

プリオン病サーベイランスにおけるヒトプリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析

研究分担者：佐藤 克也 長崎大学・院・運動障害リハビリテーション学講座
（神経内科学専攻）

研究要旨(プリオン病サーベイランスにおけるヒトプリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析)：

平成 24 年 10 月から平成 26 年 9 月までに測定依頼のあった 650 症例について検討を行った。この 650 症例について髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析を行った。プリオン病サーベイランス委員会にて検討され、プリオン病と診断された症例数は 220 症例であった。髄液検査に依頼された症例の中、孤発性プリオン病は 190 症例、遺伝性プリオン病は 29 症例、獲得性プリオン病は 1 症例であった。非プリオン病は 430 症例であり、非プリオン病の症例では症候性てんかん、アルツハイマー型認知症、レビー小体型認知症、前頭側頭型認知症、傍腫瘍症候群であった。ヒトプリオン病の患者における孤発性プリオン病の髄液中のバイオマーカーで 14-3-3 蛋白と総タウ蛋白の感度は 73.9 %、78.3 %であった。ヒトプリオン病の患者における髄液中異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）の感度は孤発性プリオン病では 72.2%、さらなる症例の蓄積と特異度を高める RT-QUIC 法の改良が必要であると考えられた。

A. 研究目的（プリオン病サーベイランスにおけるヒトプリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析）

2011 年ヒト孤発性プリオン病における髄液中の異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）の解析結果を報告した。今回我々はプリオン病サーベイランスにおけるヒト孤発性プリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）の解析とその問

題点を明らかにすることを本研究の目的とした。

B. 研究方法

1) 平成 24 年 10 月から平成 25 年 9 月までに測定依頼のあった 430 症例について検討を行った。

この 430 症例について髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法（RT-QUIC 法）による解析を前向き試験にて行った。（表 1）

2) 早期診断について
発症から 6 週間以内

- ・ 歩行できる
- ・ しゃべることができる

以上のことをプリオン病患者におけるの“早期”の定義とする。早期におけるプリオン病患者の髄液中の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオン蛋白試験管内増幅法 (RT-QUIC 法) による解析を前向き試験にて行った。

(倫理面への配慮)

研究環境・生命倫理・安全対策に関わる全般を所掌する部門があり、人に関わる研究・動物実験を伴う研究・遺伝子組換え実験を伴う研究のすべてが、機関長への申請の手続きを必要とする。機関長から付託された全学的メンバーで構成される各種実験審査委員会(倫理審査委員会、動物実験委員会、組換え DNA 実験委員会)において研究内容が審査され、研究環境・生命倫理・安全対策に問題がなく法律規則を順守していることが確認されたのちに、機関長から許可される体制が取られている。研究開始後は、人に関わる研究では毎年、動物実験を伴う研究及び遺伝子組換え実験を伴う研究では各機関が定める時期毎に、研究状況を機関長に報告することになっている。

検査および実験については、医学部共同生物災害防止実験施設内の BSL2, BSL3 実験室を利用し、病原体の拡散防止には万全を期している。

C. 研究結果

1) 前向き試験では 14-3-3 蛋白の感度は 73.9%、総タウ蛋白は 78.3%、RT-QUIC 法は 72.3%であった(表 2 と表 3)。14-3-3 蛋白と総タウ蛋白と RT-QUIC 法の組み合わせ

せにていずれも陽性であった症例は 220 症例中 102 症例であった。

2) 早期診断では 14-3-3 蛋白の感度は 69.3%、総タウ蛋白は 74.6%、RT-QUIC 法は 71.1%であった(表 4 と表 5)。

早期でバイオマーカーと異常プリオン蛋白試験管内増幅法 (RT-QUIC 法) で陰性だった症例で 1 か月の再提出で陽性になった症例が 5 例あった。

D. 考察

1) 発症早期でバイオマーカーと異常プリオン蛋白試験管内増幅法 (RT-QUIC 法) で陰性だった症例で再検する必要がある。

2) 発症早期でバイオマーカー陽性であった症例でも経過中にプリオン病が考えにくい症例では再提出する必要性はあると考えられた。

。

E. 結論

今後さらなる症例の蓄積が必要であると考えられる。

[参考文献]

[雑誌] なし

[書籍] なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (2014/4/1~2015/3/31 発表)

1. 論文発表

1. Takatsuki H, Satoh K, Sano K, Fuse T, Nakagaki T, Mori T, et al. Rapid and Quantitative Assay of Amyloid-Seeding Activity in Human Brains Affected with Prion Diseases. PLoS One. 2015;10(6):e0126930.

2. Schmitz M, Ebert E, Stoeck K, Karch A, Collins S, Calero M, et al. Validation of 14-3-3 Protein as a Marker in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnostic. Mol Neurobiol. 2015.
3. Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Fuse T, Mori T, Satoh K, et al. Ubiquitin-specific protease 14 modulates degradation of cellular prion protein. Sci Rep. 2015;5:11028.
4. Hayashi Y, Iwasaki Y, Yoshikura N, Asano T, Hatano T, Tatsumi S, et al. Decreased regional cerebral blood flow in the bilateral thalami and medulla oblongata determined by an easy Z-score (eZIS) analysis of Tc-ECD-SPECT images in a case of MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. J Neurol Sci. 2015.
5. Cramm M, Schmitz M, Karch A, Mitrova E, Kuhn F, Schroeder B, et al. Stability and Reproducibility Underscore Utility of RT-QuIC for Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. Mol Neurobiol. 2015.
6. Amano Y, Kimura N, Hanaoka T, Aso Y, Hirano T, Murai H, et al. Creutzfeldt-Jakob disease with a prion protein gene codon 180 mutation presenting asymmetric cortical high-intensity on magnetic resonance imaging. Prion. 2015; 9(1):29-33

2. 学会発表

1. 佐藤 克也、高月英恵、新竜一郎、西田 教行: 異常型プリオン蛋白試験管内増幅法と バイオマーカーを用いたプリオン病の髄液診断法. [演者] 第56回日本神経学会学術大会、新潟市、5月20日～

23日、口演発表

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む.)

なし。

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

3. その他

表 1. 650 症例の内訳

650症例の内訳		
・プリオン病患者は220症例 (probable cases)		
・ 孤発性プリオン病	190	症例
・ 遺伝性プリオン病	29	症例
・ 獲得性プリオン病	1	症例
・ 非プリオン病は430症例		
・ 症候性てんかん	205	症例
・ VGKCを含めた自己免疫性脳炎・脳症	75	症例
・ アルツハイマー型認知症	15	症例
・ 低酸素脳症	4	症例
・ 多発性硬化症	1	症例
・ その他	130	症例

表 2 . 220 症例での総タウ蛋白、14-3-3 蛋白、QUIC 法の陽性率

	14-3-3 protein	総タウ蛋白	RT-QUIC assay
感 度	73.9 %	78.3 %	72.2 %

表3 . 220 症例での総タウ蛋白、14-3-3 蛋白、QUIC 法での検討

14-3-3蛋白	総タウ蛋白	QUIC法	
+	+	+	102 例
-	+	+	12 例
+	-	+	5 例
-	-	+	11 例
+	+	-	23 例
-	+	-	4 例
+	-	-	3 例
-	-	-	20 例

表4 . 早期における総タウ蛋白、14-3-3 蛋白、QUIC 法について

	14-3-3 蛋白	t-tau 蛋白	RT-QUIC 法
感度	69.3 %	74.6 %	71.1 %

表5 . 早期における総タウ蛋白、14-3-3 蛋白、QUIC 法の検討について

14-3-3蛋白	総タウ蛋白	QUIC法	
+	+	+	63 例
-	+	+	7 例
+	-	+	3 例
-	-	+	8 例
+	+	-	12 例
-	+	-	3 例
+	-	-	1 例
-	-	-	17 例