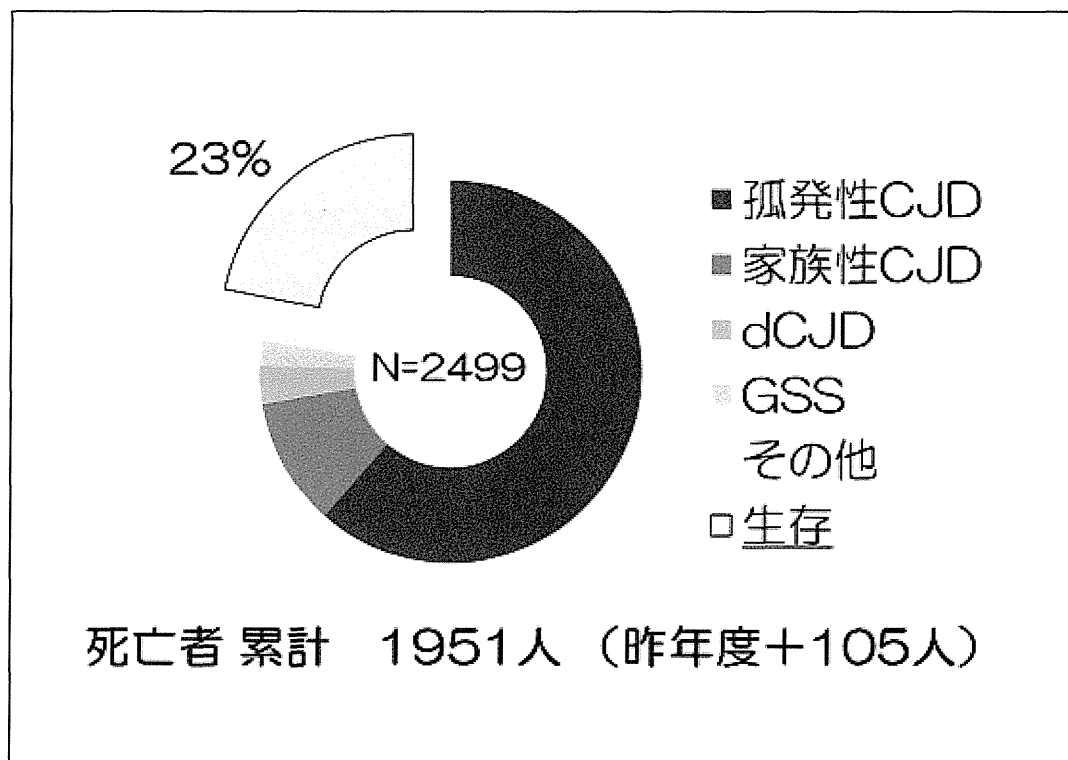
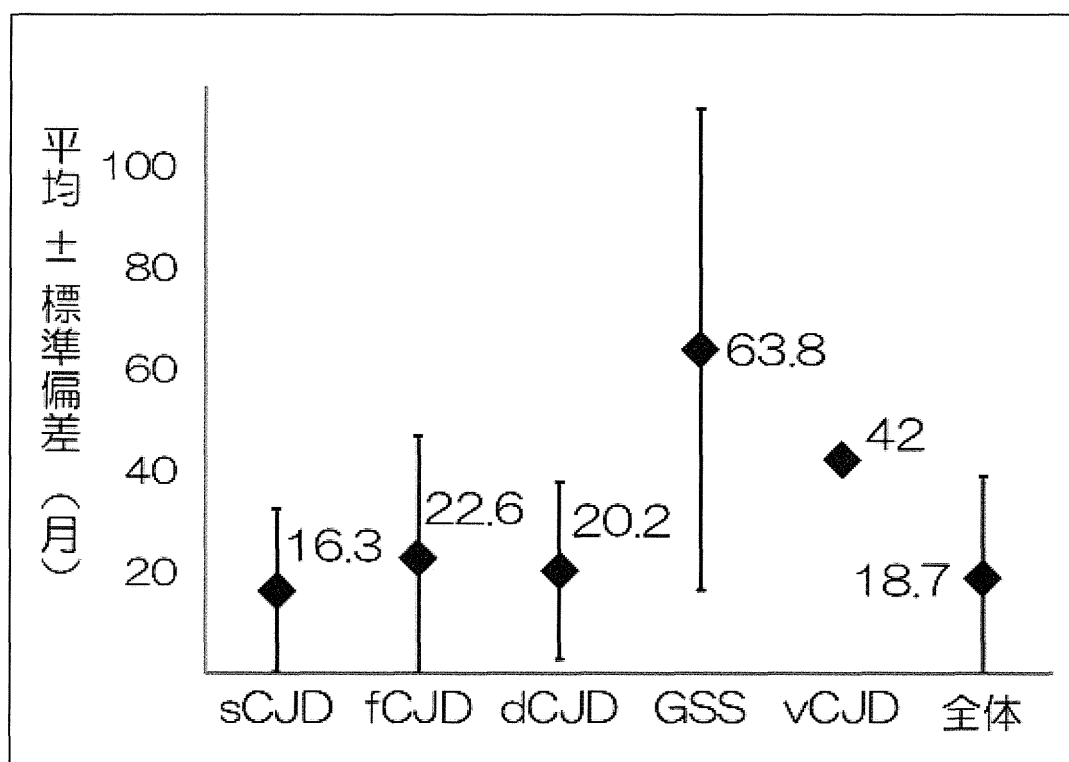


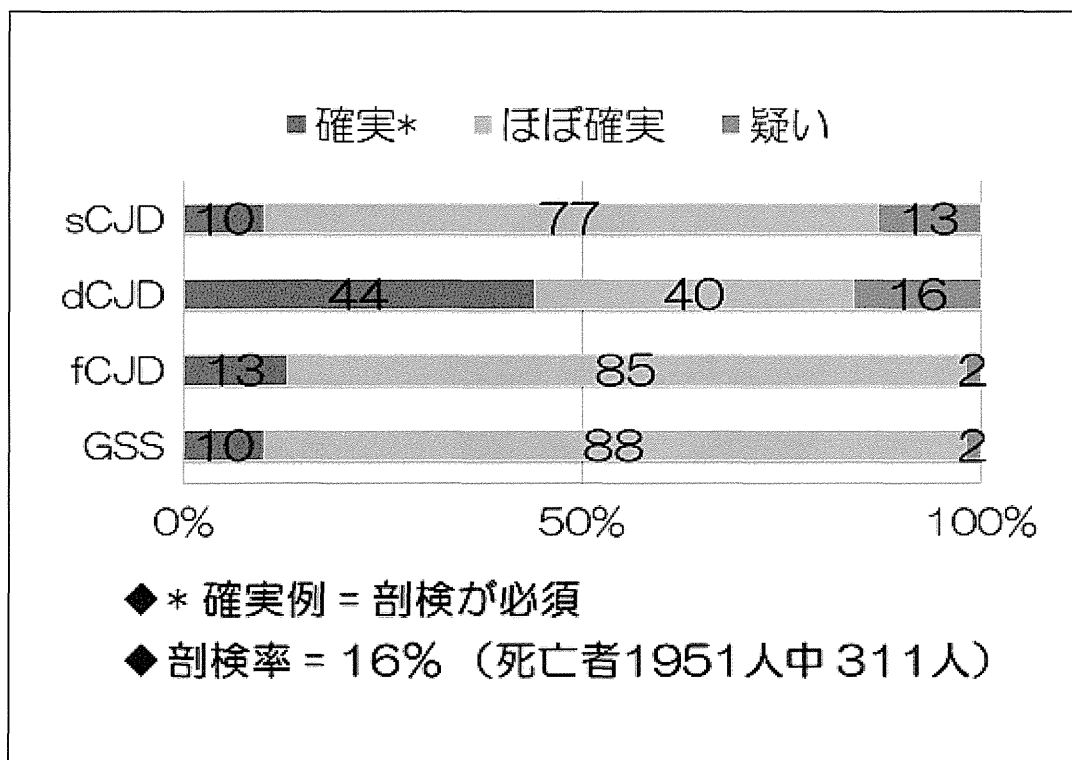
【図 8】 プリオン病：死亡者の状況 （ N=2499 ）



【図 9】 プリオン病：病態分類別の発病～死亡までの期間 （ n=1951 ）



【図 10】 プリオン病：病態分類別の診断の確実度 (N=2499)



【表 3】 プリオン病：病態分類別の剖検率 (n=1951)

	死亡者数	剖検実施者数	剖検実施率(%)
孤発性CJD	1535	207	13
変異型CJD	1	1	100
硬膜移植歴を有するCJD	80	35	44
家族性CJD	272	55	20
GSS	54	9	17
FFI	3	3	100
分類未定のCJD	6	1	17
合計	1951	311	16

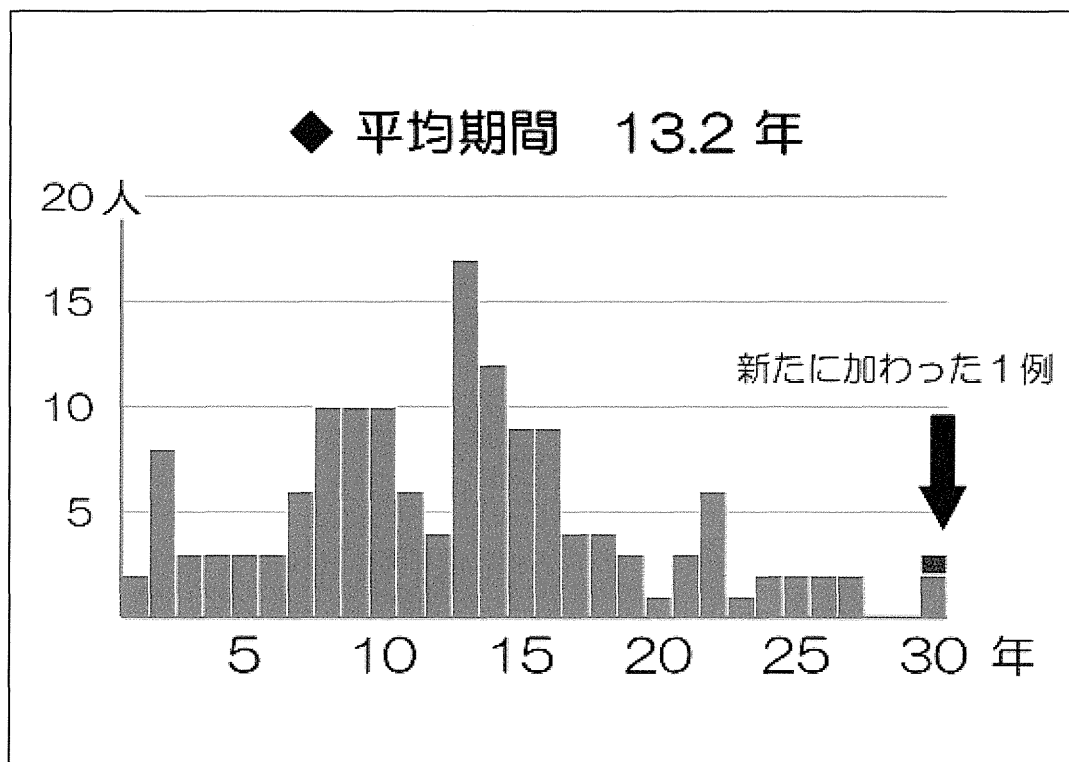
剖検の実施は判明しているが結果がまだサーベイランス委員会で検討されていない例や生検によって確実例となった例が存在する。

【表 4】 dCJD の特徴：硬膜移植のもととなった病態（n=149）

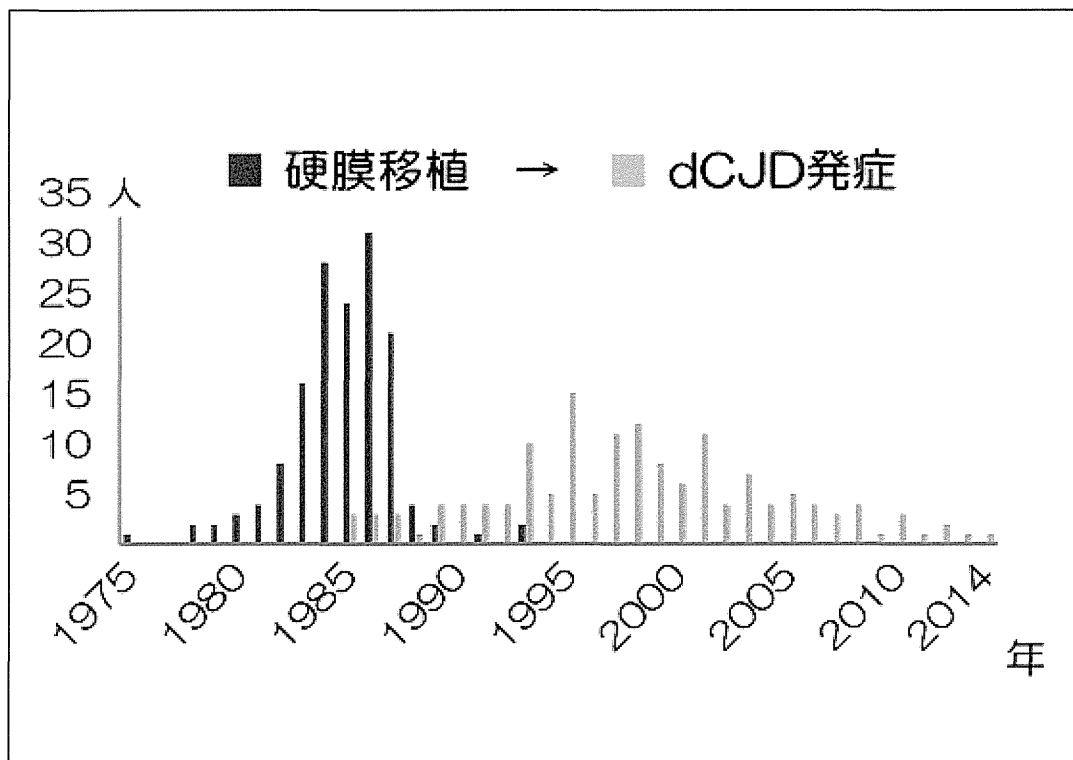
病態(疾患)	人数(%)
脳腫瘍	66(44)
脳出血	25(17)
未破裂動脈瘤	9(6)
脳血腫	7(5)
奇形	8(5)
事故	6(4)
顔面痙攣	19(13)
三叉神経痛	7(5)
その他 ¹⁾	2(1)
計	149(100)

1) 後縦靭帯骨化症1例, および
外傷後てんかんのfocus除去手術1例

【図 11】 dCJD の特徴：硬膜移植から発病までの期間の分布（n=149）



【図 12】 dCJD の特徴：硬膜移植と dCJD 発病の分布 （ n=149 ）



プリオン病サーベイランスデータの管理・運用の研究

研究分担者：金谷 泰宏 国立保健医療科学院 健康危機管理研究部

研究協力者：中谷 英仁 先端医療振興財団 臨床研究情報センター 統計解析部

研究要旨

平成 27 年 1 月より難病法に基づく特定医療制度が開始され、平成 28 年 4 月より認定患者情報の（厚生労働省）データベースへの登録が開始される予定である。平成 26 年度においては、特定疾患治療研究事業（平成 26 年度末で廃止）、感染症動向調査により厚生労働省に登録された症例情報を用いて孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病の予後評価に必要とされる生物学的指標の探索、全国規模での疾患の罹患率、地域集積について調査を行った。初診時に無動無言を呈さなかった 455 例（確実例 38 例、ほぼ確実例 417 例）を対象に、無動無言までの時間に関する予測因子及び無動無言までの症状／症候発現の関連について検討を実施した。精神症状と小脳症状が有意に無動無言の発生と強い関連が指摘された。予後として、小脳症状→ミオクローヌス→無動無言に至るパターン以外に錐体外路あるいは錐体外路症状を伴うパターン、精神症状あるいは視野障害を伴うパターンが認められた。平成 27 年度においては、迅速に新規症例を電子化し、登録するとともに情報を都道府県と共有できる疾患登録システムを構築した。

そこで、平成 26 年度においては、感染症法

A. 研究目的

平成 26 年度に成立した難病法（難病の患者に対する医療等に関する法律）に基づき、平成 27 年 1 月より同法による特定医療の認定を受けた患者については、平成 28 年 4 月より難病データベースに医療機関より登録されることとされた。プリオン病についても、指定難病として厚生労働省の示す認定基準（<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000062437.html>）に沿って認定が開始されたが、平成 26 年度に示された認定基準においては、従来の診断基準に新たに重症度基準（Barthel Index85 点以下）が加味されたことから、Barthel Index で 85 点を超える症例について把握することは困難となった。

に基づく感染症動向調査により各都道府県における罹患率、地域集積等を把握するとともに、平成 15 年度から 20 年度までに特定疾患治療研究事業（平成 26 年 12 月末で廃止。）により厚生労働省に登録された孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病（「CJD」という。）患者情報を用いて、同疾患の病態推移を明らかにし、予後を予測するモデルの構築を試みた。具体的には、無動無言とその他症状／症候の発生率を推定し、それらの予測因子を同定するために、比例ハザードモデルによる解析を行った。平成 27 年度においては、新規症例を登録し、全国的に収集できる新たな登録システム

の整備を行った。

B. 研究方法

1) 感染症予防法に基づく情報

孤発性 CJD 発生のリスク因子探索については、2001-2010 年度における孤発性 CJD の発生数を用いた。日本全体の発症年齢・性別の標準化発生率を基に、都道府県別の標準化発生率比を計算した。

2) 特定疾患調査解析システム登録情報

孤発性 CJD の予後因子探索については、CJD サーベイランスデータ (2003-2008 年) の probable 以上で診断された 717 例のうち、無動無言症状を呈していない症例 (n=455) を用いた。無動無言とその他症状/症候の発生率を推定し、その予測因子を同定するために、比例ハザードモデルによる解析を行った。

3) 疾患登録システムの整備

難病対策のあり方に関する研究班で構築した難病登録テストベットを用いて、インターネット接続不要の疾患登録システムを構築した。

(倫理面への配慮)

疫学研究的指針に従い、国立保健医療科学院倫理委員会における承認を得た後、厚生労働省健康局疾病対策課より平成 15 年度～20 年度までに厚生労働省に報告のあった症例に関する情報を得た。

C. 研究結果

C.1 感染症予防法に基づく調査

年毎の平均発生率 (10 年総計人数) は、男性で 1.026 人/100 万人 (637 人)、女性で 1.132 人/100 万人 (733 人) であった。罹患率については、発症年齢が 40 歳までの年齢グループで、発生率は 0 に近く、45 歳以上のグループでは年齢と共に指数的に大きくなる傾向を示した (図 1)。

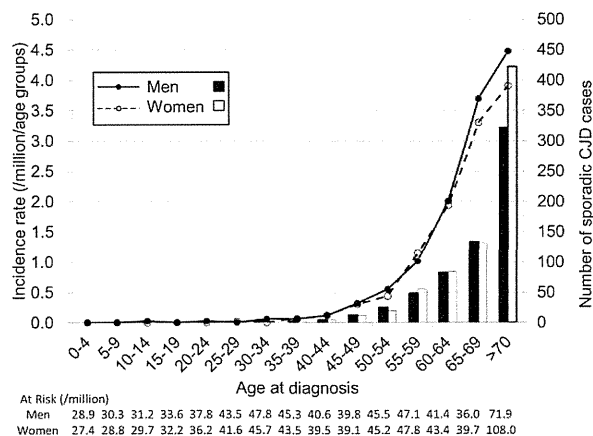


図 1. 感染症動向調査による孤発型 CJD の年齢分布
2001-2005 年と 2006-2010 年における家族性 CJD と孤発性 CJD の発生数比には、有為な差が認められた。一方、地域集積については、特定の都道府県で孤発性 CJD の発生が多い傾向が認められた (図 2)。

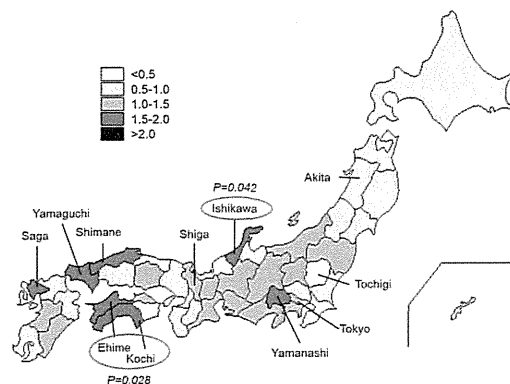


図 2. 感染症動向調査による孤発型 CJD 地域集積

C.2 特定疾患治療研究事業に基づく調査

無動無言を示した 455 例の内訳として「確実例」38 例、「ほぼ確実例」417 例であった。女性は男性の数の 1.57 倍であった。発症から診断までの期間の中央値 (範囲) は 0-12.5 (月)、診断時の年齢の中央値 (範囲) は 70 (39-95) であった。PSD 陽性例は 93.8% であり、遺伝子検査 (codon 129) は 108 例に実施され、MM タイプが 98 人、MV タイプが 10 例であった。解析症例の 93.5% が PSD 陽性であった。各臨床徴候については、精神症状 0.36 ケ月、

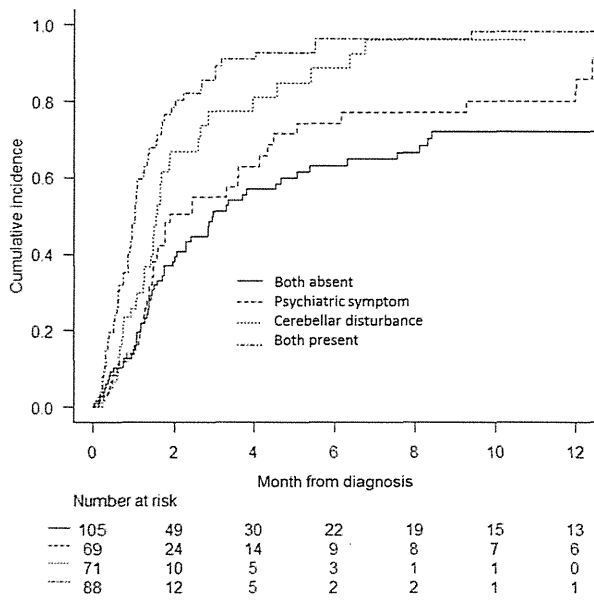


図3. 診断時の小脳症状、精神症状と無動無言の関連
小脳症状 0.53 ケ月、ミオクローヌス 0.56 ケ月、錐体路症状 0.56 ケ月、錐体外路症状 0.86 ケ月、視覚障害 2.17 ケ月であった。このうち、精神症状と小脳症状が有意に無動無言の発生と強い関連を示した（図3）。

孤発性 CJD の予後評価のエンドポイントとして無動無言を設定した場合、小脳症状→ミオクローヌス→無動無言に至るパターン以外に錐体外路あるいは錐体外路症状を伴うパターン、精神症状あるいは視野障害を伴うパターンが認められた（図4）。

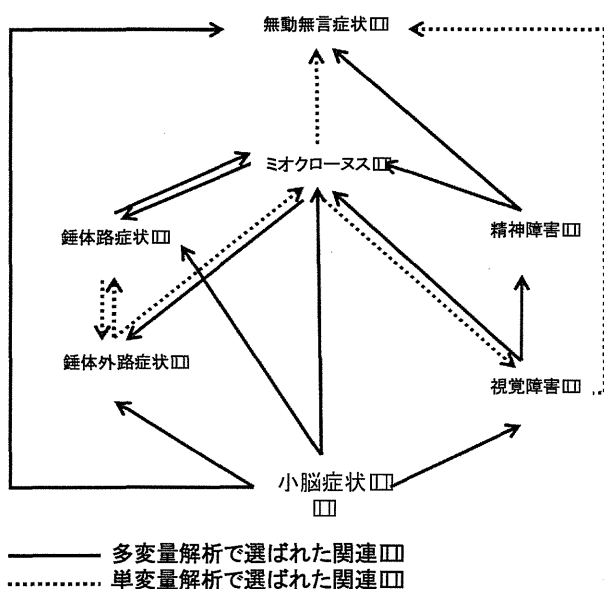


図4. 孤発性 CJD の主たる臨床所見の相互関連

C.3 疾患登録システムの整備

D. 考察

CJD は、感染症法に基づく感染症動向調査、特定疾患治療研究事業による把握が行われているが、前者は情報量が少なく、後者は都道府県によって登録が行われていない地域もある等、確実な患者の把握は難しい。このため、平成27年1月より難病法に基づく指定難病としてプリオン病が位置付けられ、平成28年4月より医療機関等からの厚生労働省データベースへの登録に切り替わり、従来の課題とされてきた患者の継続的な把握が可能とされる予定である。しかしながら、平成27年1月から平成28年度末までは、紙ベースでの登録が行われる予定であることから、電子的な患者情報の把握については次年度以降に持ち越されることとなる。そこで、今年度においては、感染症法に基づく感染症動向調査で得られた情報を用いて、性別、年齢別、地域集積の有無について検討を行い、男女比が0.87、年齢では、45歳以上で発症リスクが指数的に増加することが示された。また、女性に多い理由として女性の平均寿命が少なからず影響しているものと考えられた。地域集積については、一部の地域に集積する傾向が認められた。一方、家族性 CJD については、2001～2005 年度に比較して、2006～2010 年度に有意な差が認められた。これは、特定疾患治療研究事業による臨床調査個人票の記載におけるプリオン遺伝子検査への協力依頼と CJD 研究班による検査体制の確立も大きく影響しているものと考えられた。

特定疾患治療研究事業によって 2003～2008 年度まで国に登録された孤発性 CJD に関するサロゲートマーカーの探索において、無動無言をアウトカムとした場合、小脳症状と精神症状を伴う症例において有意に無動無言

を伴うリスクが高いことが示された。さらに、孤発型 CJD に関して、CJD の主たる臨床所見である精神症状、小脳症状、ミオクローヌス、錐体路症状、錐体外路症状、視覚障害と無動無言との関連を検証した結果、病態遷移として小脳症状→ミオクローヌス→無動無言に至るパターン、錐体外路あるいは錐体外路症状を伴うパターン、精神症状あるいは視野障害を伴うパターンの3つの病型に分けられることが示された。なお、遺伝子型との関連を検討するにあたっては、調査対象期間が、2003～2008 年度と感染症動向調査の結果とも合致するが、遺伝子検査の実施率が低く、今後は実施率が高い 2009 以降のデータの解析が期待される。また、全国規模において、発症早期からのプリオン病の把握に向けて、電子登録は不可欠である。本研究においては、平成 27 年度において、これまでの研究を踏まえた登録システムを構築し得た。今後は、都道府県において導入を希望する自治体に広く普及させることで、効果的に症例の全国規模での収集体制の整備を進めていく。

E. 結論

難病法に基づく特定医療制度によって登録される孤発型 CJD のうち、重症度を満たさないものについては、調査の対象からはずれる恐れがあり、全数の把握については、感染症動向調査をはじめ、様々なチャンネルで疾病の把握を進めていく必要がある。また、予後因子の評価に際して、遺伝子情報が極めて重要であり、今後は、2009～2014 年度に登録された疾患情報の分析を進める。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (2014/4/1～2015/3/31 発表)

1) Sato Y, Nakatani E, Watanabe Y, Fukushima M, Nakashima K, Kannagi M,

Kanatani Y, Mizushima H. Prediction of prognosis of ALS: Importance of active denervation findings of the cervical-upper limb area and trunk area. *Intractable & Rare Diseases Research*. 4(4):p181-189, 2015.

- 2) 金谷泰宏. 難病制圧に向けて—アカデミアにおけるイノベーション創出の現状と展望. *ビオフィリア* 7;p7-12, 2015.
- 3) 金谷泰宏. わが国における難病とは. *日医雑誌* 144(6):p1137-1139, 2015.
- 4) Nakatani E, Nishimura T, Zhou B, Kaneda H, Teramukai S, Nagai Y, Fukushima M, Kanatani Y. Temporal and regional variations in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in Japan, 2001-2010. *Epidemiology and infection*. 2014 24:1-6
- 5) 水島 洋, 田辺麻衣, 金谷泰宏. 医療情報データベースと希少疾患治療薬の開発 *YAKUGAKU ZASSHI* 134(5); 599-605, 2014.
- 6) 金谷泰宏、王子野真代. 難病. *ナーシング・グラフィカ 健康支援と社会保障② 公衆衛生*. 2015. 1. P183-192

2. 学会発表

発表者名. 題名. 学会名. 発表地, 発表日.

- 1) 金谷泰宏. わが国の難病登録の現状と今後の展開. 第 74 回日本脳神経外科学会学術総会; 2015 年 10 月; 札幌.
- 2) 金谷泰宏. 我が国の健康危機管理対策の現状と課題. 第 74 回日本公衆衛生学会総会; 2015 年 11 月; 長崎. *日本公衆衛生雑誌*. 2015; p62 (10 特別付録)
- 3) 金谷泰宏, 新たな難病制度における疾病登録の意義 73 回日本公衆衛生学会総会; 2014 年 10 月; 栃木

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

プリオン病サーベイランス病理コアとしての役割

研究分担者：村山繁雄 東京都健康長寿医療センター神経内科¹、バイオリソースセンター²、
高齢者ブレインバンク（神経病理）

研究協力者：中野雄太²、内野彰子³、高尾昌樹^{3*}、藤ヶ崎純子³、齊藤祐子⁴、北本哲也⁵

3. 東京都健康長寿医療センター研究所テーマ神経病理学、4. 国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査科、5. 東北大学病態神経学分野、*現埼玉医科大学
国際医療センター脳卒中科・神経内科

研究要旨

プリオン病サーベイランス病理コアとして、プリオン病剖検の推進、サーベイランス提示剖検所見の品質管理、凍結リソース構築を行った。他施設剖検例としては当施設遺体搬送剖検に加え、他施設剖検援助、ブロック・標本作製、診断援助と、確定診断のためにあらゆる手段で対応した。プリオン病サーベイランス委員会に呈示された神経病理所見での疑問点には、神経病理学会プリオン病剖検推進委員会（水澤英洋委員長）及び同ブレインバンク委員会を含めたネットワークを用い、情報の正確化を行い、必要に応じ診断援助を行った。プリオン病凍結組織についてはセンター内コンセンサスの元、ブレインバンク内に区域を区切ったプリオン病専用超低温槽を設置し、他施設例を含め保存した。

A. 研究目的

1. プリオン病剖検の推進

東京都健康長寿医療センターは、剖検は医療行為の最終段階であり、患者・ご家族に行える最後の奉仕との理念を貫いている。従って、疾患により差別することは許されないとのコンセンサスで、プリオン病剖検に対応している。また他施設剖検例については高齢者ブレインバンクの都民への社会貢献の立場で対応している。

2. プリオン病サーベイランス剖検所見品質管理

サーベイランス提出剖検所見に疑義が生じた場合、サーベイランス病理コアの立場を用

い、神経病理所見情報の正確化の努力を行った。

3. プリオン病凍結脳リソース化

東北大学病態神経学分野が東北大震災時危機に陥ったことを受け、公的施設としてバックアップを含めリソース構築を引き受けることを、施設内承認を得て開始した。

B. 研究方法

1. プリオン病剖検の推進

診断病理部の全面協力の下、神経医が責任執刀することで、他施設依頼例を含めて剖検を行った。

当施設でのマニュアルと手順書を写真付き

で用意し、他施設で剖検施行を希望する場合送付し指導を行った。脳切り出しについては必要に応じ施設に出張し行った。

凍結脳を当施設での保存を希望する場合、ジェラルミンパックと発泡スチロールケースでの二重シール、検体時代も Zip ロックで二重シールする指導の元、これらを郵送し、返送してもらうかたちで対応した。

剖検は出来るが標本作製が技師が受け付けない施設については、標本作製・診断を引き受けた。

2. プリオン病サーベイランス剖検所見品質管理

サーベイランス追加所見として提出されてくる剖検所見を委員会内で検討し、疑義がある場合、神経病理学会プリオン病剖検促進委員会、ブレインバンク委員会を含む神経病理学会ネットワークを通じ、情報収集を行い、情報の正確化を行った。また必要により追加染色等の診断援助を行った。

3. プリオン病凍結脳リソース化

ブレインバンク内にパーティションで区切るかたちでプリオン病専用超低温槽を一台確保しリソース蓄積を行った。

(倫理面への配慮)

死体解剖保存法に基づく病理解剖承諾書の範囲内で、プリオン病サーベイランスご遺族登録同意を前提に病理解剖を行う行為については、倫理委員会承認は必要ないとの倫理委員会判断である。

プリオン病克服のためのリソース構築については、別途高齢者ブレインバンク同意を取得しており、高齢者ブレインバンク事業自体はセンター倫理委員会での承認事項である。

C. 研究結果

1. プリオン病剖検の推進

1.1. 施設剖検例

内部例 1、外部よりの搬送例 2 で全て 2015 年度であったため、単年度報告書に記載したのでここでは省略する。

1.2. 他施設診断援助例

1.2.1. 静岡てんかん神経医療研究センター

自施設例について、解剖医がいないためその都度保健所長の許可を得て剖検を行い、凍結材料を東北大学送付の上、ブレインカッティングと診断・免疫染色を、高齢者ブレインバンクに依頼してくる。

該当期間中 E200K1 例、type 1 MM 典型例 1 例を神経病理診断した。同施設は継続的にプリオン病剖検を行っている静岡県下ではほぼ唯一の施設である。今回その長期経験を Prion 2016 で発表いただく予定である。

1.2.2. 国立病院機構東京病院

自施設で剖検し、半脳凍結半脳固定を行い、固定半脳は高齢者ブレインバンクに委託、固定半脳のブレインカッティングは指導に行き、標本作成はこちらで引き受けている。

研究期間中剖検例は 2 例あり、1 例は単年度版に記載、もう 1 例はブレインカッティング待ちである。

神経内科が病理に熱心で、中央検査部長(病理)も剖検は許容しているが、病理検査技師がブロック作成までは引き受けるが薄切はしないとの方針であるためである。

1.2.3. 亀田総合病院例

剖検は行ってくれ、切り出しは当方から月一回定期的にブレイカッティングと CPC を行いに出向いているので、その折りにプリオン病対応で行っている。蟻酸処理後ブロック、標本作製は行い、未染供与の元免疫染色・特殊染色を引き受けている。これまでも剖検は行っているが、今回当施設のビジュアルマニュアルを送りリマインド対応した。典型的 type I MM の所見だったが、凍結脳が引き継ぎ不足で採取されず、神経内科主治医が採取する必要がある旨を再確認し、次回には対応

するよう要請した。

1.2.4. 日本大学

剖検可だが、凍結材料採取・標本作成拒否である。研究期間に一例が相当した。

ご遺族より研究使用同意、臨床主治医・剖検医より診断受託を受け、ブロック作成より行った。64歳男性、経過半年で、臨床病理学的には type I MM 典型例であった。しかし凍結材料がとられていないため、免疫ブロットによる確認はできなかった。また画像は記載しかなく、限られた臨床情報しか来ず、我々の希望する CPC も行えない状態が続いている。

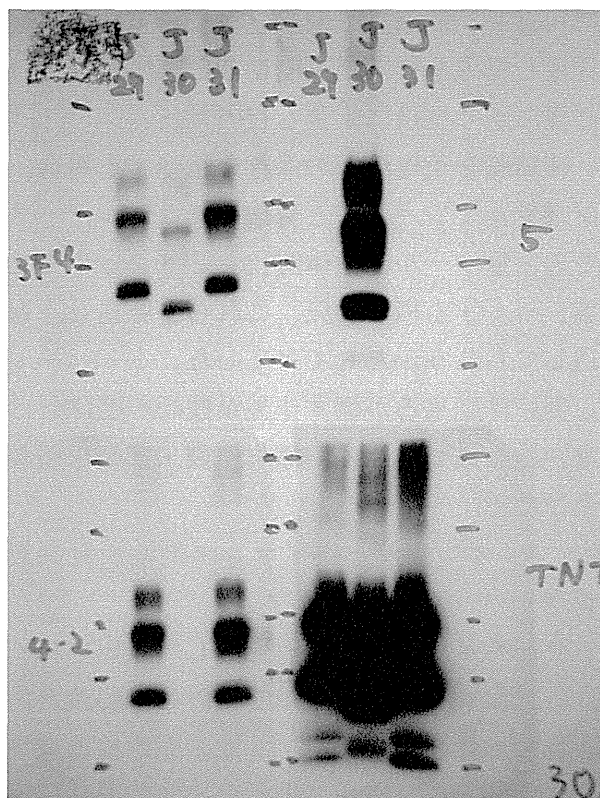
1.2.4. 自衛隊横須賀病院剖検

プリオン病剖検例があるとのことで、剖検担当医より、防衛医大に診断援助に行っていた縁で電話で依頼が来て、援助を行った。

SK 男性 1931.6.23 生 2015.5.13 死亡。T-Tau >2400pg/ml、14-3-3 1896.8ug/ml、QUIC 法陽性、codon129 Met/Met codon219 Glu/Glu 例

自衛隊として疾患により剖検を拒否する考えはないし、またそれで他省庁の援助をうける言われはないとの病院長のご意見であった。当施設よりマニュアルを送付、それを元に脳のみでの剖検を行っていただいた。ブレインカッティングと切り出しには出張指導に行き、標本が出来た時点で再度診断指導にうかがうかたちをとった。

凍結脳は東北大学に送られ type I MM と診断された。病理所見は海綿状変化を認め、未染をいただき染色した結果で、synaptic pattern を確認した。



図。免疫ブロット所見

本例は J29 で type 1。3F4:プリオン蛋白全体像を示す抗体、5: type 2 特異的抗体、4-2: type 1 特異抗体、TNT: フラグメント検出抗体。

1.2.5. 千葉大学医学部サーベイランス免疫染色未施行例

東北大学病態神経部門は自施設蟻酸処理例しか引き受けないととのことで、当施設で引き受けた。78歳男性、経過半年の症例。議酸処理後であることを確認後、未染切片を受理、3F4 免疫染色を行い陽性所見を確認した。

2. サーベイランス剖検所見品質管理

解剖責任者に直接連絡をとるかたちで情報を得、サーベイランス事務局への伝達を行った。神経内科主治医ないしは剖検診断医へのメール・電話による直接連絡で行った。

直近帝京大学サーベイランス剖検報告例については神経内科主治医に電話連絡をし、病理学教授にメールで依頼、蟻酸処理後であることを確認後、海馬未染切片と全標本を受託、synaptic pattern を確認、次回サーベイラン

ス報告予定である。

3. プリオン病凍結リソース構築

プリオン病凍結死後脳 7：センター例（外部搬送剖検を含む）4、美原記念病院バックアップ（山口大学例）2、国立東京病院半脳凍結 1、プリオン病髄液 1 が現時点での蓄積である。

D. 考察

分担研究者はサーベイランス発足当初より病理コアとして参加している。総合神経病理診断医の視点から、今後もサーベイランスに協力していく所存である。

地方自治体としてのフットワークの良さと、対応の迅速さを生かせることが強みだが、政策決定能力を持たない点については、中央の努力に期待したい。

剖検ではじめてサーベイランスにかかる例があり、ここからの登録を病理ルートと称していたが、剖検時サーベイランス登録がない例は本研究期間にはゼロであり、サーベイランスの浸透が実感出来る結果であった。

プリオン病凍結リソース構築については、高齢者ブレインバンク創設時、研究所病理医が、プリオンを持ち込むと反対したため、当初はプリオン病は持ち込まないとする故金澤先生のご意見に従うかたちをとった。今回超低温槽 21 台を有する独立ブレインバンクリソースセンターを得たこと、東日本大震災でプリオン病リソースバックアップが公的施設に必要とする意見に当センターでコンセンサスが得られたこと、担当技師がすすんで引き受けてくれたことが大きい。

E. 結論

本研究期間プリオン病サーベイランス病理コアとして、プリオン病剖検の推進、サーベイランス委員会提示剖検所見の品質管理、プリオン病凍結リソース構築に、一定の貢献ができた。

[参考文献]

[雑誌]

村山繁雄、齊藤祐子：プリオン病の脳病理検査。神経内科（印刷中）

[書籍]著者名. 題名. In: 編集者名・編. 書籍名, 発行地, 発行所名, 発行年 ; 頁-頁.

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. Qina, T., Sanjo, N., Hizume, M., Higuma, M., Tomita, M., Atarashi, R., Satoh, K., Nozaki, I., Hamaguchi, T., Nakamura, Y., Kobayashi, A., Kitamoto, T., Murayama, S., Murai, H., Yamada M., Mizusawa, H.:
Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. *BMJ Open* 2014; 4(5): e004968. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-004968
2. Araki, K., Nakano, Y., Kobayashi, A., Matsudaira, T., Sugiura, A., Takao, M., Kitamoto, T., Murayama, S., Obi, T.:
Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: the clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology* 2014; 34: 541-546,
3. Koabayashi A, Matsuura Y, Iwaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Takahashi H, Murayam S, Takao M, Kato S, Yamada M, Kohri S, Kitamoto T (2015) Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease MM1+2C and MM1 Are Identical in Transmission Properties. *Brain Pathology* (in press) DOI: 10.1111/bpa.12264

2. 学会発表

発表者名. 題名. 学会名. 発表地, 発表日.

1. Sanjo, N., Higuma, M., Hizume, M., Furukawa, F., Nakamura, Y., Kitamoto, T., Hamaguchi, T., Morikawa, F., Aoki, M., Tanaka, F., Nishizawa, M., Takeda, M., Inuzuka, T., Sato, K., Murai, H., Murayama, S., Satoh, K., Harada, M., Uyama, N., Fujita, K., Saito, N., Takumi, I., Tsukamoto, T., Yamada, M., Mizusawa, H.: Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea
2. Takatsuki, H., Satoh, K., Atarashi, R., Sano, K., Iwasaki, Y., Yoshida, M., Takao, M., Mihara, B., Murayama, S., Nishida, N.: Wide distribution of seeding activity in sporadic CJD patients. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea
3. Murayama, S., Saito, Y. And the members of the Brain Bank Committee, the Japanese Society of Neuropathology: the Brain Bank Committee, the Japanese Society of

Neuropathology: 18th International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

4. Murayama, S., Saito, Y.: The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. Brain Conference 2014 The 3rd Congress of Asian Society of Neuropathology. November 6-8, 2014, Seoul, Korea

5. Murayama S, Obata M, Saito Y, Akatsu H, Takao M: Japanese Brain Bank Network for Neuroscience Research. AAIC 2015, Washington. D. C., 2015.7.18-23

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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 （髄液中の検査の世界統一化を目指して）

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）による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。

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) プリオン病の髄液検査の世界標準化のために、世界 20 か国との共同研究の下、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）の検査標準化

を行った。

2) 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)

3) 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“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) バイオマーカーの標準化では 14-3-3 蛋白の検出方法である WB での標準化は困難であった。そのため ELISA キットを利用した方法が適応された。この ELISA キットは日本で我々が開発されたキットが採用になった。ROC 曲線を利用したカットオフ値が決定され、保存方法についてのデータも示された(図 1)。一方総タウ蛋白と RT-QUIC 法のキットの標準化や方法の統一化は困難であった。

2) 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。

3) 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。

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
7. Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Fuse T, Sano K, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N. Persistent prion infection disturbs the function of Oct-1, resulting in the down-regulation of murine interferon regulatory factor-3. Sci Rep. 4:6006. 2014
8. Homma T, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Sano K, Atarashi R, Nishida N. Increased expression of p62/SQSTM1 in prion diseases and its association with pathogenic prion protein. Sci Rep. 4:4504. 2014
9. Qina T, Sanjo N, Hizume M, Higuma M, Tomita M, Atarashi R, Satoh K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kobayashi A, Kitamoto T, Murayama S, Murai H, Yamada M, Mizusawa H. Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. BMJ Open. 4(5):e004968.2014
10. Sano K, Atarashi R, Ishibashi D, Nakagaki T, Satoh K, Nishida N. Conformational properties of prion strains can be transmitted to recombinant prion protein fibrils in real-time quaking-induced conversion. J Virol. 88(20):11791-801. 2014

2. 学会発表

1. 佐藤克也、プリオン病の新規診断法・治療法への挑戦、第19回日本神経感染症学会総会学術集会・第26回日本神経免疫学会学術集会 合同学術集会、金沢市、9月4日(木)～9月6日(土) 開催 9月5日(金) 発表
2. Satoh K, Takatsuki H, Atarashi R, Sano K, Nishida N. "CSF analysis of patients with human prion disease." Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, 2014.
3. 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.)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

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

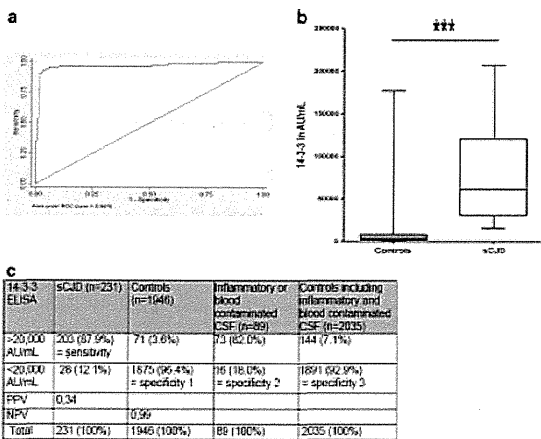
	14-3-3 蛋白	t-tau 蛋白	RT-QUIC 法
感 度	69.3 %	74.6 %	71.1 %

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

図1. 14-3-3 蛋白 ELISA キットを利用したカットオフ値の決定

a:ROC 曲線 b:14-3-3 蛋白 ELISA キットを利用した際のデータ c: カットオフ値 (20,000AU/ml) とした際の感度・特異度

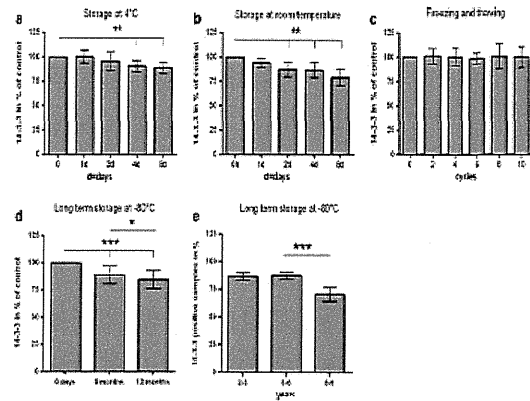


Definite cases を利用した髄液検査にて ROC 曲線を利用し、カットオフ値 (20,000AU/ml) が決定された。

図2. 髄液の保管方法に関する検討

我々は、ELISA により 14-3-3 レベルを決定し、100%として設定したコントロール (時

点0) のパーセントで 14-3-3 レベルを計算しました。10 人の異なる孤発性 CJD 患者 (N=10)からの CSF 中の 14-3-3 の濃度は、a. 室温 b. 4°Cで 8 日間及び c. 10 凍結融解を繰り返し他サンプル、d と e. -80°Cで長期保管での貯蔵後に測定した。



14-3-3 蛋白の活性は室温では2日で8%活性がおち、-80°C5 年程度保存することが可能となる。

MRI における CJD 診断能の磁場強度による違いについて

研究分担者：原田 雅史 徳島大学病院放射線科

研究協力者：藤田 浩司、佐光 亘、梶 隆兒、徳島大学病院神経内科

宇山 直人、阿部 考志 徳島大学病院放射線科

浜口 毅、山田正仁 金沢大学病院神経内科

佐々木真理 岩手医大医歯薬総合研究所

三條 伸夫 東京医科歯科大病院神経内科

高尾 昌樹 埼玉医科大学国際医療センター

水澤 英洋 国立精神神経医療研究センター病院

岩崎 靖 愛知医大加齢医科学研究所

佐藤 克也 長崎大学感染分子解析学

岸田 日帯 横浜市立大病院神経内科

坪井 義夫 福岡大学病院神経内科

雪竹 基弘 佐賀大学病院神経内科

村井 弘之 九州大学病院神経内科

阿部 康二 岡山大学病院神経内科

研究要旨

サーベイランス症例において同一対象者で 3Tesla と 1.5Tesla の MRI を撮像できた症例について、厚さの異なる拡散強調像(DWI)と FLAIR 像について CJD の診断の確信度を比較検討した。さらに 3Tesla では脳灌流を反映する ASL 法の撮像を行い、DWI に ASL 法を追加して診断した場合の診断能の変化についても検討を行った。3TeslaFLAIR では、診断能の低下が明らかで、3TeslaDWI は 1.5TeslaDWI とほぼ同等の総合診断能であった。ASL の追加によって総合診断能は低下する傾向にあり、これは偽陰性と判断される症例数が増加することが主な原因であった。

A. 研究目的

拡散強調像と FLAIR 像における CJD の診断能について、3Tesla と 1.5Tesla で差があるか検討することが目的である。今回多施設の評価者で検討を行い、評価項目は以下の通りである。

- 1) 1.5Tesla DWI と 3Tesla DWI との比較
- 2) 3mm 厚 DWI と 5mm 厚 DWI との比較
- 3) 1.5Tesla FLAIR と 3Tesla FLAIR との比較
- 4) 3Tesla での 5mm 厚 DWI 所見に ASL 画像を併せて診断した場合の診断能の変化について