

4. アミロイドイメージングによるアルツハイマー病の診断

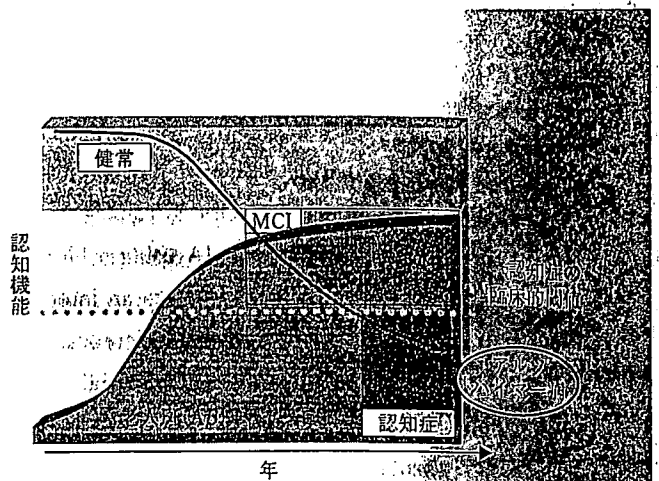
4.1 はじめに

2006年7月15～20日、スペインマドリードにおいて第10回国際アルツハイマー病学会(The 10th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders)が開催された。アルツハイマー病(AD)をアミロイドイメージングによって診断しようとする試みが本学会に最初に報告されたのは、4年前の2002年ストックホルムにおける第8回であったが、2006年の学会においてはイメージングコンソーシアム、その他イメージング、バイオマーカー、診断等に関するシンポジウム、口演、ポスターにおいて、約50の演題を数えることができた。本稿ではアミロイドイメージングが何ゆえこれほどの注目を浴びているのか、その診断の意義、波及効果、さらなる発展等について論じると共に、本診断法の鍵をにぎる β シート構造をとったアミロイド β タンパク(A β)を認識するプローブ(低分子有機化合物)の現状につき述べてみたい。

ほんの10年前まではADの根本治療は夢のまた夢であった。しかし近年、にわかに免疫療法¹⁾²⁾や β および γ セクレターゼ阻害薬^{3)~7)}等が登場し、ADの根本治療が可能になりそうなことが分かってきた。本来、診断と治療は車の両輪と言われるが、新しい輪の登場は必然的にもう一つの輪との間で影響を与えあう。本稿では新たに興ってきたアミロイドイメージングという診断法と、やがて現実化されるであろうもう一つの輪(根本治療法)との関連についても言及してみたい。

4.2 アミロイドイメージングのAD診断における意義および原理

ADは現状では臨床症状を指標にMMSE(Mini Mental State Examination)や長谷川式などの神経心理学的テストによって主として診断されている。しかし患者を取り巻く家族、または臨床家がAD特有の臨床症状に気づいた時には、それぞれA β および過剰リン酸化タウタンパクを主構成成分とする老人斑および神経原線維変化、さらに神経細胞脱落(脳萎縮)等の病理像はもはや取り返しのつかないほど進行していることが知られている。すなわち、現



Cognitive function(認知機能)を指標とすると、同機能が低下しMCIを経て、ある閾値を下回った時点からアルツハイマー病と診断されるが、病理像(ここではAmyloid burden)ではMCIがそれ以前からすでにアルツハイマー病状態である。

図1 アルツハイマー病における臨床像と病理像との乖離

状のAD診断を癌のそれに例えるならば、未病状態に達した時点でしか検出されていない癌と異なる。近年、一部ADの前駆状態と考えられているMCI(mild cognitive impairment; 軽度認知障害)という概念が起こってきた⁸⁾⁹⁾が、ADに進行するMCIにおいても病理学的にはすでに立派なAD状態である¹⁰⁾¹¹⁾ことが明らかにされている。ADの病理像は老人斑、神経原線維変化、神経細胞脱落の順に明らかわれ、最初の病理像である老人斑蓄積は臨床症状が顕在化する数10年前(40年前からとする研究もある)から始まると考えられている。これらの乖離はADの臨床像と病理像、言い換えるとclinical ADとpathological ADの間には大きな乖離が存在することを示唆している(図1参照)。この乖離にはいわゆる代償機能が関与しているものと推定される。AD病理像が進行してもかなりの部分が代償機能がこれを補いつつ症状発現を抑えているが、病理像が代償機能を上回り症状が表に現れたときに臨床像で手遅れの病理像を呈することになるのである。脳はADに関しては沈黙の器官と言われている。

しかし、臨床像と病理像とが乖離しているADにおけるこの現象は、もし的確に病理像を把握することができるならば、ADの発症前診断が可能となること、また診断時点においてまだ健康者であっても診断時点で発症前、すなわち代償機能が働いている時点でありさえすれば、それに根本治療を加えることにより、そのADに陥らずに一生を過ごせることが可能になる。

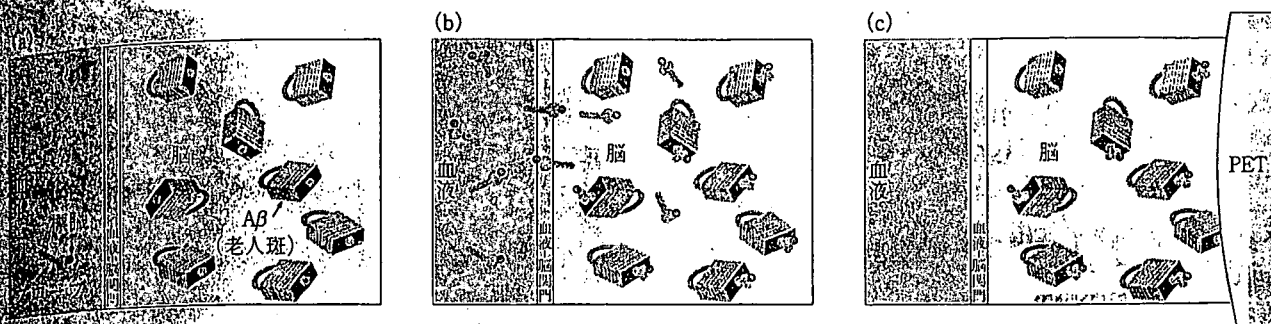


図2 アミロイドイメージングの概念図
 (a) プローブを静脈内投与する
 (b) プローブは血液-脳関門を越えて脳内のAβ(老人斑)に結合する
 (c) 一定時間後には非結合プローブは洗い流され、Aβに結合したプローブのみが残る。これをPETを用いて画像診断する

図2 アミロイドイメージングの概念図

アミロイドイメージングはADの病理像を追跡し、その病理像からADを診断しようとする技術である。それではこの診断法はいかなる戦略に基づく技術であるかについて解説すると、概念は以下の通りであり、その概念図を図2に示した。

- (1) ADの病理学的主徴のひとつ、老人斑のほとんどはβシート構造をとったAβによって形成されている。
- (2) βシート構造をとったAβに特異的・選択的に結合し、かつ容易に血液-脳関門を透過する低分子有機化合物を見いだす。
- (3) この化合物をPETで扱うことが可能な核種で標識する。
- (4) これをプローブとして生体に静脈内投与する。
- (5) プローブは血液-脳関門を越えて脳内の老人斑を形成しているAβに結合する。一定時間後には非結合プローブは洗い流され、Aβに結合したプローブのみが脳内に残る。
- (6) これをPETを用い、イメージング画像として取り込み、βシート構造をとった脳内Aβ(老人斑)蓄積量の定量およびその空間的分布からADを診断する。

4.3 アミロイドイメージングプローブの現状

次にアミロイドイメージングによる診断法に絶対不可欠なプローブに話題を移そう。この技術が臨床で応用されるための最大のハードルは、βシート構造をとったAβに特異的・選択的に結合し、かつ血液-脳関門を容易に透過し、標的(βシート構造を

とったAβ)以外からは速やかにクリアランスされる、さらに標識体は母化合物の特性を損なわない、などの優れた特性を有するプローブを見いだすことにある。著者らの経験では、プローブとして必要とされるいくつかの特性のうち一方の特性を上げると別の特性が下がるといったまさに匙加減をみながらの創薬であり、なかなか理想とするプローブへ到達することが難しいのが現実である。

図3に現時点において臨床試験が実施されたアミロイドイメージング用プローブの化学構造式を示した。

2002年初頭、世界で初めてAD患者にアミロイドイメージング用PETプローブが投与された画像が紹介された¹²⁾。この荣誉に浴したのはBarrioらのチーム、プローブは¹⁸F]FDDNPであった。¹⁸F]FDDNPの集積は¹⁸F-FDG代謝の低下している部位にみられ、また側頭葉部位における集積はAβおよび神経原線維変化を反映していると考えられる¹²⁾¹³⁾。しかし¹⁸F]FDDNPはその脂溶性の高さに基づくとと思われる非特異的結合が問題となっている。

¹¹C]PIBはピッツバーグ大学Klunkらによって開発された現時点で最も臨床評価の進んでいるプローブである。Klunkら^{14)~16)}によるとAD患者脳において高い集積の認められる部位は前頭葉、側頭葉、頭頂葉などであるが、これらは明らかに健常コントロール画像と異なっており、また¹⁸F]FDDNPと同様、¹⁸F-FDG代謝の低下している部位に集積がみられた。¹¹C]PIB集積と¹⁸F]FDGの代謝率を比較したところ、前者の集積の方が後者の代謝率よりもAD患者-健常コントロール間のデータのオーバーラップが少なかった。このことはこのプローブ

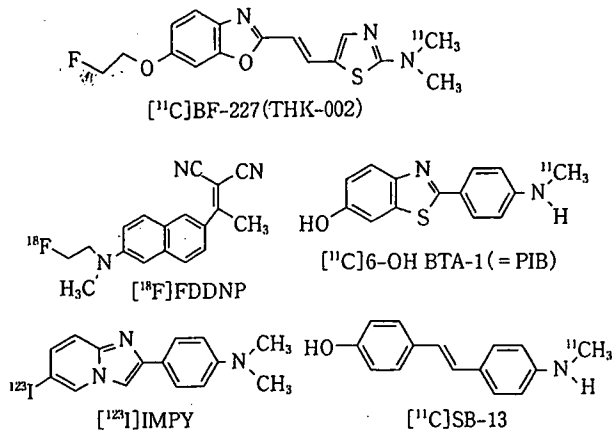


図3 アミロイドイメージング用に開発されたプローブ群

による診断の方が¹⁸F-FDGを用いたそれよりもADの診断精度が優れていることを示唆している。またMCI患者の結果ではAD患者とほぼ同等の集積を示す例と、コントロールとほぼ同様の結果が得られる例とが報告されている¹⁶⁾が、これらがfalse positive/negativeなのかは今後多例数を重ねて検討する必要がある。最近、第8回国際アルツハイマー病学会に最初に¹¹C]PIBのヒトデータを報告したUppsalaグループから、AD患者の2年間のフォローアップデータが発表された¹⁷⁾。それによると大脳皮質における¹¹C]PIB retentionは2年前とほとんど変わらなかったが、一方¹⁸F-FDGの代謝率はこの間20%の低下を示したと報告されている。マドリードにおける国際アルツハイマー病学会でも、AD患者における¹¹C]PIB集積とMMSEスコア間における負の相関値は必ずしも高い絶対値を取らないことが報告されている¹⁸⁾。このことはプローブ¹¹C]PIBはADの重症度診断についてはあまり得意でないことを示唆している。これは病理像としての β の蓄積はAD発症時点でおそらくすでにほぼプラトー状態に達しているためであろうと考察されるが、¹¹C]PIB以外のプローブでも同様の現象が見られるのか、今後の報告を待ちたい。著者の私見としては、発症前ないし早期診断はアミロイドイメージングの方が、重症度診断はタウイメージングの方がより適切ではなからうかと推測している。

¹¹C]SB-13はペンシルベニア大Kung夫妻らによって開発され、¹¹C]PIBとの比較という形で探索的臨床研究データが発表された¹⁹⁾。AD患者におけるプローブの集積部位は、前頭葉、後頭側頭-下

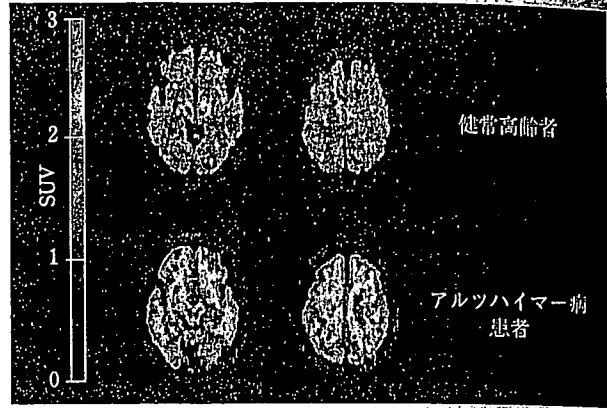


図4 ¹¹C]BF-227・PETのSUV(standardized uptake value)画像(口絵②参照)

部頭頂連合皮質であり、¹¹C]PIBの集積とほぼ似ていると報告されている。

¹¹C]BF-227は著者ら(BF研究所および東北大学チーム)によって開発され²⁰⁾、東北大学チームによって2005年7月から探索的臨床試験が開始された。AD患者における検討では、投与直後は健康者と同様の集積分布を示したが、30分以上以降においては、老人斑の好発部位である前頭葉、側頭葉、頭頂葉などの大脳皮質領域で放射能の集積が観察され、健康者とは異なる集積像を示し、十分にアミロイドイメージングプローブとしてのポテンシャルを有することが示唆されている(図4参照)²¹⁾。今後、定量解析法の検討や¹¹C]PIBなどとの比較を行い、その詳しい臨床試験結果は追って報告したい。

また、著者らはAD型、成熟型および過剰リン酸化型タウ特異的プローブをも開発している²²⁾がADの重症度診断には前述したように β イメージングよりはこれらのプローブの方がより適している可能性が高いと著者は考えている。

4.4 ¹⁸F]標識アミロイドイメージング用プローブの開発、およびその他ならびに次なるアミロイドイメージング

現在、世界中で主として研究用に使用されているアミロイドイメージング用PETプローブのほとんどは¹¹C]標識体である。¹¹C]標識プローブはその半減期の短さ(約20分)から、これを使用するためにはPET施設の近隣にサイクロトロンおよび合成装置の併設が必要である。一方、もう一つの代表的PET用標識体である¹⁸F]はその半減期(約110分)

が ^{11}C のそれに比し長いこと、またはサイクロトロンおよび合成装置を備えた製造拠点を標識合成施設・PET施設へのデリバリーが可能であることなどが、PET診断用(臨床用)プローブとしての前者の有用性は後者のそれに比し圧倒的に優れている。これらことから、次世代のアミロイドイメージング用プローブとして ^{18}F 標識体の開発が進行中であり、著者らもこれに取り組んでいる。

ADの病理像を追跡することにより同病を診断し、また、PETプローブ・PETを用いたアミロイドイメージングは、重症度診断はそれほど得意ではない(ただし ^{11}C PIBのデータ)らしいこと以外、従来までのあらゆる診断法に比し、感度、特異度、診断精度等のいずれをとっても明らかに優れていることは確かである。しかしこの診断法には、将来的に克服できないと予想される一つの課題がある。それは診断装置、すなわちPETの普及台数の問題である。今後、標識プローブのデリバリーが日常化されたとしても、MRIやSPECTのように国内設置台数数千といった普及は、PETにおいては到底到達不可能であろう。

そこでMRIまたはSPECTにそれぞれ対応したプローブを用いたアミロイドイメージングが試みられている。MRIについては、Higuchiら²⁵⁾が $\text{A}\beta$ を認識するF化合物のFを追跡する技術を報告しているが、測定原理上PETと比較して空間分解能は圧倒的に優れているが、時間的分解能、感度は劣っている。MRIの感度は 10^{-4}M 、PETのそれは 10^{-12}M と考えられている²⁶⁾ことなどから、Higuchiらも述べているように²⁵⁾この方法のヒト臨床応用にはハードおよびソフトウェアの更なる進化に加えて優れたF化合物の開発が必要であろう。進化が現実になったならばPETにとって代わるのは必然と思われるが。

次にSPECT用プローブであるが、ペンシルベニア州Kungらによって開発された ^{123}I IMPY(図3参照)は、AD患者において $\text{A}\beta$ が蓄積することが知られている部位においてuptakeが増加しており、頭頂葉、側頭葉、前頭葉におけるuptakeと線条体におけるそれとの比はAD患者の方がコントロールに比較して有意に高いことが第10回国際アルツハイマー病学会にて報告された²⁷⁾。また、国内においてもSPECT用プローブの開発を進めている会社が存在することを聞いている。

最近、より簡便なAD診断法として近赤外線蛍光プローブ・蛍光イメージング診断装置が注目されている。その診断原理は $\text{A}\beta$ に親和性をもち、しかも血液-脳関門を越え、さらに生体を透過する光(波長約600~1,000 nm, 生体の分光学的窓領域)を照射することによって同領域波長の蛍光を発するプローブをAD診断に応用しようとするものである。この診断に用いる蛍光イメージング診断装置はベッドサイド、外来を問わず可搬性に優れており、放射線を利用せず、また、短時間での診断、集団検診または人間ドックへの応用が可能である。この診断に用いるプローブについては最初のプロトタイププローブAOI-987もすでに紹介されており²⁸⁾、著者らもその開発に取り組んでいる。

著者の私見としては、将来のAD診断はその簡便さから近赤外線蛍光プローブ・蛍光イメージング診断装置で最初のスクリーニングを行い、疑わしい場合はPETプローブ・PETで診断という2段階になるのではないかと推測している。

4.5 アミロイドイメージングの更なる発展性

2005年現在、日本には2,560万人(2006年版高齢社会白書より引用)、先進国には1億8,500万人(国連World Population Prospects: The 2004 Revision Population Database: URL <http://esa.un.org/unpp/>より引用)の65歳以上人口が存在する。ADの発症率は65歳以上人口の4~6%といわれる。前述したように根本治療法のいくつかがいよいよ現実のものになりつつあるが、著者はこれらの治療薬の効果については以下のようなになるであろうと推測している。すなわち、AD発症後の治療では現状維持(ADの症状はそのまま)、しかし高リスク者であっても発症前からの治療ではADに罹患せずにその後の人生を送ることができるであろう。

とするならば、65歳以上人口の4~6%ではなく、少なくとも日本における2,560万人、先進国における1億8,500万人がアミロイドイメージングを受診する対象者となるのではなかろうか。近い未来においては発症前診断、これに続く発症前からの治療により、ADという人類の後半生に深刻な影を落としている疾患は少なくとも先進国から消えることになるであろう。発症前診断-発症前治療-AD未発症のスキムはしばらくは先進国の国民のみがその恩恵を受けることになるであろうが、やがては全世界規模

で広がることが予想される。そのためにもより廉価な診断法の開発が必要であろう。

●謝辞

著者らの研究には科学技術振興調整費、独立行政法人医薬基盤研究所の「保健医療分野における基礎研究推進事業」、厚生労働科学研究費補助金の「基礎研究成果の臨床応用推進研究事業」、同「長寿科学総合研究事業」、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)産業技術研究助成事業の支援をいただきました。またBF研究所に出資していただきました医薬品医療機器総合機構および各社に感謝いたします。本研究には「平成16年度三井住友海上福祉財団研究助成金」、「ノバルティス老化および老年医学研究基金」、「アストラゼネカ・リサーチグラント」の支援をいただきました。最後に共同研究者の福祉村病院 長寿医学研究所 赤津裕康、山本孝之、東北大学医学部 老年/漢方内科 荒井啓行、同機能薬理学分野 谷内一彦 諸先生、旧BF研究所アミロイドイメージング研究チームおよび現東北大学PETイメージング研究チームの同僚に感謝の意を表します。

【参考・引用文献】

- 1) D. Schenk et al. : *Nature*, **400**, 173-177(1999).
- 2) H. Hara et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S611(2006).
- 3) T. Kimura et al. : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 1527-1531(2004).
- 4) T. Kimura et al. : *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15**, 211-215(2005).
- 5) I. Peretto et al. : *J. Med. Chem.*, **48**, 5705-5720(2005).
- 6) N. Moretto et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S110(2006).
- 7) B.P. Imbimbo et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S595(2006).

この他に以下のURLを参考にした。

γ-セクレターゼモジュレーター エーザイ E2012.
<http://www.eisai.co.jp/news/news200618.html>

- 8) R.C. Petersen et al. : *JAMA*, **273**, 1985-1992(1995).
- 9) B. Winblad et al. : *J. Intern. Med.*, **256**, 240-246(2004).
- 10) T. Gomez-Isla et al. : *J. Neurosci.*, **16**, 4491-4500(1996).
- 11) J.L. Price and J.C. Morris : *Ann. Neurol.*, **45**, 358-368(1999).
- 12) K. Shoghi-Jadid et al. : *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **10**, 24-35(2002).
- 13) V. Kepe et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 702-707(2006).
- 14) W.E. Klunk et al. : *Ann. Neurol.*, **55**, 306-319(2004).
- 15) J.C. Price et al. : *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.*, **25**, 1528-1547(2005).
- 16) B.J. Lopresti et al. : *J. Nucl. Med.*, **46**, 1959-1972(2005).
- 17) H. Engler et al. : *Brain*, 2006(Jul 19)1-11(2006)doi:10.1093/brain/awl178.
- 18) V.L. Villemagne et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S325(2006).
- 19) NPLG. Verhoeff et al. : *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **12**, 584-595(2004).
- 20) Y. Kudo et al. : *J. Neurosci.*(submitted)(2006).
- 21) H. Arai et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S312(2006).
- 22) N. Okamura et al. : *J. Neurosci.*, **23**, 10857-10862(2005).
- 23) W. Zhan et al. : *J. Med. Chem.*, **48**, 5980-5988(2005).
- 24) W. Zhan et al. : *Nucl. Med. Biol.*, **32**, 799-809(2005).
- 25) M. Higuchi et al. : *Nat. Neurosci.*, **8**, 527-533(2005).
- 26) M. Fujita et al. : *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, pp.411-425, Lippincott Williams & Wilkins(2002).
- 27) C.M. Clark et al. : *Alzheimer's & Dementia*, **2**(3)Suppl 2, S342(2006).
- 28) M. Hintersteiner et al. : *Nat. Biotech.*, **23**, 577-583(2003).

<工藤 幸司/古本 祥三/岡村 信行>

非侵襲・可視化技術ハンドブック

—ナノ・バイオ・医療から情報システムまで—

発行日	2007年 6月 25日 初版第一刷発行
監修者	小川 誠二 / 上野 照剛
発行者	吉田 隆
発行所	株式会社 エヌ・ティー・エス 〒113-0034 東京都文京区湯島 2-16-16 TEL : 03(3814)9150(編集企画部) : 03(3814)9151(営業部) http://www.nts-book.co.jp/
印刷	株式会社 双文社印刷
製本	牧製本印刷 株式会社
表紙デザイン	岡本 秋象

©小川誠二, 上野照剛 他, 2007

落丁・乱丁本はお取り替えいたします。無断複写・転写を禁じます。 ISBN978-4-86043-133-4
定価はケースに表示してあります。
本書の内容に関し追加・訂正情報が生じた場合は、当社ホームページにて掲載いたします。
※ホームページを閲覧する環境のない方は当社営業部(フリーダイヤル 0120-198-110)へ
お問い合わせ下さい。

9 アミロイドイメージングによるアルツハイマー病の早期診断

【要約】アミロイドイメージングは、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease ; AD) の病理学的特徴である脳内 A β の沈着を生体画像化する方法である。本法を用いれば、従来の画像診断法ではできなかった AD の神経病理像を評価でき、発症前段階にある AD の超早期診断も可能になると期待されている。現在、4つの PET 用アミロイドイメージング剤が臨床で評価されている。画像定量解析を行うことで、健常者と AD 患者を明確に判別できる結果が得られている。

はじめに

AD は、高齢者にみられる認知症の原因疾患として最も頻度の高い神経変性疾患であり、近年の急速な高齢化に伴ってその患者数は増加の一途をたどっている。さらに、AD では臨床症状が発症してから認知機能が進行的に低下し、予後が著しく不良であることが大きな問題となっている。現在のところ AD の根治療法は確立されていないが、塩酸ドネペジルやガラントミンを使うことで AD 患者の認知機能や症状を一時的に改善し、病状の進行を遅らせることが可能になっている。そして、より高い効果の現れる治療を実践するためには、より早期の段階で AD を確実に診断し、できる限り早く治療を開始することが重要とされている。

このような背景から、AD の早期診断法を確立することが AD 研究において重要な課題の一つとなっており、核医学的手法を用いた研究も数多く行われている。そして、これまでの研究で、血流 SPECT や FDG-PET による局所脳血流・糖代謝の低下が、AD の早期診断に有効な指標となることが示されている。しかし、脳血流や糖代謝はあくまでも生理学的・生化学的変化であり、その低下は神経細胞の消失、あるいはシナプス活性の低下を反映しているとしても、その脳内局在情報を除けば必ずしも AD に特異的な変化をとらえていくわけではない。より感度と特異性に優れた診断法を確立するためには、疾患特異的な病理学的変化を指標とする診断方法が有効だと考えられる。

AD の場合、アミロイド β タンパク (A β) の脳内蓄積が疾患特異性の高い重要な病理学的変化であることから、その定量評価が可能になれば、感度および特異性に優れた AD 診断法を確立することができると考えられている。このような観点から、近年非常に注目を集めているのが、A β 蓄積の画像定量評価を目的としたアミロイドイメージングである^{1,2)}。この方法による AD の診断では、従来の方法と比べて診断の信頼性が大幅に向上し、原理的に AD の臨床症状が現れる以前に病理状態を把握することも可能になると期待されている。本稿では、現在、世界的に激しい競争が繰り広げられている PET 用アミロイドイメージング剤の開発状況について、臨床研究の成果を中心に概説する。

2 AD の病態

AD 患者の脳では神経病理学的特徴として大脳皮質における老人斑 (senile plaque ; SP) および神経原線維変化 (neurofibrillary tangle ; NFT) の沈着、そして神経細胞の変性・脱落が観察される。

SP および NFT は、それぞれ A β およびリン酸化タウタンパクが異常蓄積することによって形成され、AD の病態発症機構に深く関与していると考えられている。特に、A β の脳内蓄積は AD の病態発症の最初期にみられる病理過程で、AD 発症の中核をなすと考えられている (アミロイドカスケード仮説)。アミロイドカスケード仮説を

支持する研究成果の詳細は他に譲るが³⁾、この仮説に基づきAD発症に至る病理変化を説明すると次のようになる。

まず、何らかの原因でA β の産生、代謝(分解)、排泄に異常をきたすことで脳内にA β の蓄積、老人斑の沈着が進行し、それによってタウタンパク質の異常蓄積、NFT形成が誘発される。そして、NFTの沈着に伴う神経細胞の変性、脱落が進行することで、最終的に臨床症状として認知機能の障害が出現することになる(図1)。

一連の病理過程は、臨床症状が発症する約10~20年前からすでに始まっていると考えられており⁴⁾、軽度認知機能障害(mild cognitive impairment; MCI)のような臨床的には極めて早期の段階に相当する場合でも、病理学的にはすでにSP、NFT、神経細胞変性・脱落などがみられ、ADの病理像を呈することが知られている⁵⁾。したがって、アミロイドイメージングにより脳内A β 蓄積量を定量的に評価できるようになれば、MCIはもちろんのこと、それ以前の臨床症状が現れていない段階でもADの病理像(A β の蓄積)を検出し、既存の検査法では不可能であったADの超早期診断が可能になると期待されている。

3 アミロイドイメージング用標識薬剤の特徴

SPを構成しているA β は、分子間で β シート構造と呼ばれる安定な二次構造をとり、線維状の凝集体を形成して存在している。アミロイドイメ

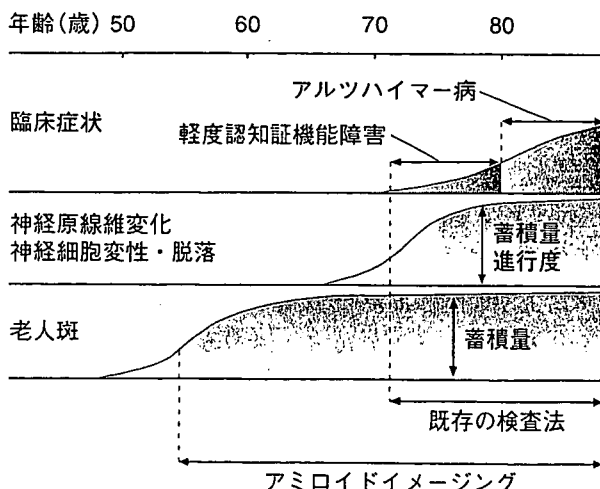


図1 アルツハイマー病における病理像と臨床像の経年変化

ージングでは、その重合状態にあるA β 凝集体に特異的結合性を示す化合物の標識体をプローブとして、脳内に存在するSP(A β 凝集体)の分布や蓄積程度を画像的に測定評価することになる。

実際にPETでアミロイドイメージングを実現するために必要となる標識薬剤は、A β 凝集体に対して高い結合親和性と選択性を示すと共に、投与後速やかに血液脳関門を透過して脳内へ移行し、さらに、A β 凝集体への結合に関与しない標識薬剤は正常脳組織に非特異的結合することなく脳内から速やかに消失される、という性質を備えなくてはならない。これらの条件をほぼクリアし、臨床での評価が開始されている標識薬剤としては、以下で紹介する¹¹C-PIB、¹⁸F-FDDNP、¹¹C-SB-13、¹¹C-BF227がある(図2)。

4 ¹¹C-PIBの臨床評価

¹¹C-PIBは、米国ピッツバーグ大学グループによって開発されたベンゾチアゾール骨格を有するチオフラビン-T誘導体の¹¹C-メチル標識化合物であり⁶⁻⁹⁾、現時点で最も臨床評価の進んでいる薬剤である。¹¹C-PIBの脳内集積性については、健常高齢者では、大脳皮質における放射能集積は少なく、白質領域や、脳幹に軽度の非特異的集積がみられた⁸⁾。一方、AD患者では、SPの好発部位である大脳皮質に顕著な放射能集積を認め、健常者とは明らかに異なる集積パターンを示したが、小脳や白質領域は、健常者と同程度の集積性であった。また、FDG-PETで計測した局所糖代謝率との関連を調べてみると、¹¹C-PIBで特異的集積性を示したAD患者の大脳皮質領域では糖代謝率は減少する傾向にあり、その糖代謝率と¹¹C-PIBのSUV_{PIB}(standardized uptake value)は負の相関を示すことが確認された⁸⁾。また、健常者—AD患者間でのSUV_{PIB}と糖代謝率について健常者対AD患者の群間差を比較した場合、SUV_{PIB}の方が統計的により有意な差がみられ、診断としてより優れていることが示唆された。

PIB-PETにおける定量解析法についてはピッツバーグ大学グループが、動脈血中放射能を入力関数とするLogan法を基準法として、種々の簡

定量解析法の有効性を比較検討している^{10,11)}。結果として、小脳を参照領域とする Logan-DVR_{CER} (distribution volume ratio) や SUVR (対小脳 SUV 比) を指標とした場合、AD 患者の後部帯状回や前頭前野の平均値は健常者と比べて約2倍程度となり、各群の個別データの分布範囲には重なりがみられず、AD 患者と健常者を明確に区別することが示された¹¹⁾。Logan-DVR_{CER} や SUVR は測定再現性の精度に優れていることも確認されており、非常に有用性の高い指標であることがわかる。また、Logan-DVR_{CER} や SUVR を求める解析法では、動脈採血、代謝分析などが必要でないため、患者に対する負担の軽減や、PET 検査プロトコルの大幅な簡略化が可能になるという利点もある。

ところで、同グループは MCI 患者に対しても PIB-PET を実施し同様に定量解析を行っているが、その解析値は大きくばらつき、AD 患者程度の値を示す症例と健常者程度の値を示す症例とが混在する結果となった (図3)¹¹⁾。この場合は、可能性として MCI 患者群に AD 発症予備群に相当する進行性の AD 病理像を有した患者と、AD とは異なる病態に基づく認知機能低下症患者が含まれていたと想定できる。もしそうであった場合、MCI 段階において AD 発症リスクの高い患者とそうでない患者を容易に判別できている可能性がある。似たような例として、最近、Fagan らは臨床症状的には異常のみられない高齢者で PIB-PET を実施し、AD 患者と同様に大脳皮質領域に ¹¹C-PIB の特異的集積性を示す症例を報告している¹²⁾。彼らは、バイオマーカーとして CSF 中のタウタンパクや Aβ の量も同時に測定しており、その結果は完全に AD 患者に分類される値を示した。この場合は無症候性の AD 発症予備群に相当する症例を検出している可能性がある。このような症例

については、追跡調査によって、AD 発症の有無や剖検時の病理所見と ¹¹C-PIB 集積との関連性を調べるのが重要であり、それによって初めてアミロイドイメージングコンセプトの証明、さらには AD の早期診断に対する有用性が評価されることになる。

5 ¹⁸F-FDDNP の臨床評価

¹⁸F-FDDNP は、米国 UCLA の研究グループによって開発されたアミノナフタレン骨格を有する ¹⁸F 標識化合物であり、比較的脂溶性が高く、SP と NFT の両方に結合性を示す^{13,14)}。歴史的にみて、¹⁸F-FDDNP は世界で最も早く臨床評価研究が開始された薬剤である。

AD 患者を対象とした FDDNP-PET では、¹⁸F-FDDNP 投与直後 (~30分) は脳血流を強く反映するような放射能動態を示し、特に橋や後頭葉に高い放射能集積を認め、撮像の中後半以降 (40分~) では、病理学的に SP や NFT の蓄積がみられる大脳皮質 (側頭葉) や海馬を中心として放

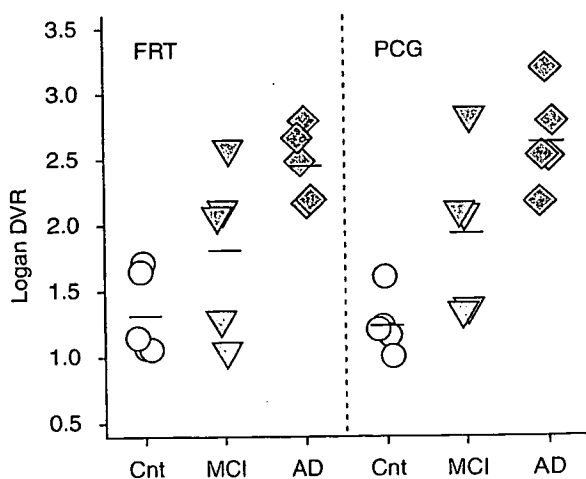


図3 ¹¹C-PIB の Logan-DVR (文献 10 より改変)
FRT : 前頭葉、PCG : 後部帯状回、Cnt : 健常高齢者、MCI : MCI 患者、AD : AD 患者

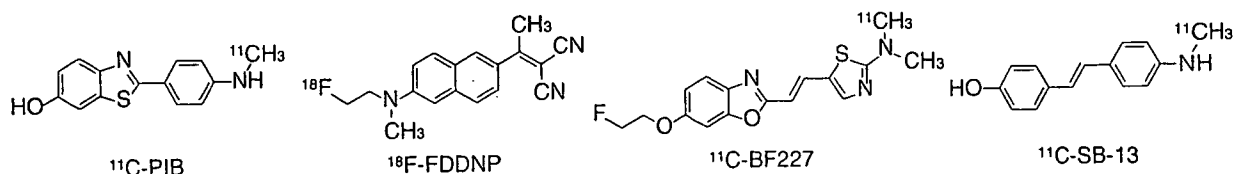


図2 現在、臨床評価が行われている PET 用アミロイドイメージング剤

射能の集積がみられた¹⁵⁾。FDG-PETとの比較では、¹⁸F-FDDNPの集積部位である側頭葉下部で¹⁸F-FDG代謝の低下がみられた。これら結果から、側頭葉領域における¹⁸F-FDDNPの集積は、ある程度SPやNFTの蓄積を反映しているものと考えられる。しかし、¹⁸F-FDDNPの脂溶性の高さに起因するとみられる白質や脳幹領域への非特異的集積もかなり目立ち、放射能集積画像だけから¹⁸F-FDDNPの特異的集積性を目視的に評価することは難しい。

定量解析に関しては、関心領域での標識薬剤の相対的保持時間 (relative retention time ; RRT) を指標とする評価手法が検討されている¹⁵⁾。SPやNFTの蓄積しやすい側頭葉底部、または、海馬一扁桃体一嗅内領野でRRTを比較した場合、AD患者の場合は健常者の約2倍の値となり、両群の個別データの重なりも小さくなった。また、RRT値とMMSE (mini mental state examination) スコアの関係を調べたところ、十分に有意な負の相関を示した。しかし、RRTからは¹⁸F-FDDNPの結合能 (binding potential ; BP) に関する情報が得られないため、評価指標として適切かどうかについては議論の余地がある。

一方、Loganのグラフ的解析法 (参照領域=小脳) により求めたDVR (= BP + 1) を指標として健常者とAD患者を比較した場合、内側側頭葉および後部帯状回において、AD患者のDVR平

均値は健常者よりも高い値となり、MCI患者については両者のちょうど中間程度の値をとることが示された (図4)¹⁶⁾。特に、MCI患者のDVR値が、PIBでみられたように大きくばらつかないという点が興味深い。これまでの神経病理学的研究では、内側側頭葉はNFTの好発部位であること、また、NFTの出現頻度は痴呆の程度によく相関することが明らかにされている。このことと合わせて考えると、内側側頭葉における¹⁸F-FDDNPの集積は、NFTの集積程度を色濃く反映している可能性がある。ただし、¹⁸F-FDDNPはSPとNFTの両者に結合性を示すため、基本的にはFDDNP-PETだけでどちらか一方の定量評価を行うことはできない。また、病理学的にSPとNFTの出現の仕方 (量、割合など) は、脳内部位、病理の進行程度によって異なるため、たとえ定量解析値が同じ結果であっても、解析部位や病理の進行度が異なる場合には、病理像 (SPとNFTの蓄積量の割合) は同じでない可能性があることに注意しておくべきである。

6 ¹¹C-SB-13の臨床評価

¹¹C-SB-13は、米国ペンシルバニア大学グループによって開発されたスチルベン骨格を有する¹¹C-メチル標識薬剤であり^{17,18)}、¹¹C-PIBと比較する形で臨床評価が行われている¹⁹⁾。

AD患者の脳内放射能分布については、¹¹C-SB-13と¹¹C-PIBは共に似たような分布パターンを示したが、大脳皮質SUVについては健常者対AD患者の効果量 (effect size) を比べたところ、¹¹C-SB-13の方が¹¹C-PIBよりも小さい値となった (平均値: 1.38 vs 2.45)。すなわち、放射能集積で健常者とAD患者を比較した場合、¹¹C-SB-13では¹¹C-PIBよりも群間差が出にくいということの意味している。

定量解析で求めたBPに相当するRv値について健常者対AD患者の効果量を算出したところ、大脳皮質の平均は2.92となり、¹¹C-PIBの3.91には及ばないものの、SUVの場合よりも群間差は大きくなって、両群の個別データの重なりもほとんどみられなかった。このように、¹¹C-SB-13はRv値を指標とすることで、ADを感度よく診断

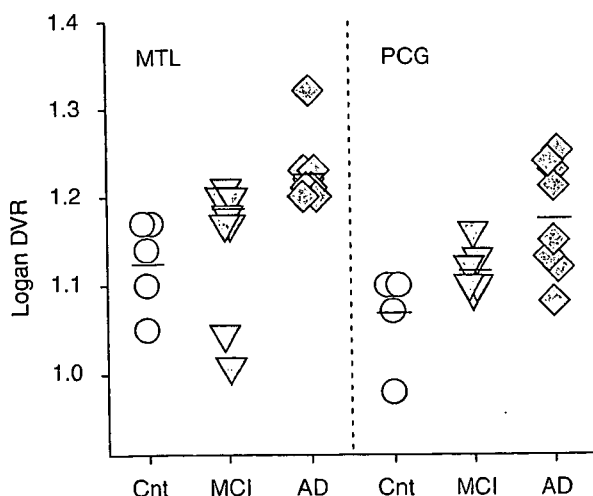


図4 ¹⁸F-FDDNPのLogan-DVR (文献16より改変)
MTL: 内側側頭葉、PCG: 後部帯状回、Cnt: 健常高齢者、
MCI: MCI患者、AD: AD患者

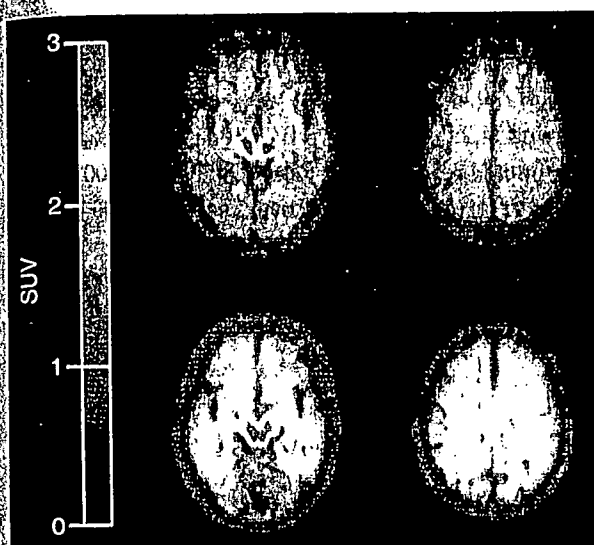


図5 BF227-PETのSUV画像(口絵94参照)
健康高齢者(上段)とAD患者(下段)における投与後30分
から60分までの加算画像。

できる可能性が示唆されている。

7 ^{11}C -BF227の臨床評価

^{11}C -BF227は、株式会社ビーエフ研究所および東北大学のグループによって開発された2-エチニルベンゾオキサゾール骨格を有する ^{11}C -メチル標識薬剤である。2005年秋から東北大学で臨床研究が開始されている。まだ十分なデータは蓄積されていないが、これまでに明らかになった薬剤の脳内動態性についてまとめる。

健康高齢者におけるBF227-PETでは、標識薬剤投与直後には脳内全域に放射能の集積がみられ、その後は大脳皮質を中心に放射能の速やかな消失がみられた。ただし、白質領域、脳幹において軽度の非特異的集積が認められた。AD患者での検討では、投与直後は健康者と同様の集積分布を示したが、30分以降においては、老人斑の好発部位である前頭葉、側頭葉、頭頂葉などの大脳皮質領域で放射能の集積が観察され、健康者とは異なる集積像を呈した(図5)。

AD患者の大脳皮質各領域におけるSUVR(参照領域=小脳)は、健康高齢者と比べて十分に高い値を示し、群間での個別データの重なりはほとんど認められなかった。また、 ^{18}F -FDDNPでみられるようなNFT好出現部位の内側側頭葉における集積はそれほど高くなかった。したがって、

^{11}C -BF227は、 ^{11}C -PIBと同様にAD患者の大脳皮質領域においてSP特異的に集積していることが示唆され、アミロイドイメージング剤として利用可能な薬剤であると考えられる。

8 おわりに

アミロイドイメージングは、ADの早期診断にとって利用価値の高い手法であることは本稿で述べた通りだが、診断以外の利用方法に対しても高い期待が寄せられている。例えば、現在開発が進められているAD治療薬のほとんどは、脳内A β の産生や蓄積の抑制を作用機序としているが、アミロイドイメージングは、その治療効果を評価するための有効な手段になると期待されている。また、研究的には、A β の脳内蓄積を非侵襲的に定量評価できる利点を生かし、「アミロイドカスケード仮説」を検証するための強力なリサーチツールとして利用できると考えられている。

このように期待を持たれているアミロイドイメージングではあるが、その臨床研究はまだ途についたばかりであり、これまでの研究内容、規模ではADの早期診断に対する有効性が十分に証明されたとはいえない。ただ、これまでの研究成果だけでもアミロイドイメージングに秘められたポテンシャルの大きさを十分にうかがい知ることができる。現在、世界各国の研究機関でアミロイドイメージングの臨床研究が展開されていることから、今後、早期診断の有効性に関するエビデンスは徐々に蓄積されていくものと思われる。将来的には、研究だけでなく、一般診療や検診に広く取り入れられ、ADの早期診断や治療評価に活用されることを期待したい。

文献

- 1) Nordberg A: Lancet Neurol 3: 519-527, 2004
- 2) Sair HI, et al: Neuroradiol 46: 93-104, 2004
- 3) LaFerla FM, et al: TREND in Mol Med 11: 170-176, 2005
- 4) Price JL, et al: Ann Neurol 45: 358-368, 1999
- 5) Gomezisla T, et al: J Neurosci 16: 4491-4500, 1996
- 6) Mathis CA, et al: J Med Chem 46: 2740-2754, 2003
- 7) Klunk WE, et al: J Neurosci 25: 10598-10606, 2005
- 8) Klunk WE, et al: Ann Neurol 55: 306-319, 2004
- 9) Klunk WE, et al: J Neurosci 23: 2086-2092, 2003

- 10) Price JC, et al: J Cereb Blood Flow Metab 25: 1528-1547, 2005
- 11) Lopresti BJ, et al: J Nucl Med 46: 1959-1972, 2005
- 12) Fagan AM, et al: Ann Neurol 59: 512-519, 2006
- 13) Agdeppa ED, et al: J Neurosci 21: RC189, 2001
- 14) Agdeppa ED, et al: Neurosci 117: 723-730, 2003
- 15) Shoghi-Jadid K, et al: Am J Geriatr Psychiatry 10: 24-35, 2002
- 16) Kepe V, et al: Proc Natl Acad Sci USA 103: 702-707, 2006
- 17) Ono M, et al: Nucl Med Biol 30: 565-571, 2003
- 18) Kung MP, et al: Brain Res 1025: 98-105, 2004
- 19) Verhoeff NPLG, et al: Am J Geriatr Psychiatry 12: 584-595, 2004

(古本祥三、岡村信行、工藤幸司)

臨床医のためのクリニカル PET 病期・病態診断のためのガイドブック

発行 2007年6月27日 初版第1刷 ©
編集者 クリニカル PET 編集委員会
伊藤正敏 遠藤啓吾 佐治英郎 玉木長良
畑澤 順 福田 寛 寺田弘司
発行者 代表取締役 寺田弘司
株式会社寺田国際事務所／先端医療技術研究所
〒112-0015 東京都文京区目白台 2-5-15-204
電話 03-5978-3141 FAX 03-6824-6570
E-mail:kterada@t3.rim.or.jp
<http://www.t3.rim.or.jp/~kterada/>
印刷 株式会社プレインズ・ネットワーク

(無断複写・転写を禁ず)

ISBN978-4925089-18-8 C3047

定価 8,400 円(本体 8,000 円)

Printed in Japan

Yusei Shiga
Katsuya Satoh
Tetsuyuki Kitamoto
Sigenori Kanno
Ichiro Nakashima
Shigeru Sato
Kazuo Fujihara
Hiroshi Takata
Keigo Nobukuni
Shigetoshi Kuroda
Hiroki Takano
Yoshitaka Umeda
Hidehiko Konno
Kunihiko Nagasato

Akira Satoh
Yoshito Matsuda
Mitsuru Hidaka
Hirokatsu Takahashi
Yasuteru Sano
Kang Kim
Takashi Konishi
Katsumi Doh-ura
Takeshi Sato
Kensuke Sasaki
Yoshikazu Nakamura
Masahito Yamada
Hidehiro Mizusawa
Yasuto Itoyama

Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution

Received: 28 June 2006
Received in revised form: 8 January 2007
Accepted: 6 February 2007
Published online: 2 November 2007

Y. Shiga, MD, PhD* (✉) · S. Kanno, MD · I. Nakashima, MD, PhD · K. Fujihara, MD, PhD · Y. Itoyama, MD, PhD
Dept. of Neurology
Tohoku University Graduate School of Medicine
1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku
Sendai 980-8574, Japan
Tel.: +81-22/717-7189
Fax: +81-22/717-7192
E-Mail:
yshiga@em.neurol.med.tohoku.ac.jp

K. Satoh, MD, PhD
The First Department of Internal Medicine
Graduate School of Medicine
Nagasaki University, Japan

T. Kitamoto, MD, PhD*
Division of CJD Science and Technology
Graduate School of Medicine
Tohoku University, Japan

S. Sato, MD, PhD
Dept. of Neurology
Kohnan Hospital, Japan

H. Takata, MD, PhD · K. Nobukuni, MD, PhD
Dept. of Neurology
Minami Okayama National Hospital, Japan

S. Kuroda, MD, PhD*
Dept. of Neuropsychiatry
Graduate School of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences
Okayama University, Japan

H. Takano, MD, PhD · Y. Umeda, MD, PhD
Dept. of Neurology
Brain Research Institute
Niigata University, Japan

H. Konno, MD, PhD
Dept. of Neurology
Nishitaga National Hospital, Japan

K. Nagasato, MD, PhD
Dept. of Neurology
Isahaya General Hospital, Japan

A. Satoh, MD, PhD
Dept. of Neurology
Nagasaki Kita Hospital, Japan

Y. Matsuda, MD, PhD
Dept. of Neuropsychiatry
Graduate School of Medicine
Yamaguchi University, Japan

M. Hidaka, MD, PhD
Yokohama Miyazaki Hospital of
Neurosurgery, Japan

H. Takahashi, MD, PhD
Dept. of Neurology
Matsudo Municipal Hospital, Japan

Y. Sano, MD, PhD
Dept. of Neurology
Graduate School of Medicine
Yamaguchi University, Japan

K. Kim, MD, PhD
Dept. of Neurology
Shizuoka General Hospital, Japan

T. Konishi, MD, PhD
Dept. of Neurology
Shizuoka National Medical Center, Japan

K. Doh-ura, MD, PhD
Division of Prion Protein Biology
Graduate School of Medicine
Tohoku University, Japan

T. Sato, MD, PhD*
National Center for Neurology and
Psychiatry
Kohnodai Hospital, Japan

K. Sasaki, MD, PhD
Dept. of Neuropathology
Neurological Institute
Graduate School of Medical Sciences
Kyushu University, Japan

Y. Nakamura, MD, PhD*
Dept. of Public Health
Jichi Medical School, Japan

M. Yamada, MD, PhD*
Depts. of Neurology and Neurobiology of
Aging
Graduate School of Medical Science
Kanazawa University, Japan

H. Mizusawa, MD, PhD*
Dept. of Neurology and Neurological
Science
Graduate School
Tokyo Medical and Dental University, Japan

* The Creutzfeldt-Jakob Disease Surveil-
lance Committee, Japan.

Abstract *Objective* To describe the clinical features of Creutzfeldt-Jakob disease with a substitution of arginine for methionine (M232R substitution) at codon 232 (CJD232) of the prion protein gene (PRNP). *Patients and methods* We evaluated the clinical and laboratory features of 20 CJD232 patients: age of onset, initial symptoms, duration until becoming akinetic and mute, duration until occurrence of periodic sharp and wave complexes on EEG (PSWC), MRI findings, and the presence of CSF 14-3-3 protein. Immunohistochemically, prion protein (PrP) deposition was studied. *Results* None of the patients had a family history of CJD. We recognized two clinical phenotypes: a

rapidly progressive type (rapid-type) and a slowly progressive type (slow-type). Out of 20 patients, 15 became akinetic and mute, demonstrated myoclonus, and showed PSWC within a mean duration of 3.1, 2.4, and 2.8 months, respectively (rapid-type). Five showed slowly progressive clinical courses (slow-type). Five became akinetic and mute and four demonstrated myoclonus within a mean duration of 20.6 and 15.3 months, respectively, which were significantly longer than those in the rapid-type. Only one demonstrated PSWC 13 months after the onset. Diffuse synaptic-type deposition was demonstrated in four rapid-type patients, and perivacuolar and

diffuse synaptic-type deposition in two, and diffuse synaptic-type deposition in one slow-type patient. Three of 50 suspected but non-CJD patients had the M232R substitution. *Conclusions* Patients with CJD232 had no family history like patients with sCJD, and showed two different clinical phenotypes in spite of having the same PRNP genotype. More studies are needed to determine whether M232R substitution causes the disease and influences the disease progression.

Key words Creutzfeldt-Jakob disease · M232R · clinical phenotype · uncommon variant · diffusion-weighted MRI

Introduction

Human prion diseases are divided into three types: sporadic, genetic, and infectious prion disease. Genetic prion disease, which is defined as prion disease with causative abnormalities of the prion protein gene (PRNP), accounts for approximately 10 to 15% of all prion disease cases, and includes genetic Creutzfeldt-Jakob disease (gCJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS), and fatal familial insomnia (FFI) [1]. In general, the clinical features of gCJD are more various compared with those of sporadic CJD (sCJD) and are regulated by the genotype [2]. Therefore, gCJD, even if its clinical features are quite different from those of sCJD, especially those of the most often encountered type of sCJD with methionine homozygosity at codon 129 of PRNP and type 1 protease-resistant prion protein (MM1) [3], can be diagnosed by examining the genotype. To clarify the clinical features of CJD, which associates with a substitution in PRNP, will provide an important clue that can lead to genetic examination.

To date, more than 30 causative mutations have been recognized and individual PRNP mutations show variable geographical distribution and frequency. The cardinal characteristic of gCJD is that more than half of the patients lack family history.

CJD patients associated with a substitution of arginine for methionine at codon 232 (M232R substitution) in PRNP with no relevant family history have been reported in Japan [4–10]. Previously, the clinical features of CJD with the M232R substitution (CJD232) were thought to be similar to those of typical sCJD with MM1 [3], which accounts for the vast majority of sCJD in

terms of clinical features, including EEG findings [5, 6, 9]. However, cases of CJD232 that showed a longer clinical course and lacked the characteristic periodic sharp and wave complexes (PSWC) have been reported [7, 8]. We have experienced eight cases of CJD232. Five of them showed a rapid clinical course and typical CJD features, while the others showed very slow progression and atypical features. We studied the clinical features of 20 CJD232 patients, including our original patients, and found that there were two different major clinical phenotypes with the same genotype, including polymorphisms at codons 129 and 219 of PRNP; one progressed rapidly, and the other progressed slowly. Better understanding of the clinical features of CJD232 would contribute to the diagnosis of CJD232, especially in patients with atypical clinical features.

Patients and methods

Twenty-four patients with CJD232 were included in this study: eight were our original cases, seven were obtained by reviewing the literature [5–10] and nine were found by reviewing the clinical records of CJD patients reported to the Creutzfeldt-Jakob disease Surveillance Committee, Japan. We excluded two patients because they had double point mutations at codon 180 and at codon 232 [10] and one patient because her polymorphism at codons 129 and 219 of PRNP was uncertain [5]. Therefore, 21 patients were enrolled in this study. The nine who were proven at autopsy are indicated by asterisks in Fig. 1.

We first evaluated the duration from onset until the patients manifested akinetic mutism. As shown in Fig. 1, 15 became akinetic and mute within six months, while five did not become so until 15 months after the onset. These CJD232 patients appeared to be comprised of two different groups: one was a rapidly progressive type (rapid-type) and the other was a slowly progressive type (slow-type). We evaluated the age of onset, initial symptoms, duration from onset to the appearance of myoclonus, duration from onset to akinetic mutism, du-

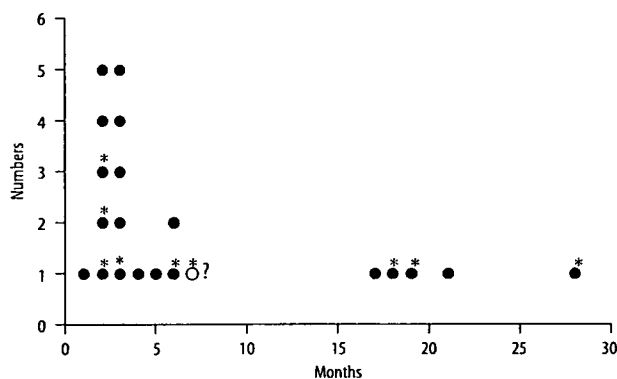


Fig. 1 The duration from the onset to akinetic mutism. The X-axis shows the duration (months) and the Y-axis shows the accumulative number of patients. Black circles indicate patients who became akinetic and mute; the white circle indicates a patient who had not become akinetic and mute. The white circle with a question mark indicates a 50-year-old-male patient who suddenly died seven months after the onset because of a myocardial incident. Since he had not become akinetic and mute, and was able to converse with simple words, we excluded him from further analyses. Asterisks indicate autopsy proven patients. We recognize two different groups concerning the duration from the onset to akinetic mutism: a rapidly progressive type and a slowly progressive type

ration from onset to occurrence of PSWC, results of MRI, and the presence of 14-3-3 protein in the CSF of the two types. The patient marked by a question mark in Fig. 1 was excluded from the evaluation. We were unable to determine which group this 50-year-old man belonged to because he had not become akinetic and mute and was still able to converse with simple words seven months after the onset when he suddenly died due to a myocardial incident [8]. Thus, the clinical data of 20 patients were finally used for this study.

In one of the rapid-type patients and in three of the slow-type patients including a previously reported 64-year-old woman [7], immunohistochemical staining of PrP using monoclonal antibody 3F4 (Prionics, Schlieren, Switzerland) was performed. Including the previously reported pathological findings of three patients belonging to the rapid-type [6], immunohistochemical staining of PrP in both groups were studied. In each group, the molecular type of the abnormal isoform of prion protein (PrP^{Sc}) was studied.

The Mann-Whitney U test was used for statistical comparison of the age of onset and the duration until the appearance of myoclonus and akinetic mutism from the onset between the rapid-type and the slow-type. The Grubbs-Smirnov critical test was used for statistical analysis of the duration until the appearance of PSWC from the onset between the rapid-type and the slow-type. Fisher's exact probability test was used for comparison of the male to female ratio, and the rates of myoclonus, akinetic mutism, and PSWC between the two types. It was also used for comparison of the positive rate of 14-3-3 immunoassay and MRI between the two types.

Results

Reviewing the clinical records of the enrolled patients, we found that no patients of either group had a family history of prion disease or dementia.

Fifteen patients, eight men and seven women, with a mean onset age of 65.4 ± 5.2 (Mean \pm SD) years could be categorized as the rapid-type. Of those, seven with an initial symptom of progressive dementia or memory

disturbance, two with visual symptoms, two with cerebellar ataxia, two with involuntary movement, and two with other symptoms. All except for one uncertain patient demonstrated myoclonus 2.4 ± 1.8 months after the onset. All became akinetic and mute within a mean duration of 3.1 ± 1.5 months, and demonstrated PSWC (Fig. 2A and B) within a mean duration of 2.8 ± 1.8 months. CJD-related high intensity lesions [11] were detected in eight of the nine patients examined by MRI. Similar to sCJD, three patterns existed: in one, high intensity lesions appeared mainly in the striatum (Fig. 3A); in another, they appeared in the striatum and the cortical ribbon equally (Fig. 3B); and in yet another, they appeared mainly in the cortical ribbon (Fig. 3C). The 14-3-3 protein assay was positive in all eight patients examined. All 15 patients showed MM129, 14 showed glutamic acid homozygosity at codon 219 (GG219) and one showed glutamic acid/lysine heterozygosity at codon 219 in the PRNP analysis. These clinical features closely resembled typical sCJD with MM1 [3]. Immunohistochemical staining of PrP in four patients (one original patient and three previously reported patients [6]) revealed a diffuse synaptic-type deposit (Fig. 4A). The molecular type of PrP^{Sc} in one patient was type 1.

Five patients, two men and three women, with a mean onset age of 59.0 ± 12.8 years could be categorized as the slow-type. Three had an initial symptom of progressive dementia or memory disturbance, one showed psychiatric symptoms, and one had dressing apraxia. Four of five patients demonstrated myoclonus 15.3 ± 12.3 months after the onset, and the remaining one did not demonstrate myoclonus during the 13-month observation period. All became akinetic and mute within a mean duration of 20.6 ± 4.4 months. Only one demonstrated PSWC within the observation period of 23.8 ± 13.7 months (Fig. 2C and 2D). CJD-related high-intensity lesions were detected in four of the five patients examined by MRI [11]. One showed high-intensity lesions in the cortical ribbon (Fig. 3D and 3E), while in the others such lesions appeared in both the striatum and cortical ribbon (Fig. 3F). The medial thalami showed high-intensity lesions in all three patients examined by DWI (white arrows in Fig. 3D and E, and black arrows in Fig. 3F). The 14-3-3 protein assay was positive in all four patients examined. In the PRNP analysis, all five patients showed MM129 and GG219. Immunohistochemical staining in two patients revealed predominantly perivacuolar-type PrP deposits in the cerebral cortex (Fig. 4B), but also partly the diffuse synaptic-type deposits. In one patient, only the diffuse synaptic-type deposits were revealed. The molecular type of PrP^{Sc} in one patient who had predominantly perivacuolar-type PrP deposits was type 1 + 2.

Between the two groups, there were no differences in the age at onset, male to female ratio, or positive rate of

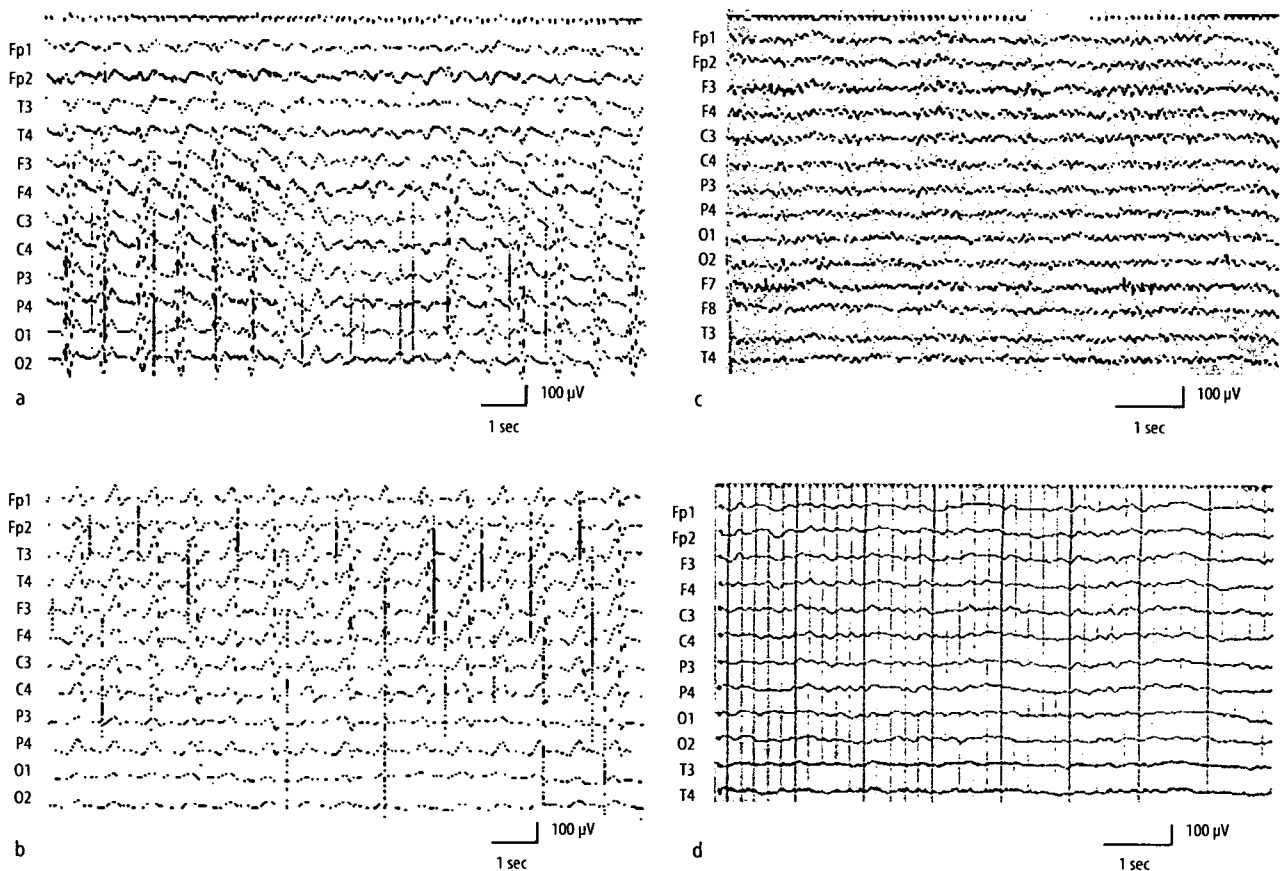


Fig. 2 EEG of representative patients of the rapid-type group and the slow-type group. **A** and **B** were recorded from the same 55-year-old woman in the rapid-type group. **C** and **D** were recorded from the same 69-year-old woman in the slow-type group. **A** EEG obtained two and half months after onset demonstrated high amplitude periodic sharp and wave complexes (PSWC) at a frequency of 1.5 Hz characteristic of CJD. **B** EEG obtained five months after the onset demonstrated PSWC at a frequency of 1 Hz. The amplitude was lower than that of Fig. 1A, and the background activities were flattened. EEG rapidly deteriorated. **C** EEG obtained four months after the onset. The background activities were 8 Hz mixed with no apparent slow activities. PSWC was not demonstrated. **D** EEG obtained twelve months after the onset. The background activities were 5 Hz mixed with δ activities. However, PSWC was not yet demonstrated

14-3-3 protein immunoassay. Similar to sCJD, there were three patterns of high-intensity lesions shown by MRI in the rapid-type. We were unable to distinguish the rapid-type of CJD232 from sCJD based on the clinical features including MRI findings. Patients with the slow-type did not have fewer lesions than patients with the rapid-type at diagnosis. High-intensity lesions in the medial thalamus depicted by DWI were a common finding of the slow-type (Fig. 3A–F). There was no difference in the rate of myoclonus between the two groups, but the duration until the appearance from the onset was longer in the slow-type compared with the rapid-type ($p < 0.005$). All patients became akinetic and mute in both types, but the duration until becoming akinetic and mute from the onset in the slow-type was longer than that in the rapid-type ($p < 0.001$). Concerning PSWC, all patients in the rapid-type demonstrated PSWC 2.8 ± 1.8 months after the onset. However, in the observation period of 21.6 ± 12.8 months, only one patient with the slow-type

demonstrated PSWC 13 months after onset, which was later compared with that of the rapid-type ($p < 0.01$). The rate of PSWC in the slow-type was lower than that in the rapid-type ($p < 0.01$). Since there were no differences in the polymorphisms of codons 129 and 219 between the two groups, such polymorphisms would not be determinants of the disease subtype. Based on the differences in the clinical and laboratory findings (Table 1), we considered that these two types represented completely different phenotypes of exactly the same genotype.

By reviewing the investigative reports collected by the Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Committee, Japan, as of February 2006, PRNP information was available from 511 patients: 317 were acknowledged as sporadic CJD, 41 as infectious CJD, 103 as genetic prion disease that included 28 CJD with V180I (CJD180), 27 GSS with P102L, 23 CJD with E200K, and 13 CJD232, and 50 as non-CJD. Three of the 50 non-CJD patients who had

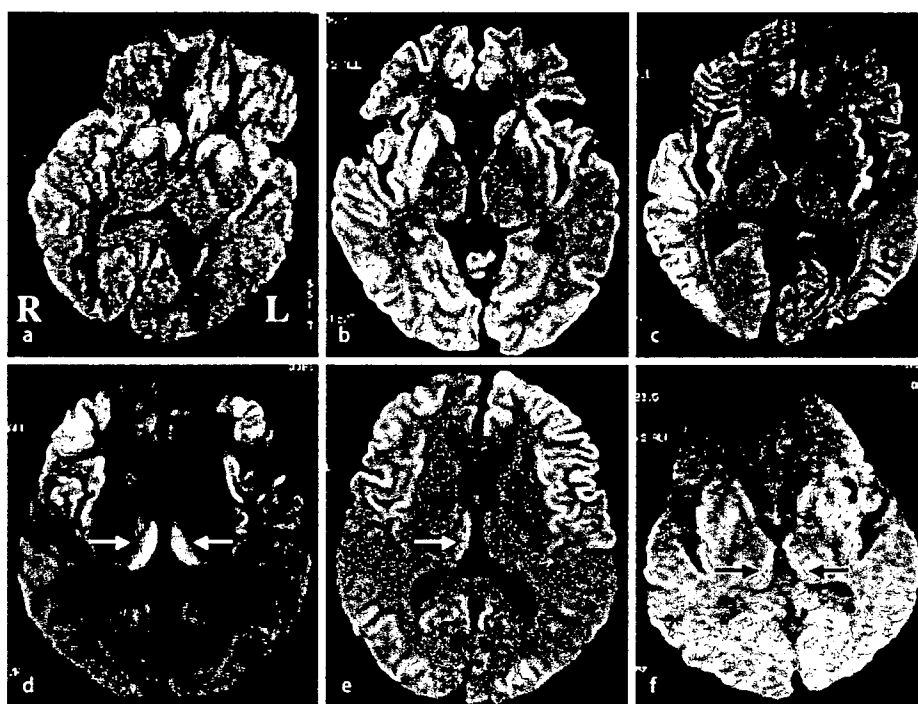


Fig. 3 DWI of the rapid-type group (A–C) and the slow-type group (D–F). **A** DWI obtained from a 55-year-old woman demonstrating high-intensity lesions mainly in the bilateral striatum. The right temporal cortex demonstrated slightly high-intensity lesions. **B** DWI obtained from a 60-year-old woman demonstrating high intensity lesions in the frontal, temporal, occipital and insular cortex, and the striatum. The right side predominated. **C** DWI obtained from a 62-year-old woman demonstrating high-intensity lesions in the bilateral occipital and insular cortex. The right temporal cortex was also depicted as an area of high intensity. We did not find high-intensity lesions in the striatum. **D** DWI obtained from a 69-year-old woman demonstrating high-intensity lesions in the bilateral frontal and insular cortex. The bilateral caudate head showed slightly high-intensity lesions. Interestingly, the bilateral medial thalami showed high-intensity lesions with the so-called hockey stick sign (white arrows). **E** DWI obtained from a 70-year-old man demonstrating high-intensity lesions in the bilateral frontal, occipital, and insular cortex. The right medial thalamus also showed high intensity (white arrow). **F** DWI obtained from a 52-year-old man demonstrating high-intensity lesions in the right temporal cortex and the left striatum. The bilateral medial thalami also showed high intensity lesion (black arrows)

no family history of prion disease had the M232R substitution: one was previously reported, pathologically confirmed dementia with Lewy bodies [12], one was encephalitis, and one was not diagnosed yet, but was confirmed as not having CJD because his symptoms rather fluctuated. There remains the possibility that the M232R substitution is a rare polymorphism, not a causative point mutation [6], although the M232R substitution was not found among 100 healthy controls [4].

Discussion

In the present study, by reviewing the clinical and laboratory findings of 21 patients, we found that there were two distinct phenotypes in CJD232 in spite of the same genotype of PRNP, M232R, MM129, and GG219. Different phenotypes with the same pathogenic changes of PRNP are known in several types of genetic prion disease [14–21]. Fatal familial insomnia and gCJD with a common point mutation at codon 178 are well-known. However, the different phenotypes are regulated by a

polymorphism at codon 129 [14, 15]. Similarly, a phenotypic variant of gCJD with a point mutation of glutamic acid to lysine at codon 200 (CJD200) is coupled with valine at codon 129 [19]. On the other hand, a thalamic variant of CJD200, which has the same polymorphism of MM129 as the vast majority of CJD200, has been reported [17, 21], although it is exceptional. In our results, 15 of the patients were the rapid-type, five were the slow-type. In CJD232, the slow-type, which has uncommon clinical features, is not exceptional and constitutes one of the major phenotypes because 25% of patients with CJD232 belong to the slow-type. Similarly, there are two different major phenotypes that are not influenced by the polymorphism of codon 129 and 219 in Gerstmann-Sträussler-Scherinker disease with a point mutation of proline to leucine at codon 102 of PRNP (GSS102), which is characterized by chronic cerebellar ataxia of long duration (several years or more) associated with neurological signs including dementia [21]. In GSS102, a sCJD-like variant of short duration (less than one year) has been reported [16]. In 27 patients with GSS102 recognized by the Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance

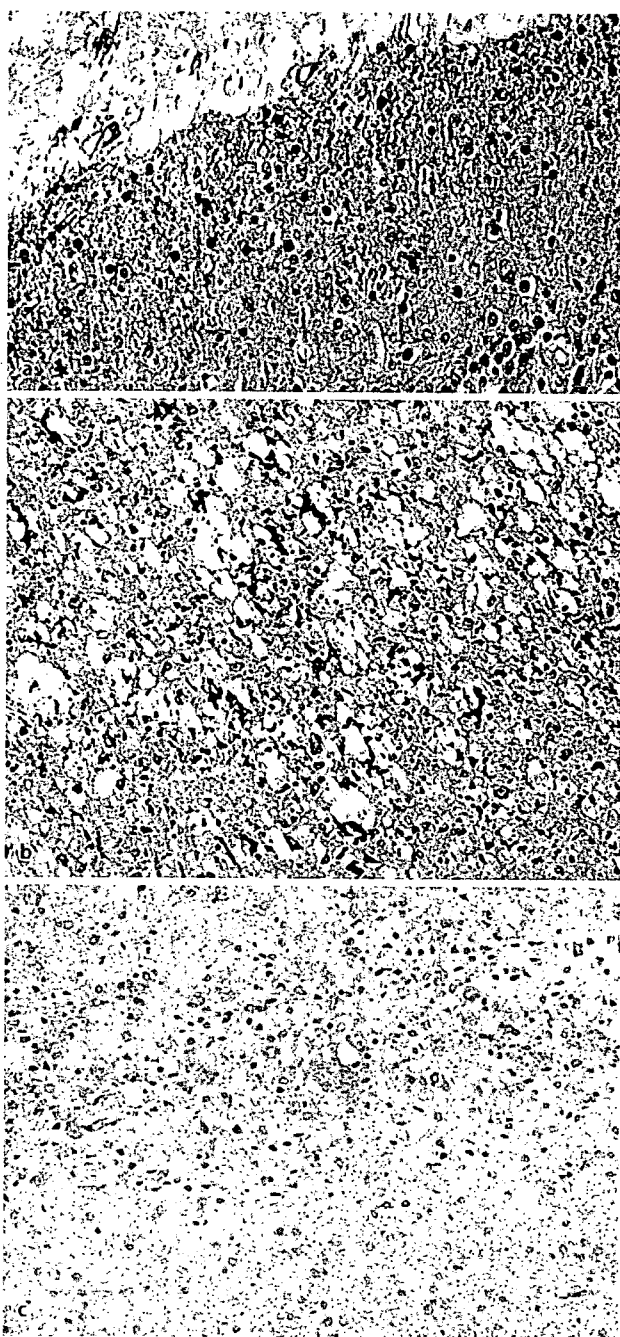


Fig. 4 Immunohistochemical staining of abnormal PrP using monoclonal antibody 3F4. **A** Anti-PrP immunostaining in a 67-year-old woman suffering from the rapid-type of CJD232 with an initial symptom of cerebellar ataxia. The molecular layer of the cerebellum shows a diffuse synaptic-type PrP deposit. Photographed at 200 times magnification. **B** Anti-PrP immunostaining in a 64-year-old woman suffering from the slow-type of CJD 232 with an initial symptom of dressing apraxia. This patient was previously reported by Satoh et al. (1997). The perivacuolar-type PrP deposit is predominantly demonstrated in the temporal cerebral cortex. Photographed at 50 times magnification. **C** Anti-PrP immunostaining in the same patient with Fig. 4B. The synaptic-type PrP deposit is demonstrated in the occipital cerebral cortex. Photographed at 50 times magnification

Committee, Japan until February 2006, five (18.5%) were this sCJD-like variant. It should be emphasized that CJD232 has two major different phenotypes with the completely same genotype of PRNP that is undoubtedly a major factor which influences the clinical phenotype [2, 22–24].

The gender and age at onset influence the disease progression [25]. However, there were no significant differences in the male to female ratio and age at onset between the two types in our series of CJD232. The molecular type of PrP^{Sc} is another factor that is closely associated with the clinical and pathological phenotypes of sCJD [26]. Unfortunately, the molecular type of PrP^{Sc} has not been sufficiently examined. One previously reported patient [27] in the rapid-type group had type 1 and one patient in the slow-type group had type 1 + 2. This difference may be a determinant of the clinical phenotypes of CJD232. More studies are needed to determine the relationship between the clinical phenotype and the molecular type of PrP^{Sc}. Immunohistochemical staining of PrP from four patients with the rapid-type revealed a diffuse synaptic-type deposit similar to that found in sCJD with MM1 [28]. The synaptic-type PrP deposit may be an important pathological finding of the rapid-type. If so, we cannot differentiate the rapid-type of CJD232 from sCJD with MM1 based on the pathological findings. PrP immunohistochemical staining of three patients with the slow-type revealed that two had a perivacuolar-type and diffuse synaptic-type PrP deposits and one had only diffuse synaptic-type deposits. These pathological results suggest that the rapid-type might be a homogeneous group and the slow-type might not be. The number of studied patients in the two groups was too small to determine the pattern. If the PrP^{Sc} type 1 + 2 and the perivacuolar-type PrP deposits are key pathological features of the slow-type of CJD232, these may be related to the absence or late occurrence of myoclonus and PSWC on EEG, and the slower progression of the disease.

Diagnosing the rapid-type of CJD232 is not difficult because the patients start with progressing dementia, cerebellar ataxia, and visual problems, rapidly progress to akinetic mutism, demonstrate PSWC, are positive for 14-3-3 protein in the CSF immunoassay, and have characteristic MRI findings. These clinical features including the MRI findings are very similar to those of typical sCJD with MM1 [3] that accounts for the vast majority of sCJD. We can easily suspect CJD when we encounter such patients. Genetic examination of PRNP is necessary to differentiate the rapid-type of CJD232 from sCJD with MM1 [3] since a patient with CJD232 usually has no family history of prion disease or dementia, and differentiating CJD232 from sCJD with MM1 [3] is difficult when based on the clinical and laboratory features alone.

On the other hand, diagnosing the slow-type of

Table 1 Comparison of clinical and laboratory features between the rapid-type (R-type) and the slow-type (S-type) of CJD232

Clinical features	R-type (N = 15)	S-type (N = 5)	p
Age at onset (Year)	65.4 ± 5.2	59.0 ± 12.8	NS
Men: Women	8: 7	2: 3	NS
Family history	0/15 positive	0/5 positive	NS
Initial symptoms	7: progressive dementia 2: visual symptoms 2: cerebellar ataxia 2: involuntary movement 2: others	3: progressive dementia 1: psychiatric symptoms 1: dressing apraxia	
Myoclonus (Mo) ^a	2.4 ± 1.8	15.3 ± 12.3	< 0.005
Positive rate	14/14 ^b	4/5*	NS
Akinetic mutism (Mo) ^a	3.1 ± 1.5	20.6 ± 4.4	< 0.001
Positive rate	15/15	5/5	NS
14-3-3 protein	8/8 positive	4/4 positive	NS
PSWC (Mo) ^a	2.8 ± 1.8	13	< 0.01
Positive rate	15/15	1/5**	< 0.01
MRI	8/9 positive	4/5 positive	NS
Codon 129	15: Met/Met	5: Met/Met	
Codon 219	14: Glu/Glu 1: Glu/Lys	5: Glu/Glu	
Autopsied cases	5/15	3/5	
PrP immunostaining	Synaptic: 4	Synaptic + Perivacuolar: 2 Synaptic: 1	
PrP type	Type 1: 1	Type 1 + 2: 1	

Values are means ± SD where applicable

^a The duration until the appearance of myoclonus, akinetic mutism, and PSWC from the onset; ^b It was uncertain whether myoclonus had appeared or not in one patient

* Mean observation period was 14.8 ± 10.7 months; ** Mean observation period was 21.6 ± 12.8 months

R-type the rapid-type of CJD232; S-type the slow-type of CJD232; PSWC periodic sharp and wave complexes in EEG; PRNP prion protein gene; Met/Met methionine homozygosity; Glu/Glu glutamic acid homozygosity; Glu/Lys heterozygosity of glutamic acid and lysine; NS not significant

CJD232 is not easy because the patients initially manifest non-characteristic dementia or memory disturbance, or psychiatric symptoms as in other neurodegenerative disorders, progress relatively slowly, do not become akinetic and mute within a year, and do not demonstrate PSWC. When we diagnose the slow-type of CJD232, we cannot rely on PSWC, the presence of which is the most widely accepted diagnostic marker at the present time. In addition to the slow progression, the lack of a family history may cause this disease to be confused with other neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, corticobasal degeneration, frontotemporal dementia, etc., especially in the early phase. MRI, especially DWI [11], is very useful to distinguish the slow-type of CJD232 from other neurodegenerative disorders, because the slow-type of CJD232 demonstrates CJD-related high-intensity lesions in DWI, whereas the above-mentioned neurodegenerative disorders do not demonstrate abnormal changes in signal intensities. There has been a report of suspected CJD patients who had M232R and in whom a final pathological diagnosis of dementia with Lewy bodies demonstrated no signal changes in DWI [12]. In our

series of three patients with the slow-type examined by DWI, medial thalamic lesions were demonstrated. However, these lesions are not specific for the slow-type of CJD232, and we sometimes encounter them in sCJD [29]. The major differential diagnosis of the slow-type of CJD232 is sCJD with the MM2-cortical type [3], because the slow-type of CJD232 usually fulfills the previously advocated diagnostic criteria for sCJD with the MM2 cortical type [30]. It is hardly possible clinically to distinguish the slow-type of CJD232 from sCJD with the MM2 cortical type. However, the molecular type of PrP^{Sc} in one patient of the slow-type CJD232 was type 1 + 2, not type 2. The molecular types of PrP^{Sc} in each group may be different, although the presence of perivacuolar-type PrP deposits is also a finding of sCJD with the MM2-cortical type [3]. PRNP study is indispensable to distinguish between the two groups and molecular typing may be able to distinguish between them. We did not find any peculiar lesions of the slow-type such as a remarkable high intensity lesion in the cerebral cortex except for those in the medial occipital and cerebellar cortices which are characteristic of fCJD with a point mutation of valine to isoleucine at codon 180 (CJD180),