chen C. J, Doh-ura K: Effectiveness of an orally administered anti-prion chemical. NeuroPrion 2006, Torino, Oct. 3-6, 2006
- Rainov N. G, Doh-ura K, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Heidecke V: Experimental treatments for human prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, Oct. 3-6, 2006
- Sakasegawa Y, Doh-ura K: A coumarin antibiotic Novobiocin directly induces aggregation of the cellular prion protein. The 20th IUBMB Congress and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Jun. 18-23, 2006
- Yamauchi A, Dohgu S, Takata F, Sumi N, Nishioku T, Shuto H, Niwa M, Kataoka Y: Immunosuppressant and blood-brain barrier. Biofunction and Drug Discovery Symposium 2006, Fukuoka, Sep. 8-9, 2006
- Nishida N, et al.: Dynamics-based discovery for a potential therapeutic agent for transmissible spongiform encephalopathies. Asian research forum on emerging and reemerging infections -2007, Nagasaki, Jan. 15-16, 2007
- Sakaguchi S: Antagonistic interaction between prion protein and its homologue, PrPLP/Dpl, in neurodegeneration. AACL-Nagasaki Symposium, ASIAN AGING 2006: The Regional Aging Connection and the Future, Nagasaki, Jun. 17, 2006
- 堂浦克美: プリオン病の治療戦略を展望する -即戦力的方略-. 第 28 回日本薬学会九州支部コロキウム、福岡、2006 年 10 月 21 日
- 堂浦克美: プリオン病の治療開発. 第 64 回慶應神経病理カンファレンス、東京、2006 年 9 月 9 日