

キナクリン治療の効果と安全性に関する報告書<sup>4)</sup>にキナクリン治療の結果を発表した。プリオン病患者計31症例に対して実施された治療検討で、病型の内訳は、sCJD22例、医原性(すべて硬膜移植後発症)CJD 5例、遺伝性プリオン病4例である。使用薬剤は、研究試薬のキナクリン2塩酸(C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>・2HClx・H<sub>2</sub>O)を、1カプセル100mgに製剤化したものが用いられた。1日量は300mgとし、経口もしくは経管より1日3回の分割投与とした。投与は連日行われ、12週間で投与完了とした。副作用が出現した場合(後述)、投与を中断または中止した。効果判定のパラメータとして、各症例の診断、年齢、性、発症から治療開始までの期間、治療開始時の認知機能レベル(レベル1:自発開眼、運動を認める、レベル2:聴覚・視覚刺激に追視、驚愕反応を認める、レベル3:無動性無言)などの臨床データが抽出された。キナクリン効果のメルクマールとしては、本疾患の性質上、なんらかの客観的な数値による評価ではなく、主に個別の神経学的臨床症状を観察し、その改善をもって治療効果ありと判定することとした。具体的には、開眼時間の延長、痛みや光などの刺激に対する反応性の上昇、発語の出現、eye contactや笑顔の表出などにみられる意志疎通性の上昇、自発運動の増加や反射性ミオクローヌスの減少などである。これらは非常に主観的な評価と捉えられるかもしれないが、観察者の臨床的印象も、十分な評価の対象となると考えられた。

## 2. 結 果

キナクリン治療を行った症例の内訳を表1、効果とその内容を表2、本治療開始時の認知機能レベルとその効果発現との関連を表3に示す。対象症例31例中、臨床的に効果が認められたのは12例(38.7%)であった。病型別の有効率は、それぞれsCJDが9例(40.9%)、医原性CJDが2例(40.0%)、遺伝性プリオン病が1例(25.0%)であり、遺伝性プリオン病の有効率がもっとも低かった。効果発現を規定する因子についてそれぞれの臨床データについて検討した結果、sCJD症例において、治療前の認知機能レベルが良好であるほど有効率が高かった。表2に示すように、治療効果は主に刺激への反応性や自発運動の増

加として現れた。ただし、12例中2例においては、客観的結果として脳波検査においてPSDの消失や基礎波の再出現が認められた。本治療はプリオン病において初めての「効果」を示した治療法であったが、残念ながらその効果は一過性であった。副作用によってキナクリン治療を中止せざるを得なかった症例に限らず、プロトコル通り12週間投与を行った症例も含め、効果を認めた全症例において、平均2~4週間でその効果は消失した。その後の経過は治療を継続していても治療前の状態に戻り、さらに進行、悪化した。脳波所見も同様であり、経過とともに治療前の脳波に戻った。一過性の臨床的効果は*in vitro*で示された抗プリオン作用ではなく、キナクリンの薬理効果の一つである中枢神経刺激作用の発現にすぎなかったのではないかという疑問も残った。

## 3. キナクリンの副作用

キナクリン治療の完了症例数と中止症例数を図1、キナクリン治療中止の原因を図2に示す。治療中止および中断の基準は、痙攣の出現、骨髄抑制(白血球数<2,000/ $\mu$ lまたは顆粒球数<1,000/ $\mu$ l、血小板数<50,000/ $\mu$ l、Hb<8.0g/dl)、高度肝機能障害(AST, ALT>正常上限の5倍)、感染症、電解質異常、消化管症状の出現時とした。12週間のプロトコルを完了したのは31例中10例(32.2%)にとどまった。中止の主な理由は肝機能障害の出現であり、中止症例21例のうち16例(76.1%)を占めた。しかし、プロトコルを終了した10例中にも肝機能障害(トランスアミナーゼの上昇)を認めた症例が8例あるため、全症例31例中24例(77.4%)になんらかの肝機能障害を認めたことになり、キナクリン治療のもっとも頻度の高い副作用と考えられた。それ以外の副作用としては、発熱、溶血性貧血、偽膜性大腸炎、頸部の水泡性皮疹と誤嚥(死亡)をそれぞれ1例ずつに認めたが、誤嚥による死亡例以外の全症例において、キナクリン中止後、副作用症状は改善した。

## 4. キニーネ治療と3剤併用療法

症例数は少ないが、キナクリンと同様の治療効果を期待して、抗マラリア薬であるキニーネも治療に用いられた。sCJD 5例と遺伝性プリオ

表1 キナクリン治療症例のプロフィール(2003年12月時点の集計)

No./性/年齢	診断	発症からの期間 (月)	投与量(mg) 1日量/総量	投与 日数	開始時認知 機能	効果持続 期間(週)	治療中止	転帰
1/F/81	孤発性	4	300/4,800	16	3	-	中止	死亡
2/F/49	孤発性	9	300/23,400	78	2	-	中止	入院中
3/F/67	医原性	6	300/6,900	23	3	+(4)	中止	入院中
4/F/51	孤発性	2	300/5,700	19	3	-	中止	入院中
5/F/76	孤発性	6	300/24,300	81	3	-	完了	入院中
6/M/65	孤発性	7	300/19,500	65	3	-	中止	入院中
7/M/72	医原性	6	300/15,600	52	3	-	中止	入院中
8/M/76	孤発性	2	300/4,500	15	2	+(1)	中止	死亡
9/M/64	遺伝性 <sup>200</sup>	3	300/25,200	84	3	-	完了	入院中
10/F/55	孤発性	5.5	300/600	2	3	-	中止	死亡
11/M/20	医原性	53	300/5,400	18	3	-	中止	入院中
12/M/63	孤発性	4	100/5,400	54	2	+(1)	中止	入院中
13/F/37	医原性	4	300/18,300	61	3	+(4)	中止	入院中
14/F/54	遺伝性 <sup>200</sup>	4	300/28,200	94	3	-	完了	死亡
15/F/57	孤発性	25	300/3,000	10	3	-	中止	死亡**
16/F/72	孤発性	16	200-300/30,600	118	3	+(4)	完了	死亡**
17/M/62	孤発性	6	300/13,200	44	3	-	中止	死亡
18/F/64	孤発性	4	300/8,100	27	2	+(1)	中止	入院中
19/F/62	孤発性	4	300/25,200	84	1	+(1)	完了	入院中
20/F/59	遺伝性 <sup>102*</sup>	72	300/25,200	84	1	+(2)	完了	入院中
21/M/46	孤発性	11	300/25,800	86	2	+(3)	完了	入院中
22/M/60	孤発性	2.5	300/15,600	52	2	-	中止	入院中
23/F/64	遺伝性 <sup>200</sup>	3.5	300/8,400	28	1	-	中止	入院中
24/F/68	孤発性	36	300/23,000	76	2	+(12)	中止	入院中
25/F/66	医原性	5	300/12,800	43	1	-	中止	死亡
26/F/70	孤発性	12.5	300/12,000	40	3	-	中止	入院中
27/F/59	孤発性	3	300/37,500	125	2	+(4)	完了	入院中
28/F/78	孤発性	6	300/24,200	84	3	-	完了	入院中
29/F/59	孤発性	2	300/27,000	90	2	+(2)	完了	入院中
30/M/64	孤発性	2	300/9,000	30	3	-	中止	入院中
31/F/63	孤発性	6	300/14,700	49	3	-	中止	入院中

\* : 硬膜移植歴あり, \*\* : キナクリン投与中の死亡.

(文献<sup>9)</sup>より引用)

ン病1例の計6例に対し、1日量1.5gをキナクリン治療と同様のプロトコールで投与した。その結果、6例中2例(33%)に発語や刺激反応性の上昇が認められたが、持続期間はいずれも3週間であった。主な副作用は、肝機能障害であり、キナクリン治療とほぼ同様の経過をたどった。また、前述のキナクリン治療の反省点から、変法として、キナクリンの肝障害を予防するためにシメチジン(cimetidine)600mg/dayを、脳内濃度を上昇させるために塩酸ベラパミル(verapamil hydrochloride)120mg/dayを、キナクリン300mg/dayに併用した3剤併用療法を計3例に実施した。そのうち2例は12週間の投与プロトコールを終了したが、残り1例は1カ月後に肝

機能障害を認め中止した。3例とも明らかな臨床改善効果は認められなかった。

### 海外でのキナクリン治療の実施状況

2001年当時、CJDに対する治療法は皆無であったという事情により、*in vitro*の研究結果が十分に検討されていない状況下において、キナクリン治療は当時の唯一の治療として世界各国で実施された。そのうち、フランスで2001年8月～2002年末の期間に実施されたキナクリン治療の結果が、2004年Haikら<sup>9)</sup>より報告された。対象は、WHOのclinically probable CJDの診断基準を満たしたsCJD30例とvCJD2例の計32例である。キナクリン初回量は1,000mg/日(1回200mgを6時間

表 2 キナクリン治療の効果とその内容

性/年齢	診断	投与後の認知機能その他の変化	効果の持続期間(週)
3/F/67	医原性	開眼時間の延長, 発語の増加.	4
8/M/76	孤発性	自発開眼時間の延長. Eye to Eyeコンタクトが可能.	1
12/M/63	孤発性	感情失禁. 外部からの刺激に笑ったり泣いたり表情の表出.	1
13/F/37	医原性	投与2週後に痛み刺激に検者への視覚注視が出現. 光・音・呼びかけに追視あり. 自発運動の出現. PSDの消失, 背景脳波の出現.	4
16/F/72	孤発性	痛覚刺激にて上肢の動きが出現.	4
18/F/64	孤発性	投与1週後で覚醒状態の改善が見られた.	1
19/F/62	孤発性	投与1~2週後で発語が少しみられ, 意志疎通性が上昇した. 自動運動の増加.	1
20/F/59	遺伝性 <sup>102</sup>	投与10日~3週後に意味のある発語が増加した. 投与10日後で 坐位保持可となったがすぐに不可となった.	2
21/M/46	孤発性	投与4~5日後には反射性ミオクローヌス減少. 「うー」と唸り 声が聞かれるようになり以後持続. 投与2~5週後に音の方向 を注視する反応あり.	3
24/F/68	孤発性	指示動作や挨拶が可能.	12
27/F/59	孤発性	追視, 笑顔が見られた. 四肢の自発運動は増加した. 不随意運 動も粗大な運動に変わったが, その後もとのミオクローヌスに 戻った.	4
29/F/59	孤発性	投与1週後に呼びかけに反応. ミオクローヌスの減弱. 家族の 話しかけに笑顔. このような変化は2週間後にはもとに戻る.	2

(文献<sup>4)</sup>より引用)

表 3 キナクリン治療開始時の認知機能レベル

診断	治療開始時の認知機能レベル		
	自発語・運動あり： レベル 1(有効例)	視覚・聴覚刺激に反応あり： レベル 2(有効例)	無動性無言： レベル 3(有効例)
孤発性(N=22)	1(1)	9(7)	12(1)
医原性(N=5)	1(0)	0	4(2)
遺伝性(N=4)	2(1)	0	2(0)

(文献<sup>4)</sup>より引用)

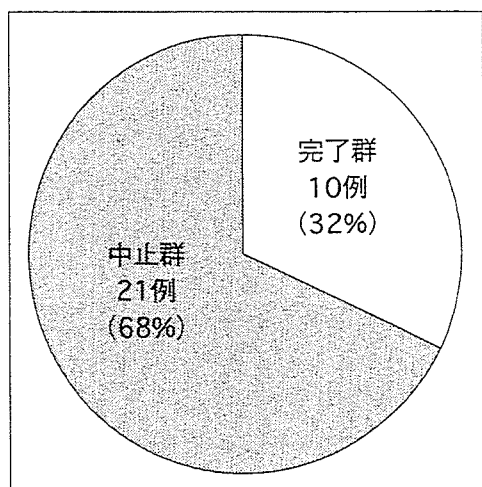


図 1 キナクリン治療の完了症例数と中止症例数(文献<sup>4)</sup>より引用)

ごとに5回経口投与)とし, その後は本邦同様1  
 日量300mgを3分割投与としている. 出現した副  
 作用のうちもっとも多いものは6例に発症した  
 肝機能障害であった. その他, 皮疹を2例に,  
 消化管障害と白血球減少をそれぞれ1例に認め,  
 われわれの報告と同様であった. 同報告の特徴  
 は, ①臨床的効果をRankin Scoreで評価してい  
 る, ②キナクリン治療群と非治療群の脳細胞障  
 害を, 死亡後に病理学的に比較している, ③キ  
 ナクリン治療群のsCJD30例のうち, Codon129多  
 型を検討した計27例をmethionine/methionine  
 (MM)型, methionine/valine(MV)型, Valine/  
 Valine(VV)型の3群に分けて, 同様に検討した  
 未治療群(計95例)と生存期間を比較している,

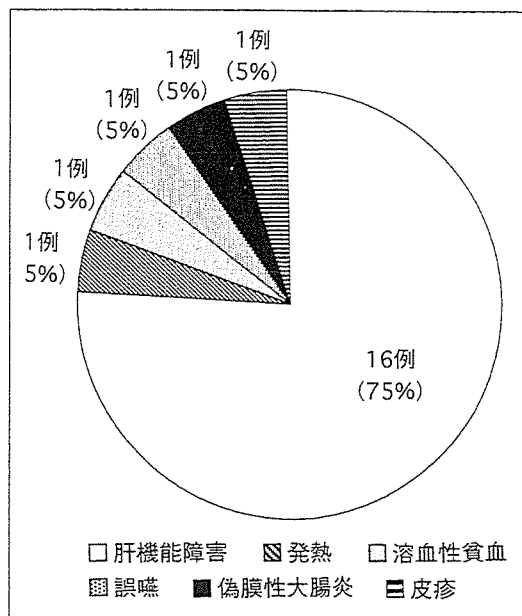


図2 キナクリン治療中止の原因  
(文献<sup>4)</sup>より引用)

という3点があげられる。①に関しては、治療後はほとんどの例で変化なし、もしくはRankin Scoreで1ランク以上の悪化を示したと評価している。臨床的变化の詳細な記述はなされていない。また、②に関しては、キナクリン治療群の剖検脳の10カ所で、①spongiform change, ②astrogliosis, ③neuronal lossの3項目をそれぞれ点数化し、その合計点数で脳細胞障害を評価している。比較対象として、1994年以降、同施設におけるsCJDの未治療群132例の剖検脳を同様に点数化して用いており、その結果、②では、全般的にキナクリン治療の細胞保護効果は認められない結果となった。また、③に関しては、キナクリン治療群のMM型とVV型において、非治療群より若干生存期間が長かったが、統計的有意差はなかった。以上より同報告では、キナクリン治療において明らかな効果は認められなかったと結論づけている。この治療が実施された後、Collinsら(2002)<sup>6)</sup>とBarretら(2003)<sup>7)</sup>は、*in vivo*の実験によりキナクリンに抗プリオン効果は認められないという報告をしている。

### キナクリン治療の今後の展望

1986年にBSE, 1996年にvCJDが、いずれも英国で確認され世界的に大きなニュースとなった。さらにvCJDがBSEからの感染である可能性が高

いといった一連の報道は、世界を震撼させた。vCJDは若年層が多く罹患したという点が特徴的であり、食肉の安全性を問われた点と合わせて世界的な問題となり、一方でその治療法の確立が急務と考えられた。原因物質がプリオン蛋白であると同定されて以来、抗プリオン蛋白作用をもつ物質を探求する研究が進められた。かつて抗マalaria薬としてヒトへの安全性が確立されているキナクリン・キニーネが、一縷の望みを託され世界中でJakob病患者に用いられたのである。

これまでのところ、本邦、海外の結果をもととしては、その結果は決して満足のいくものではない。本邦で施行されたキナクリン・キニーネ治療の有効率は38.7%程度で、その効果はわずかであった。これは初めてCJDに対して臨床効果の手応えを感じ得た治療であったが、有効例のすべてにおいてその効果は一過性であり、副作用の肝障害も問題となった。フランスで行われた同様の治療については、報告者はさらに厳しい評価を下した。彼らの効果判定は、Rankin Scoreで評価を行ったため、われわれの報告のような個々の臨床的症状の微細な改善は抽出されず、治療効果は認められないという結論を出している。病理学的な検討に関しても、方法論的には純粋なcontrol studyではなく問題があるが、今後のCJDの標準的治療としては、キナクリン・キニーネ治療は不十分ではないかと考察されている。一方で、英国の臨床試験機関であるMRC (Medical Research Council) は、2004年6月からThe PRION-1 trialと呼ばれるキナクリンを用いた新たな臨床試験を開始した<sup>8)</sup>。The PRION-1 trialでは、2004年6月1日から2006年12月1日までの2年半の間に症例を集積する予定となっている。目標患者数は160例と今までにない大きな母集団である。対象は、12歳以上のCJD患者で、病型は問われず、個々の症例の観察期間は3年間としている。対象を、①キナクリン投与群、②キナクリン非投与群、③無作為群に分けるという、キナクリン治療初のrandomized controlled trialであることが大きな特徴である。もう一つの特徴は、効果判定の方法であり、①デジタルビデオで撮影した神経学的診察所見、②臨床的に改

善したかどうかの印象, ③The Brief Psychiatric Rating Scale(BPRS)の3項目すべてにおいて, 改善もしくは悪化していない場合を「効果あり」とみなす. 補助的に, 画像検査(MRI), 生理学的検査(EEG), 血液学的もしくは髄液検査におけるCJDマーカーなどの客観的検査項目を評価する. われわれのキナクリン治療の効果判定では, 臨床観察に重点を置き, 「一過性だとしても効果があった」という結論に至った事情があるが, 本試験ではその視点もとり込まれているわけである. 加えて客観的な指標でも効果判定するという点では, これまでにないより多角的な評価が可能となり, 期待が持てる. 2005年6月3日の時点で, 43例の対象が集められていることも付記しておく. 福岡大学におけるキナクリン変法(シメチジン, 塩酸ペラパミル併用)はいまだ症例が少なく, 今後の症例の蓄積が望まれる. 他の治療的試みとして, ペントサンポリサルフェートの脳室内治療が始まっているが, 観血的に脳室内にチューブを留置することが必要となり, 実施できる施設が限られている. 刻々と病状が進行していくCJD患者に対して, 内服のみで施行できるキナクリン治療を再度見直し, 臨床試験の結果を踏まえて, 今後さらにふさわしい治療の基礎を模索しようという意図は評価してもよいであろう.

### まとめ

Creutzfeldt-Jakob病に対するキナクリン・キニーネ治療について, これまでの治療経過と, 今後の展望について述べた. 一過性の効果, もしくは効果がないとみなされていた同治療であるが, 抗プリオン作用があり, ヒトに比較的安全に使えると予想される薬物は, 現時点においてキナクリンやペントサンポリサルフェートなどに限られているため, イギリスでは2004年6

月からキナクリンを用いた新たな臨床試験が始まっている. さらなる症例の集積とともに, より臨床効果を有し, 安全に投与できる抗プリオン物質の発見を期待したい.

### 文 献

- 1) Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB. Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science* 1982; 218 : 1309-10.
- 2) Korth C, May BC, Cohen FE, et al. Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 : 9836-41.
- 3) Doh-Ura K, Iwaki T, Caughey B. Lysosomototropic agents and cyteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J Virol* 2000; 74 : 4894-7.
- 4) 厚生労働省・即戦力クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究班「クロイツフェルト・ヤコブ病患者におけるキナクリン治療の効果と安全性に関する報告書」(主任研究者 堂浦克美). 東京: 厚生労働省; 2003年1月.
- 5) Haik S, Brandel JP, Salomon D, et al. Compassionate use of quinacrine in Creutzfeldt-Jakob disease fails to show significant effects. *Neurology* 2004; 63 : 2413-15.
- 6) Collins SJ, Lewis V, Brazier M, et al. Quinacrine does not prolong survival in a murine Creutzfeldt-Jakob disease model. *Ann Neurol* 2002; 52 : 503-6.
- 7) Barret A, Tagliavini F, Forloni G, et al. Evaluation of quinacrine treatment for prion diseases. *J Virol* 2003; 77 : 8462-9.
- 8) PRION-1: Randomised trial of quinacrine in human prion disease; <http://www.ctu.mrc.ac.uk/studies/cjd.asp>

\* \* \*

---

特集・プリオン病と BSE

## 7. プリオン株をめぐる謎

---

岐阜大学人獣感染制御センター・プリオン病研究部門助教授

/ 米国 Yale 大学医学部神経病理学講座客員教授 西田 教行

---

化学療法の領域 (2006 年 1 月号) 別刷

ANTIBIOTICS & CHEMOTHERAPY Vol.22, No.1, 71 ~ 78 (2006)

---

〒 101-0061 東京都千代田区三崎町 3 丁目  
3 番 1 号 TKi ビル  
電話 03(3265)7681(代) FAX03 (3265) 8369

(株) 医薬ジャーナル社

〒 541-0047 大阪市中央区淡路町 3 丁目  
1 番 5 号淡路町ビル21  
電話 06(6202)7280(代) FAX06(6202)5295

---

## 7. プリオン株をめぐる謎

西田 教行\*

プリオンとは何?と専門外の人によく聞かれる質問であるが、それこそが我々の命題である。定義上は「蛋白質だけからなる感染性粒子」と説明できるが、病原体そのものが果たしてプリオンであるのか、真実はまだ明らかではない。株すなわち病原体の多様性の存在とその挙動は、病原体が遺伝子を持つことを強く示唆する。株の存在そのものは謎ではなく観察結果であるが、病原体をプリオンであると仮定すると謎めいてくるわけである。プリオン株とは何か、性質の違いがどう認識されてきたのか、文献的な解説と最新の研究結果を紹介する。

*Key Words* : CJD / scrapie / BSE / prion / strain diversity

### I はじめに：プリオン病とその病原体

ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD), ゲルストマン・ストライスラー・シュラインカー病 (GSS)・家族性致死性不眠 (FFI), kuru (カーニバリズムによる経口感染), および動物では羊のスクレイピー (scrapie), ミンクの伝達性ミンク海綿状脳症 (TME), 牛海綿状脳症 (BSE), エルク等の野生シカに見られる慢性消耗症 (CWD) は, その感染性と病理学的特徴に基づき, 伝達性海綿状脳症 (transmissible spongiform encephalopathies : TSE) として一つのカテゴリーに分類される疾患群である。いずれも実験的に罹患脳の乳剤を動物に接種すると, 長い潜伏期間の後に疾患に特徴的な神経の脱落変性, 海綿状変性, グリア細胞の増生が起こり高次脳機能障害を来し確実に死に至る。罹患動物からヒトへの感染は通常認められないが, BSE は例外的にヒトを含めた広い宿主域をもつことが知られている。ヒトから動物への実験的感染は容易ではないが, 類人猿のほかギ

ニアピッグ, ラット, マウス, ヤギ, ネコにて成功例が報告されている。ヒトからヒトへの感染は, kuru (カーニバリズムによる経口感染) と医原性 (硬膜移植など) のものが知られている。

これらの感染性疾患の病原体はいまだ不明である。非通常型ウイルスによるスローウイルス感染症として扱われてきたが, ウイルスの同定には至っておらず, 一方, 罹患脳に宿主蛋白のアミロイド変性体凝集 (蓄積) を認め (これをプリオン蛋白と呼ぶ), この異常型プリオン蛋白が病原体の本体であるとの仮説に基づきプリオン病とも呼ばれる<sup>1)</sup>。この謎の多い病原体の多様性 (株の存在) について概説することが本稿の目的であるが, そのためまずは用語の定義をしておきたい。

疾患名は総称としてプリオン病と呼ばれることが多いが, 個別の疾患名をできる限り用いる。病原体はそれぞれの疾患ごとに, “CJD 病原体” や “BSE 病原体” とその由来に基づいて名称を用いる。『プリオン』とは『蛋白質感染粒子』と定義されるがその存在の最終証明がなされていない

Mystery of diversity among TSE agents

\* Noriyuki Nishida 岐阜大学人獣感染防御センター・プリオン病研究部門 助教授 / 米国 Yale 大学医学部神経病理学講座 客員教授

## 特集◎プリオン病とBSE

め、『病原体=プリオン』との使用はあえて行わない。またウイルスの同定もされていないのでCJウイルスとは呼ばず上記の表現にとどめ、総称はTSE病原体とする。プリオン蛋白は宿主の蛋白質で分子量25～35 KDaの膜蛋白のことであり、正常細胞あるいは正常脳に発現しているものを正常型プリオン蛋白(PrP<sup>C</sup>)と呼び、疾患特異的な蛋白分解酵素に部分抵抗性の異常型をPrP<sup>Sc</sup>と呼ぶ。異常型はその由来にちなんでPrP<sup>Sc</sup>, PrP<sup>CJD</sup>, PrP<sup>BSE</sup>と呼ばれることがあるが本稿ではPrP<sup>Sc</sup>と統一して記載する。

## II 株多様性とは

TSE病原体はその遺伝子が同定されていないため分子レベルでの病原体の同定、記述はできない。しかし現象論的に異なる表現型が存在するため、ウイルスや細菌などの病原微生物と同様に「病原体株」として認識されている。つまり遺伝子背景が均一な実験動物を宿主として用いた場合に、固有の表現型(潜伏期間、臨床像、病理像)が再現されるため、その表現型は病原体の生物学的活性の違いに由来すると解釈され、異なる“病原体株”として認識されるわけである。実際に実験を行う上では限界希釈した罹患脳を感受性動物に接種し、単一病原体による表現型の再現をもって株を定義・記述することが可能になる。ただ単に由来の違いだけでは厳密にはそれが単一のものか、複数の病原体によるものかわからない。またやっかいな問題は、異なる由来を持つ「分離株」が非常によく似た表現型である場合、それは同一株と断言できるのか、異なる株として記載するかという問題である。表現型の記載はどうしても曖昧さを払拭できない部分があるので、この問題はいまのところ解決不可能と言うよりほかない。

プリオン病における病原体株の存在は、その分子機序がいかなるものであるかという科学的興味と、その性質の違いから生じる不活化方法、安全性の確立といった社会的(公衆衛生的)問題にかかわるやっかいな側面とをもたらし古くて新しいテーマである。では、具体的に株多様性についての報告をまとめ、最後に最近の培養細胞系を用いた株に関する知見と深まる謎について述べていき

たい。

## III スクレイピーについて

スクレイピー(scrapie)はイギリスを中心に欧米諸国および日本や他のアジア、アフリカ地域(オーストラリアとニュージーランドには存在しない)の羊に発生する海綿状脳症で、18世紀にすでにその記載があり<sup>2)</sup>、遺伝性疾患であるとか毒物の蓄積によるであろうとか諸説が提唱されたが、その感染性が1936年、フランスのCuilleとChelleによって初めて実験的に証明された<sup>3)</sup>。その後Wilsonらの感染実験によってフィルター通過性でウイルス様であること、熱抵抗性が高いこと、ホルマリン抵抗性であることなどが報告されている<sup>4)</sup>。これらの羊を用いたスクレイピー感染実験やフィールド調査では株として記載されていないが、症状の違い(hyperexcitable[易興奮性]なものやsleepy[嗜眠性]なもの)があることが観察されている。またPattisonらはヤギへの感染実験において、「drowsy type(嗜眠型)」と「scratchy type(搔痒型)」を記述し、異なる株が存在する可能性を提案した<sup>5)</sup>。このdrowsy goat scrapieを用いて、1961年、Chandlerはマウスへの感染に成功し<sup>6)</sup>これがブレイクスルーとなってスクレイピー研究が実験室にて行えるようになり、その後マウスを用いた研究が主流になってscrapie株の研究が始まったと断言していいだろう。スクレイピー羊からのマウスへの感染と病原体分離はさかんに行われ、主にDickinsonらのグループによって株多様性の記載がなされてきた<sup>7)</sup>。彼らは系統の異なる2種類のマウスおよびそのF1ヘテロへの感染で分離株の固有の潜伏期間と臨床症状、病理変化(おもに空胞の脳内分布)パターンを詳細に比較検討し、多様なscrapie株が分離されることを示した<sup>8)</sup>。

Chandlerによってマウスへの感染継代されたdrowsy goat scrapieをChandler株(別名RML株、あるいは139A株、ハムスターに順化したものを263K株)と呼び、Dickinsonらのscratchy type-sheep scrapieからの分離株をそれぞれ22A, 22C, 22L, などの名称で呼んでいる。さらにいろんな研究室で独自に分離されたscrapie株



が報告されているがその詳細は省く。それらのすべてが羊において存在する病原体株であるかどうかは結論がでておらず Dickinson らの分離した株が実験室での人為的なものと批判するグループもあるが、表現型の再現性からして病原体としての株多様性の存在は明らかにされたといっていだろう。マウスから羊へあるいはヤギに戻した場合には、典型的な症状と病理変化を呈することが報告されている。TME および CWD については他稿を参照されたい。

#### IV CJD およびその他のヒト TSE について

ヒトのプリオン病は病因論的に5つに分類される。散発性 CJD, 家族性疾患(家族性 CJD, GSS, FFI), kuru, 変異型 CJD (vCJD), 医原性 CJD。表現型は kuru と vCJD がほぼ単一であるのに対し、そのほかはヴァリエーションが多い。kuru はパプアニューギニアに限局した疾患であり、初めて動物への感染が報告されたヒト TSE であり、一方 vCJD は BSE 病原体の経口感染によるものと考えられ、他のヒト TSE とは病原体株が異なると思われるが、その他の疾患がすべて単一の病原体の異なる表現型であるのか、いくつかの異なる病原体が存在するののかは、臨床および病理データからは結論できない。家族性のものはいまでは PrP 遺伝子に変異があることが明らかになっているが、この変異が直接病気の原因であるのか、あるタイプの病原体に感受性が高くなっているのかも結論が出されていない。羊の系統ごとに調べられた PrP 遺伝子多型とスクレイピーに対する感受性の違いの相関データを参考にすると、家族性疾患にリンクした PrP の変異は、疾患感受性と関係があると考えるのが自然であろう。

実験的にヒトからマウスへの感染は Tateishi らが初めて成功した<sup>9, 10)</sup>。興味を引かれるのは、家族性である GSS のマウスへの初代感染は、ほぼ3分の1のケースで成功する一方、散発性 CJD では100%、ただし潜伏期を比較すると GSS よりも長い<sup>11)</sup>。このことは一部の GSS は異なる病原体株である可能性が高い。そしてそのような GSS の報告は日本に限定されている。こうした状況証拠に

7. プリオン株をめぐる謎  
加え、マウスを用いた感染継代実験からは、スクレイピーと同様、単一系統の宿主マウスを使う限り、その表現型が再現され継代を経ても安定で異なる病原体株として認識されている。現在ヒト由来病原体では、Fukuoka-1 株 (GSS102L Japan), Fukuoka-2 株 (CJD-Japan), SY 株 (CJD-US) が分離され詳細に報告されている株である。CJD-US 由来の SY 株は、マウスでは300日以上潜伏期をもって発症し、病変は視床に比較的限局する傾向がある。本邦で分離された Fukuoka-1 株は120~140日で発症し、び漫性の病変を呈するアグレッシブなタイプである。Fukuoka-2 株はマウス脳でプラーク形成が認められる CJD 株である。

#### V BSE における株の存在について

BSE における病原体の多様性があるかどうか、現在ホットな話題の一つである。BSE 罹患ウシの異常 PrP の体内分布パターンおよび生化学的性状を比較検討した日本とイタリアのグループがイギリスや他のヨーロッパに見られる BSE の所見と異なる特徴がある BSE の存在を報告し、株の違いであるかどうか議論されている。しかし、生物学的な特徴をもって株を記載するには同一宿主を用いた詳細な感染実験を行い、その表現型をあらためて比較検討する必要がある、現在得られる情報だけでは判断できない。ラボでのクロスコンタミネーションを注意深くさけ、さらに再現性を確認するまでにはかなりの時間がかかるであろう。

だが、BSE に異なる株が分離されても驚くことではない。そもそも BSE 病原体の由来についても、スクレイピーだとする見方とウシにもともと存在したのではないかという見方とがあり(ヒト由来との説もある)、スクレイピー由来だとしたらスクレイピーには異なる病原体株が存在しているので、レンジリングによる汚染が起きたときに複数の株が食物連鎖に入った可能性は容易に想像できる。問題は異なる株が存在するとしたら、BSE スクリーニングの方法、判定基準、病原体の不活化方法など現実に基準をもうけている事柄の、その基準の妥当性を科学的に再検討する必要が生じることである。ヒトへの感染性も株ごとに

## 特集◎プリオン病とBSE

異なるかもしれない。BSEに感受性が高く早く発症する遺伝子改変マウスを用いた感染実験が始まっているが、BSE株の存在についての詳細な検討はまだこれからである。

## VII 株多様性とPrPresについて

Collingeらは、若年発症者が多いこと、病理像が特徴的であること、異常PrP(PrPres)のSDS-PAGE(SDSアクリルアミドゲル電気泳動)での泳動パターンが他の疾患のものと異なりBSEのものと同様であることなどから、イギリスにて見いだされたCJD亜型を変異型CJD(vCJD)と呼び、おそらくBSE感染牛の経口摂取によるものであろうとした<sup>12)</sup>。このようにPrPresの泳動パターンが病原体株特異的であるとする見方は、若干問題を含んでいる。マウスに感染継代したさまざまなscrapie株やヒトTSE株のPrPresの比較を行うと相対的に違いを見いだすことは可能であるが、異なる株が同一パターンを示すこともある。相違に注目して異常PrPが病原体株に特異的異常構造を取っているであろうとする考えが提示されているが、異常構造が直接観察できないので想像の域を出ない。この泳動パターンによる株の同定は、あくまで実験室での限られた条件でのみ可能なことである。

プリオン仮説を支持する立場の考えに立つと、これらの病原体の性質はPrPresの構造に由来すると考えるよりほかに説明しようがない。つまり、PrPresは正常型PrPとは異なる $\beta$  sheet richな3次構造を取っていると思われるが、その構造が株ごとにユニークで、構造の違いが細胞指向性(cell tropism)や増殖速度に関係していると考えられるわけである。我々はスローウイルス説の立場をとる。つまり病原体に特異的遺伝子情報があって遺伝子変異によって株多様性が生じると考えると、これはウイルスでのよく知られた現象であり株の存在は理解しやすい。病原体の物理化学的性質についての比較検討は紙面の制約上割愛する。

## VIII 培養細胞系を用いた病原体株の検討

では、TSE病原体株とは何であろうか。病原体の本体が明らかになるまで、それは想像するより

ほかにはないが、潜伏期の違いは単純に解釈すると病原体の増殖速度を反映すると思われる。症状および病理像は、病原体が脳内のどの領域に感染増殖し細胞障害を起こす傾向にあるのか、つまり細胞指向性を反映していると考えていいだろう。次に我々が近年行ってきた培養細胞を用いた病原体株の解析について具体的に述べ、株の存在する意義について考えてみたい。病原体の本質を理解するには、均一な培養細胞を宿主に用いた持続感染系を作出し、病原体の感染様式、増殖メカニズムを解析するのが王道であるが、TSE病原体は持続感染系の作成が長い間極めて困難とされていた。それでもマウスおよびハムスターの感染脳から不死化細胞が分離され持続感染が確認され<sup>13, 14)</sup>、またマウス神経芽細胞腫(Neuro2a)<sup>15)</sup>とラット褐色細胞腫(PC-12)<sup>16)</sup>が*in vitro*で低いレベルながらも持続感染が成立すると報告された。我々はこのNeuro2aにマウスPrPを過剰発現させることで比較的容易に感染する細胞を得ることに成功した<sup>17)</sup>。またマウスの視床下部神経細胞由来の不死化細胞株(GT1)と奇形種から分離された神経前駆細胞(1C11)への感染を試み、GT1が多くのマウス順化株に感受性であること、1C11はscrapie株よりもヒトTSE株に感受性であることを見いだした(Nishida, 未発表)。ここでいう感染成立とは、異常PrPの産生と実験動物への細胞接種による病原性の伝搬確認のことである。これらの培養細胞では細胞毒性が見られないため、感染の指標としては上記の方法以外にいまのところ検出方法がない。マウス順化株(表1)のChandler株, 22L株, Fukuoka-1株(FU-GSS)を用いて、Neuro2a, GT1および1C11細胞への感染効率を比較すると株ごとに細胞指向性があることが明らかになった。その分子レベルでのメカニズムは不明であるが、PrPだけでは説明が困難であり、宿主の別の分子(因子)が関与しているものと思われる。

我々はこれらの持続感染細胞において、病原体がそれぞれの株としての性質を長期培養後も保持していることを確認した<sup>18, 19)</sup>。非常に興味深いのは、これらの異なるTSE病原体株間の相互作用についての報告である。Dickinsonらはスクレイピー由来の22Aと22C株を用いて、一定期間をあ

表1 我々が実験に用いている分離株

マウス順化 TSE 株	由来 (病名 / 国)	種
SY	CJD sporadic/USA	Human
Fukuoka-1 (FU)	GSS P102L/Japan	Human
Chandler (Ch)	drowsy scrapie/UK	Goat
22L	scratchy scrapie/UK	Sheep

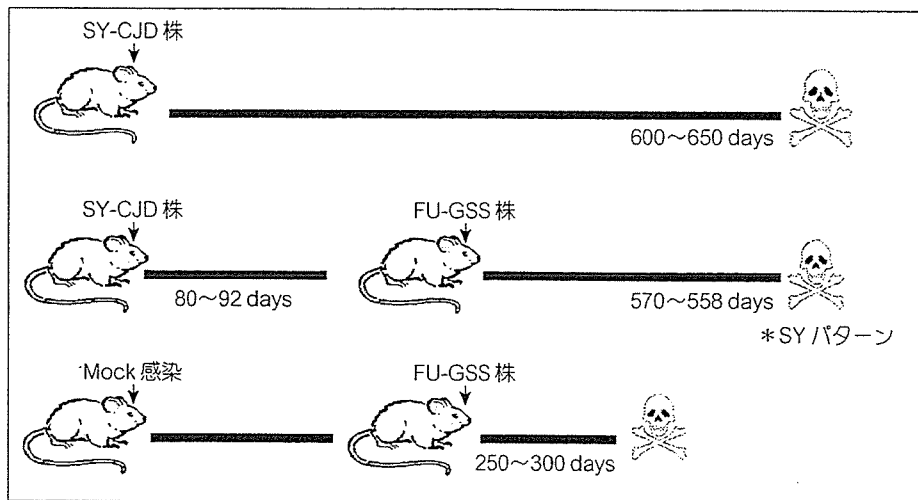


図1 弱毒株による干渉 (in vivo)

ヒト由来の SY 株と FU 株の重感染実験 (Manuelidis, et al.: PNAS 1998)。潜伏期が 600 日以上 SY 株を接種したのち FU 株を接種したところ、FU の感染は干渉を受け、先行感染する SY による発症しか認められなかった。

(文献 21 より引用)

けて両者をマウスに接種した場合、先行感染株がチャレンジ株の感染を妨げると報告した<sup>17)</sup>。また Manuelidis らは、SY-CJD 株が FU-GSS 株の重感染を阻止することを報告している (図 1)<sup>20, 21)</sup>。この現象は生体内での免疫系の関与があるのか (抗体産生は否定されている)、ウイルス干渉現象と類似の病原体間の作用であるのか明らかではなかった。そこで GT1 細胞が複数の病原体株に感受性があることを利用して、異なる株の重感染あるいは株間の干渉現象の有無について検討した (図 2)。詳細は省くが、結論だけを述べると SY-CJD 株持続感染細胞は FU-GSS 株, scrapie 株 (22L, Ch) に抵抗性を示した (図 3)。また scrapie 株感染細胞は GSS 株の感染を完全に干渉する場合もある (22L)、干渉せず重感染を許すこともある (Ch)<sup>22)</sup>。この実験結果の我々の現時点での“拡大解釈”は、「TSE 病原体にはいろんな性質の異なる

株が存在し、ひょっとすると CJD 病原体は広く人間界に存在する毒性が低い株で, scrapie 株や毒性の強い GSS 株の感染をある程度防いでいるのかもしれない」というものである。これまで疫学調査でスクレイピーのヒトへの感染はないとされてきたことや、ヨーロッパでの BSE 暴露人口に対する vCJD の発生数の低さ (この 10 年間で 180 人程度) は、「種の壁」の存在に加え、ウイルス様干渉が関与しているのではないかと考えている。

まとめると (1) TSE 病原体には性質の異なる「株」が存在し、(2) 株の性質は培養細胞にて長期継代しても安定で、(3) 株ごとに異なる細胞指向性あり、(4) 異なる株の重複感染は起る場合もあれば干渉される場合もある (表 2)。このような生物現象は単純に「異常 PrP が感染性の蛋白質で、感染とは異常 PrP が正常 PrP を異常型へと変換すること」との考えでは非常に説明が困難であ

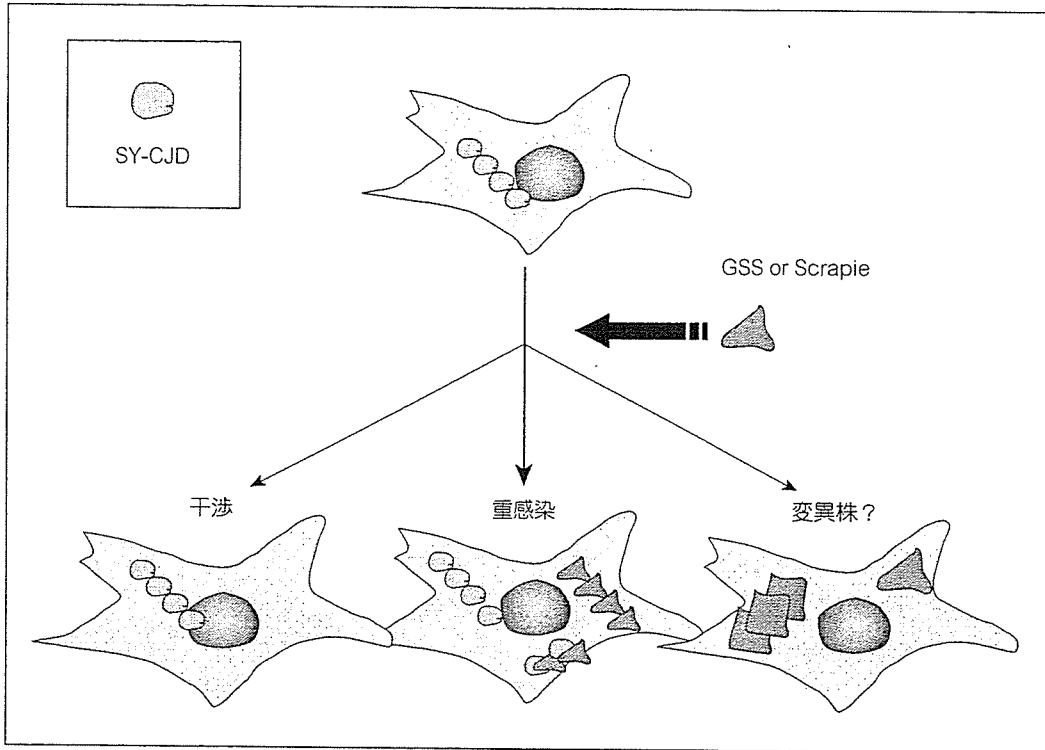


図2 培養細胞 GT1 を用いた病原体株間の重感染のイメージ

A株による先行感染が成立している細胞にB株をチャレンジした場合、図に示す3つのパターンが期待される。ただし変異株の産生に関しては現在まだ特定方法がない。

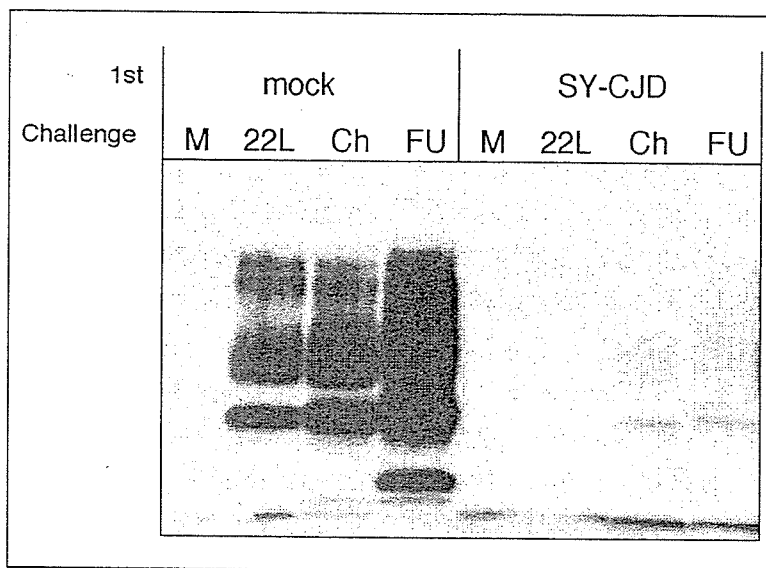


図3 GT1細胞を用いた干渉現象の検討

非感染細胞 (mock) と SY-CJD 感染細胞を用い、スクレイピー株 (22L, Ch) および GSS 株 (FU) をチャレンジした。継代培養 5 回目にて細胞から蛋白を抽出しプロテナーゼ K 処理後、PrP のウェスタンブロッキング法にて異常 PrP の存在を確かめた。mock 細胞では、22L, Ch, FU の感染が成立しているのに対し、SY 細胞は 22L を完全に、Ch と FU を部分的に干渉している。(文献 22 より引用)

表2 プリオンにおける株とは(まとめ)

- |  |
|--|
| 1. 固有の症状, 潜伏期間, 脳組織の病理変化で特徴づけられる。継代によってその性質は変化しない。 |
| 2. 何が株を規定しているのか, つまり情報を担う物質は何であるのかは不明。             |
| 3. 株固有の細胞指向性がある。                                   |
| 4. ウイルス様の株間での干渉現象が見られることがある。                       |

り, ウイルスの存在を強く示唆するものである。ウイルス説を支持するその他の根拠とウイルス同定の困難な理由については別の機会に考察したい。

### VIII 最後に

限られた紙面の都合上, 詳細な実験データの説明は省かせてもらって概要をつかんでもらうことを念頭に記述したが, 興味のある方はぜひ参考文献を精読してほしい。Prusinerをはじめとして複数の研究者がプリオン仮説の最終証明に取り組んでおり, 証明できたとする論文も近年発表されているが, 現実に自然界で起っていることをこの説ですべて説明できるわけではなく, 実験データもこれから検証されないことには真実はまだわからないということを理解してほしい。BSE スクリーニングの問題や米国産牛肉の輸入解禁の問題にしても, 我々が如何に頼りない限られた科学的知識に基づいて議論を繰り返しているか, 結局それは病原体の本質が不明で物事を中心がぼけているためである。さらに株多様性の存在はBSE対策を考える上で, これまでに得られてきた膨大なスクレイピーやCJDの研究データがそのまま適応できないという問題を引き起す。この謎の病原体の研究が始まってほぼ70年になるが, 我々の探求はまだその本質には届いていない。若い才能のある研究者の参画を期待する。

### 文 献

- 1) Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216 : 136-144, 1982
- 2) Comber : Real improvements in Agriculture 1772
- 3) Cuille J, Chelle PL : La maladie dite 'tremblante du mouton', est-elle inoculable ? *Comptes Rendus De L'Académie Des Sciences* 203 : 1552, 1936
- 4) Wilson DR, Anderson RD, Smith W : Studies in scrapie. *J Comp Pathol* 60 : 267-282, 1950
- 5) Pattison IH, Gordon WS, Millson GC : Experimental production of scrapie in goats. *J Comp Pathol* 69 : 300-312, 1959
- 6) Chandler RL : Encephalopathy in mice produced with scrapie brain material. *Lancet* i : 1378-1379, 1961
- 7) Dickinson AG, Fraser H, Meikle VM, Outram GW : Competition between different scrapie agents in mice. *Nat New Biol* 237 : 244-245, 1972
- 8) Fraser H, Dickinson AG : The sequential development of the brain lesion of scrapie in three strains of mice. *J Comp Pathol* 78 : 301-311, 1968
- 9) Tateishi J, Sato Y, Kuroiwa Y, et al. : Transmission of chronic spongiform encephalopathy with kuru plaques from humans to small rodents. *Ann Neurol* 5 : 581-584, 1979
- 10) Tateishi J, Ishii K, Kuroiwa Y, et al. : Experimental transmission of human subacute spongiform encephalopathy to small rodents. III. Further transmission from three patients and distribution patterns of lesions in mice. *Acta Neuropathol (Berl)* 53 : 161-163, 1981
- 11) Tateishi J, Kitamoto T, Hoque MZ, Furukawa H : Experimental transmission of Creutzfeldt-Jakob disease and related diseases to rodents. *Neurology* 46 : 532-537, 1996
- 12) Collinge J, Ironside J, Hill AF, et al. : Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 383 : 685-690, 1996
- 13) Clarke MC, Haig DA : Evidence for the multiplication of scrapie agent in cell culture. *Nature* 225 : 100-101, 1970
- 14) Haig DA, Pattison IH : *In-vitro* growth of pieces of brain from scrapie-affected mice. *J Pathol Bacteriol* 93 : 724-727, 1967

## 特集◎プリオン病とBSE

- 15) Hsiao KK, Kingsbury DT, Prusiner SB, et al. : Scrapie-infected murine neuroblastoma cells produce protease-resistant prion proteins. *J Virol* 62 : 1558-1564, 1988
- 16) Rubenstein R, Carp RI, Callahan SM : *In vitro* replication of scrapie agent in a neuronal model : infection of PC12 cells. *J Gen Virol* 65(Pt 12) : 2191-2198, 1984
- 17) Nishida N, Milhavet O, Lehmann S, et al. : Successful transmission of three mouse-adapted scrapie strains to murine neuroblastoma cell lines overexpressing wild-type mouse prion protein. *J Virol* 74 : 320-325, 2000
- 18) Nishida N, Lehmann S, Katamine S, et al. : Biological and biochemical characteristics of prion strains conserved in persistently infected cell cultures. *J Virol* 79 : 7104-7112, 2005
- 19) Islinger F, Nishida N, Manuelidis L, et al. : Two Creutzfeldt-Jakob disease agents reproduce prion protein-independent identities in cell cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 101 : 8768-8773, 2004
- 20) Manuelidis L : Vaccination with an attenuated Creutzfeldt-Jakob disease strain prevents expression of a virulent agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 2520-2525, 1998
- 21) Manuelidis L, Lu ZY : Virus-like interference in the latency and prevention of Creutzfeldt-Jakob disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 5360-5365, 2003
- 22) Nishida N, Katamine S, Manuelidis L : Reciprocal interference between specific CJD and scrapie agents in neural cell cultures. *Science* 310 (5747) : 493-496, 2005

# Relationship between Delusions and Regional Cerebral Blood Flow in Alzheimer's Disease

Seigo Nakano<sup>a,b</sup> Fumio Yamashita<sup>b</sup> Hiroshi Matsuda<sup>b,c</sup> Chiine Kodama<sup>b</sup>  
Tatsuo Yamada<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Internal Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, <sup>b</sup>National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Musashi Hospital, Tokyo, and <sup>c</sup>Department of Nuclear Medicine, Saitama Medical School Hospital, Saitama, Japan

## Key Words

Alzheimer's disease · Delusions · Regional cerebral blood flow · SPECT · PET

## Abstract

To investigate the association between delusions and cerebral functional deficits in Alzheimer's disease (AD), we evaluated probable AD patients with and without delusions. **Methods:** Functional brain imaging was performed by single photon emission computed tomography with technetium-99m-labeled ethyl cysteinate dimer (<sup>99m</sup>Tc-ECD) in 64 AD patients and 76 age-matched normal healthy volunteers. SPECT data were analyzed by statistical parametric mapping. **Results:** In AD patients, no differences were found in age and cognitive activities between those with (n = 25) and without (n = 39) delusions. Compared with normal healthy volunteers, AD patients had significantly decreased perfusion in the posterior cingulate gyri, precune, and parietal association cortex. Moreover, in the patients with delusions, perfusion was significantly decreased in the frontal lobe with right side dominance. In the comparison between the patients with and without delusions, the patients with delusions had significantly decreased perfusion in the prefrontal cortex, anterior cingulate gyri, inferior to middle temporal cortices, and parietal cortex of the right

hemisphere (p < 0.01). **Conclusion:** The functional deficits in the right hemisphere may be the cause of delusions in AD.

Copyright © 2006 S. Karger AG, Basel

## Introduction

Neuropsychiatric symptoms such as delusional thoughts are commonly observed in patients with Alzheimer's disease (AD), and caring for such patients is often difficult [1–3]. Moreover, such symptoms often necessitate institutionalization [4, 5]. Appropriate management of behavioral symptoms lessens the burden on caregivers and may help to postpone institutionalization [6]. Therefore, evaluation of psychosis and behavioral symptoms in AD is of considerable importance in practice. Recently, functional neuroimaging techniques such as positron emission tomography (PET) and single photon emission computed tomography (SPECT) have been used to explore regional abnormalities of brain function associated with delusions in AD. Several studies have revealed associations between delusional thoughts in AD and brain function of various regions [7–12]. The variability may be due to a relatively small number of subjects and/or use of a conventional region-of-interest (ROI) approach. Differences in populations and severity of disorder

der among the studies may also have accounted for the variable findings.

In this study, we applied a statistical parametric mapping technique to SPECT in order to investigate more closely the association between delusions and cerebral deficits in patients with probable AD in a relatively large number of subjects.

## Materials and Methods

### Subjects

Sixty-four probable AD patients who had been attending the outpatient memory disorder clinic at the National Center Hospital for Mental, Nervous and Muscular Disorders, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), Tokyo, Japan, were recruited in this study. The diagnosis of probable AD was based on the clinical criteria of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) [13] after detailed examinations, including magnetic resonance imaging (MRI), computed tomography, and  $^{99m}\text{Tc}$ -labeled ethyl cysteinate dimer ( $^{99m}\text{Tc}$ -ECD) SPECT. All patients underwent Mini Mental State Examination (MMSE) [14] to assess the severity of dementia.

The presence of delusions was assessed by means of a structured caregiver interview using the delusion subscale of the Neuropsychiatric Inventory (NPI) [15]. A patient was considered to have delusions if he or she had had delusions at least once within the previous 4 weeks. Patients with prominent visual hallucinations, prominent parkinsonism, or a fluctuating level of consciousness in addition to a history of falls were excluded. Patients with transient delusions due to delirium, drug toxicity, or other acute factors were also excluded. Patients had never been treated with cholinesterase inhibitors or neuroleptic drugs prior to SPECT examination.

Seventy-six normal healthy volunteers (37 men, 39 women; age range, 67–87 years; mean age  $\pm$  SD,  $71.0 \pm 7.1$ ) had no neurologic or psychiatric disorders, including alcoholism, substance abuse, atypical headache, head trauma with loss of consciousness, and asymptomatic cerebral infarction detected by  $T_2$ -weighted MRI. They did not significantly differ in age, sex and education from the AD patients.

This study was approved by the Ethics Committee of the National Center of Neurology and Psychiatry, and informed consent was obtained from all subjects prior to participation.

SPECT image data of normal healthy volunteers in the present study have been reported previously [16].

### SPECT Imaging

Each subject received an intravenous injection of 600 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD while lying supine with eyes closed in a dimly lit, quiet room. Ten minutes after injection, a brain SPECT was performed using a triple-headed gamma camera (MULTISPECT3; Siemens, Hoffman Estates, Ill., USA) equipped with high-resolution fan-beam collimators. For each scan, projection data were obtained in  $128 \times 128$  matrix, and the camera was rotated through  $120^\circ$  with 24 steps of 50 s per step. SPECT images were reconstructed using a Shepp and Logan Hanning filter at 0.7 cycles per centimeter. Attenuation correction was performed using Chang's method.

### Image Analysis

Voxel-based analysis of SPECT data was performed using Statistical Parametric Mapping 99 (SPM99) (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) run on MATLAB (The MathWorks, Inc., Sherborn, Mass., USA). The images were spatially normalized to an original template for  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD using SPM99 [17]. Images were then smoothed with a Gaussian kernel of 12 mm in full width half maximum (FWHM).

### Statistical Analysis

The processed images were analyzed using SPM99. The effect of global differences in cerebral blood flow among scans was removed by proportional scaling. The subject and covariate effects were estimated with a general linear model for each voxel. To test hypotheses about regional population effects, the estimates were compared using linear compounds or contrasts. The resulting sets of  $t$  values constituted statistical parametric maps (SPM $\{t\}$ ). SPM $\{t\}$  were transformed to unit normal distribution (SPM $\{Z\}$ ) and thresholded at  $p < 0.01$  without multiple comparisons. Extent threshold was set to 0 voxel. Moreover, gender, age at onset, disease duration, and MMSE score were treated as nuisance variables in the comparison of AD patients with and without delusions.

## Results

### Age, Sex, Severity, and Subtypes of Delusion

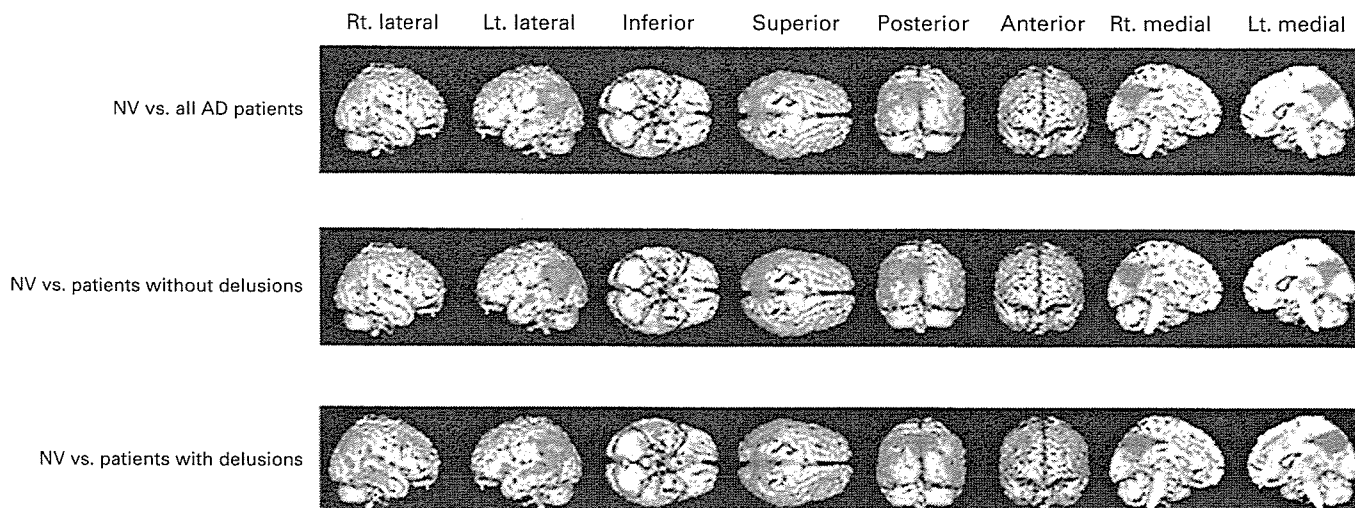
Of 64 patients with AD who underwent neuropsychological testing and brain perfusion SPECT, 25 patients were classified as having delusions and 39 patients as having no delusions. The two groups did not significantly differ in age, with the patients with delusions ranging from 55 to 92 years (mean, 74.7 years) and the patients without delusions from 48 to 86 years (mean, 71.1 years). MMSE scores did not significantly differ either between the two groups, ranging from 5 to 26 (mean  $\pm$  SD,  $16.8 \pm 5.9$ ) for the patients with delusions and from 9 to 26 (mean  $\pm$  SD,  $19.5 \pm 4.7$ ) for the patients without delusions.

The types of delusions are summarized in table 1. Some patients had more than one type of delusion. Of the 25 patients with delusions, delusion of theft was observed in 16 (64%), delusion of 'the house is not patient's own house', a type of misidentification delusions, was observed in 10 (40%), and delusional jealousy was observed in 2 (8%).

### Statistical Parametric Mapping

In the comparison between normal healthy volunteers and all AD patients, regional cerebral blood flow (rCBF) of the posterior precuneus, cingulate gyri, and parietal association cortex was significantly decreased in the AD patients (maximum at  $x, y, z$  in Talairach's space at 6,





**Fig. 1.** Result of SPM analysis (normal healthy volunteers vs. AD patients). The colored areas show the regions with lower perfusion in all AD patients (upper row), AD patients without delusions (middle row), and AD patients with delusions (lower row) compared with the normal healthy volunteers, respectively (voxel height = 0.05, uncorrected). NV = Normal healthy volunteers; Rt. = right; Lt. = left.

**Table 1.** Types of delusions in 25 patients with delusions

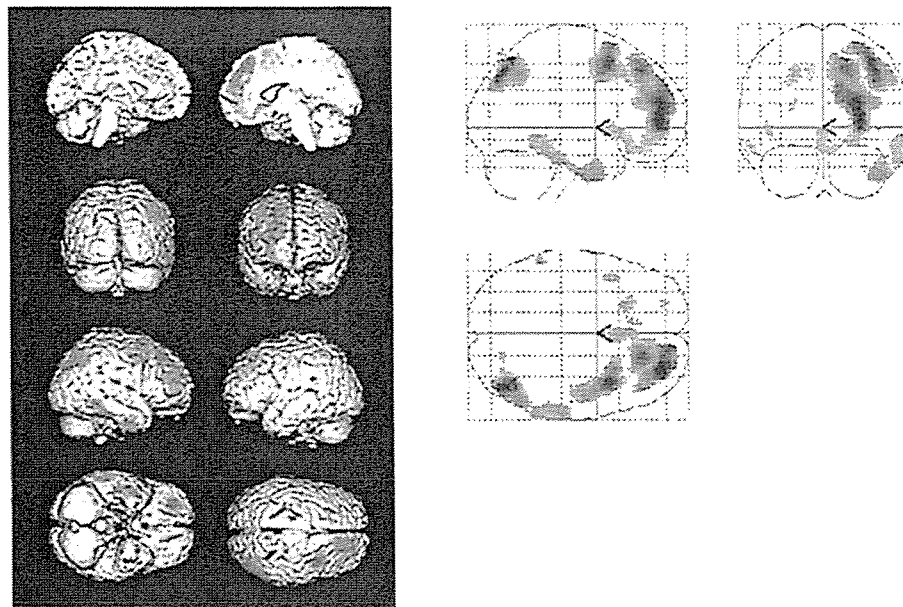
Type	Pa- tients	Age years	Gender M:F	Education years	MMSE
<b>Persecutory delusions</b>					
People are stealing things from patient	16	76.9 ± 8.6	4:12	10.2 ± 2.5	16.2 ± 6.4
Patient is being conspired against or harassed	3	73.3 ± 10.0	0:3	8.3 ± 2.1	6.5 ± 2.1
Patient has been abandoned	2	60 ± 2.8	0:2	9 ± 0	8.5 ± 0.7
<b>Misidentification delusions</b>					
Someone is in the house	8	74.5 ± 10.8	1:7	10.8 ± 2.7	14.5 ± 5.6
Spouse and others are not who they claim to be	2	78.5 ± 9.2	0:2	11 ± 0	14.5 ± 9.2
The house is not the patient's own house	10	70.7 ± 9.5	3:7	10.5 ± 2.3	16.9 ± 4.8
Television figures are actually present in the home	1	78	0:1	10	17
<b>Delusional jealousy</b>					
Others	2	74 ± 4.2	0:2	11 ± 1.4	18 ± 9.9
Others	2	70 ± 11.3	0:2	9.5 ± 0.7	12.5 ± 6.4

Values are mean ± SD unless otherwise indicated. A number of patients had more than one type of delusion.

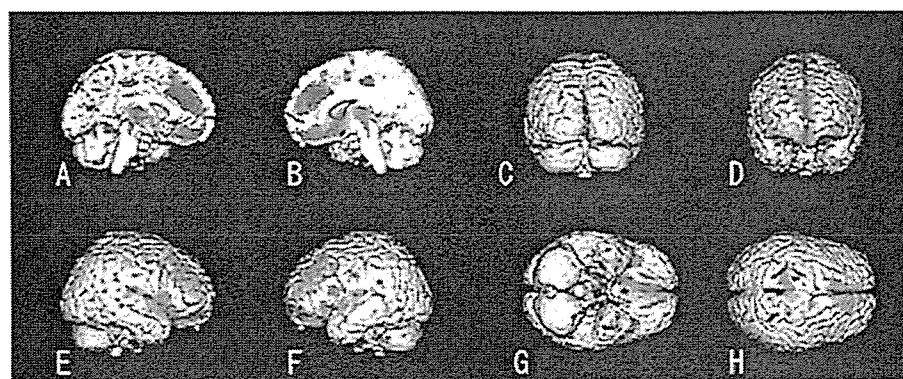
-53, 32, Z-score = 6.12, right precuneus; submaxima at -8, -54, 17, Z-score = 5.35, left posterior cingulate gyrus, and -53, -45, 41, Z-score = 4.91, left inferior parietal lobule; cluster size = 7,455 voxels) (voxel height = 0.05, uncorrected). Moreover, left-hemisphere dominant hypoperfusion was found in the patients without delusions (maximum at -48, -18, -6, Z-score = 3.16, left superior temporal gyrus; submaximum at -57, -6, -11, Z-score =

2.48, left middle temporal gyrus; cluster size = 261 voxels), and bilateral frontal lobe hypoperfusion, especially dominant in the right, was found in the patients with delusions (maximum at 44, 15, 36, Z-score = 3.40, middle frontal gyrus; cluster size = 846; submaximum at 8, 28, -18, Z-score = 3.35, right medial frontal gyrus; cluster size = 374) (voxel height = 0.05, uncorrected) (fig. 1).

**Fig. 2.** Result of SPM analysis (AD patients with delusions vs. AD patients without delusions). The colored areas show the regions with lower perfusion in the patients with delusions compared with the patients without delusions (voxel height = 0.01, uncorrected). Left: result superimposed on standard 3D anatomical template. Right: 3-way-glass brain view.



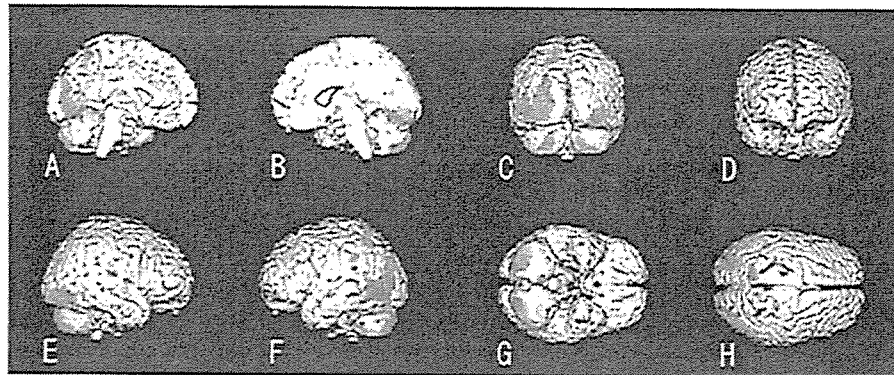
**Fig. 3.** Regions with lower perfusion in the patients with persecutory delusions compared with the patients with misidentification delusions (voxel height = 0.05, uncorrected). View from medial right (A), medial left (B), posterior (C), anterior (D), right lateral (E), left lateral (F), inferior (G), and superior (H).



Compared with the patients without delusions, the patients with delusions showed significantly decreased perfusion in the right prefrontal cortex (maxima at 30, 51, 3, Z-score = 3.71, right middle frontal gyrus, and 28, 51, 10, Z-score = 3.63, right superior frontal gyrus; cluster size = 2,723 voxels; submaximum at 40, 12, 44, Z-score = 3.41, right middle frontal gyrus; cluster size = 747 voxels), right inferior to middle temporal cortices (maximum at 40, 0, -32, Z-score = 2.94, right middle temporal gyrus; cluster size = 407 voxels), and right parietal cortex (maximum at 42, -66, 46, Z-score = 3.55, right inferior parietal lobule; cluster size = 538 voxels) (voxel height = 0.01, uncorrected) (fig. 2). There was no region with increased rCBF in the patients with delusions compared with the patients without delusions.

In the comparison within the patients with delusions, rCBF in patients with a delusion of 'people are stealing things from patient' (n = 16), a type of persecutory delusions, was more decreased in the bilateral anterior cingulate gyrus compared with the patients with a delusion of 'the house is not patient's own house' (n = 10), a type of misidentification delusions (maximum at 6, 38, 22, Z-score = 3.42; cluster size = 5,736) (voxel height = 0.05, uncorrected) (fig. 3). Moreover, rCBFs of the patients with misidentification delusions were more decreased in the left lingual gyrus (maximum at -26, -76, 2, Z-score = 3.32; cluster size = 1,925 voxels) and right middle occipital gyrus (maximum at 34, -80, -9, Z-score = 2.86; cluster size = 636 voxels) (voxel height = 0.05, uncorrected) (fig. 4).

**Fig. 4.** Regions with lower perfusion in the patients with misidentification delusions compared with the patients with persecutory delusions (voxel height = 0.05, uncorrected). View from medial right (A), medial left (B), posterior (C), anterior (D), right lateral (E), left lateral (F), inferior (G), and superior (H).



## Discussion

In AD, delusions constitute one of the most prominent psychiatric manifestations [18] and were reported in the initial case description by Alzheimer [19]. The prevalence of delusions was reported as 22% by Mega et al. [20], 46.7% by Ozawa [21], 38.6% by Hirono et al. [22], 55% by Wilson et al. [23], and 47.3% by Ikeda et al. [6]. In this study, 39.1% of the AD patients exhibited delusions, with this figure well within the range reported in the previous studies. Gender difference has not been found in studies performed in Western countries on a large number of subjects [24]. However, in Japan, several studies have reported that psychotic symptoms were more common in females than in males. Female predominance in delusion was also evident in this study. The discrepancy between Western countries and Japan may be attributed to methodological and sociocultural differences, as suggested by Ikeda et al. [6].

Recent PET and SPECT studies with AD patients have revealed selective rCBF reductions in the posterior cingulate gyrus, precuneus, and parietal association cortex using a stereotactic anatomic standardization technique such as SPM and 3D-SSP [16, 25–28]. The same finding was made in the present study that compared normal healthy volunteers and AD patients. In addition, frontal lobe hypoperfusion with right-side dominance was found in the patients with delusions, although rCBF of the patients without delusions was not significantly decreased in the frontal lobe. To our knowledge, this is the first report to show a right-side dominant decrease of rCBF in the frontal lobe in patients with delusions as compared with normal healthy volunteers using an SPM technique.

Moreover, to clarify the relationship between characteristics of delusions and regional perfusions, we attempt-

ed to compare cortical perfusions of AD patients with different types of delusions although the sample size was limited. Lower perfusion in the anterior cingulate gyrus was observed in the patients with persecutory delusions, and lower perfusions in the lingual gyrus and middle occipital gyrus were observed in the patients with misidentification delusions. Further studies with a larger number of patients are needed to elucidate the association between regional deficits and each delusion.

An association between cerebral deficits and delusions has been previously noted, and findings from stroke and brain trauma research have suggested that delusions may be caused by deficits in the right hemisphere [29]. Several researchers have also demonstrated relationships between delusions and cerebral regions in AD. For example, Fukuhara et al. [30] found an association between delusions and right medial posterior parietal hypoperfusion. Staff et al. [9] noted a relation between delusions and right frontal cortex. Sultzer et al. [11] found that delusions are associated with hypometabolism in the right superior dorsolateral frontal cortex, right inferior frontal pole, and right lateral orbitofrontal region by using a conventional ROI approach. Similar findings, such as involvement of the right frontal region, were examined in the present study, but the specific regions varied.

Variable findings may be due to differences in sample size and analytical methods as well as populations and severity of disorder. Since the past studies were performed in a rather small number of subjects, we included a larger number to demonstrate the relationship between delusions and functional deficits. Furthermore, we used SPM analysis instead of ROI analysis. Image analysis using ROI is often criticized for not providing information outside the ROI; alteration of cerebral blood flow outside the ROI may be overlooked. The use of SPM to analyze reconstructed SPECT data has an advantage over the con-

ventional ROI approach because it makes no a priori assumptions of location and size. However, we must keep in mind that SPM analysis also has limitations: it cannot test a specific neuroanatomic hypothesis and is susceptible to type I error.

In the present study, we found a close relationship between delusions and right hemispheric deficits. This finding supports the hypothesis of Malloy and Richardson [29], according to which a functional deficit in the right hemisphere causes a sense of unfamiliarity concerning places and persons, and leads to recognition disorders and self-corrective dysfunction. Thus, right posterior temporo-parietal lesions may produce a sense of unfamiliarity concerning place, right inferior temporal lesions may produce recognition disorders or a sense of unfamiliarity

with persons, and anterior parietal lesions may produce dysmorphic distortions. Delusions may result from elaboration of these misperceptions.

## Conclusion

Our results showed a characteristic pattern of rCBF reduction in AD patients with delusions compared with normal healthy volunteers and AD patients without delusions. Deficits in the right hemisphere in AD patients appear to play the major role in the emergence of delusions. Detection of right hemispheric deficits using a statistical parametric mapping approach may become useful in the future for making therapeutic choices.

## References

- 1 Psychotic symptoms in Alzheimer's disease (editorial). *Lancet* 1989;ii:1193-1194.
- 2 Rabins PV, Mace NL, Lucas MJ: The impact of dementia on the family. *JAMA* 1982; 248: 333-335.
- 3 Haupt M, Romero B, Kurz A: Delusions and hallucinations in Alzheimer's disease: results from two-year longitudinal study. *Int J Geriatr Psychiatry* 1996; 11: 965-972.
- 4 Steele C, Rovner B, Chase GA, Folstein M: Psychiatric symptoms and nursing home placement of patients with Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 1049-1051.
- 5 Haupt M, Kurz A: Predictors of nursing home placement in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 1993; 8: 741-746.
- 6 Ikeda M, Shigenobu K, Fukuhara R, Hokoishi K, Nebu A, Maki N, Nomura M, Komori K, Tanabe H: Delusions of Japanese patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003; 18: 527-532.
- 7 Hirono N, Mori E, Ishii K, Kitagaki H, Sasaki M, Ikejiri Y, Imamura T, Shimomura T, Ikeda M, Yamashita H: Alteration of regional cerebral glucose utilization with delusions in Alzheimer's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1998; 10: 433-439.
- 8 Starkstein SE, Vazquez S, Petracca G, Sabe L, Migliorelli R, Teson A, Leiguarda R: A SPECT study of delusions in Alzheimer's disease. *Neurology* 1994; 44: 2055-2059.
- 9 Staff RT, Shanks MF, Macintosh L, Pestell SJ, Gemmell HG, Venneri A: Delusions in Alzheimer's disease: spet evidence of right hemispheric dysfunction. *Cortex* 1999; 35: 549-560.
- 10 Mega MS, Lee L, Dinov ID, Mishkin F, Toga AW, Cummings JL: Cerebral correlates of psychotic symptoms in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69: 167-171.
- 11 Sultzer DL, Brown CV, Mandelkern MA, Mahler ME, Mendez MF, Chen ST, Cummings JL: Delusional thoughts and regional frontal/temporal cortex metabolism in Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 341-349.
- 12 Mentis MJ, Weinstein EA, Horwitz B, McIntosh AR, Pietrini P, Alexander GE, Furey M, Murphy DG: Abnormal brain glucose metabolism in the delusional misidentification syndromes: a positron emission tomography study in Alzheimer disease. *Biol Psychiatry* 1995; 38: 438-449.
- 13 McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM: Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA working group under the auspices of the Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34: 939-944.
- 14 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: 'Minimal state'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-198.
- 15 Cummings JL, Mega M, Gray K, Rosenberg-Thompson S, Carusi DA, Gornbein J: The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994; 44: 2308-2314.
- 16 Imabayashi E, Matsuda H, Asada T, Ohnishi T, Sakamoto S, Nakano S, Inoue T: Superiority of 3-dimensional stereotactic surface projection analysis over visual inspection in discrimination of patients with very early Alzheimer's disease from controls using brain perfusion SPECT. *J Nucl Med* 2004; 45: 1450-1457.
- 17 Ohnishi T, Matsuda H, Hashimoto T, Kunihiko T, Nishikawa M, Uema T, Sasaki M: Abnormal regional cerebral blood flow in childhood autism. *Brain* 2000; 123: 1838-1844.
- 18 Migliorelli R, Petracca G, Teson A, Sabe L, Leiguarda R, Starkstein SE: Neuropsychiatric and neuropsychological correlates of delusions in Alzheimer's disease. *Psychol Med* 1995; 25: 505-513.
- 19 Alzheimer A: Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psychiatr Psych-Gerichtl Med* 1907; 64: 146-148.
- 20 Mega MS, Cummings JL, Fiorello T, Gornbein J: The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology* 1996; 46: 130-135.
- 21 Ozawa I: The delusion of theft in elderly with dementia. 1. Statistical data and psychopathology of the delusion (in Japanese). *Seishin Shinkeigaku Zasshi* 1997; 99: 370-388.
- 22 Hirono N, Mori E, Yasuda M, Ikejiri Y, Imamura T, Shimomura T, Ikeda M, Hashimoto M, Yamashita H: Factors associated with psychotic symptoms in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 648-652.
- 23 Wilson RS, Gilley DW, Bennett DA, Beckett LA, Evans DA: Hallucinations, delusions, and cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69: 172-177.
- 24 Bassiony MM, Steinberg MS, Warren A, Rosenblatt A, Baker AS, Lyketsos CG: Delusions and hallucinations in Alzheimer's disease: prevalence and clinical correlates. *Int J Geriatr Psychiatry* 2000; 15: 99-107.
- 25 Minoshima S, Foster NL, Kuhl DE: Posterior cingulate cortex in Alzheimer's disease. *Lancet* 1994; 344: 895.
- 26 Minoshima S, Giordani B, Berent S, Frey KA, Foster NL, Kuhl DE: Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1997; 42: 85-94.
- 27 Ishii K, Sasaki M, Yamaji S, Sakamoto S, Kitagaki H, Mori E: Demonstration of decreased posterior cingulate perfusion in mild Alzheimer's disease by means of H215O positron emission tomography. *Eur J Nucl Med* 1997; 24: 670-673.
- 28 Kogure D, Matsuda H, Ohnishi T, Asada T, Uno M, Kunihiko T, Nakano S, Takasaki M: Longitudinal evaluation of early Alzheimer's disease using brain perfusion SPECT. *J Nucl Med* 2000; 41: 1155-1162.
- 29 Malloy PF, Richardson ED: The frontal lobes and content-specific delusions. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1994; 6: 455-466.
- 30 Fukuhara R, Ikeda M, Nebu A, Kikuchi T, Maki N, Hokoishi K, Shigenobu K, Komori K, Tanabe H: Alteration of rCBF in Alzheimer's disease patients with delusions of theft. *Neuroreport* 2001; 12: 2473-2476.