

孤発性クロイツフェルトヤコブ病と6種類のサブタイプ

Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease : Clinical and Diagnostic Characteristics of the Rare VV1 Type

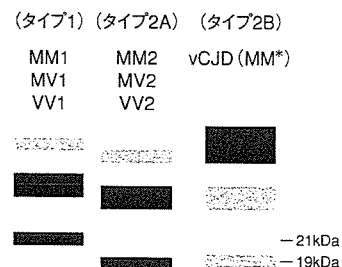
Coexistence of Multiple PrP^{Sc} Types in Individuals with Creutzfeldt-Jakob Disease

孤発性クロイツフェルトヤコブ病(sCJD)は、プリオン蛋白質の遺伝子多型と消化断片の電気泳動パターンによって、6つのサブタイプに分類することができる。論文1では、sCJDのサブタイプのなかで最も低頻度でこれまで知見の少なかったVV1タイプの臨床および診断的特徴を調べている。論文2で

は、6種類のサブタイプは消化断片のサイズで大きくタイプ1とタイプ2の2つのグループに分類できるが、今回、タイプ1に特異的な抗体を用いることによって、これまでタイプ2に分類されてきたサブタイプの多くにタイプ1が混在することを報告している。

最もまれなsCJDサブタイプVV1の臨床および診断的特徴

図1 sCJDサブタイプの電気泳動パターン



*: BSEから感染したvCJD患者には現在MMタイプしか見つかっていない。

sCJDは、プリオン蛋白質の129番目のアミノ酸多型(メチオニン/バリン)とプロテアーゼ耐性を示す蛋白質断片の電気泳動パターン(図)によって6種類のサブタイプ(MM1、MM2、MV1、MV2、VV1、VV2)に分類することができる。各サブタイプは、臨床経過や病変部位のパターンなどが異なり、臨床型とよく対応することが知られている(表1)。VV1は最もまれなサブタイプであり、報告も少なくこれまで知見に乏しかった。論文1では、1993年から2003年にドイツにてsCJDと確定された571検体からVV1と確定された9例(男性8例;平均年齢45歳、女性1例;65歳)について、臨床的特徴や神経病理学的な病変部位のパターンを調べた。すべての患者は比較的若

年で発症し、主な初期症状は大脳巣症状、性格変化、緩徐な進行性痴呆であった。脳波検査(EEG)ではsCJDに典型的とされる同期性放電は認められなかった。MRIではすべての症例において大脳皮質にシグナル増強が認められたが、sCJDに典型的な基底核のシグナル増強は7例中2例であった。脳脊髄液中の14-3-3蛋白質はすべての症例で増加していた。MRIでの皮質シグナルの増強と14-3-3蛋白質の増加はVV1症例において最も共通した所見であった。VV1は鑑別診断の際、若年で発症する変異型CJDに疑われる場合もあるが、MRIによる診断によってこれらを区別することができ、初期診断のツールとして有用である。

表1 sCJDのサブタイプ

サブタイプ	頻度	特徴	進行	プリオン蛋白質の沈着	主要な病変部位	臨床症状	有用な検査
MM1 MV1	70%	古典的	亜急性	シナプス型	大脳皮質・小脳	痴呆・ミオクローヌス	14-3-3・脳波・MRI
VV2	25%	痴呆型	亜急性	シナプス型	小脳・基底核・視床	失調・痴呆	14-3-3・MRI
MM2	2%	視床型	緩徐	シナプス型・ブランク型	視床・下オリブ核	自律神経異常・不眠	なし
MV2	2%	皮質型	緩徐	シナプス型・ブランク型	大脳皮質・基底核	痴呆	なし
MV2	2%	失調・痴呆型	緩徐	シナプス型・ブランク型	大脳皮質・基底核・視床	失調・痴呆	MRI
VV1	1%	痴呆型	緩徐	シナプス型	大脳皮質・基底核	痴呆	14-3-3・MRI

Meissner B, Westner IM, Kallenberg K et al: *Neurology* 65(10): 1544~1550, 2005
Polymenidou M, Stoeck K, Glatzel M et al: *Lancet Neurol* 4(12): 805~814, 2005

タイプ2型sCJDにはタイプ1型が混在する

プリオン蛋白質は糖鎖修飾を受ける部位を2箇所もち、電気泳動によって、糖鎖の付加を受けないもの、1つ受けたもの、2つ受けたものに相当する3本のバンドとして検出できる。異常感染型プリオン蛋白質(PrP^{Sc})は、プロテアーゼ処理によってN末端側が分解され、C末端側のポリペプチドのみを検出することができるが、~82番目のアミノ酸で切断を受け21kDaの消化断片を生じるもの(タイプ1)と~97番目で切断を受け19kDaの消化断片を生じ

るもの(タイプ2)に大きくグループ分けできる(図)。そのため、82番目から97番目までのアミノ酸配列を認識する抗体は、タイプ1の消化断片のみを認識することになる。そのようなモノクローナル抗体POM2あるいはPOM12を使用して、70人のsCJD患者と3人のバリエーション型CJD(vCJD)患者から得た114の脳ブロックについてウエスタンブロット(WB)法を行った(表2)。今回調べたsCJDおよびvCJDの脳ブロックは従来の抗体(3F4あるいはPOM1)を用いたWB法では、すべてにおいて各々VV2タイプ、vCJDタイプであった。ところが、POM2またはPOM12を用いてWB法を行ったところ、すべての検体においてPrP^{Sc}の沈着の多い部位および小脳にタイプ1のサブタイプが認められた。この同一個体に複数のサブタイプが共存するという結果は、病原因子プリオンの多様な株の区別に消化断片を代用マーカーとして使用することの妥当性と近年CJDのサブタイプ分類の理論的根拠に疑義を呈するものである。

逆瀬川 裕二・教授 堂浦克美 (東北大学大学院
医学系研究科プリオン蛋白質分子解析分野)

表2 従来の抗体とタイプ1のみを認識する抗体によるsCJD(大脳皮質)のタイプニング

	3F4 あるいは POM1 (タイプ1とタイプ2を認識)	POM2 あるいは POM12 (タイプ1のみを認識)
CJDタイプ1		
MM1	41/41 (ポジティブ/全検体)	41/41
MV1	6/6	6/6
CJDタイプ2		
MM2	3/3	2/3*
MV2	11/11	5/11*
VV2	9/9	4/9*

*: 約半数の検体にタイプ1が混在することを示す。

現在のサブタイプ分類はプリオン株を説明するのに妥当か?

逆瀬川 裕二・堂浦克美

孤発性クロイツフェルトヤコブ病(sCJD)サブタイプVV1は、比較的若年で発症し、臨床経過もバリエーション型CJD(vCJD)に似ていることから、診断初期に両者を鑑別することは難しい。今回、これまで知見に乏しかったVV1について新たに9例解析することによって、VV1の臨床および診断的特徴が明らかとなってきた。現在、vCJDにはVVタイプの感染者は発生し

ていないが、今後、VVタイプの発症例が出た場合に、両者の鑑別診断は大いに役立つであろう。タイプ1とタイプ2が同一個体に混在するという報告はすでに1999年に報告されている(Puoti G et al: *Neurology* 53(9): 2173-2176, 1999)。今回、これまでタイプ2とされていた70検体すべてにタイプ1が検出されたという結果は、すぐにこれまでのサブタイプ分類を否定するものではない。しかしながら、サブタイプを規定する異常感染型プリオン蛋白質は、絶えず同一の構造体を維持して増加するのではなく、異なる構造体をとりえるゆらぎ

をもちながら増加し、あるいは複数の構造体が干渉しあって増加し、その結果が臨床症状や診断結果に反映しているとも考えられる。複数のサブタイプが単一株のプリオンをもとに生じたのか、もともと複数株のプリオンが同時に感染したのかは不明である。また、タイプ1検体にタイプ2が混在している可能性については、タイプ2分子の特異的な検出系がないため、現在のところわからない。プリオンの株あるいはサブタイプを規定するメカニズムを明らかにしていくには、いまだ多くの課題が残っており、今後の研究に期待したい。

プリオンイメージングの試み

石川 謙介 堂浦 克美

■ はじめに

近年の我が国や世界各国での BSE 発生により、感染牛由来品の摂取を原因とする変異型 CJD の勃発が危惧されている。多発している汚染脳硬膜移植による医原性 CJD を加えると、潜在的なハイリスク群が少なからず想定され、プリオン病の予防・治療法の確立が急務となっている。現在、臨床研究が加速しており、ペントサン硫酸の脳室内持続投与など、日本発のプリオン病治療法の有効性が日本や海外で検討されている^{1,2)}。

プリオン病治療の臨床試験では、2つの大きな問題に直面する。まず画像検査や生化学的検査による発症前診断が不可能であるため、治療的介入は症状出現後の進行した状態となりやすいこと、さらに、その効果については比較できる客観的な評価に至りがたいことである。治療を早期から開始し患者の生命予後改善を目指すには、現在よりも特異的かつ迅速な診断法の開発が不可欠である。そこで、我々は、プリオン病に特異的である異常なプリオン蛋白の脳組織への沈着を画像化する方法(プリオンイメージング)の開発研究を行っている。

プリオンイメージングの試み

プリオン病の画像診断に関しては、頭部 MRI 拡散強調画像(DWI)が早期から異常信号を捉えることが可能で、臨床的に有用であると近年報告されている³⁾。その所見は特異的ではあるものの、病勢の進行とともに信号域や強度が変化し、対応する病理所見は海綿状変化やグリオシスなどとされるが、定説には至っていない。病勢診断には、プリオン病共通の病理所見である異常プリオン蛋白沈着を反映するイメージングが望まれる。

プリオン病のみならず神経変性疾患の治療や診断については展望が開けつつあり、非侵襲的な画像診断に PET(ポジトロン断層撮影)や SPECT(シングルフォトン断層撮影)などの核医学的検査を用いて、脳内の循環代謝や神経伝達機能、神経病理学的変化に関する情報を得ることが有用とされている。特にアルツハイマー病患者の脳内アミロイド沈着(老人斑および神経原線維変化)をモニターする診断用プローブの報告が相次いでいる。プリオン仮説に従えば、プリオン病の病原因子とされる異常型プリオン蛋白は宿主に存在する正常型プリオン蛋白の異性体で、プリオン蛋白内の α ヘリックス構造が β シート構造に高次構造変換されたものである。この異常型プリオン蛋白はアミロイド様線維として存在するため、我々は既存の β アミロイド画像化プローブをプリオン病へ応用し検討を行った⁴⁾。

アルツハイマー病脳に特徴的な病理所見、特に β アミロイドからなる老人斑を標的としたプローブ候補として報告されている化合物は主に、以前からアミロイド染料として使用されてきたチオフラビン T やコンゴレッドに由来する。我々はまず、チオフラビン T 類似化合物 BTA-1(2-[4'-(methylamino)phenyl] benzothiazole)、およびコンゴレッド類似化合物 BSB[(trans, trans)-1-bromo-2,5-bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene] に注目した(図 1)。BTA-1 はチオフラビン T からメチル基を除き、電荷を中性化して脳内移行性を改善したもので、他方の BSB はコンゴレッドのジアゾ結合による発癌性などの問題をクリアしたうえで、分子量を小さくして脳に入りやすくしたものである。両化合物は患者脳病理組織中のアミロイド病変や、アルツハイマー病モデルマウスの脳内アミロイド病変と結合し、蛍光顕微鏡下ではシグナルを発することが知られている^{5,6)}。特に BTA-1 誘導体を標識した化合物は Pittsburgh Compound-B として既に海外で PET 臨床治験が行われ、アルツハイマー病患者群では病変

いしかわ けんすけ 東北大学/大学院医学系研究科プリオン蛋白分子解析分野

どうらら かつみ 同 教授

部位にプローブが集積することが報告されている⁷⁾。特異的なプリオン病診断法が未だ存在しない中で、他の脳アミロイドーシスのために開発されたプローブ化合物をプリオン病モデルに応用することは重要であり、治験過程においてクリアすべき安全性試験などを考慮すると臨床研究に直結しやすいといえる。

まず、化合物溶解液を様々な種類のヒトプリオン病の脳病理組織にふりかけて、病変が描出されるかを検討した。比較検討のために同一標本において抗プリオン蛋白抗体による免疫染色を行った。遺伝性プリオン病である Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) 病、変異型 CJD (vCJD) の標本において、プラーク型の異常プリオン蛋白沈着(大型のアミロイド斑)を蛍光染色した(図2, BSB による描出)。一方、散発性 CJD (sCJD) 脳においては、約 10% の症例に認められるアミロイド斑は染色されたが、多くを占めるびまん性の微細顆粒状沈着(いわゆるシナプス型分布)は描出されなかった。また、硬膜移植後 CJD 症例における空胞周囲の異常プリオン沈着も蛍光染色されなかった。いずれの化合物による組織染色も約 1 時間で終了し、免疫染色に比べると大幅な簡略化が可能であった。

検討したプローブ化合物は、プリオン病モデルマウス脳組織標本においてもプラーク型の異常プリオン蛋白沈着を検出したことから、次に *in vivo* での有用性を検討した。モデルマウスはプリオン蛋白を過剰発現した遺伝子改変マウスにプリオン感染脳乳剤を脳内接種したもので、ほぼ一定期間内に失調などの神経症状を発症し死亡する。実験には、明らかな臨床症状は呈さないが、免疫染色で脳内病変が確認されている時期(接種して約 6 週後)のマウスを用いて、化合物溶解液を尾静脈より投与した。一定時間後に取り出した脳の凍結切片を作成して蛍光顕微鏡で観察したところ、脳室に沿った白質にプラーク型の異常プリオン蛋白沈着を示す蛍光シグナルが検出され、抗プリオン蛋白抗体を用いた免疫染色で特異性を確認した(図3)。化合物投与後の様々な経過時間でシグナルを観察すると、直後には髄膜血管などへの非特異的な沈着が強く認められ、18 時間後までは化合物により検出された病変と血管の像を明確に区別

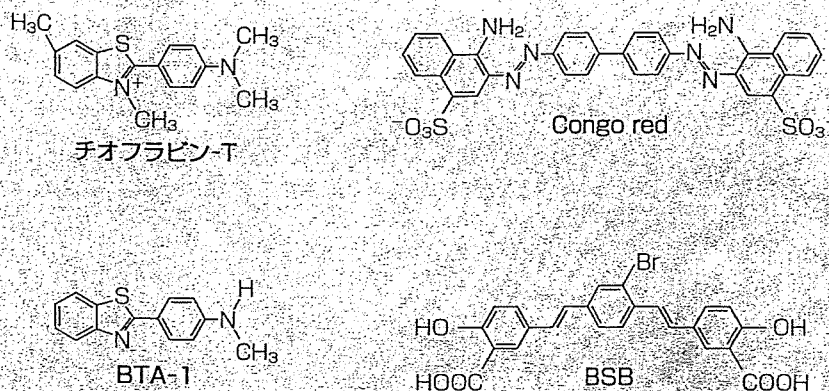


図1 チオフラビン-T類似化合物 BTA-1および Congo red 類似化合物 BSB

することは困難であった。以降は非特異的背景を認めず、化合物のシグナルは投与 42 時間後においても確認された。

さらに我々は検出感度の問題を考慮して、類似のプローブ候補化合物を放射性標識し、病理組織標本およびモデルマウス生体を用いて同様の検討を行ったが、非特異的な結合によるノイズが問題となっている。アミロイド親和的な化合物は脂質にも親和性を有するため、脳白質線維や血管内の沈着物(アテローム動脈硬化や脳血管アミロイドーシスなど)に結合してしまう可能性が大きい。組織染色では分別(染色液の洗浄)条件、マウス実験では化合物投与量と経時的な条件の更なる検討が必要である。

プリオンイメージングの現状および展望

本研究では、*in vitro* および *in vivo* のレベルで β アミロイドプローブ化合物がプリオン病脳のプラーク型異常プリオン蛋白沈着を描出可能であることが明らかになった。しかしプリオン病の多くを占めているのは sCJD であり、その病理所見の中心となるシナプス型のプリオン蛋白沈着を検出することが今後の大きな課題である。プリオンイメージングについては、我々の他には主に UCLA の研究グループからの報告があるが、病理組織標本におけるプラーク型病変の検出に留まっている⁸⁾。今後は脳内移行性のみならず、細胞内への移行性も高い化合物をみつける必要がある。

上述の化合物 BSB では、他のコンフォメーション病の病理組織標本におけるアミロイド染色も報告されてい

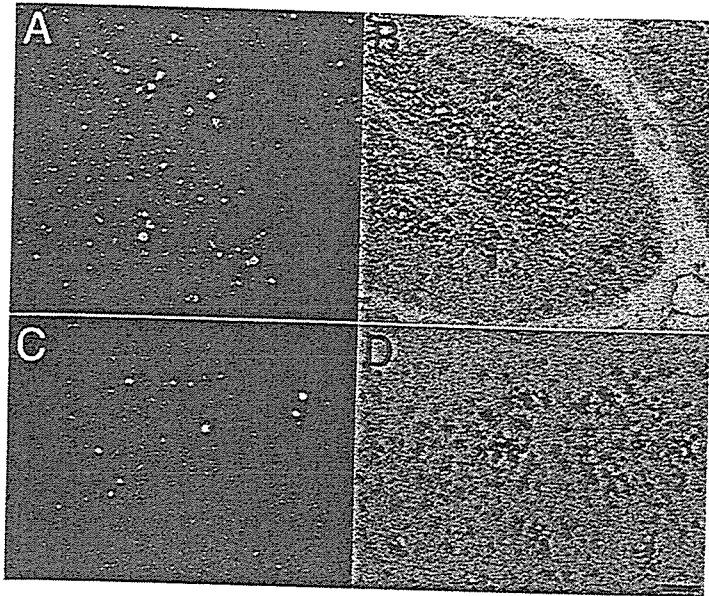


図2 ヒトプリオン病剖検脳組織標本における異常プリオン蛋白沈着のイメージング
 ブラク型プリオン蛋白沈着がBSB溶解液により蛍光染色され(A, C), 続いて免疫染色で比較検討した(B, D). 上段A, BはGSS病患者の小脳, 下段C, DはvCJD患者の大脳皮質. スケールバーは100ミクロン.

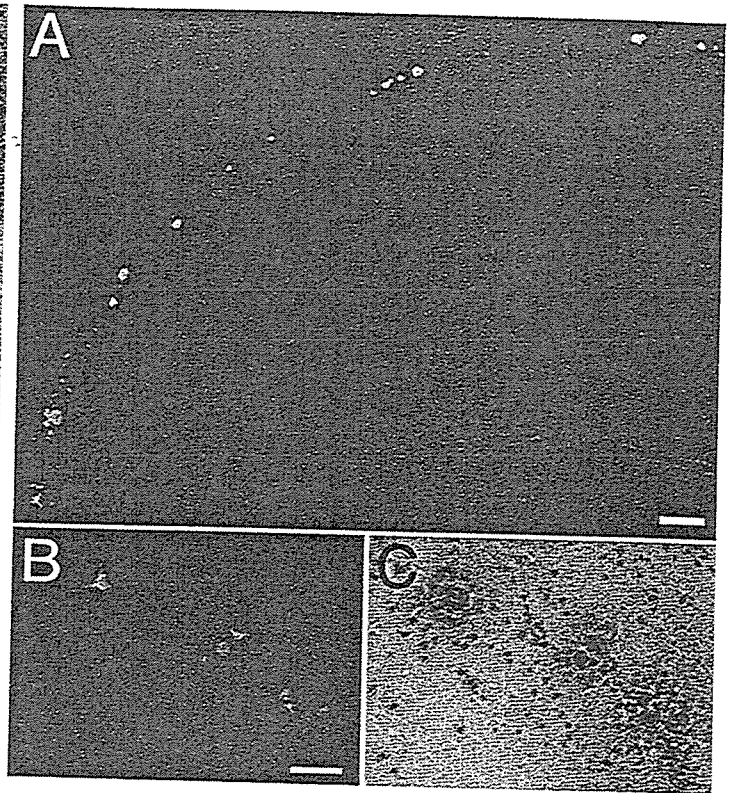


図3 プリオン病モデルマウス脳における病変の生体イメージング (文献4より一部改変)
 発症前の罹患マウスにBSB溶解液を静脈内投与し, 24時間後に取り出した脳組織においてブラク型病変が蛍光顕微鏡下で観察された(A, 冠状断). BT-1においても同様に大脳皮質と海馬間の大脳白質におけるシグナルを認め(B), 免疫染色で特異性を確認した(C). スケールバーは100ミクロン(A)と25ミクロン(B, C).

る^{9,10}). アルツハイマー病の老人斑や神経原線維変化に加えて, ピック病のピック小体, 進行性核上性麻痺の coiled body なども描出され, 多種類の脳アミロイド蛋白に結合する. イメージングに際しては疾患特異性も今後の課題であるが, 検出された病変の分布によって, 診断に有意義な情報が得られるものと期待される. また, プリオン病治療の評価においても, 病変の縮小など客観的な効果判定には一助となるであろう.

高次脳機能を解明する核医学的画像検査の中心的役割を果たしてきたPETは, 半減期が短いポジトロン標識化合物を使用するために, プロープの安定的供給とサイクロトロン併設が不可欠である. 汎用性や医療経済的な障壁は存在するが, 今後あらかじめ症例を絞り込んだ研究ベースで治験対象の適否や治療効果判定には使用されていくであろう. 近年, プリオン病モデルマウスに対し9.4テスラの超高磁場MRI装置を用いたイメージング¹¹や, アルツハイマー病モデルマウスに対しフッ素による核磁気共鳴に着目したMRI画像化が報告されている¹². PET画像検査での成果は, 着実にSPECTそしてMRIに移行しつつあるが, 微細な構造物の検出や疾患特異性を高めるには, 異常プリオン蛋白沈着を直接の標的としたプロープ化合物の開

発がやはり不可欠となる. 現在, アミロイドイメージングに関しては複数の研究グループから報告が相次いでいるが, コンゴールレッド類似化合物は分子量が大きく脳移行性の問題があるため, プロープ候補化合物開発はチオフラビン類似化合物, もしくはまったく新しい骨格を有するものがリードしている.

プロープ化合物のさらなる可能性

ところで, いくつかのアミロイド結合化合物は, 基礎実験レベルにおいてアミロイド凝集を阻害することが以前から知られている. 我々はプリオン病モデル培養細胞を用いて, アミロイドプロープ化合物が異常型プリオン蛋白の産生を阻害することを明らかにし, モデルマウスでも有意な治療効果(延命効果)を確認した⁴. イメージングの結果と合わせると, 異常なプリオン蛋白凝集と直接結合すること

による抗プリオン作用が推定される。プローブ化合物はプリオン病の診断薬のみならず、治療薬としても応用可能であり、その適性は脳内移行性や滞留時間によって検討される。つまり、診断プローブは脳からのクリアランスは短い方が臨床的に望ましいが、治療薬の場合は脳内滞留が長いほど異常なプリオン蛋白凝集との結合による効果が期待される。

現在におけるプリオン病治療戦略の中心は、異常型プリオン蛋白の産生阻害である。先述のプリオン仮説は未だ直接の実証には至っていないが、病変における異常なプリオン蛋白沈着に注目して、病勢や薬物治療効果を評価することは今後も優先されるであろう。我々は新たな構造をもつ

プローブ候補化合物で同様の検討を行っており、マウス体重当りの投与量はこれまでの1/100以下でプリオンイメージングが可能となった。これらはアルツハイマー病脳組織標本では、老人斑のみならず微細な細胞内アミロイドである神経原線維変化を描出していることから、シナプス型の異常プリオン蛋白沈着の検出も十分に期待される。また、神経系における異常なプリオン蛋白凝集のイメージングのみならず、体液などを用いた体外診断への応用も考えられる。さらに、このプリオンイメージングの試みにより、感染の成立機序などプリオン病の病態に関わる新たな手掛りが得られる可能性も期待される。

文 献

- 1) Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, et al. Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol.* 2004 ; 78 : 4999-5006.
- 2) Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, et al. Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect.* 2005 ; 50 : 394-6.
- 3) Shiga Y, Miyazawa K, Sato S, et al. Diffusion-weighted MRI abnormalities as an early diagnostic marker for Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.* 2004 ; 63 : 443-9.
- 4) Ishikawa K, Doh-ura K, Kudo Y, et al. Amyloid imaging probes are useful for detection of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Gen Virol.* 2004 ; 85 : 1785-90.
- 5) Mathis CA, Bacskai BJ, Kajdasz ST, et al. A lipophilic thioflavin-T derivative for positron emission tomography (PET) imaging of amyloid in brain. *Bioorg Med Chem Lett.* 2002 ; 12 : 295-8.
- 6) Skovronsky DM, Zhang B, Kung MP, et al. In vivo detection of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000 ; 97 : 7609-14.
- 7) Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol.* 2004 ; 55 : 306-19.
- 8) Bresjanac M, Smid LM, Vovko TD, et al. Molecular-imaging probe 2-(1-[6-[(2-fluoroethyl) (methyl)amino]-2-naphthyl] ethylidene)malononitrile labels prion plaques in vitro. *J Neurosci.* 2003 ; 23 : 8029-33.
- 9) Schmidt ML, Schuck T, Sheridan S, et al. The fluorescent Congo red derivative, (trans, trans)-1-bromo-2,5-bis-(3-hydroxycarbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene (BSB), labels diverse beta-pleated sheet structures in postmortem human neurodegenerative disease brains. *Am J Pathol.* 2001 ; 159 : 937-43.
- 10) Ando Y, Haraoka K, Terazaki H, et al. A novel tool for detecting amyloid deposits in systemic amyloidosis in vitro and in vivo. *Lab Invest.* 2003 ; 83 : 1751-9.
- 11) Sadowski M, Tang CY, Aguinaldo JG, et al. In vivo magnetic resonance imaging signal changes in scrapie infected mice. *Neurosci Lett.* 2003 ; 345 : 1-4.
- 12) Higuchi M, Iwata N, Matsuba Y, et al. 19 F and 1 H MRI detection of amyloid beta plaques in vivo. *Nat Neurosci.* 2005 ; 8 : 527-33.

CJD 治療の試み
Quinacrine

坪井義夫 田中美紀 山田達夫

CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊

Vol. 24 No. 3 2006年3月1日発行

中外医学社

Quinacrine

坪井 義夫 田中 美紀 山田 達夫

■ はじめに

伝染性海綿状脳症として知られているプリオン病は、いまだに進行性、致死性の疾患であり例外的に長い経過をとる病型はあるものの、診断から数週間から数ヵ月で無動無言に陥る。病型は大きく分けて、頻度の最も多い孤発性、プリオン遺伝子に変異を有する遺伝性(家族性)、そして感染性の3つに分類される。近年話題のBSEからの伝染が疑われるいわゆる変異型Creutzfeldt-Jakob病(vCJD)、あるいは硬膜移植などにより感染した医原性のCJDは感染性プリオン病に含まれる¹⁾。臨床病型としてヒトプリオン病は、孤発性あるいは家族性CJD、Gerstmann-Sträussler-Scheinker(GSS)症候群、kuru、致死性家族性不眠症(FFI)などの病型を呈する。このうち80%は孤発性のCJDであり、一般にその進行は早く、発症後は、平均約2ヵ月で無動無言になる。対症療法以外の治療法はまったく確立していない。

プリオン病の3つの病型は病態機序が異なる可能性が高いが、あらゆる病型において共通して認められるのがプリオン蛋白の代謝異常である。正常脳細胞にも存在する正常型プリオン蛋白(PrP^C)が、何らかの原因で蛋白高次構造の変化をおこし、病原性を持つプロテアーゼ抵抗性の感染型プリオン蛋白(PrP^{Sc})となり、それらが主に中枢神経へ蓄積することによって、進行性の脳障害をきたす機序が考えられている²⁾。したがって近年におけるプリオンの治療開発は、このPrP^{Sc}の抑制にターゲットが絞られている。

近年、英国で150例以上の発生を認めたvCJDおよび、ほぼ同時期に本邦で発生が確認された硬膜移植後の医原性CJDは、どちらも人類史上、古くから存在した疾患ではなく、人為的な行為の結果作られた疾患man-made diseaseであり、若年者で多発したことから、即戦的治療への期待が高まった。これまでに実験室的に有効性の確立された薬剤が臨床的に使用された報告は数少ないが、この中でキナクリンがなぜ注目を浴びたかについて、また治療研究の概略と、今後の課題について述べる。

キナクリン quinacrine の抗プリオン効果と治療への応用

抗マalaria薬であるキナクリンや抗精神病薬であるクロルプロマジン、培養細胞における実験系でPrP^CからPrP^{Sc}への構造変化を防止する作用がある。またキナクリンは神経芽腫細胞における異常型プリオン蛋白の蓄積を阻害する^{3,4)}ことが示された。さらにキナクリンはマalariaに対する治療薬として60年以上の歴史があり、一方で、プリオン病の治療はこれまでに効果を期待し得る治療が皆無であったという背景、さらに経口投与に血液脳関門の通過も良好であるという利点などからキニーネquinineと共に臨床応用されるに至った。本稿では、キナクリン治療の本邦および海外での実施状況、ならびにCJD治療の今後の展望について、最近の知見を交えて概説する。

本邦のキナクリン・キニーネ治療の現状

研究の詳細は2003年12月、厚生労働科学研究費の補助を得て施行された治療研究班の一環として報告された「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」に記載されている。ここではその内容をもとに、本邦でプリオン病に対して行われたキナクリン治療研究を概説する^{5,6)}。

■ 対象と方法

対象は孤発性CJD 22例、医原性(すべて硬膜移植後発症)CJD 5例、および遺伝性プリオン病4例の計31症例に行った。使用薬剤は、研究試薬のキナクリン2塩酸(C₂₀H₃₀N₁₀O₂・2HClx・H₂O)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、経口もしくは経管にて1日3回の分割投与とした。副作用が出現した場合を除いて投与は連日行われ、12週間で投与完了とした。後述する副作用が出現した場合は投与を中断または中止とした。

効果判定のパラメーターとして、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:無動無

つばい よしお 福岡大学助教授/内科学第五(神経内科)

たなか みき 福岡大学/内科学第五(神経内科)

やまだ たつお 同 教授

0289-0585/06/¥500/論文/JCLS

効果	性別 男:女	年齢 (歳)	発症から投与までの期間 (月)	開始時の認知機能		効果持続期間(週)
				レベル1-2 刺激に反応あり	レベル3 無動性無言	
あり(N=12)	3:9	61.0±9	13.6±16.2	9	3	3.3±3.5
なし(N=19)	7:12	62.0±10.5	9.0±7.3	4	15	0
p値	ns	ns	ns	<0.05		—

ns:有意差なし

言)などの臨床データを用いた。本疾患の性質上、臨床症状を客観的な数値に置き換え、経過を追うことが困難であったため、治療効果は症状の安定化、あるいは臨床症状の観察から何らかの変化、改善をもって治療効果ありと判定した。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見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。

■ 結果

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、それぞれ孤発性CJDが9例(40.9%)、医原性CJDが2例(40%)、遺伝性CJDが1例(25%)であり、遺伝性CJDの有効率が最も低かった。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、孤発性CJD症例においては、治療開始時の覚醒、意識レベルが高い症例に治療効果が見られた。すなわち自発語や聴覚・視覚刺激に反応を認めた10例中の8例(80%)に部分的改善を認めた。一方で症状が進行した無動無言状態で治療を開始した12例では、1例(8%)にしか確かな変化は認められなかった。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。一方、無動無言の状態から何らかの反応が蘇る例はほとんどない。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、客観的結果として脳波検査においてPSDの一過性消失および基礎波の再出現が認められた。一方、医原性CJD症例では5例中2例(40%)に覚醒度の改善を認めた。遺伝性プリオン病症例では4例のうち長期経過の1例(GSS¹⁰²)において効果を認めたが、他の3例(いずれもCJD²⁰⁰)では無効であった。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場合に限らず、プロトコル通り12週間投与を行った例も含め、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の継続にもかかわらず

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、経過と共に治療前のPSDを認める脳波に戻った。これらの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ある可能性もあるが、キナクリンの薬理作用の一つである中枢神経刺激作用の発現に過ぎなかった可能性も否定できない。キナクリン治療を行った症例の内訳を表1に示す。

■ 副作用の分析

キナクリン治療の完了症例数と中止症例数、キナクリン治療中止の原因を表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<2000/ μ lまたは顆粒球数<1000/ μ l、血小板数<50000/ μ l、Hb<8.0 g/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%)に何らかの肝機能障害を認めたことになり、キナクリン治療の最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、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。

海外でのキナクリン治療の現状

キナクリン治療の可能性を最初に伝えたのは、2001年、2名のvCJDの患者にキナクリン治療を開始して一時的に言語機能の改善が得られたとの臨床報告であった⁷⁾。当時、CJDに対する治療法は発見されておらず、in vitroの研究結果、少なくとも動物実験の効果などの検討が必ずしも十分でない状況下ではあったものの、キナクリン治療は本邦をはじめ複数の施設であらゆる型のプリオン病に対して行われた。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32例に対するキナクリン治療の結果が、2004年Haikらより報告された⁸⁾。これまでに少数例での

表2 キナクリン治療症例におけるキナクリン治療の副作用

完了		10例
中止		21例
中止原因	肝機能障害	16例
	発熱	1例
	溶血性貧血	1例
	偽膜性大腸炎	1例
	皮疹	1例
	誤嚥	1例

報告が散見されたがこの治療に関する結論は出しえなかった⁹⁻¹¹⁾。しかし、この報告はキナクリンの抗プリオン病効果に対する疑問を投げかける結果となった。この論文の内容を概説する。

同治療の対象は、WHOの clinically probable CJDの診断基準を満たした、孤発性CJD 30例とvCJD 2例の計32例である。キナクリン投与は初日1日量1000mgを5分割、6時間毎に経口投与し、後は本邦同様1日量300mgを3分割投与した。同報告は臨床的効果をRankin Scaleにて評価した。またキナクリン治療を行った症例の剖検例を、非治療群のもと病理学的に、半定量的な評価、比較をした。またキナクリン治療群の孤発性CJD 30例のうち、Codon 129遺伝子多型を検討した27例をMethionine/Methionine(MM)型、Methionine/Valine(MV)型、Valine/Valine(VV)型の3型に分類し、同様に分類した未治療群(計125例)と生存期間を比較した。この方法は評価法の妥当性は議論があるものの、この疾患の治療評価がいかに困難であるかを考えると理解ができる。結果として、治療後のRankin Scaleは全例で変化がないか、もしくは悪化を示した。本邦の研究のように個々の臨床的変化の詳細な記述はなされていない。剖検脳の評価では、脳の10カ所にてspongiform change, gliosis, neuronal lossの3項目について、それぞれ半定量化し、その合計点数にて脳細胞障害を評価した。比較対象として、1994年以降、同施設の孤発性CJDの未治療群132例の剖検脳を同様に評価した。キナクリン治療群の脳細胞障害は若干対象群より高度であった。さらにCodon 129遺伝子多型による分類でも、キナクリン治療群のMM型とMV型において、非治療群より若干生存期間が長かったのみであった。以上より同報告では、キナクリン治療の効果に対して否定的な見解であった。出現した副作用で、最も多いものは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例に認めているが、本邦における報告と大差はない。

キナクリン治療の今後の展望

プリオン病に対するキナクリン治療は、本邦、欧州の報

告を合わせて、効果が不明で、副作用出現の頻度が高い、といった期待されただけに残念な結論になった。キナクリン治療が単独で、これまでと同じ方法では結果は同様であると思われる。しかし、本邦で施行されたキナクリン治療の約4割に見られた一過性の症状の改善は何によるものか。すなわちin vitroで認められた抗プリオン蛋白作用がin vivoでも認められた可能性があるのかどうかはまだ課題である。十分に血液脳関門を通過したかどうかのdrug deliveryの問題もある。さらに副作用の肝障害もまた問題であり、副作用軽減や中枢神経への移行を含めたプロトコルの再考の可能性がある。英国の臨床試験機関であるMRC(Medical Research Council)は、2004年6月より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¹²⁾。The PRION-1 trialは、2004年6月1日~2006年12月1日の2年半の間に目標患者数を160例とし、CJD患者の病型は問わず、観察期間は3年間としている。変則ではあるが、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(24週間後にキナクリン投与もしくは非投与のいずれか)に分けるという、初めてのrandomized controlled trialである。これらの評価を参考に、さらに相互作用を期待した新たな治療研究の発展が期待される。

文 献

- 1) Prusiner SB. Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol.* 1994; 48: 655-86.
- 2) Harris DA. Biosynthesis and cellular processing of the prion protein. *Adv Protein Chem.* 2001; 57: 203-28.
- 3) Doh-ura K, Iwaki T, Caughey B. Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J Virol.* 2000; 74: 4894-7.
- 4) 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.
- 5) 山田達夫, 坪井義夫, 中島雅士, 他. クロイツフェルトヤコブ病患者における抗マalaria薬, キナクリン, キニーネ治療の効果と副作用に関する研究. 厚生科学研究費補助金 ころの健康科学研究事業 即効的クロイツフェルト・ヤコブ病治療用の確立に関する研究. 平成15年度分担研究報告書. p. 11-22.
- 6) 山田達夫, 坪井義夫, 中島雅士, 他. クロイツフェルトヤコブ病患者に対するキナクリン治療-31症例における効果, 副作用の分析-厚生労働科学研究費補助金 難病性疾患克服研究事業 プリオン病及び選発性ウイルス感染に関する調査研究. 平成15年度分担研究報告書. p. 113-24.
- 7) Josefson D. Drugs for malaria and psychosis may offer hope to people with CJD. *BMJ.* 2001; 323: 416.
- 8) Haik S, Brandel JP, Salomon D, et al. Compassionate use of quinacrine in Creutzfeldt-Jakob disease fails to show significant effects. *Neurology.* 2004; 63: 2413-5.
- 9) Scazecz JY, Krolak-Salmon P, Casez O, et al. Quinacrine-induced cytolytic hepatitis in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol.* 2003; 53: 546-7.
- 10) Kobayashi Y, Hirata K, Tanaka H, et al. Quinacrine administration to a patient with Creutzfeldt-Jakob disease who received a cadaveric dura mater graft—an EEG evaluation. *Rinsho Shinkeigaku.* 2003; 43: 403-8.
- 11) Nakajima M, Yamada T, Kusuhara T, et al. Results of quinacrine administration to patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2004; 17: 158-63.
- 12) <http://www.ctu.mrc.ac.uk/studies/cjd.asp>

CJD 治療の試み
Pentosan polysulphate (PPS)

坪井義夫 山田達夫

CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊

Vol. 24 No. 3 2006年3月1日発行

中外医学社

Pentosan polysulphate (PPS)

坪井 義夫 山田 達夫

■ はじめに

2003年1月に、英国にて初めて、ペントサンポリサルフェート Pentosan polysulphate (PPS) の脳室内持続投与方法の手術および治療が変異型 Creutzfeldt-Jakob 病 (vCJD) の19歳男性に行われた¹⁾。この経緯で注目に値するのは、この治療に関する臨床試験が、段階的にこれまでに行われてきたわけではなく、患者の父親が8ヵ月にわたる裁判の結果、勝ち得た新しい治療法であることである²⁾。後述するように PPS の抗プリオン病効果は、培養細胞や、動物実験で注目すべき結果を上げてきた。そしてその結果をもとに、福岡大学でも2001年よりその治療の可能性について倫理委員会における検討や、手術のシミュレーションを重ねてきたのである。この新しいプリオン病の治療の背景にはいうまでもなく、本邦において100例を超えたヒト硬膜の移植後に数年から十数年経った後に発症する医原性プリオン病と、英国で多発し本邦でも確認された、牛海綿状脳症 (BSE) との関連が確実視されている vCJD の影響が大きく、即戦力のある可能性の同治療の臨床応用が急速に求められた事実がある。

■ 異常型プリオン蛋白とプリオン病

正常プリオン蛋白 (PrP^C) は253アミノ酸蛋白 (分子量は35~36 kDa) で、正常脳において存在している。ヒトでは主に中枢神経系で、少量はリンパ球組織で発現する。PrP^C は、その生理的作用は必ずしも確定的ではないが、銅結合蛋白質としての機能や酸化的ストレスに関与している可能性が報告されている。PrP^C はプリオン蛋白遺伝子 (PRNP) がコードする蛋白であり、転写後に Golgi 体で糖鎖修飾を受け、細胞膜に移動する。培養細胞では細胞膜上での半減期は3~6時間であり、その後分解される³⁾。

つばい よしお 福岡大学助教授/内科学第五(神経内科)
やまだ たつお 同 教授

異常プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) は、すべての型のプリオン病の病理でみられ、ヒトのみならず動物のプリオン病、たとえばスクレイピーにおいても脳にその蓄積が認められる。PrP^{Sc} は不溶性の蛋白で分解を受けにくい性質を有するが、さらに PrP^{Sc} は感染性を有する可能性が考えられている。事実、接種感染実験において、種を越えての伝播が可能であり、プリオン病は伝播性海綿状脳症 transmissible spongiform encephalopathies (TSE) とも呼ばれる。PrP^C が発現していない宿主にはプリオン病は感染しない。その理由は PrP^{Sc} の感染後に、正常の PrP^C に何らかの構造変化が引き起こされ、 β シート構造に富む PrP^{Sc} へと構造変化が生じて、病的蓄積を生じる機序が考えられている⁴⁾。

脳における PrP^{Sc} の病的蓄積が神経細胞死、反応性のグリオシス、マイクログリアの増加、そして海綿状変化を引き起こす。これらの脳病理はプリオン病の診断に必須で、アミロイド斑が認められることもある。

■ ペントサンポリサルフェート (PPS) について

PPS は硫酸化多糖で、ヘパリンに構造が似ている。これまでにその抗凝固作用や抗炎症作用から、海外で間質性膀胱炎や関節炎の治療に用いられてきた。経口、筋肉内投与、静脈内投与のいずれも可能であるが、髄腔内投与の報告はない。静脈内に投与された PPS の半減期は1 mg, 10 mg, 100 mg でそれぞれ7分, 21分, 55分とされている。投与後は網内系細胞に取り込まれ、飽和すると血中にとどまり、尿中に排泄される¹⁷⁾。細胞に取り込まれた PPS は脱硫酸化を受けて、数日かけて尿中に排泄される。経口で投与されても血中には低濃度しか検出されない (0.5~4%)⁵⁾。経口で投与された場合、4時間もすると膀胱において認められる。膀胱炎などに対する抗炎症作用が認められるが、代謝物質が有する作用と考えられる。副作用は少なく、抗凝固療法として静脈内投与した場合、ヘパリンと同様に血小板

図1 脳内感染マウスにペントサンポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与方法の症例(Rainov ほか⁹⁾)

No.	Age	Gender	Diagnosis	Survival after TX. (M)	Maximum PPS dose($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)
1	17	M	vCJD	23	11
2	19	M	sCJD	10	11
3	12	F	vCJD	13	11
4	15	M	vCJD	9	11
5	34	F	GSS	10	11
6	32	F	GSS	3	11
7	37	M	Iatrogenic CJD	6	110
8	27	F	Iatrogenic CJD	9	110
9	39	F	vCJD	4(died)	110
10	44	M	GSS	4	110
11	34	M	Iatrogenic CJD	1	110
12	39	F	GSS	—	110
13	66	F	sCJD	—	110

減少をきたすことが知られている。中枢神経に対する PPS の作用はほとんどなく、動物における経口や、腹腔内投与でも神経学的症状は認めていない。PPS はほとんど血液脳関門を通過しない。脳室内投与を行った場合に、PPS がどのような薬理動態を示すかは不明であるが、ヘパリン結合細胞たとえば神経細胞やグリア細胞に取り込まれて抗プリオン蛋白効果を示すことが期待されている。

PPS とプリオン病

Doh-ura ら⁶⁾は脳内感染させたマウスに対して PPS の脳内持続投与の実験系を作成した。感染後 10 日目および 35 日目に、PPS の 4 週間連続で脳室内投与を行った。この実験系で使用された薬物は PPS の他キナクリン、アンホテリシン B などであった。

PPS はアンホテリシン B などの他の薬剤より際立った発症抑制効果を示した。10 日目に投与を開始した場合 173%、35 日目に開始した場合で 93% の抑制効果を示した。さらにヒトプリオン病の治療を想定して、発病後に投与を開始した実験では、延命効果が確認され、その最も有効な投与量は 230 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であった。これらの結果から PPS の抗プリオン病効果は、投与開始が早いほど発症抑制効果は強力であることが判明した。マウス脳の免疫組織学的検討や Western blot 法でも、PPS を投与した脳への PrP^{Sc}蓄積は著明に抑制されていた。また 230 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ の投与量では明らかな副作用は認めず、イヌにおける実験でも 230 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ までの投与量ではいかなる副作用も示さなかった。この効果は PPS がプリオン蛋白の線維形

成を阻害するか、あるいは細胞膜上のプリオン蛋白を減少させるためと推察されている^{7,8)}。PPS は脳血液関門を通らないために脳室内に直接投与する必要があった。

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法

これまでに英国を中心に 13 例の治療が行われてきた(表)。福岡大学では 2004 年の 11 月に 1 例目の治療が開始されている。ここでは福岡大学で作成した治療プロトコールの概略を説明する⁹⁾。

- (1) 診断： 病歴、既往歴、家族歴を詳細にとり、神経学的所見、脳波所見、拡散強調画像を含む MRI、脳脊髄液所見(一般検査、14-3-3 蛋白、NSE)、および遺伝学的検査(遺伝子変異の有無、遺伝子多型)などから WHO 診断基準により診断と治療前評価を行う。
- (2) インフォームドコンセント： 同意書の取得。
- (3) 手術： 脳室内カテーテルの留置手術および腹部皮下体内埋め込み型微量注入器具の留置手術を行う。一般に右前頭部から右前角穿刺で、脳室チューブを埋め込む(図 1)。脳室チューブは前頭部から耳介後方を通して右側頸部から右前胸部、上腹部まで誘導。臍の高さで右腹部皮下に埋め込み持続注入ポンプに接続する。埋め込み型持続注入ポンプは Archimedes (20 ml reservoir, Flow rate 0.5 ml/24 h, Codman Inc., Germany) を使用している(図 2)。
- (4) PPS 注入： 留置術直後、第 7 病日に頭部 CT scan にて出血等の合併症の有無をチェックする(図 3)。術後 8 日目より PPS 投与を埋め込み型ポンプから低濃度で脳

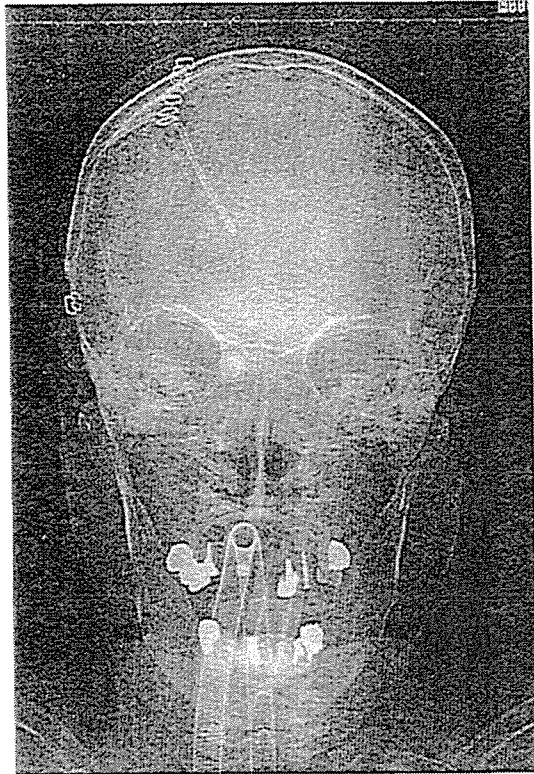


図 1 脳室カテーテル

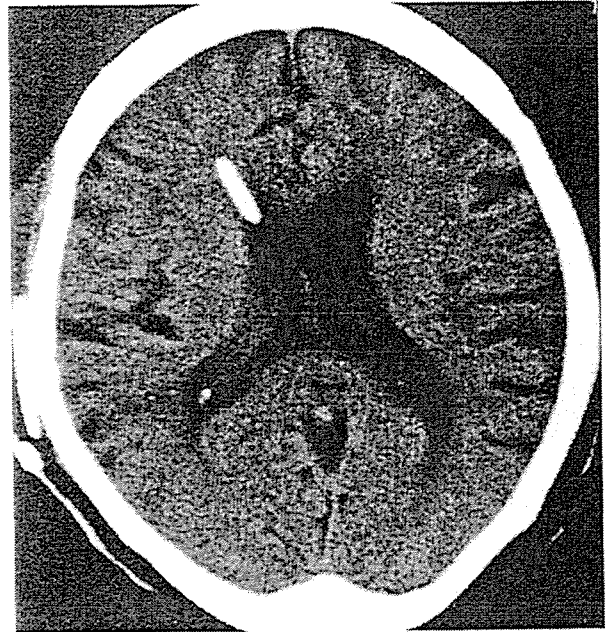


図 3 脳室内カテーテルおよび持続注入ポンプ埋め込み術後7日目の頭部CT



図 2 埋め込み型持続注入ポンプ
(Archimedes, 20 ml reservoir,
Flow rate 0.5 ml/24 h,
Codman Inc., Germany)

室内持続投与を開始する。その後、副作用がなければ漸増し維持量に到達させる。現在、福岡大学内では $60 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を維持量としている。その後、4週間毎に腹部皮下の微量注入ポンプの薬液を新しい薬液に交換充填する。手術後の患者の状態は創部の安定とともに回復し、生活の制限は必要がない。1例目は治療開始ほぼ1年になるが、明らかな臨床的改善は示していない。脳波上もほぼ変化を示していない。一方で、血算、生化学、凝固検査、頭部CTで治療に伴う副作用は認められない。おそらく脳内に拡散し、細胞内への取りこみが飽和した状態で血中に移行することから、全身性の作用は少ないと考えられる。

ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与療法の今後

至適維持量の設定はこれまでのところ動物実験の結果を参考にしているが、まだ検討の余地がある。すなわち動物実験にて、感染後期にPPSの脳室内持続投与を行ったマウスモデルでは、至適治療濃度は $230 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であった。この濃度では明らかな副作用は出現しておらず、一応これらの実験結果をもとに投与量を決めてきた。現在、英国ではその約半分量の $110 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ を標準維持量としている¹⁰⁾。これまでPPS濃度をあげたことによる副作用の

報告はない。また至適治療濃度の決定に際して、我々は髄液中あるいは血中のPPS濃度を測定することが、その薬理動態から考え、有用と思われるので現在濃度測定系を検討している。

プリオン病は、その臨床症状が出現したときにはすでに脳内には多くのPrP^{Sc}の沈着が認められ、神経細胞の減少などの病理がすでにかなり進行していることが予想される。理想的には発症前、すなわちPrP^{Sc}の蓄積がまだ脳機能障害をおこす以前に開始されなければ理論上有効ではな

い。しかしながら、この発症前診断は現在困難であり、やはり発症のできるだけ早期に治療を開始する以外に方法はない。少なくとも治療開始時の障害レベルがある程度軽度であり、その後の臨床観察が可能である状態が望ましい。いずれにしても、どのような治療法の開発においても早期あるいは発症前診断というものは必要となる。髄液所見、MRIの拡散強調画像の進歩などから、早期患者の診断精度が上がっているが、今後も早期CJD診断の感受性を高める必要がある。

文献

- 1) Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, et al. Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect Dis.* 2005; 50: 394-6.
- 2) Giles J. Rapid drug trial offers hope to CJD patients. *Nature.* 2003; 426: 487.
- 3) Prusiner SB. Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol.* 1994; 48: 655-86.
- 4) Harris DA. Biosynthesis and cellular processing of the prion protein. *Adv Protein Chem.* 2001; 57: 203-28.
- 5) Sie P, Albaredo JL, Robert M, et al. Tolerance and biological activity of pentosan polysulfate after intramuscular or subcutaneous administration for ten days in human volunteers. *Thromb Haemost.* 1986; 55: 86-9.
- 6) Doh-ura K, Ishikawa K, Murakami-Kubo I, et al. Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models. *J Virol.* 2004; 78: 4999-5006.
- 7) Perez M, Wandosell F, Colaco C, et al. Sulphated glycosaminoglycans prevent the neurotoxicity of a human prion protein fragment. *Biochem J.* 1998; 335: 369-74.
- 8) Shyng SL, Lehmann S, Moulder K, et al. Sulfated glycans stimulate endocytosis of the cellular isoform of the prion protein PrP^c in cultured cells. *J Biol Chem.* 1995; 270: 30221-9.
- 9) 山田達夫, 坪井義夫. ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与方法の臨床試験に関する研究. 厚生科学研究費補助金 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年度分担研究報告書. p. 8-9.
- 10) 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: Kitamoto T, editor. *Prions.* Tokyo: Springer-Verlag; 2005. p. 41-66.

神経科学界ニュース

ICS 2006 開催のお知らせ

期 日 2006年11月27日(月)~12月1日(金)
会 場 Christchurch, New Zealand
学会会長 Prof. Ted Arnold
抄録締切 4月1日
航空便 Air New Zealand & Star Alliance
飛行ルート Christchurch/Aucklandへ直行便有り

出発地/所要時間 成田, 大阪, 名古屋/11時間
詳細情報 <http://ics2006.co.nz/>
学会の特徴 1. 医学水準の高い国際尿禁制学会
2. 快適な飛行計画(時差は+4時間)
3. 4500万匹の羊と大自然が歓迎

CJD 治療の試み
Flupirtine

山田 達夫

CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊

Vol. 24 No. 3 2006年3月1日発行

中外医学社

Flupirtine

山田 達夫

Flupirtine という化合物は 1984 年以來、非オピオイド系薬物として臨床で用いられてきた。日本では 1987 年、癌性疼痛への使用を目指して開発試験が行われたが、中止になった。しかしながら神経細胞死を抑制する効果が、培養細胞を用いた *in vitro*, *in vivo* の基礎実験等で明らかになり、中枢神経疾患への応用が検討されるようになった。1997 年の Perovic ら¹⁾の報告は、PrP 106-126 で処理した培養神経細胞は神経細胞死をおこし、glutathione (GSH) 濃度を増加させて Bcl-2 蛋白の発現に影響を与えるが、flupirtine 投与を行うと細胞内 GSH 濃度は正常化し、Bcl-2 蛋白の発現誘導をおこすというものであった。それ以外の実験系でも、例えば網膜色素上皮細胞への虚血病変においても flupirtine は細胞死を抑制した、等という報告^{2,3)}があり、この薬剤の神経保護作用が広く知られるようになった。

Flupirtine は pyridine 誘導体であり、1981 年にドイツで合成され、Katadolon という商品名で発売されている。わが国では商品化されていない。副作用が少なく、脳血液関門を容易に通過する。この中枢神経系の作用としては、1) 中枢作動性非オピオイド、2) 抗けいれん、3) 筋弛緩、4) 抗パーキンソン病などが知られている。投与法は経口、経静脈的に、あるいは坐薬によって行われている。

神経細胞死抑制作用は完全には証明されていないが、上述した作用機序の他、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体の機能的間接的 antagonist であることによってであろうと推測されている⁴⁾。

CJD 患者への応用は 2004 年 *Neurology* 誌に発表された⁵⁾。二重盲検試験であり、1997 年から 2001 年の間に行われ、28 名(男 13 名、女 15 名で、35~74 歳)の CJD 患者が参加し、13 名に flupirtine が、15 名には placebo が投与された。初回量は 100 mg で 3 日で 300~400 mg に増量している。参加した患者のうち 24 名は剖検によって CJD である

ことが確かめられている。2 人には遺伝子変異があり、他は孤発性と診断された。評価は、MMSE, ADAS-cog と Goettingen CJD Dementia Test (GoeVJDDT) によって行われ、4 週毎に 20 週まで続けた。

副作用などのため、結局 12 名が実薬、13 名が placebo 服用を修了した。2 群間で有意差がみられたのは ADAS-cog の点数で、経過を追うと点数の悪化が placebo 群で高かった (flupirtine 群 8.4 点に対し placebo 群では 20.6 点の悪化が認められた)。介護者の印象も flupirtine 群で良好で、以上の結果から著者らは flupirtine は CJD の認知機能の低下を抑制する作用があると結論している。

CJD の治療研究は単一の施設で行うようであれば、少数例のためオープン試験にならざるを得ない。我々が経験してきたキナクリン治療は皮膚黄染がおこり、二重盲検ができにくいなど、CJD の治療薬開発には乗り越えなければならぬさまざまな障壁がある。この薬物治験は初めての二重盲検であり、説得力はもつが、現在のところ進行速度を抑制する可能性のある薬物という評価である。

文 献

- 1) Perovic S, Schroder HC, Pergande G, et al. Effect of flupirtine on bcl-2 and glutathione level in neuronal cells treated *in vitro* with prion protein fragment (PrP 106-126). *Exp Neurol*. 1997; 147: 518-24.
- 2) Perovic S, Schleger C, Pergande G, et al. The triaminopyridine flupirtine prevents cell death in rat cortical cells induced by N-methyl-D-aspartate and gp 120 of HIV-1. *Eur J Pharmacol*. 1994; 288: 17-33.
- 3) Osborne NN, Schwarz M, Pergande G. Protection of rabbit retina from ischemia injury by flupirtine. *Invest Ophthalmol*. 1996; 37: 274-80.
- 4) Osborne NN, Pergande G, Block F, et al. Immunohistochemical evidence for flupirtine acting as an antagonist on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) and homocysteic acid-induced release of GABA in the rabbit retina. *Brain Res*. 1994; 667: 291-4.
- 5) Otto M, Cepek L, Ratzka P, et al. Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD. A double-blind study. *Neurology*. 2004; 62: 714-8.

明した。

PPSは動物感染実験で、末梢から感染する前に脳室内に投与すれば発症を遅らせる効果があること、また神経芽腫細胞におけるPrP^{sc}の蓄積を阻害することなどがわかっている。この効果についてはPPSがプリオン蛋白質の線維形成を阻害するか、あるいは細胞膜上のプリオン蛋白質を減少させるためと推察されている。

PPSは経口投与や静脈内投与では血液脳関門を通過せず、脳室内に直接投与する必要がある。ヒトプリオン病に対する臨床試験は、2003年に英国で変異型CJDに対して同治療の11例目が行われている。

同大学では2004年11月から現在までに変異型CJD 6例(年齢55～73歳、男性1例、女性5例)に対して同治療を行っている。これまでに症状は安定あるいは悪化しており、明らかに機能改善は示していない。副作用として、5例(83%)に硬膜下水腫が認められた。

同助教授は「PPSの濃度上限は120 μ kg/日で設定しているが、至適濃度は今後の課題」としたうえで、「症例の蓄積のなかで治療適応、効果判断、副作用のモニタリングを検討していきたい」と述べた。

～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

福岡大学神経内科の坪井義夫助教授らは、プリオン病に対するベントサンポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与法の効果と安全性を検討。「血小板数、凝固系の異常は認められないことから、全身性の影響はきわめて少ないと考えられる」と述べた。

明らかな症状改善は認めず

坪井助教授によると、臨床的にどの病型のクロイツフェルト・ヤコブ

病(CJD)も発症年齢、初発症状に違いはあるものの進行性であり、ほぼ数か月から長くても数年で無動性無言となり死に至る。また、病理学的には異常型プリオン蛋白質(PrP^{sc})の沈着が見られる。同助教授は「脳におけるPrP^{sc}の病的蓄積が神経細胞死、反応性のグリコーシス、マイクログリアの増加、そして海綿状変化を引き起こす。これらの脳病理はプリオン病の診断に必須で、アミロイド斑が認められることもある」と説

福岡研修会・相談会

2006年1月15日 博多グリーンホテル

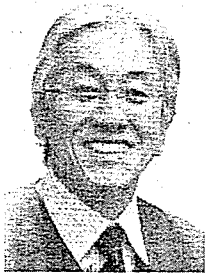
記念講演

★

「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～」

福岡大学医学部第5内科助教授 坪井 義夫 氏

クロイツフェルト・ヤコブ病の現状



クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)のアウトラインですが、孤発性CJD80～85%、家族性CJD10%、後天性CJD(医原性として成長ホルモン・角膜移植・ヒト硬膜移植、ほかに変異型)5～10%という割合です。

ヤコブ病の症状

典型的な症状としては、明らかな発病に先行して、ゆっくりと性格変化や不安感あるいはうつ症状が認められることが多いようですが、その時点では診断を疑うことすら難しい状況です。その次に、多い症状として失調性歩行(ふらつき)や、視野異常(小さく見える・ゆがみ)などがあります。それらの症状が出始めると引き続き急激に、認知症が進行して2ヶ月くらいで無動性無言になります。特徴的な症状ではミオクローヌスという筋肉のピクつき・痙攣が起きます。病理学的には、脳の神経細胞(皮質レベル)が深刻に痩せて、海綿状(スポンジ状)になり、別名海綿状脳症と言われています。海馬は比較的保たれます。アルツハイマー病は海馬がやられますので、この点が大きく異なります。

ヤコブ病の診断

診断確定のために、脳生検が必要とされていますが、多くの場合は必要ありません。上記の特徴的な臨床経過に加えて、ヤコブ病に特徴的なのは脳波です。PSD(周期性同調性放電)が見られます。さらに診断精度を上げるための脳脊髄液の検査で、14-3-3蛋白等の数値が上がっていることも診断の参考となります。さらに最近一番信頼を置いているのはMRIです。進行性認知症・ミオクローヌス・

脳波異常・14-3-3等で典型的であればよいのですが、これらのすべてがそろえばよいのは、この疾患がすでに進行期に入ったことをあらわしており、早期診断には今までの診断基準は不十分といわざるを得ません。より早期に診断するために非常に優れたツールとしてMRIがあります。初期の、あるいはおそらく発病以前から、その変化が拡散強調画像で捉えられます。一般的には基底核の尾状核と被殻、それに皮質に変化がみられます。ごくまれに尾状核・被核の病変を欠いた皮質型というタイプもあります。典型的脳波やミオクローヌスが出ないケースでもMRIで診断することが可能になり、診断精度が高くなったのは明らかです。問題になった変異型のヤコブ病は、視床枕部という脳室に接した部分が被核・尾状核より強く出ます。ホッケーのスティック状に曲がったような形のところが高信号で白くなるのが変異型の特徴です。MRI拡散強調画像の病変は、病初期に非常に強く出るのが特徴です。これは発症3ヶ月の映像ですがもう少し前から出ていたと考えられます。発症後1年もするとこの特徴的な信号は消えてしまいますので、診断の時期を逃してしまうと、寝たきりになってからMRIで調べても診断の役に立たないことになってしまいます。早期の診断には強力なツールです。

医原性ヤコブ病と変異型ヤコブ病

硬膜移植後のヤコブ病は、これまで我が国で118例発生しています。汚染されたヒト硬膜を使ったことが原因で、ある時期に手術をした人の約1000人に1人が発症しています。潜伏期間は平均10年ですが、最長で25年ですから、まだ潜在的にリスクを持った人がいらっしゃる状況です。

変異型ヤコブ病については、英国で150例以上、我が国で1例の報告があります。特徴としては患者さんの年齢が非常に若く英国では平均28歳です。平均罹病期間は平均14ヶ月で短いですが、通常の孤発性ヤコブ病より進行がやや遅いようです。診断では扁桃腺の生検で異常プリオンの蓄積が見られるのが特徴です。

治療法の開発

基本的にヤコブ病に、有効な治療法はない状況ですが病態の解明は確かに進んでいます。いずれのヤコブ病も脳に異常プリオン蛋白が蓄積するという共通点があります。いかに脳にこの異常プリオンを蓄積させないようにするか、というのが病気を治す糸口となっています。新しい治療法の実用化は、全く未知の物質を治療に応用するには非常に時間がかかりますが、従来、いろんな病気の治療に使われていた薬物は、作用や副作用がよく検討されているので、治療に応用しやすいのです。これらの中からキナクリン、キニーネは、実験的に異常プリオン蛋白を減らす効果の確認された薬物です。英国でプロジェクトが進行形なので結論を出すのはまだ早いのですが、仏国や本邦からの報告では、効果が確認されていません。一過性に症状が改善するのですが、その後は治療を継続しても進行しました。現在でも希望される方には限定して使用します。

ペントサン・ポリサルフェート(PPS) 脳室内持続投与法

最近ではペントサン・ポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与法に研究はシフトしています。PPSに関しては、ペパリンという物質に類似したもので、抗炎症作用が知られていて欧米で関節炎や膀胱炎などに使用されていました。副作用は少なく、安全な薬です。経口や点滴で使用しても、血液中から脳に移行しないので、直接脳室へ入れる方法を考えました。マウスを使った実験では発症や症状の進行を遅らせること、より早い時期に高い濃度で投与すると効果があることがわかりました。マウスの脳の病理検査では、PPSを投与したほうには異常プリオン蛋白が蓄積せず、反対側には蓄積していることがわかる貴重なデータです。これらは東北大学の堂浦教授の研究ですが、共同研究としてPPSの投与による治療を2001年頃から準備を進めていました。2003年に英国で1例目の手術が行われました。変異型ヤコブ病の患者さんのご家族が、インターネットで堂浦先生の研究の成果を知り、ぜひ試したいという熱意から行われました。私たち現地に向いて治療を実際に見学し、経験交流をしてきました。そこで我々のプロトコルを一部変更しました。その変更とは、脳室内持続投与するために、ポンプをお腹の皮下に埋め込み、カテーテルで皮下を通じて脳室とポンプをつなぎます。ポンプのタンクに20ccの薬を入れると、1日に0.5cc、40日間連続でポンプから自動的にPPSが投与されます。月に1回注入だけすればいいことになります。実際に患者さんの中には外来に通いながら月1回注入している方がおられます。PPSは日本で作っていないのでドイツのBene社から輸入しています。そして今は医大薬学部で患者さんの体重に合わせた濃

度を製剤化しています。

最初の症例は66歳女性です。1月にふらつき、1月下旬には物忘れが出現し、3月にはミオクローヌスが出現し歩けなくなりました。4月に入院され、ご家族から治療を受けさせたいとの相談を受けて紹介されました。自分の声は出ないし、ほとんど寝たきりでミオクローヌスもありました。音や光にはビクッと驚きのような反応を示しました。脳室に入れた管を首・胸の皮下を通して、お腹に埋め込んだ持続注入ポンプに接続しています。このような手術の1週間後にCTを取って、脳内に出血などの合併症がないことを確認します。PPSの濃度は、最初1 μ g/kg/dayから始めていましたが、最近は20 μ g/kg/dayから始め、様子を見ながら60 μ g/kg/dayまで濃度を上げます。

これまで福岡大学で治療をした5症例ですが、たまたま全員が女性です。最初の2症例は孤発性です。2例目の方は発症から3ヶ月ころで、比較的早く治療を開始し、手術後に無言無動になりました。10ヶ月たちますが、脳と頭蓋骨の間に水がたまったため、現在治療を中断しています。3例目の方も孤発性ですが、非常に進行がゆっくりです。ミオクローヌスも脳波も異常が出なくて、MRIで皮質だけが異常信号を示しました。診断を確定するために脳生検を行いました。診断確定の後、6月から治療を開始して、7ヶ月になります。今でもようやく歩ける程度です。4例目の方はプリオン遺伝子に異常がある家族性の方です。発症してから6ヶ月目に治療を開始しました。現在も歩いています。治療開始後症状は安定しています。ご家族からは「もっと良くならないだろうか」と言われています。5例目の方は孤発性です。入院した時は話せたのですが、手術の準備をしている間にほとんど話せなくなってしまいました。孤発性の方は進行が早くて難しい状況がありますが、現在は維持している状態です。

効果的な治療法については、2番目の症例を除いては副作用がなく安全に治療を続けています。心配されていた血小板減少症とか出血傾向・抗血栓などの副作用はなく、現在の濃度では全身的な影響は少ないだろうと考えています。今後もう少し濃度を増やして効果を高めたほうが良いと考えています。欧州の2年前に出された13例の報告でも、治療は安全に行われております。今まで話せなかった人が話せるようになるとか、歩けなかった人が歩けるようになったとか劇的な効果はありませんが、飲み込みが良くなったとか熱を出さなくなったという全身的な安定性が出てきた方はおられます。英国では最大110 μ g/kg/dayを投与しており、それも手探りの状態です。我々は今のところ60 μ g/kg/dayでやっています。今後どうするかは相談しながらやって行きたいと思えます。