

表1 悪性症候群の診断基準(1998年5月 国立療養所宇多野病院)

- ①幻覚、妄想状態の薬物による急激な修正
- 例1: 統合失調症では、haloperidolの注射の大量投与
- 例2: Parkinson病では進行期例で投与中の抗Parkinson薬の投与
- ②非感染性高熱(38℃以上)が12時間以上持続
- ③高度の筋固縮、無動、激しい振戦などのパーキンソン病の出現または増悪
- ④意識障害
- ⑤自律神経障害(頻脈、血圧の異常変動、呼吸頻拍、発汗多量、皮膚蒼白など)
- ⑥血清CK高値(または血清ミオグロブリン高値): 基準値の数倍以上

判定は①-③が揃えば悪性症候群を疑い、さらに④、⑤の両方、または⑥が揃えば確定。

者に悪性症候群が発現する場合は副作用として幻覚性精神症状が発症している患者に多いことは、ドパミン系とセロトニン系の不均衡が関与している可能性を示唆するのかも知れない。

抗PD薬による悪性症候群の診断

PDまたはパーキンソン症を呈する神経変性疾患(Lewy小体型認知症、線条体黒質変性症)に用いられるL-dopa製剤、ドパミンアゴニスト、塩酸アママンタジン、抗コリン薬、MAO-B阻害薬、COMT阻害薬などの抗PD薬によって継続的に治療されていたHoehn & Yahr 3~4度中等症以上の進行期患者では、これら薬剤の突然の投与中止や感冒などなみからの誘因によって全身状態が悪化した際に発症することがある。

診断基準は表1に示すように、①大量のPD薬を服用し幻覚、妄状態が存在する。②この状態を矯正するためにドパミン受容体遮断薬の大量投与やPD薬の中断がある。③宿主側の要因として患者はPD症候群では、多系統萎縮症やLewy小体型認知症では早期例にも起こり得るが、PDでは進行期例にしか発症しない。④激しいジスキネジアなどの運動合併症を伴う患者では、脳内のドパミン受容体が異常な機能的亢進と機能的低下状態が反復することになり、意図的な断薬に類似の状況がもたらされる。

抗PD薬服用中の患者が食欲不振、発熱をきたし、気管支炎、胃腸炎、膀胱炎などの感染性疾患が除外できた場合、血中CK値、血中ミオグロビン値を測定し、正常値の数倍以上に増加しているかを調べる。白血球数やCRPも増加していることが少なくない。

外的ものはないため、薬剤性を省いて記載した。著者は、神経内科医として1970年頃からParkinson病(PD)患者の診療に携わってきたが、当時はL-dopaが日本に導入された頃で、画期的な抗PD効果に患者がわれわれ医師も有頂天になっていた。しかしながら、投与開始後数年すると日内変動、ジスキネジア、幻覚性精神症状をきたす患者が現れ、さらに1980年頃には強い被害妄想のために拒薬し、その後、高熱、発汗、パーキンソン症候群の増悪による無動、意識障害からショック状態に陥った患者を経験した。当初は、この状態が悪性症候群であるとの認識はなかったが、後になって類似の症例を経験した結果、抗PD薬など中枢神経薬は急激に投与量を変え、その一方で、少量から始める患者の反応をみながら徐々に増量し、減量する場合も少しずつを基本にするには悪性症候群の発症は回避できることが明らかとなり、早期に本症の予兆を見つけて適切な処置を行えば発症を抑制することが可能となった。発症機序には諸説あるが、中枢ドパミン受容体機能破壊が中枢をなしているため、患者や家族に急激な中止が危険であるとあらかじめ注意しておくことが重要と思われる。

文 献

- 1) Delay J, Deniker P. Drug-induced extrapyramidal syndromes. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editors. *Handbook of clinical neurology*. Vol 6. Amsterdam :

* * *

* * *

- North-Holland; 1968. p. 248-66.
- 2) Bertorini TE. Myoglobinuria, malignant hyperthermia, neuroleptic malignant syndrome and serotonin syndrome. *Neurol Clin* 1997; 15: 649-71.
- 3) 山脇成人, 矢野栄一. わが国における悪性症候群の実態について—厚生省悪性症候群研究調査結果から— . *臨床精神医学* 1989; 18: 107-21.
- 4) Toru M, Masada O, Makiguchi K, et al. Neuroleptic malignant syndrome-like state following a withdrawal of antiparkinsonian drugs. *J Nerv Ment Dis* 1981; 169: 324-7.
- 5) 藤竹淳子, 久野貞子, 西谷 裕, ほか. 「悪性症候群」様状態を呈したパーキンソン症候群8例の検討. *臨床神経* 1984; 24: 371-8.
- 6) 久野貞子. 抗パーキンソン薬中止による悪性症候群. *臨床精神医学* 1989; 18: 479-87.
- 7) Mizuta E, Kuno S. Neuroleptic malignant syndrome in a parkinsonian woman during the premenstrual period. *Neurology* 1983; 43: 1048-9.
- 8) Mizuno Y, Takubo H, Mizuta E, et al. Malignant syndrome in Parkinson's disease: concept and review of the literature. *Parkinsonism Relat Disord* 2003; 9: S2-9.
- 9) Ikebe S, Harada T, Hashimoto T, et al. Prevention and treatment of malignant syndrome in Parkinson's disease: A consensus statement of the malignant syndrome research group. *Parkinsonism Relat Disord* 2003; 9: S47-9.



The effect of dopamine agonists: The expression of GDNF, NGF, and BDNF in cultured mouse astrocytes

Kiyoe Ohta^{a,*}, Sadako Kuno^b, Seiji Inoue^c, Erika Ikeda^d, Aya Fujinami^d, Mitsuhiro Ohta^{a,d}

^a Clinical Research Center, National Hospital Organization, Utsunomiya National Hospital, Kyoto 616-8255, Japan

^b National Center Hospital of Neurology and Psychiatry, Kodaira City, Tokyo 187-8551, Japan

^c Department of Biochemistry, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Takatsuki, Osaka 599-1094, Japan

^d Department of Medical Biochemistry, Kobe Pharmaceutical University, Kobe 658-8538, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 12 September 2008
Received in revised form 10 January 2010
Accepted 14 January 2010
Available online 2 February 2010

Keywords:
Parkinson's disease
Dopamine agonist
Ropinirole
Neurotrophic factor
NGF
BDNF
GDNF

ABSTRACT
In Parkinson's disease, cell death is selectively induced in mesencephalic nigral dopaminergic neurons. At present, no disease modifying therapy exists for this disease. Some dopamine agonists may have neuroprotective effects in cultured cells and animal models. In the present study, we investigated the neuroprotective effects of a non-ergoline D₂ dopamine agonist, ropinirole, on synthesis/secretion of neurotrophic factors, including NGF, BDNF, and GDNF, in cultured mouse astrocytes. These effects were compared with those of ergoline dopamine agonists, SKF-38393, a D₁ agonist, bromocriptine, D₂ agonist, and amorphine, D₂/D₁ agonist, ropinirole. Ropinirole elevated GDNF levels to 4.5-fold, and NGF levels to 6.3-fold, compared with the control group. The dopamine agonist examined, ropinirole produced and secreted more GDNF than a 1.8-fold greater amount of amorphine, a lesser amount of bromocriptine, or a 2.8-fold greater amount of SKF-38393, which served as the control group.

© 2010 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Neurotrophic factor is an endogenous substance that promotes neuronal survival, differentiation, and function. Many neurotrophic factors are identified, including the neurotrophin family represented by nerve growth factor (NGF), the chitin neurotrophic factor (CNTF) family, the fibroblast growth factor (FGF) family, the insulin-like growth factor (IGF) family, and the glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). The action of these neurotrophic factors on the central nervous system is relevant to various neurodegenerative diseases. For example, BDNF and IGF-1, CNTF, neurotrophin-3 (NT-3) in amyotrophic lateral sclerosis, GDNF and BDNF in Parkinson's disease, NGF in Alzheimer's disease are well known [1,2].

Parkinson's disease is characterized by progressive death of dopaminergic neurons in the substantia nigra. GDNF markedly affects motor neurons and selectively protects the nigrostriatal dopaminergic pathway [3]. The protective effect of GDNF on motor neurons is several times greater than those of other currently known neurotrophic factors. In rats and monkeys resoned by a neurotoxin, GDNF protects dopaminergic neurons of the ventral mesencephalon from cell death

* Corresponding author. Department of Medical Biochemistry, Kobe Pharmaceutical University, 4-15-1, Motoyama-5-chome, Higashinada-ku, Kobe, 658-8538, Japan.
Tel.: +81 78 441 7557; fax: +81 78 441 7559.
E-mail address: mkiyo@kobe-pharm-u.ac.jp (K. Ohta).

0022-510X/\$ – see front matter © 2010 Published by Elsevier B.V.

0022-510X/\$ – see front matter © 2010 Published by Elsevier B.V.

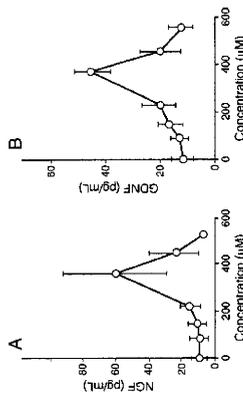


Fig. 1. Effects of various concentrations of ropinirole on stimulation of NGF, GDNF, and BDNF secretion. Results are means \pm S.D. Cultured astroglial cells were exposed to various concentrations of ropinirole for 24 h and NGF, GDNF, and BDNF levels in the culture medium were measured by ELISA.

untreated control was standardized with respect to the intensity of the GAPDH band.

2.3. Statistics

Data are expressed as means \pm S.D. Differences were analyzed by Student's *t*-test and 2-way ANOVA. *P*-values < 0.05 were considered significant.

3. Results

Various concentrations of medicines were added to cultured astroglial cells and cultured for 24 h. The secreted amounts of NGF, GDNF, and BDNF in the culture medium showed bell-type dose response curves, indicating that ropinirole at 360 μ M indicated the maximal secretion of neurotrophic factors in the cultured supernatant. The following experiments were then performed (Fig. 1). At 24 h, the NGF secretion level increased to 6.3-fold, compared with the control group. The GDNF secretion level had increased 3-fold at 8 h, and 4-fold at 24 h. BDNF secretion was not markedly enhanced (data not shown) (Fig. 2).

Immediately after ropinirole was added to cultured astroglial cells, NGF and GDNF mRNA levels were assessed. They reached their maximum secretion levels at 6 h in NGF, and 3 h in GDNF. On the other hand, BDNF mRNA was not significantly enhanced (Fig. 3).

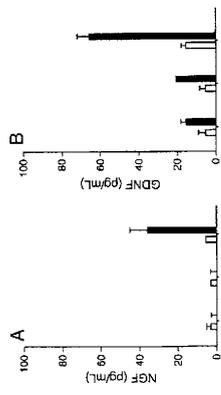


Fig. 2. Induction of neurotrophic factor secretion (NGF, GDNF, and BDNF) by ropinirole at 360 μ M. Levels of NGF, GDNF, and BDNF in the culture medium were measured by ELISA. Results are means \pm S.D. Closed columns, ropinirole treated; open columns, untreated control. Students *t*-test was used to determine significant differences from control (**P* < 0.05 , ***P* < 0.005 , ****P* < 0.001).

synthesis and secretion, and concurrent stimulation of both dopamine D₁ and D₂ receptors would augment this effect further [10,11]. Ropinirole and his colleagues reported experimental results that dopamine depletion in rodents decreases precursor cell proliferation in both the subependymal zone and the subgranular zone and that activation of D₂ receptors by ropinirole directly increases the proliferation of these precursors [12]. There is an open debate whether ropinirole might slow down the progression of Parkinson's disease.

In this study, we examined the ability of a non-ergoline dopamine agonist, ropinirole to produce neurotrophic factors, and compared the impact produced by ergoline dopamine agonists.

2. Methods

Whole brains of 8-day-old ICR mice were excised and cut into small pieces for culturing [11]. Cells were seeded on culture dishes containing serum DMEM with 10% FCS at a density of 2×10^6 cells/cm², and cultured until they reached confluence for several times. The passages were exposed to FCS free DMEM for one week and then induced into a period of quiescence. Cultured mouse astrocytes were then exposed to four medicines (SKF-38393, amorphine, bromocriptine, and ropinirole) at various concentrations for 24 h and neurotrophic factor levels in the culture medium were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Each drug (10 mg/ml solution containing DMSO) produced a bell-shaped dose response curve. The concentrations eliciting maximal stimulation of NGF and GDNF synthesis were used in subsequent studies of the time course of NGF, GDNF, and BDNF secretion. Maximally induced levels of NGF and GDNF from astrocyte cultures was SKF-38393 at 309 μ M, bromocriptine at 256 μ M, amorphine at 68 μ M, and ropinirole at 360 μ M. Levels of mRNA for each factor were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The passages culture was morphologically almost uniform glial cell population, with 97.5% of the cells positively stained for glial fibrillary acidic protein. SKF-38393, amorphine and bromocriptine were purchased (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan). Ropinirole was gifted by Glaxo SmithKline Co. (Tokyo, Japan).

2.1. ELISA for NGF, GDNF, and BDNF

Our two-site ELISA system for NGF, GDNF, and BDNF was employed [11]. The bound biotinylated antibody was quantified with streptavidin-linked horseradish peroxidase (HRP), the culture medium was directly applied to the wells for ELISA. Measurement sensitivities were 2.5, 5, and 5 pg/ml for NGF, GDNF and BDNF respectively.

2.2. RT-PCR

Semiquantitative RT-PCR analysis was performed to measure the levels of mRNA expression against GAPDH [10]. Total RNA was extracted from astrocytes with TRIzol reagent (Gibco BRL, Life Technologies, Inc.), then treated with DNase I (Gibco BRL) to avoid the possible contamination of genomic DNA. Intra-strand cDNA was synthesized from RNA by using random hexamers and AMV reverse transcriptase (Promega, Madison, WI). Aliquots of cDNA corresponding to 80 ng of RNA for NGF, GDNF and BDNF, and 40 ng for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) were amplified in 25 μ l of PCR cocktail containing each specific primer (200 nM) and Taq DNA polymerase (Takara, Kyoto, Japan). The sets of primers for NGF, GDNF, BDNF and GAPDH were identical to those described previously [10,11,13–15]. A linear correlation between intensity and cycle number was found in 30–34 cycles for NGF and BDNF, 32–35 cycles for GDNF, and 23–25 cycles for GAPDH. The intensity of the bands of NGF and GDNF relative to the intensity of

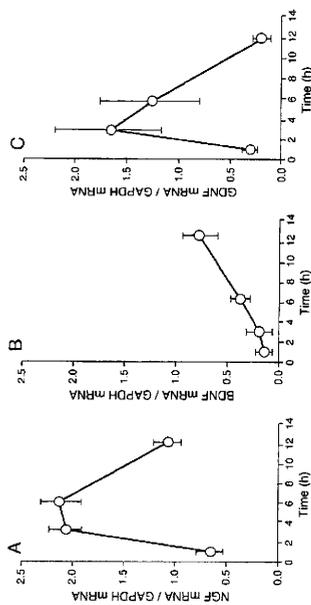


Fig. 3. Semi-quantitative RT-PCR analysis of NCF mRNA (A) and GDNF mRNA (B) in mouse astrocytes treated with ropinirole 300 μ M. Immediately after ropinirole was added to cultured astroglial cells, NCF and GDNF mRNA started to express over time. At 24 h of exposure, the expression of NCF and GDNF mRNA was significantly enhanced. RT-PCR bands of NCF, GDNF, and GAPDH were amplified from three experimental plates and the control at each time. The NCF, GDNF, GAPDH, and GAPDH intensities relative to those of control were calculated. The ratio (relative NCF or GDNF or BDNF)/(relative GAPDH) was used to indicate the relative amount of NCF or GDNF or BDNF gene expression. Results are the mean \pm S.D. of three plates.

Relative levels of NCF and GDNF mRNA detected by RT-PCR confirmed that the increases in the levels of these proteins in culture medium were due to precedent gene expression and not to leakage from cells.

SKF-38393 at 309 μ M significantly elevated NCF levels 20-fold and GDNF levels 2.8-fold that of the control group at 24 h. Bromocriptine at 266 μ M elevated the NCF levels 6.8-fold that of the control group, and decreased GDNF levels at 24 h. Aponorphine at 88 μ M significantly elevated the NCF levels 122-fold and the GDNF levels 1.8-fold compared with those of the control group at 24 h. The non-ergoline dopamine agonist, ropinirole, elevated the NCF levels 6.3-fold and the GDNF levels 4-fold that of the control after 24 h, and was more active in producing and secreting GDNF than the other dopamine agonist NCF level: Fig. 4, GDNF level: Fig. 5).

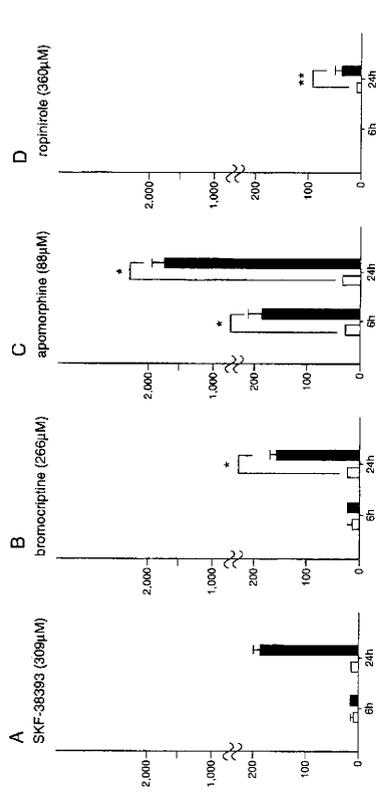


Fig. 4. Amounts of secreted NCF by dopamine agonists. Levels of NCF in the culture medium with SKF-38393 at 309 μ M (A), bromocriptine at 266 μ M (B), aponorphine at 88 μ M (C), ropinirole at 360 μ M (D) were measured by ELISA. Results are mean \pm S.D. Closed columns, dopamine agonists treated; open columns, untreated controls. Student's *t*-test was used to determine significant differences from controls (**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.005, *****P* < 0.001).

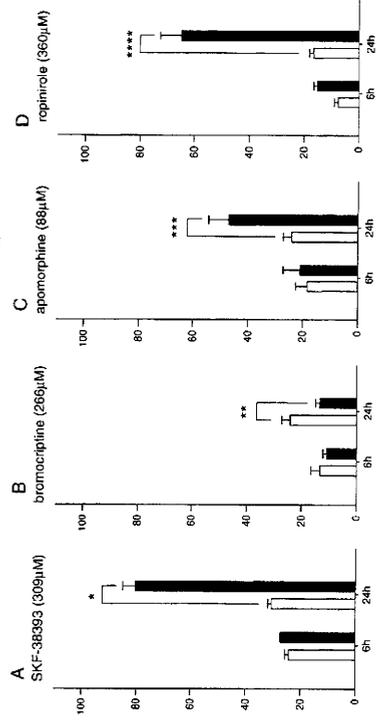


Fig. 5. Amounts of secreted GDNF by dopamine agonists. Levels of GDNF in the culture medium with SKF-38393 at 309 μ M (A), bromocriptine at 266 μ M (B), aponorphine at 88 μ M (C), ropinirole at 360 μ M (D) were measured by ELISA. Results are mean \pm S.D. Closed columns, dopamine agonists treated; open columns, untreated controls. Student's *t*-test was used to determine significant differences from controls (**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.005, *****P* < 0.001).

receptors may stimulate NCF synthesis but not GDNF [10], and that the D_2 subtype-preferred dopamine D_2 receptor may stimulate GDNF and NCF synthesis. Notably, another experiment using a human fetal astrocyte cell line showed that exposure to dopamine, apomorphine, and SKF-38393 increased GDNF levels [20]. Probably stimulated by activation of the D_2 subtype receptors, in controls, quiprolone, a D_2 dopamine agonist, did not induce GDNF [20]. Then, our experimental results that D_2 -like receptor selective ropinirole up-regulates GDNF secretion are peculiar. In this regard, Du et al. [21] reported that the D_2 subtype, not the D_3 subtype, preferentially exerts neurotrophic effects. In an experiment using mesencephalic cultures, Ling ZD et al. [22] found that the D_2 - and D_3 subtypes of the dopamine D_2 receptors might exert an autoconditioning effect as a consequence of an increase in trophic factors and a decrease in neuroinhibitory activity.

In this regard, pharmacologically ropinirole was found to be 20-fold selective for human D_2 subtype receptors over human D_3 subtype receptors in radioligand binding studies, which is similar to the selectivity of ropinirole. While bromocriptine was 2-fold selective in the same manner [23]. Our findings correspond to these reports and may suggest that the D_2 subtype preferential dopamine D_2 -like receptor agonist ropinirole similar to dopamine, stimulates GDNF and NCF synthesis in a well-balanced manner over 24 h. In this study, the dopamine agonist-induced increases in NCF and GDNF levels in the culture medium were due to increased gene expression and not leakage from the cells. Ropinirole rapidly and potently stimulated NCF and GDNF synthesis and secretion. Well-balanced prolonged stimulation, thereby avoiding an adverse impact that can induce cell death, crucial for the secretion of the neurotrophic factors, leading to neuroprotection, our findings indicate that a D_2 subtype preferred dopamine D_2 agonist exerts well-balanced stimulation of GDNF and NCF secretions.

We know that astrocytes differ in various regions of the brain and in their regulation of BDNF and NCF synthesis in cultured rat astrocytes [24,25]. Astrocyte-derived neurotrophins could play some roles in distinguishing the various functions of the brain under physiological conditions. Neurotrophins in the substantia nigra are supported by an abundance of neurotrophins. Moreover, reduced

expression of neurotrophic factors has been reported in Parkinson's disease [26–28]. These findings suggest that the progressive neurodegeneration seen in Parkinson's disease may involve a reduction in neurotrophins. In this study we used astrocytes from the whole brain of mice; additional studies on cultured astrocytes from the ventral mesencephalon are needed.

References

- Matson ME. Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:120–9.
- Mufson EJ, Kwon JS, Sindler TJ, Sobierajski T, Sobierajski T. Distribution and retrograde transport of trophic factors in the central nervous system: functional implications for the degeneration of neurons. *Neurosci Biobehav Rev* 2003;27:105–12.
- Hoffer BJ, Hoffman A, Kowalewski K, Barrett JE, Hudson J, Martin D, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses toxin-induced injury to midbrain dopaminergic neurons in vivo. *Neurosci Lett* 1994;182:107–11.
- Choi Y, Hoffer BJ, Hoffman A, Kowalewski K, Barrett JE, Hudson J, et al. Behavioral recovery in parkinsonian mice treated with GDNF. *Nature* 1998;393:802–5.
- Tomac A, Lindqvist E, Lin LH, Ögren SO, Young D, Hoffer BJ, et al. Protection and repair of the nigrostriatal dopaminergic system by GDNF in vivo. *Nature* 1995;373:545–9.
- Kordower JH, Emborg ME, Bloch J, Ma SY, Chu Y, Leventhal L, et al. Neurodegeneration prevented by lentiviral vector delivery of GDNF in primate models of Parkinson's disease. *Science* 2000;289:579–793.
- Reame NM, Gath DM. GDNF protects nigral dopamine neurons against 6-OHDA-induced death in a dopaminergic cell line: modulation by inhibitors of PI3 kinase and MEK. *J Neurosci Res* 2003;73:105–12.
- Liggett SD, Lin E, Klam E, Zagono MI, Perez RG. Effects of GDNF on 6-OHDA-induced cell death following intracerebral gliatransfer. *Neurobiol Aging* 2004;25:149–24.
- Ohta K, Kuno S, Mizuta I, Fujinami A, Marui H, Ohta M. Effects of dopamine BDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Life Sci* 2003;73:817–26.
- Ohta M, Mizuta I, Ohta K, Nishimura M, Mizuta E, Hayashi K, et al. Apomorphine up-regulates NCF and GDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;317:21–22.
- Hoffman A, Barrot M, Arnold MA, Du F, Chen Y, Leventhal L, et al. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004;7:726–35.
- Jeller M, Paganini-Serkovskii M, John A, Lebowitz J, Barak O. Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *Eur J Neurosci* 1999;11:2459–64.
- Watabe K, Fukuda T, Tanaka J, Honda H, Toyohara K, Sakai O. Spontaneously immortalized adult mouse Schwann cells secrete serotonergic and paracrine growth-promoting activities. *J Neurosci Res* 1995;41:257–58.

- [15] Naojima K, Hida H, Shimano Y, Fujimoto I, Hashihara T, Kumazaki M, et al. CDNF is a novel neurotrophic factor for dopaminergic neurons in vitro and in vivo. *J Neurosci* 2006;26:1171–81.
- [16] Bozzi Y, Beyreth E. Dopamine in neurotoxicity and neuroprotection: what do D₂ receptors have to do with it? *Trends Neurosci* 2006;29: 167–74.
- [17] Wang Y, Wang Y, Wang Y, Wang Y, Wang Y, Wang Y, et al. Dopamine receptor antagonism of methamphetamine-seeking behavior in glial cell line-derived neurotrophic factor mutant mice. *PLoS ONE* 2007;2(1):1894–2004.
- [18] Camicella S, Khosara V, Jambhale J, Jankaj PH, Ron D. GDNF is a D₂-acting potent inhibitor of striatal consumption and relapse. *Proc Natl Acad Sci* 2006;105: 897–901.
- [19] Green-Sadan T, Kuttner Y, Lublin-Tennenbaum T, Kirn M, Boguslavsky Y, Margel S, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-conjugated nanoparticles increase acquisition of cocaine self-administration in rats. *Exp Neurol* 2007;194: 87–91.
- [20] Kirn M, Giffen R, Colombo E, Zinnman T, Yasid G. Dopamine increases glial cell line-derived neurotrophic factor in human fetal astrocytes. *Glia* 2001;33:143–50.
- [21] Du T, Li K, Huang Y, Li X, Li W. Dopamine D₂ receptor preferential agonist increases expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. *NeuroReport* 1999;10:357–61.
- [22] Ling DR, Tong CV, Covey DM. Retinal pigmentation of a nonpigmented-induced brain-like culture of dopaminergic neurons in ventral mesencephalic cultures. *Brain Res* 1994;791:137–45.
- [23] Colwell MC, Boyfield I, Brown T, Hagan JJ, Middleton DK. Comparison of the functional properties of nigrostriatal and other dopamine receptor agonists on an animal model of compulsive drug seeking. *Neurosci Biobehav Rev* 1999;23: 688–97.
- [24] Mihic S, Junc DM, Carmon-Kraan M. Differences in the regulation of BDNF and NGF synthesis in cultured neonatal rat astrocytes. *Int J Dev Neurosci* 2004;22: 103–10.
- [25] Zafra F, Lindholm D, Casien E, Harilika J, Tuomenvi H. Regulation of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor mRNA in primary cultures of hippocampal neurons and astrocytes. *J Neurosci* 1992;12:4933–3.
- [26] Kirn M, Giffen R, Colombo E, Zinnman T, Yasid G. Dopamine increases neurotrophins in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2000;7:277–90.
- [27] Nishio T, Furukawa S, Abiguchi I, Shimohara N. Medial nigral dopamine neurons have rich neurotrophins support in humans. *NeuroReport* 1997;8:2847–51.
- [28] Kirn M, Giffen R, Colombo E, Zinnman T, Yasid G. Dopamine increases expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. *NeuroReport* 1999;10:357–61.

表2 臨床予後

	Study Group		Reference Group	
	登録時	セレギリン治療後	登録時	セレギリン治療後
登録期間(年)	2.5(1.2)	9.8(1.7)	9.9(0.7)	9.9(0.7)
セレギリン治療期間	0	7.0(1.4)年	0	16.3(1.6)年
セレギリン投与量(mg/日)	0	5.29(2.03)	0	4.39(1.99)
UPDRS				
6症状に関するUPDRS合計スコア	5.98(2.08)	7.78(4.30)	11.41(3.68)	9.40(3.76)
6症状に関するUPDRSサブスコア				
安眠時振戦	1.25(0.87)	1.04(0.90)	1.39(1.04)	1.13(0.92)
歩行	1.49(0.64)	1.43(0.90)	1.88(0.84)	1.52(0.81)
姿勢の不安定性	0.92(0.61)	1.45(0.94)	2.15(0.81)	1.82(0.87)
動作緩慢・運動減少	0.67(0.66)	1.30(1.03)	1.99(0.96)	1.72(0.93)
起きている時間の何%がオフ期間か?	1.26(0.65)	1.54(0.90)	2.25(0.91)	1.95(0.90)
Hoehn & Yahr 重症度	0.38(0.61)	1.05(0.94)	1.66(1.08)	1.30(0.94)
平均(標準偏差)	1.81(0.39)	2.60(0.94)	3.20(0.76)	2.97(0.81)

*Study Group (セレギリン治療後) vs Reference Group (登録時)
 †Study Group (セレギリン治療後) vs Reference Group (セレギリン治療後)
 ‡Student のt検定
 †Wilcoxon の順位相検定
 ‡χ²検定, Study Group (セレギリン治療後) と比較

スコアは、Study Groupの方が登録時点におけるReference Groupよりも有意に良好であった。また、Study Groupの方がReference Groupよりもオフ期間が有意に短く、Hoehn & Yahr 重症度が有意に低かった。Study Group (セレギリン早期使用群) の6症状(安眠時振戦、固縮、歩行、姿勢の不安定性、動作緩慢と運動減少、起きている時間の何%がオフ期間か?)にセレギリン治療前のReference Groupのスコア(11.41 ± 3.88)よりも有意に低値であった(P < 0.0001)。UPDRS合計スコアは9.40 ± 3.76に改善したが、Study Groupの値には差がなかった(7.78 ± 4.30, P = 0.0002) (表2)。セレギリンの維持用量については、Reference Groupの方がStudy Groupよりもわずかにあるが有意に低かった(P < 0.0001)。これらの知見より、我々は(1)セレギリンはPDの症状に対する対症効果を有し、(2)選択した運動症状に関するUPDRSスコアによって評価を行った場合、セレギリンをPD発症早期に使用することで、後期に使用するよりも良好な臨床予後が得られると結論づけた。

Study Groupの106例中87例は2008年1月の評価時までセレギリンによる治療を継続していたが、残り19例では、この評価前にセレギリン治療が中止されていた。しかしながら、これら継続群および非継続群

我々は本研究において2つの重要な問題に取り組んだ: 第1にセレギリンがPD患者に対症効果をもたらしかどうかについて、第2にPD発症早期にセレギリンによる治療を実施する方が発症後期に実施するよりも良好な臨床予後が得られるかどうか、についてで

ある。Study GroupとReference Groupにおいて、PD発症から臨床評価までの期間はいずれも平均10年であった。Study GroupではPD発症から5年未満にセレギリンが投与されたが、Reference GroupではStudy Groupと同じ罹病期間には投与されなかった。UPDRS合計スコアは、Study Groupの方がReference Groupよりも有意に良好であった(7.78 ± 4.30 vs 11.41 ± 3.88)。これよりいくつかの研究グループによって報告されているように、セレギリンが対症効果をもたらし、示唆される²⁰。Reference Groupの患者(セレギリンによる治療を受けるまでの罹病期間は9~11年;平均9 ± 0.7年)は、セレギリンによる罹病期間から4ヵ月後に評価が行われており、その罹病期間はStudy Groupとはほぼ同等である。6症状のUPDRS平均スコアは9.40 ± 3.76まで改善したが、Study Group (セレギリン早期使用群)のスコアには差がなかった。

本研究は非盲検で行われたことから、結論を出す際いくつかの危険性が伴う。非盲検下では通常、評価担当医師のバイアスによって試験薬の有効性を実際よりも良好であるととらえてしまう。これはプラセボを対照とした試験では特に問題となると思われる。また、後向き研究では、情報の欠損や評価者による記憶違いによって試験の質がさらに低下するため、データが正確ではない可能性がある。これらの欠点を克服するために、我々はデータバイアスを減らすため、データ抽出した。Reference GroupはStudy Groupと罹病期間が基本的に同等であり、唯一の違いはセレギリン治療を開始する時期が早いかもしれないだけである。また、セレギリン使用の登録は本邦の安全性をモニタリングすることを目的とした政府の決定により、セレギリンを処方された一連のすべての患者を対象に行われた。そのため、評価担当医師はセレギリンをPD発症早期または後期に使用することが、患者の予後にどのような影響を及ぼすかについては全く関心がなかった。さらに、我々は有効性と安全性の系統的な評価が可能となる調査票を提供した。この点で、本研究は単純な後向き研究ではなく、ケースコントロールスタディの形式をとっていると考えられる。しかしながら、本研究から結論を導く際には慎重に行うべきである。本研究から結論を導く際には、セレギリンはL-Dopa治療を受けているPD患者には使用した場合、安全性は良好であり、また、選択した運動症状に関するUPDRSスコアで評価した場合、PD発症後5年未満にセレギリン治療を受けた方が発症から約10年後にセレギリン治療を受けるよりも、臨床的に予後が良好と思われることである。セレギリンに関する無作為化試験を振り返ると、本邦患

におけるセレギリン早期使用はDATATOP試験において示されている通り、PD症状の進行を遅らせることによりL-Dopaの開始を遅らせ^{21,22}。また、ラカギリンの早期使用はもPD症状の進行を遅らせる。さらに、Pillbagenらによるセレギリンの長期試験²³では、セレギリンをPD発症早期に投与した方がプラセボと比較して臨床予後が良好であることが示されている。本研究は非盲検で行われているが、その結果は前述の無作為化比較試験の結果と一致している。

しかしながら、この試験においても我々は本研究で示したセレギリンの効果はセレギリンの神経保護作用によるものか、早期治療による神経可塑性の変化によるものか明確に結論づけることはできない。

謝辞

我々は、日本全国の55箇所の医療施設において本研究に携わったすべての参加者に感謝する。

REFERENCES

1. The Parkinson Study Group. Effect of deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1989;321:1364-1371.
2. The Parkinson Study Group. Efficacy of rasagiline and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1993;33:176-183.
3. Olanow CW, Hauser RA, Gauger L, et al. The effect of deprenyl and levodopa on the progression of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995;38:771-777.
4. Pillbugen S, Heinonen EH, Hagglund J, et al. Selegiline delays the onset of disability in de novo parkinsonian patients. *Neurology* 1998;51:520-525.
5. Pillbugen S, Heinonen E, Hagglund J, et al. Selegiline slows the progression of the symptoms of Parkinson disease. *Neurology* 2006;66:1200-1206.
6. Lees AJ. Comparison of therapeutic effects and mortality data of levodopa and levodopa combined with selegiline in patients with early mild Parkinson's disease. *Br Med J* 1995;311:1602-1607.
7. Myllylu VV, Soininen KA, Vuorenes JA, et al. Selegiline in de novo parkinsonian patients: the Finnish study. *Mov Disord* 1993;8:841-844.
8. Myllylu VV, Soininen KA, Hakkinen P, et al. Selegiline as the first step in the treatment of Parkinson's disease—a long-term double-blind study. *Acta Neurol Scand* 1997;95:211-218.
9. Pramukul H, Conzel H, Fiedel H, et al. SELEDO, a 5-year long-term study of the effect of selegiline on early parkinsonian patients treated with levodopa. *Eur J Neurol* 1999;6:141-150.
10. Lawson JR, Bras J, Fiedel H, et al. Does selegiline modify the progression of disability in Parkinson's disease? Results from a five-year study. *Eur J Neurol* 1999;6:539-547.
11. Holton MG, Chan PL, Nair JG, et al. Disease progression and protection with levodopa and other treatments. *J Pharmacokinetics Pharmacodyn* 2006;33:281-311.
12. The Parkinson Study Group. A controlled, randomized, delayed-start study of rasagiline in early Parkinson disease. *Arch Neurol* 2004;61:551-556.

TABLE 2. Clinical Outcomes

	Study Group		Reference Group		P†
	At Registry	After Selegiline	At Registry	After Selegiline	
Disease duration, yr	2.5 (1.2)	9.8 (1.7)	9.9 (0.7)	16 wk	
Duration of treatment with selegiline	0	7.0 (1.4) yr	0	4.39 (1.99)	<0.0001‡
Dosage of selegiline, mg/d	0	5.29 (2.03)	0		
UPDRS-6 score	5.98 (2.08)	7.78 (4.30)	11.41 (3.88)	9.40 (3.76)	0.0002§
UPDRS-6 subscore					
Tremor at rest	1.25 (0.87)	1.04 (0.90)	1.39 (1.04)	1.13 (0.92)	0.133§§
Rigidity	1.49 (0.64)	1.43 (0.90)	1.88 (0.84)	1.52 (0.81)	0.2340§
Gait	0.92 (0.61)	1.43 (0.94)	2.15 (0.81)	1.82 (0.87)	<0.0001§
Postural stability	0.67 (0.66)	1.30 (1.03)	1.99 (0.96)	1.72 (0.93)	<0.0001§
Bradykinesia/hypokinesia	1.26 (0.65)	1.54 (0.90)	2.35 (0.91)	1.95 (0.90)	<0.0001§
Proportion of off time	0.38 (0.61)	1.06 (0.94)	1.66 (1.08)	1.30 (0.94)	0.0188§
H-Y stage	1.81 (0.39)	2.60 (0.94)	3.20 (0.76)	2.97 (0.81)	<0.0001

Data are mean (SD).

†The study group (after selegiline) versus the reference group (at registry).

‡The study group (after selegiline) versus the reference group (after selegiline).

§By Wilcoxon rank-sum test.

||By χ^2 test, compared with that after selegiline in the study group.

second was whether early treatment with selegiline is associated with better clinical outcome compared with late use. The mean duration of the period between onset of PD and clinical evaluation was 10 years in both the study and the reference groups. Selegiline was initiated within 5 years from the onset of PD in the study group, and the reference group did not receive selegiline for the same disease period as the study group. The total clinical score was significantly better for the study group compared with the reference (7.78 [4.30] vs 11.41 [3.88]), indicating the presence of symptomatic benefits of selegiline, as reported previously by several groups.⁷⁻¹⁰ The patients in the reference group disease duration before selegiline treatment, 9–11 years, mean (SD), 9.9 (0.7) years) were treated with selegiline, and the mean on was made 6 months later; they had approximately the same disease duration to 9.40 (0.76), but it did not quite reach that of the study group (early-labeled study, the early-labeled study, when we attempt to draw a conclusion. In open-label studies, the biases of examiners usually shift the efficacy of the test drug toward better than the real sides. This seems to be particularly the case if the study does not have a placebo-treated group. Furthermore, if such studies are retrospective ones, data may not be accurate because of some missing information or the poor memory of evaluators further deteriorating the quality of studies. To overcome these drawbacks, we extracted a reference group from the database; the reference group has essentially the same disease duration with that of the study group, the only difference was the timing of treatment with selegiline, early or delayed. In addition, the registration for the use of selegiline was done in all the consecutive patients to whom selegiline was prescribed according to the decision of our government for the purpose of monitoring the safety of this drug. Therefore, the examining physicians were not primarily interested in the question whether early or delayed use of selegiline might have any influence on the outcome of the patients. In addition, we provided a chart where

systematic evaluations of efficacy and safety were possible. In this sense, our study is not a mere retrospective study; we believe that our study is a form of a case-control study. Nonetheless, we have to be very cautious when we attempt to draw a conclusion from our study. What we can say from our study is that selegiline was safe when used in PD patients on L-Dopa treatment, and clinical outcome as evaluated by selected UPDRS motor scores seem to be better for patients who received selegiline within 5 years from the onset of the disease compared with those who received selegiline approximately 10 years from the onset. By reviewing randomized controlled studies on selegiline, early use in the disease course delayed the start of L-Dopa by slowing down the progression of the symptoms of PD in the Deprenyl and Tetrabenazine (Autodilative Therapy in Parkinson's Disease Study),^{2,11} and the early use of selegiline allowed also delayed progression of the symptoms of PD. In addition, a long-term study on selegiline by Pillbagen et al¹² showed better clinical study on selegiline in early PD patients with placebo use. Although our study is an open-label study, our results are consistent with those in randomized controlled studies. At this stage, however, we cannot make any definite conclusion as to whether these results were due to the neuroprotective effects of selegiline or to changes in neuronal plasticity associated with early use.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to all the participants from 55 medical facilities throughout Japan who were engaged in this study.

REFERENCES

1. The Parkinson Study Group. Effect of deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1989;321:1364-1371.

2. The Parkinson Study Group. Effects of tocopherol and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1993;328:176-183.

3. Olanow CW, Hauser RA, Gauger L, et al. The effect of deprenyl and levodopa on the progression of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995;38:771-777.

4. Pillbagen S, Heinson EH, Hagglund J, et al. Selegiline delays the onset of disability in de novo parkinsonian patients. *Neurology* 1998;51:520-525.

5. Pillbagen S, Heinson EH, Hagglund J, et al. Selegiline slows the progression of the symptoms of Parkinson disease. *Neurology* 2006;66:1200-1206.

6. Lees AJ. Comparisons of therapeutic efficacy and mortality data of levodopa and levodopa combined with selegiline in patients with early, mild Parkinson's disease. *Br Med J* 1995;311:1602-1607.

7. Mizuno Y, Sotaniemi KA, Vuorenen JA, et al. Selegiline in de novo parkinsonian patients: the Finnish study. *Mov Disord* 1993;8:584-584.

8. Mizuno Y, Sotaniemi KA, Hakola J, et al. Selegiline as the primary treatment of Parkinson's disease—a long-term double-blind study. *Acta Neurol Scand* 1997;95:211-218.

9. Prunetek H, Conard B, Diegenis J, et al. SELED0, a 5-year long-term trial on the effect of selegiline in early parkinsonian patients treated with levodopa. *Eur J Neurol* 1999;6:141-150.

10. Larsen JP, Boast I, Brial JE, et al. Does selegiline modify the progression of early Parkinson's disease? Results from a five-year study. *Eur J Neurol* 1999;6:539-547.

11. Holford NG, Chen BS, Nair JG, et al. Disease progression and neuroprotective effects of selegiline in Parkinson disease: functional protection with levodopa and other treatments. *J Pharmacol Ther* 2006;33:281-311.

12. The Parkinson Study Group. A controlled, randomized, delayed-start study of rasagiline in early Parkinson disease. *Arch Neurol* 2009;66:501-506.

Amantadine for Dyskinesias in Parkinson's Disease: A Randomized Controlled Trial

Hideyuki Sawada^{1*}, Tomoko Oeda¹, Sadako Kuno², Masahiro Nomoto³, Kenji Yamamoto⁴, Mitsutoshi Yamamoto⁵, Kinuya Hisanaga⁶, Takashi Kawamura⁶, for the Amantadine Study Group¹

¹ Clinical Research Center, Utsuro National Hospital, Kyoto City, Japan, ² National Center for Neurological and Psychiatric Disorders, Kodaira, Japan, ³ Department of Therapeutic Medicine, School of Medicine, Ehime University, Toon, Japan, ⁴ Department of Neurology, Pitsun Central Hospital, Takamatsu, Japan, ⁵ Department of Neurology, Miyagi National Hospital, Watarai-cho, Japan, ⁶ Student Health Center, Kyoto University, Kyoto City, Japan

Abstract

Background: Dyskinesias are some of the major motor complications that impair quality of life for patients with Parkinson's disease. The purpose of the present study was to investigate the efficacy of amantadine in Parkinson's disease patients suffering from dyskinesias.

Methods: In this multi-center, double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial, 36 patients with Parkinson's disease and dyskinesias were randomized and 62 interventions, which included amantadine (50 mg/day) or placebo treatment for 27 days, were analyzed. At 15 days after washout, the treatments were crossed over. The primary outcome measure was the changes in the Rush Dyskinesia Rating Scale (RDRS) during each treatment period. The secondary outcome measures were changes in the Unified Parkinson's Disease Rating Scale part IVa (UPDRS-IVa, dyskinesias), part IVb (motor fluctuations), and part III (motor function).

Results: RDRS improved in 64% and 16% of patients treated with amantadine or placebo, respectively, with significant differences between treatments. The adjusted odds-ratio for improvement by amantadine was 6.7 (95% confidence interval, 1.4 to 31.5). UPDRS-IVa was improved to a significantly greater degree in amantadine-treated patients (mean (SD) of 1.83 (1.56) compared with placebo-treated patients [0.03 (1.51)]). However, there were no significant effects on UPDRS-IVb or III scores.

Conclusions: Results from the present study demonstrated that amantadine exhibited efficacious effects against dyskinesias in 60–70% of patients.

Trial Registration: UMIN Clinical Trial Registry UMIN000000780

Citation: Sawada H, Oeda T, Kuno S, Nomoto M, Yamamoto K, et al. (2010) Amantadine for Dyskinesias in Parkinson's Disease: A Randomized Controlled Trial. *PLoS ONE* 5(12): e15298. doi:10.1371/journal.pone.0015298

Editor: Tsuneo Ikeno, Boston University School of Medicine, United States of America

Received: August 18, 2010; **Accepted:** November 5, 2010; **Published:** December 31, 2010

Copyright: © 2010 Sawada et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This study was supported by The Research Grant (186-0) for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health, Labour, and Welfare and supported by grants-in-aid from the National Hospital Organization. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: Dr. Sawada is funded by the grants-in-aid from the National Hospital Organization and received honoraria for lectures from Novartis Pharma, GlaxoSmithKline and Boehringer Ingelheim.

* E-mail: sawada@nsh.hosp.go.jp

[†] Membership of the Amantadine Study Group is provided in the Acknowledgments.

Introduction

Parkinson's disease is one of the most prevalent neurodegenerative disorders, with an increasing prevalence in the elderly [1]. Motor disturbances due to Parkinson's disease can be relieved by medications containing levodopa or dopaminergic agonists, and the majority of patients are treated with these drugs over a long period of time. Motor complications, such as dyskinesias and motor fluctuations, are often observed in long-term treated patients. Deep-brain stimulation of the subthalamic nucleus is an efficacious treatment for dyskinesias and motor fluctuations; however, this surgical procedure is invasive and indications are limited [2]. Motor complications such as dyskinesias impair quality of life and are difficult to control [3]; de-escalation of levodopa

reduces dyskinesias, but is often associated with worsened motor symptoms.

Studies have suggested that dyskinesias are due to over-release of dopamine [4], hypersensitivity of striatal dopamine receptors [5], or both. Animal dyskinesia experimental models have revealed that the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate (NMDA)-type glutamate receptor is redistributed from synaptic sites to extrastriatal medium spiny neurons plays an important role in dyskinesias [7], and depolarization of these neurons requires glutamatergic inputs [8,9]. Although glutamatergic inputs *via* AMPA/kainate receptors might be involved [9], synergic synaptic transmission *via* dopamine D1 receptors and NMDA receptors underlies the occurrence of dyskinesias [10].

sampled at each hospital, and creatinine clearance was calculated at the coordination center. Eligible participants were provided unique subject identification numbers according to study criteria and were assigned to Arm 1 or Arm 2 by a research technician (K.H.), according to a computer-generated, randomized plan, which included stratification by severity of dyskinesia (ADJ-interfering or not-interfering). Study medications were sent to each hospital or the coordinating center, according to the schedule. A list of subject identification numbers and corresponding treatment assignments was restricted to K.H. and were concealed from other study personnel.

Arm 1 intervention consisted of an observation period (2–3 weeks), amantadine hydrochloride treatment period (27 days), washout period (15 days), and placebo treatment period (27 days). Arm 2 intervention consisted of an observation period, placebo period, a washout period, and an amantadine treatment period (Figure 1, top). Amantadine was increased in a step-by-step manner (100 mg for 7 days, 200 mg for 7 days, and 300 mg for 7 days), followed by a decreased treatment regimen (200 mg for 3 days and 100 mg for 3 days). Placebo was also administered in a similar manner. The subjects were interviewed every 7th day, and adverse effects were monitored. Trial drugs were not increased if the patients did not desire the increase or if adverse effects were detected.

Patient evaluations

The primary outcome measure was changes in the Rush Dyskinesia Rating Scale (RDRS) from pre-intervention time points. RDRS (from 0 absent to 4 violent dyskinesia), the inter-rater, and intra-rater reliability, which were robust [22], was used for objective evaluation of dyskinesias at the beginning and end of each intervention. Patients and the family members were instructed to put on a coat, and buttoning clothing during the 3 days prior to the study visits, and RDRS scores were recorded according to the videotapes. Patients were defined as "responders" when the RDRS reduction by amantadine treatment was greater than with placebo treatment. "Non-responders" were defined when RDRS reduction by amantadine was the same or less than with placebo, and the prevalence of improvement in RDRS was compared between amantadine and placebo interventions.

The secondary outcome measures were changes in the Unified Parkinson's Disease Rating Scale-III (UPDRS-III) for motor functions (from 0 best to 116 worst), UPDRS-IVa for dyskinesias (from 0 best to 7 worst), UPDRS-IVb for motor fluctuations (from 0 best to 13 worst), UPDRS-IVc for UPDRS-IV, and UPDRS-III were assessed based on interviews with patients and UPDRS-III was evaluated according to findings of study examinations.

The relationships between response to amantadine and clinical features, including subject characteristics (age, sex, duration of disease, and age of onset), amantadine dose, amantadine plasma concentrations, and doses of anti-Parkinson's drugs (levodopa, dopamine agonists, and entacapone) were compared. Dopamine agonist doses were calculated as the levodopa equivalent dose (LED) [23]. Plasma concentrations of amantadine were determined as previously reported [24] and were measured at 3–6 h after administration of the morning amantadine dose.

Sample size

Based on previous reports, dyskinesia scores were estimated to improve by -1.1 [1] (1.6 mean (SD) points on the UPDRS-IVa following amantadine hydrochloride treatment [14]. Sample sizes were determined by power analysis comparing the two means and were calculated as 30 (60 interventions) to achieve a power >80% and an error of 0.05 in the cross-over test.

Amantadine is a low-affinity, non-competitive antagonist of NMDA receptors [11] and is expected to ameliorate dyskinesias. Although previous studies have demonstrated that amantadine exhibits anti-dyskinetic effects [12,13,14,15,16,17], and the duration of anti-dyskinetic effects is attenuated to within 8 months [15], the withdrawal of amantadine worsens dyskinesias, even after amantadine treatment for 1 year or longer [17]. However, the evidence for anti-dyskinetic effects of amantadine is insufficient [18,19]. Therefore, the purpose of this study was to clarify the efficacy of amantadine in patients with dyskinesias. In addition, clinical features associated with the anti-dyskinetic effects were investigated.

Methods

The protocol for this trial and supporting CONSORT checklist are available as supporting information; see Checklist S1 and Protocol S1. This clinical trial was designed and reported according to recommendations of the Consolidated Standard of Reporting Trials (CONSORT) statement [20].

Study design and organization

This trial was registered in the UMIN Clinical Trial Registry (UMIN 000000780) on July 30, 2007 (<https://center.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi>).

This multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized, cross-over trial was organized by a study group comprising 13 sites in 11 prefectures in Japan. Amantadine hydrochloride was donated by Novartis Pharma Corporation, Tokyo, Japan. The study was conducted by a coordination center at Utsuro National Hospital and was approved by the Bioethics Committee of Utsuro National Hospital, the Ethica of National Center for Neurological and Psychiatric Disorders, Ehime University Hospital, the Ethical Committee of Miyagi National Hospital, the Ethical Committee of Sogakura National Hospital, the Ethical Committee of Pitsun Central Hospital, the Ethical Committee of National Defense Medical College, the Ethical Committee of Niigata National Hospital, Bioethics Committee of Jichi Medical University, the Ethical Committee of Saigata National Hospital, and the Institutional Review Board of Kagawa Prefectural Central Hospital. All subjects were informed of study protocols and study relevance, and the subjects provided written consent. Safety was monitored with attention paid to adverse effects.

Patients and eligibility

Eligible subjects (age >75 years old and were diagnosed with Parkinson's disease (according to steps 1 and 2 of the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Diagnostic Criteria [21]), as well as dyskinesias of the limbs or trunk. Subjects of dyskinesias was not considered as an eligibility criterion. Subjects were excluded due to the following: (1) treatment with amantadine hydrochloride in the previous two weeks; (2) psychiatric symptoms, such as auditory hallucinations or delusions (patients with a past history of visual hallucination were included); (3) estimated creatinine clearance <75 ml/min/1.73 m², according to the Cockcroft-Gault formulation; (4) significant liver damage; (5) pregnancy or possible pregnancy; or (6) history of epilepsy. Patients, who met the criteria and were examined between July 2007 and August 2008, were considered for the study. The drug doses for Parkinson's disease were fixed throughout the study period.

Randomization and treatment interventions

Patients were judged eligible by neurologists at the participating hospitals and were consented for enrollment; peripheral blood was

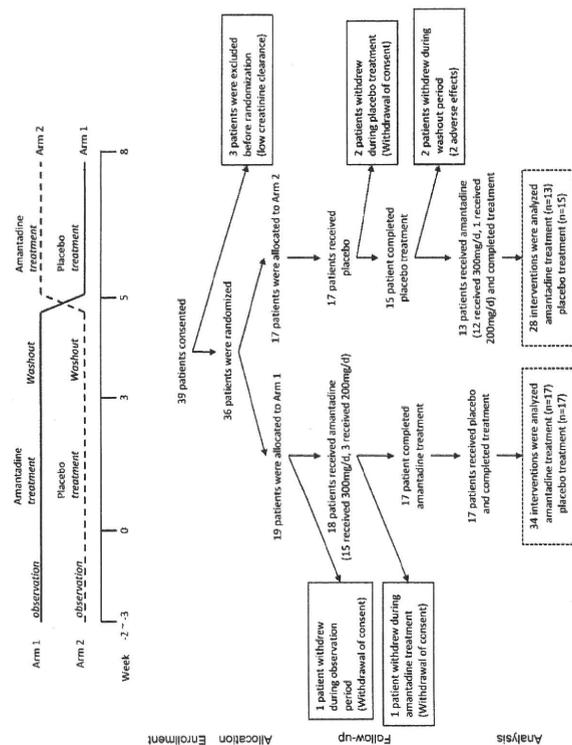


Figure 1. Study design and flow diagram. Top, cross-over scheme of patients randomly allocated to Arms 1 and 2. In Arm 1, amantadine was increased from 100 mg to 300 mg every 7 days, and decreased every 3 days. At 15 days after washout, placebo was administered in a similar manner. In Arm 2, placebo was increased every 7 days and decreased every 3 days, which was followed by a similar washout period and amantadine was then administered in the same fashion. Bottom, flow diagram of patients in the study.

Table 1. Characterization of study participants.

Characteristics	Arm 1 amantadine to placebo (n=18)	Arm 2 placebo to amantadine (n=17)
Age, mean (SD), y	63.9 (7.6)	62.0 (7.0)
Male, No. (%)	6 (33.3)	4 (23.5)
Duration of PD, mean (SD), y	13.5 (4.5)	13.3 (6.1)
L-Dopa, mean (SD), mg/day	447 (139)	435 (171)
LOD of dopamine agonists, mean (SD), mg/day	176 (108)	151 (129)
UPDRS-III, mean (SD), points	16.7 (14.0)	22.4 (8.6)
UPDRS-IV, mean (SD), points	8.0 (5.6)	7.4 (8.1)
RDRS, median (interquartile range), points	2.0 (1.25)	2.0 (0.0)

Statistics

Changes in RDRS scores were regarded as ordinal variables and were categorized into two levels [improved (changes in RDRS < 0), and not-improved (changes in RDRS ≥ 0)]. Binomial generalized estimating equations with unstructured correlation matrix were adapted to fit a repeated measure logistic regression, incorporating treatment effects (amantadine or placebo), period effects (interaction of order effect and carry-over effect), and sex as main effect factors, as well as pre-treatment UPDRS-IVa scores as a covariate. The prevalence of improved RDRS was compared between amantadine and placebo treatments. The odds-ratio for improved RDRS following treatments was calculated according to the generalized estimating equation. RDRS score changes from baseline were regarded as ordinal variables, and generalized estimating equations with unstructured correlation matrix were adopted to fit repeated measure ordinal logistic regression incorporating treatment effects (amantadine or placebo) and period effects (interaction of order effect and carry-over effect), with sex as the main effect factor and pre-treatment RDRS scores as a covariate.

UPDRS score changes were regarded as scale variables. Data were analyzed using a mixed linear model, with correlated residuals

examining treatment effects, period effects, and sex as fixed-effects factors, pre-treatment scores as covariate, and interventions (first or second) as repeated-effects factors. The adjusted mean difference in scores was compared between amantadine and placebo treatments, and the direct treatment and period effects were statistically analyzed. Clinical factors associated with a response to amantadine were analyzed using multivariate logistic regression models (backward step-wise model with a likelihood ratio test). All statistical analyses were performed using SPSS Statistics 17.0. A P-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Patient enrollment

Of the 39 patients identified as potential participants, three were excluded due to low creatinine clearance. The remaining 36 patients were randomized, with 19 and 17 patients allocated to Arms 1 and 2, respectively. In Arm 1, one patient withdrew consent prior to intervention, and 18 received amantadine. During amantadine treatment, one patient withdrew consent, and the remaining 17 patients received placebo and completed the study. In Arm 2, all participants received placebo, but two patients

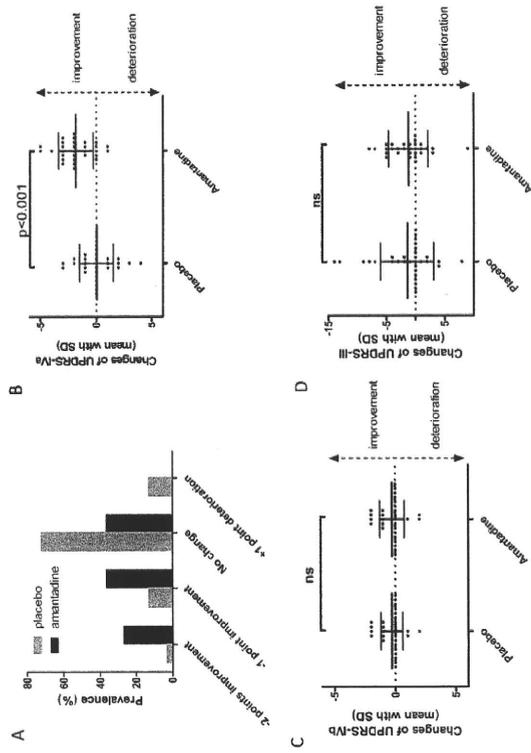


Figure 2. Score changes in RDRS, UPDRS-IVa (dyskinesias), IVb (motor fluctuation), and III (motor disturbance) following amantadine and placebo treatment. Following amantadine treatment, RDRS scores improved in 64% of participants (-2 points in 27%, and -1 point in 37%), but remained unchanged in 37% of participants. RDRS scores improved in 16% of participants, but did not improve in 84%, following placebo treatment (A). UPDRS-IVa scores significantly improved following amantadine treatment (B). In contrast, UPDRS-IVb and III scores did not improve following treatment with amantadine or placebo (C, D). Data are plotted as scattered diagrams and bars represent means with doi:10.1371/journal.pone.0015298.g002

9. Pines D, Kiat ST (1998) Lip and down stream in: critical medium, which promotes the differentiation of striatal neurons in primary culture. *J Neurosci* 18: 286-293.
10. Calhoun P, Di Filippo M, Ghigliero V, Piccini B (2008) Molecular modeling of levodopa-induced dyskinesia in dopamine neurons studied in cortico-striatum-substantia nigra organotypic cultures. *J Neurosci* 18: 3157-3170.
11. Kowubler J, Bornmann J, Hilbert M, Rucke K, Reuber F (1991) Effects of the L-amino-adamantanes at the MK-801 binding site of the NMDA receptor channel: a human postmortem brain study. *Eur J Neurosci* 3:66-77.
12. de Silva-Junior FF, Braga-Neto F, Sueli Monte F, de Bruin VM (2005) Amantadine reduces the duration of levodopa-induced dyskinesias: a randomizable-blind, placebo-controlled study. *Parkinsonism Relat Disord* 11: 461-469.
13. Laginger E, Werning GK, Boesch S, Poewe W (2000) Beneficial effects of amantadine on L-dopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord* 15: 441-445.
14. de B, Macdonald L, McAuley D, Watts W (2000) The effect of amantadine on levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Neuropharmacol* 23: 82-85.
15. Thomas A, Iacono D, Luciano AL, Amelino K, Di Jock A, et al. (2004) Amantadine treatment of severe Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75: 141-143.
16. Verhagen Metman L, Del Dotto P, van den Munckhof P, Ferg J, Mondrian MH, et al. (1998) Amantadine as treatment for dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. *Neurology* 51: 1323-1326.
17. Wolff K, Kraschinsky R, Hohenberger G, Reussner G, et al. Long-term anticholinergic efficacy of amantadine in Parkinson's disease. *Mov Disord* 25: 1377-1383.
18. Cooney NJ, Deane KH, Clark CE (2001) Amantadine for dyskinesia in Parkinson's disease. *Cochrane Database Syst Rev* CD001045.
19. Pavia R, Factor SA, Lyons KE, Ondo WG, Grossert G, et al. (2006) Practice Parameter: treatment of Parkinson disease with motor fluctuations and dyskinesias (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 66: 981-995.
20. Koller D, Schulz SK, Ahman D (2001) The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomized trials. *Stat Med* 20: 357-370.
21. Daniel WG, Lees AJ (1989) Parkinson's Disease Society Brain Bank. London: University of London.
22. Goetz CG, Stebbins GT, Shinkoff RM, Leurgans AE, Chertuk DA, et al. (1994) Utility of an objective dyskinesia assessment in Parkinson's disease: inter- and intra-rater reliability assessment. *Mov Disord* 9: 390-394.
23. Schandlauer J, Treubwasser G (2007) Treatment of drug-induced psychosis in Parkinson's disease with apomorphine can induce severe dose-dependent off-phenomena. *Mov Disord* 22: 102-105.
24. Nakayama N, Nagai M, Morioka T, Yabe H, Nomoto M (2009) Plasma amantadine concentrations in patients with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 15: 351-353.
25. Koller D, Bressi HA, Vekovik S, Akhbari P (2000) Levodopa-associated dyskinesia risk among Parkinson-disease patients in Olmsted County, Minnesota, 1976-1990. *Arch Neurol* 57: 202-209.
26. Merello M, Ferz-Lopez S, Amico J, Olanow JA (2006) Dyskinesias induced by amantadine in Parkinson's disease: an antipsychotic in amantadine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77: 172-174.

パーキンソン病治療における徐放性製剤の意義

パーキンソン病治療における徐放性製剤の意義

水野美邦¹
山本光利²
久野貞子³
長谷川一子⁴
服部信孝⁵

水野美邦¹
山本光利²
久野貞子³
長谷川一子⁴
服部信孝⁵

- 1 : 北里大学医学部神経再生医療学 特任教授
- 2 : 香川県立中央病院神経内科 主任部長
- 3 : 京都四条病院パーキンソン病・神経難病センター センター長
- 4 : 独立行政法人国立病院機構相模原病院神経内科 医長
- 5 : 順天堂大学医学部附属順天堂医院脳神経内科 教授

「新薬と臨牀」第59巻第10号別冊
(平成22年10月10日発行)
医薬情報研究所

Significance of Extended-Release Drug Formulations in the Treatment of Parkinson's Disease

Yoshikumi Mizuno, M.D.¹, Mitsutoshi Yamamoto, M.D.², Sadako Kuno, M.D.³,
Kazuko Hasegawa, M.D.⁴ and Nobutaka Hattori, M.D.⁵

- 1 : Department of Neuroregenerative Medicine, Kitasato University School of Medicine, Kanagawa, Japan
- 2 : Department of Neurology, Kagawa Prefectural Central Hospital, Kagawa, Japan
- 3 : Center for Parkinson's Disease and Neurological Intractable Diseases, Kyoto Shijo Hospital, Kyoto, Japan
- 4 : Department of Neurology, National Hospital Organization Sagami Hospital, Kanagawa, Japan
- 5 : Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

- 1 : 北里大学医学部神経再生医療学 特任教授
- 2 : 香川県立中央病院神経内科 主任部長
- 3 : 京都四条病院パーキンソン病・神経難病センター センター長
- 4 : 独立行政法人国立病院機構相模原病院神経内科 医長
- 5 : 順天堂大学医学部附属順天堂医院脳神経内科 教授

とは極めて難しいと考えられる。最近の臨床研究として、L-DOPA/カルピドバ/エンタカポンの割合を投与することにより運動合併症の発現抑制が可能かどうかについての研究(STRIDE-PP study)⁹⁾結果が発表された。本研究から、L-DOPA/カルピドバ/エンタカポンの1日4回投与では、対照薬であるL-DOPA/カルピドバよりもジスキネジアの発現は早期にみられ、発現率も高いというネガティブな結果が示された。この結果は、1日複数回投与により薬剤の血中濃度が上昇しCDSを得られなかったことを示した結果であると捉えることもできる。

II パーキンソン病患者におけるアドヒアランスの評価

パーキンソン病において十分な治療効果を得るためには、もう1つの要因として、患者のアドヒアランスについて十分考慮する必要がある。パーキンソン病以外の疾患におけるアドヒアランスの研究は多く、その重要性が示されているもの^{10,11)}、パーキンソン病患者におけるアドヒアランスに関する研究はあまり多くはない。この中で代表的なものとしてGrosset¹²⁾が、単一の施設における54例のパーキンソン病患者に対して行った処方薬の服薬不遵守に関する3カ月間の観察研究がある。これによると約20%の患者においてアドヒアランスが平均して80%を下回り、服薬遵守率が80%を超える、すなわちアドヒアランス良好であった患者の割合は全体の約80%であったことが示された。

また、Leopold¹³⁾はパーキンソン病患者を対象に、服薬に関する患者アンケートによる自己申告ならびにMedication Event Monitoring System (MEMS)と呼ばれる薬瓶の開閉回数や時間を電子的にモニタリングするシステムを用い、薬剤の服薬状況およびアドヒアランスを調査した。その結果、患者39例のうち28日間の服薬スケジュールを完全に遵守し

キソール¹⁴⁾、ロビニロール^{9,15)}、カベルゴリン¹⁷⁾などのドパミンアゴニストから治療を開始することで、L-DOPAで治療を開始した患者に比べてwearing off, ジスキネジアをはじめとした運動合併症の発現を明らかに遅らせることが示されている。

このようなL-DOPAの長期投与に伴い発現する症状の日内変動やジスキネジアなどの運動合併症については、線条体のドパミン神経終末のシナプス間隙におけるドパミン濃度が治療薬投与により増加し、ドパミン受容体間歇的に刺激されること (pulsatile stimulation) により惹起されるといわれている。最近では運動合併症の発現抑制には、持続的にドパミン受容体を刺激することが重要であるという、持続的ドパミン刺激 (Continuous Dopaminergic Stimulation (CDS)) というキーワードが登場し、パーキンソン病の薬物治療における1つの治療概念として注目されることには、その1つの方法として、パーキンソン病治療薬の徐放性製剤が開発されつつある。そこで本誌では、パーキンソン病治療薬の徐放性製剤の意義や各製剤の特徴などについて概説したい。

I CDSの概念に基づいたパーキンソン病の薬物治療

パーキンソン病治療において、ドパミン受容体を持続的に安定して刺激することの重要性は以前より指摘されていたが、CDSというキーワードはこのような背景で実施されたL-DOPAの腸管内持続投与についての論文¹⁸⁾において登場した。理論的には持続的な静注製剤の投与などによってCDSが達成されれば、パーキンソン病患者において症状の日内変動、ジスキネジアなどの運動合併症の発現はある程度予防可能であろう。また薬剤の血中濃度を安定化させることができれば、薬剤の副作用が軽減できるなどのメリットが期待できる。しかし、経口薬においてCDSを達成するこ

はじめに

パーキンソン病における薬物治療は、ゴードスタント¹⁾とされるL-DOPA、ドパミンアゴニストをはじめ、COMT阻害薬、ゾニサミドなどといった新規の薬剤の登場により、その治療選択肢は充実しつつある。2002年に発表された現行の日本神経学会「パーキンソン病治療ガイドライン」¹⁾は、これら新たな薬物治療の研究を加え改訂作業が行われているが、現ガイドラインにおける早期治療アルゴリズムでは、70~75歳より若年の患者ではドパミンアゴニストから治療を開始することを推奨している。一方、70歳以上の高齢者や認知症がある患者ではL-DOPAから治療を開始すべきとの治療戦略が推奨されている。しかし、L-DOPA治療では、治療開始後数年を経過するとwearing offをはじめとする症状の日内変動やジスキネジアなどの運動合併症が発現し、治療上の助けになることが依然として問題視されている。L-DOPAは、2004年に発表されたELLDOPA study²⁾の結果により、L-DOPA 150mg、300mg、600mg/日を4週間投与し、ウォッシュアウト期間2週間後のUnified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) において治療効果が維持されていることが示された。この結果は、これまでいわれてきたL-DOPAがドパミン神経障害を助長するといった考えを覆すものとされ、L-DOPA再評価の気運が高まった。しかし、本試験においても運動合併症、なかでもジスキネジアの発現率は150mg群で3例、300mg群で2例、600mg群で15例に認められており、L-DOPAの投与量の増加に伴う有意な発現率の上昇が確認された (p<0.0001)。

一方、症状の日内変動や運動合併症の予防ならびに抑制に際しては、早期にドパミンアゴニストから治療開始することが発現を抑制することが可能であることが複数の臨床試験より示されている。すなわち、ブラミベ

ていた患者はわずかに4例 (10.3%) のみであり、処方量の80%を下回る服薬と定義したアドヒアランス不良の患者は6例 (15.4%) であった。さらに、本研究では、患者アンケートからは24.3%に飲み忘れがあったとの回答が得られているが、MEMSの記録によると51.3%の患者で少なくとも週に1回の飲み忘れがあったことが明らかとなった。また、服薬時間についても、患者アンケートでは73.0%の患者で服薬時間にズレがあったものの、MEMSの記録では82.1%の患者で服薬時間が遵守されていたことなどの差異がみられた。本研究のような患者の自己申告によるデータは、患者が医療従事者に対する恐れや申し訳なきなどの心理からアドヒアランス不良を秘匿することが考えられ、一般的にアドヒアランスを過大評価してしまう傾向にあることが指摘されている。一方で、MEMSから得られるデータについても、短期間の服薬状況にとどまることが多いことが限界として挙げられている。

このような背景から、米国において1997~2004年の7年間の健康保険請求データを基に、パーキンソン病患者3119例におけるアドヒアランス不良の頻度を明らかにしようという研究¹⁹⁾が行われた。本研究において、総処方量に対する実際の服薬量の割合であるMedication Possession Rate (MPR) をアドヒアランスの指標とし、MPR<0.8をアドヒアランス不良として評価したところ、実に約61%の患者がアドヒアランス不良であったことが示された。このことから実際の医療現場におけるアドヒアランス不良は、患者の自己申告やMEMSにより報告された15~20%という範囲よりもさらに多いことが示唆されている。

III パーキンソン病におけるアドヒアランスに影響を及ぼす因子

Leopold¹³⁾の研究における患者アンケートにおいて示された「服薬を忘れるまたは正しい時間に服薬できない理由」は、「忙しくて忘

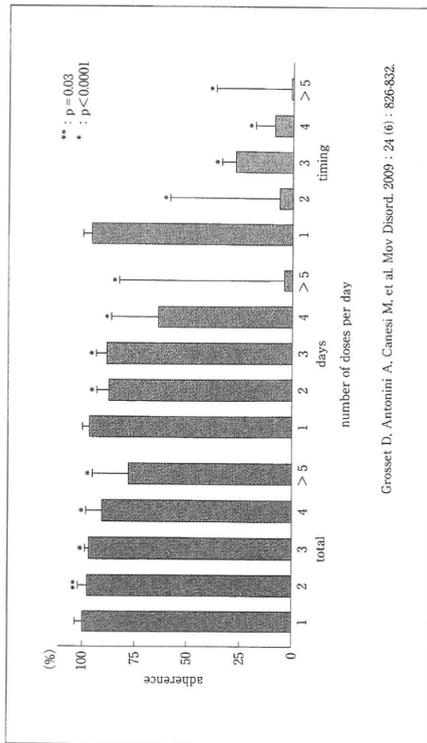


図1 1日あたりの投与回数別の服薬遵守率

れてしまう。「薬剤を携帯せずに外出した」などであった。また、Grossetら¹⁵⁾によれば、アドヒアランス不良に関連する因子として、若年であること、1日に服薬する必要がある、抗パーキンソン病治療薬の錠数が多いこと、抑うつスコアが高いことなどを挙げている。

パーキンソン病治療におけるアドヒアランスに影響を及ぼす因子について、Grossetら¹⁵⁾はMEMSを用い、欧州5カ国8施設において4週間の検閲を行った。これはパーキンソン病の服薬行動に関する大規模な研究である。本研究におけるアドヒアランスの指標として、総服薬量を総処方量で除した「総アドヒアランス」、MEMSによりモニタリングされた日に処方された回数を服薬したかどうかの「日数アドヒアランス」、適切な時間間隔で服薬されたかどうかの「タイミングアドヒアランス」の3つの指標を用いた。その結果、対象患者112例のうち、総アドヒアランスで80%以上と定義したアドヒアランスが最適な患者は98例(87.5%)、アドヒアランスが最適以下(80%未満)の患者は

14例(12.5%)であった。アドヒアランスに影響を及ぼす因子として1日あたりの服薬回数、アドヒアランスは、1日2回以上の投与の薬剤に比べて総アドヒアランス、日数アドヒアランスおよびタイミングアドヒアランスのすべてにおいて有意に高いことが明らかとなった(総アドヒアランス: $p=0.03$ または $p<0.00001$ 、日数アドヒアランスおよびタイミングアドヒアランス: $p<0.0001$ 、図1)。また、ドパミンゴニストにおける服薬回数との関係において、1日1回投与の薬剤に比べて総アドヒアランス、日数アドヒアランス、タイミングアドヒアランスが有意に高いことが示されており(総アドヒアランス: $p=0.006$ 、日数アドヒアランス: $p<0.00001$ 、図2)、パーキンソン病患者においては服薬回数が少ない薬剤によってアドヒアランスが向上することが示唆されている。

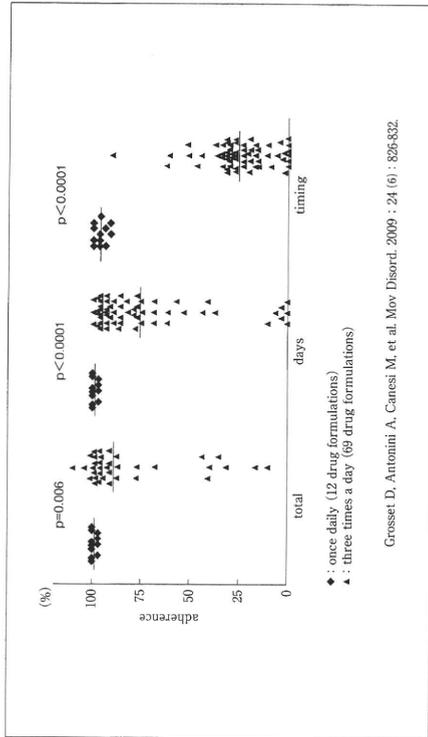


図2 ドパミンゴニストの投与回数別にみた服薬遵守率

IV パーキンソン病治療薬における1日1回投与の薬剤のメリット

パーキンソン病の発症年齢は50~60歳であることに加え、高齢化社会の進展や治療法の進歩により患者の高齢化が進んでいる。高齢者では一般的にアドヒアランスが低下しやすく、その要因(図3)¹⁶⁾としては、慢性疾患や多くの疾患に罹患していることに加えて、患者の認知機能および日常生活動作(ADL)の低下、処方薬剤の数、種類、服薬回数が多いなどといったパーキンソン病患者に当てはまる要因も多い。

また、患者は薬剤に関して不安を感じていることもある。くすりの適正使用協議会が実施した「一般市民の医薬品および医療に関する意識調査」¹⁷⁾において、慢性疾患で通院中の患者475例のうち63%が処方薬に対し何らかの不安を感じているという回答が得られている。実際に医療現場で直面するパーキンソン病患者の中には、1日に何度も薬剤を服薬するこ

とや薬剤の種類や錠数が増えることはむしろ体に悪いことであるとの心理的な不安や抵抗感を訴える患者も多い。パーキンソン病患者の多くでL-DOPAを処方されていることを考えると、1日に3~6回の服薬が必要となると考えられる。したがって、1日のうち1回でも服薬回数が減ることは患者の心理面において大きなメリットとなる可能性がある。また、パーキンソン病は介護面から家族をはじめとする周囲の人々に多くの負担を強いられる疾患でもある。高齢者では一般的に嚥下機能の低下がみられるが、パーキンソン病患者でも進行期において嚥下障害がみられるため、誤嚥を起こす可能性から錠口での服薬が困難となる。こういった患者では、介護者による服薬の援助が必要となるため、1日に複数回の服薬は介護者にとっても大きな負担となる。したがって、1日の服薬回数が少ないパーキンソン病治療薬は介護者にとっても意義があるように思われる。

V パーキンソン病治療薬における 徐放性製剤の開発状況

海外および国内において治験が実施された、もしくは実施中のパーキンソン病治療薬の徐放性製剤として、プラミベキソール徐放性製剤、ロビニロール徐放性製剤、ロチゴゾン貼付剤および腸管内持続投与するL-DOPA製剤の4剤について、その特徴や臨床成績などを紹介する。

1. プラミベキソール徐放性製剤

プラミベキソールはドパミンD₂およびD₃に強い親和性を有する非変角系のドパミン受容体作動薬である。現在、日本においてはパーキンソン病の治療薬として1日3回経口投与での適応を取得しており、早期パーキンソン病患者に対する単剤投与および進行期パーキンソン病患者に対するL-DOPAとの併用投与による有効性とともに、ジスキネジアなどの運動合併症の抑制ならびにwearing offをはじめとする症状の日内変動の軽減に有用とされている⁽¹⁾⁻⁽²⁾。

今回、開発されたプラミベキソール徐放性製剤は、既存の1日3回経口投与の速放性製剤と比較して1日1回経口投与で24時間以上にわたり血漿中薬物濃度の変動が少なく安定した推移を示すことが、健康人を対象とした検討などにより明らかにされている⁽³⁾⁽⁴⁾。また、海外での臨床成績として、プラミベキソール徐放性製剤は早期ならびに進行期パーキンソン病患者のいずれに対しても既存製剤と同等の高い有効性(図4)および良好な安全性を示すことが報告⁽⁵⁾⁻⁽¹¹⁾されている。そして、既存製剤を服薬中の患者では、1日用量として同用量の徐放性製剤への即時切り替え、すなわち翌日から同用量にて切り替えが可能であることが示されている⁽¹⁾⁽³⁾⁽¹²⁾。

さらに、国内で実施された臨床試験として、wearing offやジスキネジアを認める進行期パーキンソン病患者112例を対象とし、徐放

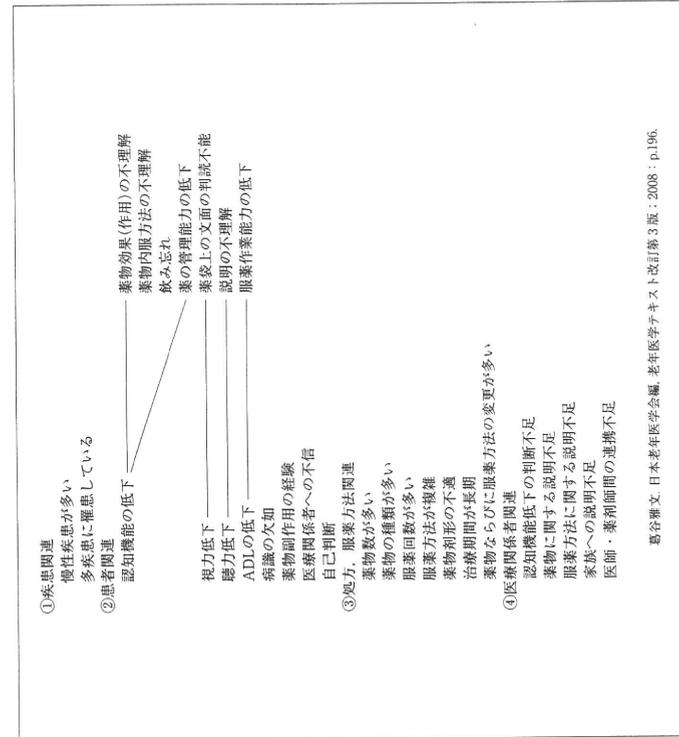


図3 高齢者におけるアドヒアランス低下の要因

一方、医療従事者側からも、1日1回投与の薬剤になることでいくつものメリットが考えられる。たとえば1日3回投与の薬剤では、どうしても昼の服薬を逃してしまうことが多いため、患者のアドヒアランスの向上を図ることは治療をより確実に進めていくうえで不可欠といえる。

また、理論的には持続的な治療効果により良好な症状コントロールが可能となることが考えられる。たとえば1日3回投与のあるドパミンアゴニストの場合⁽⁸⁾、服薬は朝、昼、夕の3回となる。しかし投与間隔は、6時間、6

時間、12時間間隔となり1日1日の血漿中濃度の変動幅は最大約5倍となるといわれている。したがって、投与間隔が長くなる夜間、つまり就寝中に薬剤の効果が減弱する恐れがある。一方、この薬剤の1日1回投与の徐放性製剤の場合、1日1日の血漿中濃度の変動幅は約2倍程度であったことから、徐放性製剤による24時間の安定した効果の持続、すなわち睡眠障害や夜間の運動症状の改善および副作用の軽減などが期待される。

性製剤と既存の速放性製剤との有用性を比較した多施設無作為化二重盲検試験⁽¹³⁾がある。この試験は、徐放性製剤または速放性製剤を12週間投与する二重盲検期、ならびにその後徐放性製剤に即時切り替えて52週間投与する非盲検期で構成された。有効性の評価として、UPDRS Part II (日常生活動作) およびPart III (運動能力) の合計スコアを観察したところ、アスラインから二重盲検期終了時の合計スコアの変化量は徐放性製剤群 (56例) で-13.6、速放性製剤群 (56例) で-13.3となり、両群で有意な症状改善が認められた (両群ともにp<0.0001)。O/E時間に関しては、起きている時間に占める割合 (%) が、徐放性製剤群で投与前19.2%から12週後13.2%へ58% (0.9時間) 減少 (p=0.0184)、速放性製剤群で18.4%から10.8%へ7.8% (1.3時間) 減少 (p=0.0017) し、同様に、ジスキネジアを伴わないon時間はそれぞれ6.0%増加 (p=0.0171) および7.1%増加 (p=0.0046) した。また、速放性製剤群に割り付けられた症例の大部分が、非盲検期への移行時において同用量の徐放性製剤への即時切り替えが可能であった。さらに、UPDRS Part II + III 合計スコアの改善効果およびO/E時間減少効果は64週間にわたって良好に推移すること示された。なお、二重盲検期における副作用の種類や頻度に両群で大きな差は認められず同様であることが確認された。

本剤は、2009年10月に欧州において、2010年5月に米国において、早期から進行期に及ぶパーキンソン病を適応として承認されている。日本では、現在、早期から進行期に及ぶパーキンソン病の適応にて承認申請中である。

2. ロビニロール徐放性製剤

ロビニロールはドパミンD₂受容体系に選択的に作用する非変角系ドパミン受容体作動薬に分類される。現在、日本においては1日3回経口投与による用法で承認された速放性製剤が上市されている。各種レビュー論文からは、早期パーキンソン病患者に対しては、早期

表1 進行期パーキンソン病患者におけるロビニロール徐放性製剤の症状改善効果

	mean (2 S.E.) ; n change from baseline		adjusted treatment difference (95% CI)	p value
	ropinirole 24-hour prolonged release (n=201)	placebo (n=190)		
Off time (diary)	-21 (0.64) ; 201	-0.3 (0.64) ; 190	-1.7 (-2.4, -1.0)	<0.0001
On time (diary)	1.6 (0.64) ; 201	-0.1 (0.64) ; 190	1.7 (1.06, 2.33)	<0.0001
On without troublesome dyskinesia (diary)	1.6 (0.64) ; 200	0.1 (0.65) ; 188	1.5 (0.85, 2.13)	<0.0001
% *Off* time (diary)	-12.1 (4.01) ; 201	-0.9 (4.05) ; 190	-11.2 (-15.13, -7.21)	<0.0001
% *On* time (diary)	12.1 (4.00) ; 201	1.0 (4.04) ; 190	11.1 (7.17, 15.08)	<0.0001
% *On* without troublesome dyskinesia (diary)	12.3 (4.00) ; 200	2.7 (4.08) ; 188	9.7 (5.67, 13.69)	<0.0001
UPDRS Motor	-6.5 (1.81) ; 194	-1.7 (1.83) ; 183	-4.8 (-6.56, -2.98)	<0.0001
UPDRS ADL	-3.5 (0.78) ; 197	-0.9 (0.79) ; 184	-2.6 (-3.36, -1.83)	<0.0001

UPDRS : Unified Parkinson's Disease Rating Scale, ADL : Activities of Daily Living

Pahwa R, Stacy MA, Factor SA, et al. Neurology. 2007 ; 68 (9) : 1108-1115.

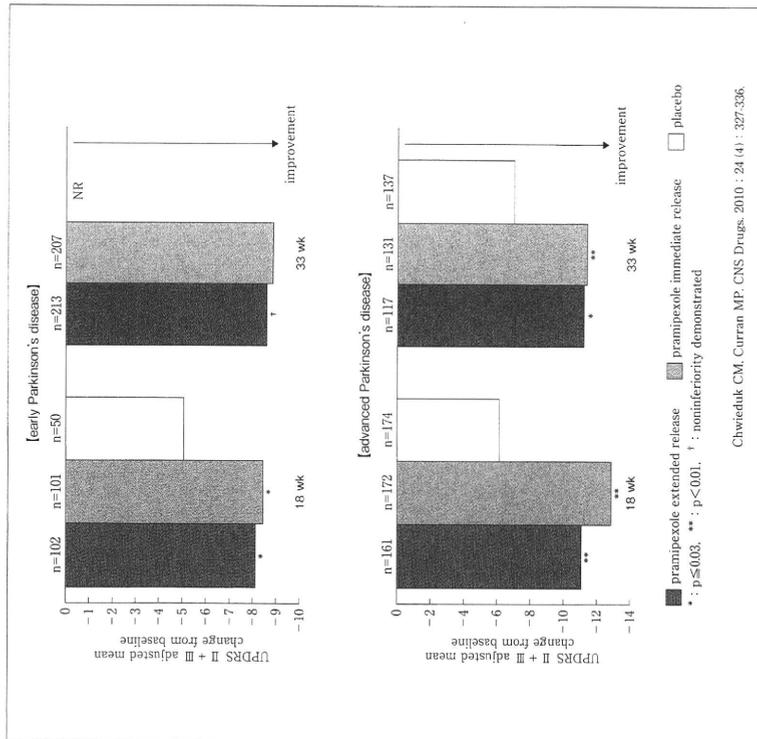


図4 早期および進行期パーキンソン病患者におけるプラミベキソール徐放性製剤の症状改善効果

与での有効性とともに、進行期パーキンソン病患者での運動合併症の抑制および症状の日内変動の軽減に有用とされている¹⁹⁾⁻²²⁾。また、早期パーキンソン病患者を対象とした第II相薬物動態試験から、1日1回経口投与のロビニロール徐放性製剤は1日3回経口投与の速放性製剤と比較して血漿中薬物濃度の変動が小さく、24時間にわたり安定した薬物動態を示すとともに、速放性製剤から徐放性製剤への切り替えは1日用量として同用量の即時切り替えが可能との結果が得られている^{18,23)}。臨床成績に関しては、早期パーキンソン病患者に対し、本剤は速放性製剤と同等の有効性および忍容性を示すことが報告されており、また、進行期パーキンソン病患者での有用性についても明らかにされている²⁰⁾⁻²⁸⁾。この進行期パーキンソン病患者におけるプラセボ対照無作為化試験²⁹⁾の成績を紹介する。

患者をロビニロール徐放性製剤群 (202例) またはプラセボ群 (191例) に割り付け、24週間観察したところ、徐放性製剤群ではL-DOPA投与量の減量が可能となり、ブライマリーエントポイントとした1日あたりのoff時間の減少は徐放性製剤群で平均0.3時間減少に比して有れ、プラセボ群の平均0.3時間減少に比して有意となった ($p<0.0001$, 表1)。また、ジスキネジアを伴わないon時間は徐放性製剤群で有意に増加し (1.6時間増加 vs. 0.1時間増加, $p<0.0001$)、UPDRS Part IIおよびPart IIIの各スコアについても24週時点において本剤投与による有意な改善が確認された (いずれも $p<0.0001$)。

本剤はすでにフランスや米国で承認・上市されているが、日本においては現時点で第III相試験の段階にある。

3. ロチゴチン貼付剤

非麦角系ドパミン受容体作動薬 (D₂/D₂/D₁受容体) のロチゴチン群 (204例) とプラミベキソール群 (201例) で同等で、症状の日内変動の軽減に有効であることが示されたものの、運動合併症の抑制効果については確認できていない。

本剤は2006年2月にEU諸国で、2007年5月

可能とされる。
早期パーキンソン病患者を対象としたプラセボ対照二重盲検比較試験⁶⁾からは、プラセボ群 (96例) に対するロチゴチン群 (181例) : 開始用量を2 mg/24時間とし、その後1週ごとに6 mg/24時間まで漸増) での6ヵ月後のUPDRS Part IIとPart III合計スコアの有意な改善などが示され、副作用は既存のドパミン受容体作動薬と類似したものであることが確認された。また、進行期パーキンソン病患者に対しては、プラセボ対照二重盲検比較試験⁴⁾において、プラセボ群 (120例) に比してロチゴチン群で25週後のoff時間の有意な減少が認められ (8 mg/24時間群 (120例) : 1.8時間減少, 12 mg/24時間群 (111例) : 1.2時間減少, 図5)、プラミベキソール速放性製剤 (1日3回経口投与) を対照とした二重盲検比較試験⁴⁾からは、6ヵ月間の試験期間におけるoff時間減少効果はロチゴチン群 (204例) とプラミベキソール群 (201例) で同等で、症状の日内変動の軽減に有効であることが示されたものの、運動合併症の抑制効果については確認できていない。

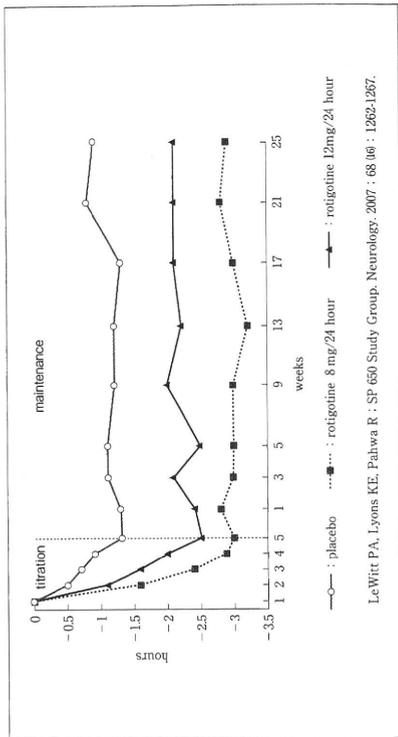


図5 進行期パーキンソン病患者におけるロカゴナチン貼付剤によるoff時間の減少

に米国でそれぞれ早期パーキンソン病患者に
対する適応承認が得られ上市されている。一
方、日本においては現在、第Ⅲ相試験が進行
中である。

4. L-DOPA/カルビドパドバ十二指腸投与製剤

本剤はゲル状懸濁液のL-DOPA製剤 (L-DOPAメチルエステル) をポーターポンプにより持続的に胃または十二指腸に注入するものである。すなわち、このような方法によって一定量のL-DOPA製剤を腸管内に注入し血中濃度を一定に保つことで、L-DOPAの血中濃度変化に起因するジスキネジアを軽減することが可能と考えられている。

実際、L-DOPA/カルビドパドバの服薬により重篤な運動合併症が認められる進行期パーキンソン病患者6例に対するL-DOPA製剤の腸管内持続投与〔胃薬または空腸瘻を遠設し(各3例)、日中の12時間投与を6カ月間実施)の検討⁸¹⁾から、off時間が有意に減少し(ベースライン7.8時間→6カ月後1.7時間、 $p<0.001$)、ジスキネジアを伴わないon時間も有意に増加するとともに(ベースライン0.5時間→6カ月

後9.4時間、 $p<0.001$)、ジスキネジア関連スコア (UPDRS PartⅣ 項目32-34) の有意な改善が認められた ($p<0.001$ 、表2)。しかも、薬物動態の検討から、持続投与による症状の日内変動の軽減はトラフを回避することで観察され、血中L-DOPA濃度が比較的高値であつても有害な影響はなかったと報告された。同様に、L-DOPA製剤の十二指腸への単独持続投与の有用性が進行期パーキンソン病患者を対象とした無作為化クロスオーバー試験⁸²⁾およびオーブンランダム試験⁸³⁾によって示されており重要な治療選択肢の1つと示唆されるものの、その一方で、現段階ではこうした方法は運動合併症を抑制する最終手段としてのみ有効⁸⁴⁾とされており、患者への適応を考慮するにはさらなるエビデンスの蓄積が不可欠と指摘されている⁸⁵⁾。

本剤は2009年3月時点でスウェーデン、フランス、ドイツ、英国、オーストリアを含む34カ国において承認されており、通常の錠剤薬物療法で十分な効果が得られない重度の運動合併症を有するパーキンソン病患者 (Hoehn

表2 進行期パーキンソン病患者におけるL-DOPA/カルビドパドバ十二指腸投与製剤の症状改善効果

	mean ± S.D. score		p value
	baseline	6 months	
UPDRS motor score, on state	24.8 ± 5.5	24.0 ± 4.7	
UPDRS motor score, off state	78.5 ± 4.6	77.0 ± 4.9	
UPDRS ADL score, on state	21.8 ± 1.9	16.3 ± 1.9	<0.001
UPDRS ADL score, off state	45.0 ± 3.0	20.2 ± 1.5	<0.001
time in off state, h/d	7.8 ± 0.8	1.7 ± 0.5	<0.001
time in on state without dyskinesia, h/d	0.3 ± 0.5	9.4 ± 0.8	<0.001
dyskinesia score (AIMS range, 0-5)	4 ± 0.8	1 ± 0.9	<0.001
dyskinesia score (UPDRS items 32-34)	8.8 ± 0.7	3.1 ± 0.7	<0.001
daily levodopa dose, mg	1233 ± 98.3	1224 ± 246.5	

ADL: Activities of Daily Living, AIMS: Abnormal Involuntary Movement Scale, on state: during good response to levodopa, off state: when drug is not working and patients are experiencing parkinsonism, UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale

Stocchi F, Vacca L, Ruggieri S et al. Arch Neurol. 2005; 62 (6): 905-910.

& Yahr 4, 5) および重度の嚥下障害またはその他の理由により経口薬物療法が困難であり、すでに胃瘻増設が行われているパーキンソン病患者 (Hoehn & Yahr 1 ~ 3) が適応となっている。日本においては第Ⅱ相試験の準備段階にある。

お わ り に

以上、CDSや患者メリットの観点から、パーキンソン病治療における徐放性製剤の可能性や開発中の薬剤について紹介した。

現在のところ本邦において徐放性製剤と呼ばれるパーキンソン病治療薬は乏しく、1日1回投与が可能であるカベルゴリン⁸⁶⁾のみである。しかし2004年のバルゴリド⁸⁷⁾における報告⁸⁸⁾に端を発し、2007年の疫学調査の結果⁸⁹⁾などにより、麦角系ドパミンアゴニストであるカベルゴリンがあるのみである。また、国内における最近の研究⁹⁰⁾が報告され、また、国内において高血圧の患者でも、70歳以上の高齢ならびに高血圧の患者において、麦角系ドパミンアゴニストによる心臓合併症のリスクが著しく上昇するとの報告

もなされている。したがって、本邦では、心臓弁尖肥厚、心臓弁可動制限およびこれらに伴う狭窄等の心臓弁膜の病変が確認された患者、やその既往のある患者での投与は禁忌であり、投与時は心エコーによる検査を定期的に行い、非麦角系ドパミンアゴニストの治療効果が十分または忍容性に問題があると考えられる患者のみに投与するといった制限がある。

パーキンソン病患者においてはアドヒアランスが十分でないことから、1日1回投与の徐放性製剤は必要である。さらに、徐放性製剤により安定かつ持続的なドパミン刺激が達成されれば運動合併症や副作用の軽減など期待されるメリットは大きいと考えられる。しかし、現在までのところ本邦においてファーストラインで使用可能な1日1回投与のパーキンソン病治療薬はない。したがって、今後上市予定の徐放性製剤の意義は大きく、こうした薬剤の登場がパーキンソン病治療、とりわけ長時間にわたる安定かつ持続的なドパミン刺激が得られることによるパーキンソン病症状の日内変動や運動合併症への対策において新たな一歩となることを期待している。

- based medical review update : pharmacological and surgical treatments of Parkinson's disease : 2001 to 2004. *Mov Disord*. 2005 ; 20 (5) : 523-539.
- 21) Horstink M, Tolosa E, Bonuccelli U, et al. Review of the therapeutic management of Parkinson's disease. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Movement Disorder Society-European Section. Part I : early (uncomplicated) Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2006 ; 13 (01) : 1170-1185.
- 22) Horstink M, Tolosa E, Bonuccelli U, et al. Review of the therapeutic management of Parkinson's disease. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies (EFNS) and the Movement Disorder Society-European Section (MDS-ES). Part II : late (complicated) Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2006 ; 13 (01) : 1186-1202.
- 23) Koenen-Bergmann M, Haertter S, Scheepers C. A multiple rising-dose bioequivalence phase I study with a pramipexole extended release (ER) formulation. *Eur J Neurol*. 2008 ; 15 (Suppl.3) : 97 (P1248).
- 24) Chwieduk CM, Curran MP. Pramipexole extended release : in Parkinson's disease. *CNS Drugs*. 2010 ; 24 (4) : 327-336.
- 25) Poewe W, Barone P, Hauser R, et al. Extended-release pramipexole is effective in early Parkinson's disease. Movement Disorder Society's 13th International Congress. Paris, France, June 7-11, 2009. Poster We-185.
- 26) Hauser R, Salim L, Koester J. Double-blind evaluation of pramipexole extended-release (ER) in early Parkinson's disease. 61st Annual Meeting of the AAN, Seattle, Washington, USA, April 25-May 2, 2009. Platform S43.003.
- 27) Poewe W, Barone P, Hauser R, et al. 35-week non-inferiority of extended- vs immediate-release pramipexole tablets in treatment of early Parkinson's disease. Short communication, 13th Congress of the EFNS, Florence, Italy, September 12-15, 2009.
- 28) Hauser R, Barone P, Mizuno Y, et al. Sustained safety and efficacy of pramipexole extended-release in early Parkinson's disease. 62nd Annual Meeting of the AAN, Toronto, Canada, April 10-17, 2010. Poster 04127.
- 29) Schapira AHV, Barone P, Hauser R, et al. Efficacy and safety of pramipexole extended-release for advanced Parkinson's disease. Movement Disorder Society's 13th International Congress. Paris, France, June 7-11, 2009. Poster We-199.
- 30) Schapira AHV, Barone P, Hauser R, et al. Decrease in off-time for extended- and for immediate-release pramipexole in advanced Parkinson's disease. Short communication, 13th Congress of the EFNS, Florence, Italy, September 12-15, 2009.
- 31) Schapira AHV, Barone P, Hauser R, et al. Sustained efficacy and safety of pramipexole extended-release in advanced Parkinson's disease : An open-label trial. 62nd Annual Meeting of the AAN, Toronto, Canada, April 10-17, 2010. Poster 04.128.
- 32) Rascol O, Barone P, Deblieuvre C, et al. Overnight switching from immediate- to extended-release pramipexole in early Parkinson's disease. 61st Annual Meeting of the AAN, Seattle, Washington, USA, April 25-May 2, 2009. Poster P06-152.
- 33) Rascol O, Barone P, Hauser R, et al. Easy switching from immediate- to extended-release pramipexole in early Parkinson's disease at the same daily dosage. Movement Disorder Society's 13th International Congress. Paris, France, June 7-11, 2009. Poster TH-255.
- 34) Mizuno Y, Yamamoto M, Kuno S, et al. Efficacy

参 考 文 献

- entacapone in early Parkinson disease : the STRIDE-PD study. *Ann Neurol*. 2010 ; 68 (1) : 18-27.
- 10) World Health Organization. Adherence to long-term therapies : evidence for action. 2003.
- 11) National Institute for Health and Clinical Excellence. NICE clinical guideline 76—Medicines adherence : involving patients in decisions about prescribed medicines and supporting adherence. January 2009.
- 12) Grosset KA, Bone I, Grosset DG. Suboptimal medication adherence in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2005 ; 20 (01) : 1502-1507.
- 13) Leopold NA, Polansky M, Hurka MR. Drug adherence in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2004 ; 19 (5) : 515-517.
- 14) Davis KL, Edin HM, Allen JK. Prevalence and cost of medication nonadherence in Parkinson's disease : evidence from administrative claims data. *Mov Disord*. 2010 ; 25 (4) : 474-480.
- 15) Grosset D, Antonini A, Canesi M, et al. Adherence to antiparkinson medication in a multicenter European study. *Mov Disord*. 2009 ; 24 (6) : 826-832.
- 16) 暮谷雅文. 服薬指導. In : 日本老年医学会編, 老年医学テキスト改訂第3版. 東京, メジカルビュー社 ; 2008 : p.196.
- 17) くすりの適正使用協議会. 一般市民の医薬品および医療に関する意識調査 概要. 2006.
- 18) Tompson DJ, Vearer D. Steady-state pharmacokinetic properties of a 24-hour prolonged-release formulation of ropinirole : results of two randomized studies in patients with Parkinson's disease. *Clin Ther*. 2007 ; 29 (12) : 2654-2666.
- 19) Rascol O, Goetz C, Koller W, et al. Treatment interventions for Parkinson's disease : an evidence based assessment. *Lancet*. 2002 ; 359 (9317) : 1589-1598.
- 20) Goetz CG, Poewe W, Rascol O, et al. Evidence-
- 1) 日本神経学会「パーキンソン病治療ガイドライン」作成委員会編. パーキンソン病治療ガイドライン—マスタートレーディング—, 東京, 医学書院 ; 2003.
- 2) Fahn S, Oakes D, Shoulson I, et al. Levodopa and the progression of Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2004 ; 351 (20) : 2498-2508.
- 3) Parkinson Study Group. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease. A randomized controlled trial. *JAMA*. 2000 ; 284 (15) : 1931-1938.
- 4) Holloway RG, Shoulson I, Fahn S, et al. Pramipexole vs levodopa as initial treatment for Parkinson disease : a 4-year randomized trial. *Arch Neurol*. 2004 ; 61 (7) : 1044-1053.
- 5) Rascol O, Brooks DJ, Korczyn AD, et al. A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease who were treated with ropinirole or levodopa. 056 Study Group. *N Engl J Med*. 2000 ; 342 (20) : 1484-1491.
- 6) Hauser RA, Rascol O, Korczyn AD, et al. Ten-year follow-up of Parkinson's disease patients randomized to initial therapy with ropinirole or levodopa. *Mov Disord*. 2007 ; 22 (06) : 2409-2417.
- 7) Bracco F, Battaglia A, Chouza C, et al. The long-acting dopamine receptor agonist cabergoline in early Parkinson's disease : final results of a 5-year, double-blind, levodopa-controlled study. *CNS Drugs*. 2004 ; 18 (4) : 733-746.
- 8) Stocchi F, Vacca L, Ruggieri S, et al. Intermittent vs continuous levodopa administration in patients with advanced Parkinson disease : a clinical and pharmacokinetic study. *Arch Neurol*. 2005 ; 62 (6) : 905-910.
- 9) Stocchi F, Rascol O, Kiebertz K, et al. Initiating levodopa/carbidopa therapy with and without

- of pramipexole extended release (ER) and switching from pramipexole immediate release (IR) to ER in Japanese advanced Parkinson's disease (PD) patients. 18th World Federation of Neurology (WFN) World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Miami Beach, FL, USA, December 13-16, 2009.
- 35) Jost WH, Buhmann C, Fuchs G, et al. Initial experience with ropinirole PR (prolonged release). *J Neurol.* 2008; **255** (Suppl. 5): 60-63.
- 36) Nashatizadeh MM, Lyons KE, Pahwa R. A review of ropinirole prolonged release in Parkinson's disease. *Clin Interv Aging.* 2009; **4**: 179-186.
- 37) Weber J, Keating GM. Ropinirole prolonged release: in advanced Parkinson's disease. *CNS Drugs.* 2009; **23** (1): 81-90.
- 38) Onofri M, Bonanni L, De Angelis MV, et al. Long half-life and prolonged-release dopamine receptor agonists: a review of ropinirole prolonged-release studies. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009; **15** (Suppl. 4): S85-92.
- 39) Pahwa R, Stacy MA, Factor SA, et al. Ropinirole 24-hour prolonged release: randomized, controlled study in advanced Parkinson disease. *Neurology.* 2007; **68** (4): 1108-1115.
- 40) Watts RL, Jankovic J, Waters C, et al. Randomized, blind, controlled trial of transdermal rogitone in early Parkinson disease. *Neurology.* 2007; **68** (4): 272-276.
- 41) LeWitt PA, Lyons KE, Pahwa R, SP 650 Study Group. Advanced Parkinson disease treated with rogitone transdermal system: PREFER Study. *Neurology.* 2007; **68** (4): 1262-1267.
- 42) Poewe WH, Rascol O, Quinn N, et al. SP 515 Investigators. Efficacy of pramipexole and transdermal rogitone in advanced Parkinson's disease: a double-blind, double-dummy, randomized controlled trial. *Lancet Neurol.* 2007; **6** (6): 513-520.
- 43) Nyholm D, Nilsson Remahl AI, Dizdar N, et al. Duodenal levodopa infusion monotherapy vs oral polypharmacy in advanced Parkinson disease. *Neurology.* 2005; **64** (2): 216-223.
- 44) Antonini A, Isaacs IU, Canesi M, et al. Duodenal levodopa infusion for advanced Parkinson's disease: 12-month treatment outcome. *Mov Disord.* 2007; **22** (8): 1145-1149.
- 45) Devos D; French DUODOPA Study Group. Patient profile, indications, efficacy and safety of duodenal levodopa infusion in advanced Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2009; **24** (7): 993-1000.
- 46) Clarke CE, Worth P, Grosset D, et al. Systematic review of apomorphine infusion, levodopa infusion and deep brain stimulation in advanced Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009; **15** (4): 728-741.
- 47) van Camp G, Flanvez A, Cosyns B, et al. Treatment of Parkinson's disease with pergolide and relation to restrictive valvular heart disease. *Lancet.* 2004; **363** (9416): 1179-1183.
- 48) Schade R, Andersohn F, Suissa S, et al. Dopamine agonists and the risk of cardiac-valve regurgitation. *N Engl J Med.* 2007; **356** (1): 29-38.
- 49) Oeda T, Masaki M, Yamamoto K, et al. High risk factors for valvular heart disease from dopamine agonists in patients with Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2009; **116** (2): 171-178.