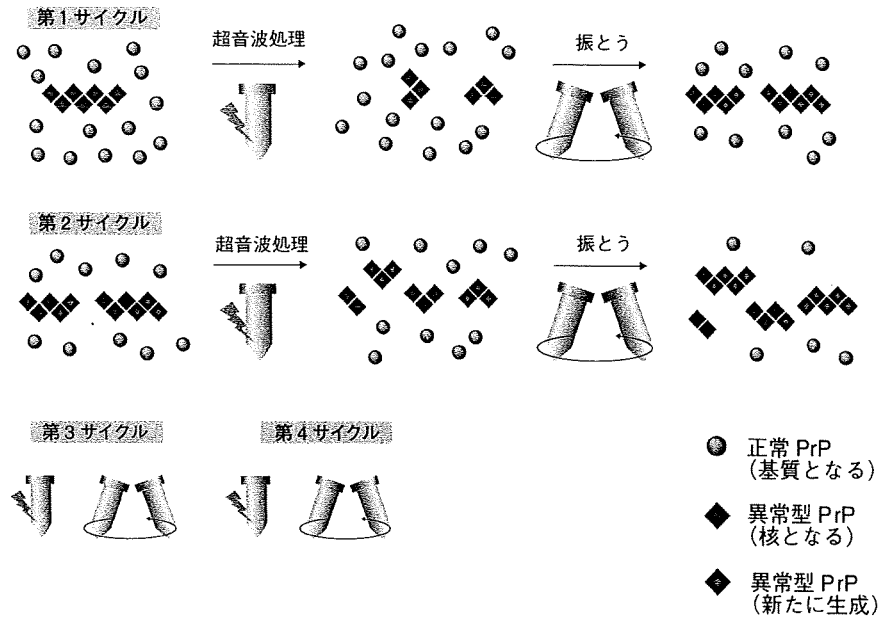


図5 PMCA法による異常型PrP増幅の概念図

異常型PrP（感染因子）と正常型PrP（基質）を試験管内で混合し、正常型PrPの異常型への変換を促進することによって異常型PrPの量が増幅する。試験管内で反応をおこなうため、実験条件を変化させることが可能であり、正常型PrPを基質とする重合反応系とみなすことができる。PMCA法では、「核依存性増殖モデル」における「重合体の断片化（重合核の増加）」を超音波処理によって、「伸長反応」を攪拌（振とう）によって促進する。一方、プロテアーゼ阻害剤を添加することが可能であるため、核依存性増殖モデルにおける「分解反応」は抑えることが可能である。「新規のPrPの合成」については、PMCA法では存在しないため、基質として添加した正常型PrPの異常化を検出する反応系になっている。



実施し、11症例について分析した。その結果、有効性は発症年齢や臨床経過に、安全性は脳萎縮の程度に関連していることが示唆されている。生存している4名については延命効果が確認されているが、さらに症例数を重ねた検討が必要である。副作用としては、硬膜下水腫が多数例でみられている。

中枢神経作用性鎮痛剤であるフルピリチン（図6d）では認知機能低下の抑制が認められたものの、CJDの進行自体の抑制は認められなかった⁽¹²⁾。イタリアとドイツでは抗生物質であるドキシサイクリン（図6e）を用いた治療試験が実施されているものの、最終的な結果はまだ出ていない。

(2) アミロイド親和性化合物の有用性

プリオン病の病理として脳内に蓄積する異常型PrPは、生化学的性質とし

てアミロイド^{*6}の側面をもっており、アミロイド形成の抑制は治療法の一つと考えられる。

われわれは多くのアミロイド親和性化合物のスクリーニングをおこなってきた⁽¹³⁾が、そのなかでCompB（図6f）はプリオン持続感染細胞において正常型PrPの発現に影響せずに、異常型PrPの産生を阻害し、感染因子の蓄積を抑制した。プリオン感染マウスでは経口投与で著明にプリオン病の発症を遅らせ、治療効果を発揮した⁽¹⁴⁾。CompBは脳移行に優れていたが^{*5}、その反面、脳からの離脱も迅速であった。これらの結果から、アミロイド親和性化合物は治療薬候補として期待できるものの、よりいっそう優れた治療効果を発揮するためには、長時間にわたり脳内で一定以上の濃度を保つことが必

要であると考えられる。徐放的に作用させるような投与方策が開発できれば、治療効果が上がることが期待できる。

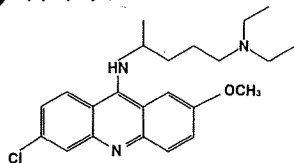
さて、アミロイド親和性化合物はプリオン病の診断に応用できる可能性もある。異常型PrPで形成される脳内のアミロイドを検出するための画像診断用プローブとして、アミロイド親和性化合物を利用する試みがおこなわれている。早期診断により治療をできるだけ早期に開始するためにも、また病勢診断として治療効果を評価するためにも、こちらの試みに期待が集まっている。Okamuraらは[11C]-BF227（図6g）という化合物を用いたポジトロン断層撮影（PET）試験をプリオン病患者で実施しており、疾患特異的ではないものの、アミロイド沈着を感度よく非侵襲的に検出することに成功している。

*6 アミロイド
タンパク質の不溶性集積体。不溶性であるため沈着がおこる。集積はある程度規則的であり、集積の結果、線維状の形態をとることが多い。プリオン病では、プリオンタンパク質の脳への沈着がみられる。沈着する原因タンパク質や蓄積する臓器はさまざまであり、アミロイドに起因する疾患はアミロイドーシスと総称される。また、コンゴレッドのような色素はアミロイドに高い親和性をもっている。

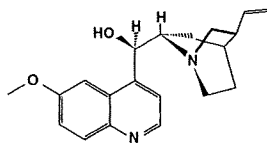
図6 プリオン病治療予防薬の候補化合物

以下に、本稿で紹介した化合物の構造を示す。

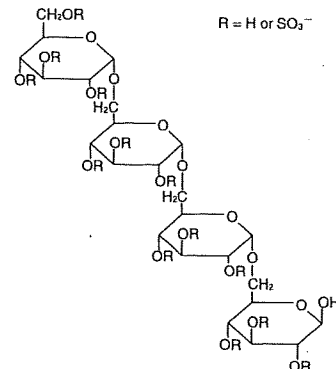
a キナクリン



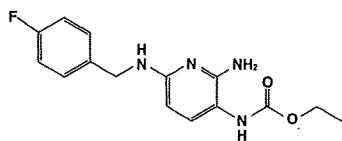
b キニーネ



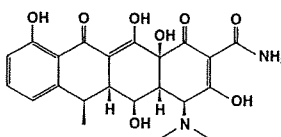
c ペントサンポリサルフェート (PPS)



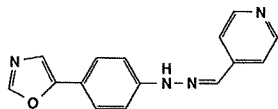
d フルピリチン



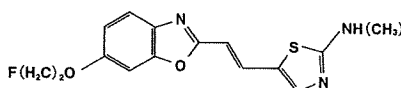
e ドキシサイクリン



f CompB



g BF227



(3) 薬剤によらない治療戦略

さらに、薬剤以外の治療戦略に関する実験的報告について少し触れたい。

ヘテロ遺伝子型PrPの正常多型による異常型PrP産生抑制でも明らかになったように、PrPはそのものが治療の標的である。レンチウイルスやアデノウイルスを基とする遺伝子導入ベクターを利用したPrPに対する遺伝子治療が試みられている。戦略は、RNA干渉(RNA interference, RNAi)によるPrPの遺伝子ノックダウン⁽¹⁵⁾、ドミナントネガティブな配列を有するPrP⁽¹⁶⁾、二量体化した可溶性PrP⁽¹⁷⁾の発現などが採用されている。

またいくつかのグループでは、抗PrP抗体の導入によるプリオンの複製抑制を試みている。Antonyukaらは、抗体の結合能とプリオン持続感染細胞の異常型PrPの産生抑制効果との間に正の相関関係を見だしている⁽¹⁸⁾。

いずれの報告においても劇的ではないが、有意な発症遅延効果が得られている。PrPを標的とした遺伝子治療が有効であることは、神経変性がPrPの作用で引き起こされることを示唆する点で重要である。

その一方で、神経変性の再生を目的とする治療戦略において、Songらは不死亡した間葉系幹細胞*7をプリオン感

染マウスに移植することにより、感染後期においても治療効果があげられることを明らかにしている⁽¹⁹⁾。抗PrP抗体と間葉系幹細胞は、脳内投与においても末梢投与においても効果が得られていることは特筆すべき点である。

(4) 新たな治療ターゲットの探索

薬剤とその投与方法も含め、これら多様なアプローチによる複数のターゲットに対する治療開発により、プリオン病の克服が現実味を帯びてくるものと考えられる。とくに、プリオンの複製と神経細胞死を結びつけるメカニズムはまだ不明なところが多く、新たな治療のアプローチをもたらす新たなターゲットが

FOOTNOTE

*7 間葉系幹細胞
間葉系(中胚葉性の骨・軟骨・筋・脂肪など)に分化可能な体性幹細胞。
最近では、外胚葉由来の神経細胞や内胚葉由来の肝臓などへの分化可塑性も報告されている。

多数眠っている可能性がある。

先に紹介したPMCAでは、感染因子を含まず基質PrPだけを含む系においても異常型PrPが検出されることがありうる事が報告されている。PMCAは非常に高感度であるために試料等の汚染による擬陽性の可能性も指摘されているが、異常型PrPが自然発生的に形成されうるというアイデアを再認識する一つのきっかけとなっている。すなわち、異常型PrPの蓄積や発症の決定要因の少なくとも一つはプリオンの生成と分解の速度論的バランスであり、発症は不可逆的な生成過剰状態であるということである。このような分解は、分子レベルでは図4の分解過程に対応すると考えられる。

また、家族性プリオン病に関する研究から、一卵性双生児であっても発症時期が大きく異なること、同一の遺伝子変異であっても発症時期やその臨床像が多様であることが明らかになっている⁽²⁰⁾。これらの例は個体レベルにおいて防御機構が存在する可能性を示唆するものである。

このような分解・解毒過程を惹起する治療戦略はこれまでのアプローチと独立したものであり、その分子メカニズムならびに個体内で発症を左右する要因の解明は取り組むべき課題である。

おわりに

プリオン病は、遺伝病と感染症という側面を併せもっている。また、プリオンタンパク質自体は宿主が内在的に発現している。これらの特殊性から、診断・検出・治療に対して多様なアプローチが

要請されていると同時に、関連する数多くの課題と謎が残されている。

Profile

てるや・けんた

東北大学大学院医学系研究科助教。

1997年、大阪大学理学部化学科卒業。2002年、大阪大学大学院理学研究科博士後期課程修了。博士(理学)。2002年、大阪大学蛋白質研究所研究員。同年7月よりアメリカ国立衛生研究所、NCI、訪問研究員。2003年10月より現職。プリオンタンパク質主鎖の化学に興味をもって研究している。

どうら・かつみ

東北大学大学院医学系研究科教授。

1985年、三重大学医学部卒業。1991年、九州大学大学院博士課程修了。医学博士。1991～1993年、学術振興会特別研究員(PD)。1993年、アメリカ国立衛生研究所、NIAID、訪問研究員。1994年、三重大学医学部助手。1996年、九州大学医学部助手・講師・助教授を経て2003年7月より現職。プリオン病を克服するための研究をライフワークとしている。

参考文献

- [1] 厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班:平成20年度報告書
- [2] Kong Q et al: "Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain" J Virol 82(2008) 3697-3701
- [3] Belay E D et al: "Chronic wasting disease and potential transmission to humans" Emerg Infect Dis 10(2004) 977-984
- [4] Lefrère J J et al: "From mad cows to sensible blood transfusion: the risk of prion transmission by labile blood components in the United Kingdom and in France" Transfusion 49(2009) 797-812
- [5] Parchi P et al: "Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrP (Sc) types: an updated classification" Acta Neuropathol (2009) Aug 29
- [6] Hizume M et al: "Human PrP 219K is converted to PrPSc but shows heterozygous inhibition in vCJD infection" J Biol Chem 284(2009) 3603-3609
- [7] Wille H et al: "Structural studies of the scrapie prion protein by electron crystallography" Proc Natl Acad Sci USA 99(2002) 3563-3568
- [8] Masel J et al: "Quantifying the kinetic parameters of prion replication" Biophys Chem 77 (1999) 139-152
- [9] Prusiner S B (Ed): "Prion Biology and Diseases. Second edition" Cold Spring Harbor Laboratory Press (2004)
- [10] Saborio G P et al: "Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding" Nature 411(2001) 810-813
- [11] Rainov N G: "Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies: is there a role for pentosan polysulfate?" Expert Opin Biol Ther 7(2007) 713-726
- [12] Otto M et al: "Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study" Neurology 62(2004) 714-718
- [13] Teruya K et al: "Amyloidophilic compounds for prion diseases" Infect Disord Drug Targets 9 (2009) 15-22
- [14] Kawasaki Y et al: "Orally administered amyloidophilic compound is effective in prolonging the incubation periods of animals cerebrally infected with prion diseases in a prion strain-dependent manner" J Virol 81(2007) 12889-12898
- [15] White M D et al: "Single treatment with RNAi against prion protein rescues early neuronal dysfunction and prolongs survival in mice with prion disease" Proc Natl Acad Sci USA 105(2008) 10238-10243
- [16] Toupet K et al: "Effective gene therapy in a mouse model of prion diseases" PLoS ONE 3 (2008) e2773
- [17] Genoud N et al: "Antiprion Prophylaxis by Gene Transfer of a Soluble Prion Antagonist" Am J Pathol 172(2008) 1287-1296
- [18] Antonyuka S V et al: "Crystal structure of human prion protein bound to a therapeutic antibody" Proc Natl Acad Sci USA 106(2009) 2554-2558
- [19] Song C H et al: "Effect of transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on mice infected with prions" J Virol 83(2009) 5918-5927
- [20] Hamasaki S et al: "Discordant Gerstmann-Straussler-Scheinker disease in monozygotic twins" Lancet 352(1998) 1358-1359

