

## 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）

### 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 27 年 9 月までに測定依頼のあった 1347 症例について検討を行った。この 1030 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 511 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 455 症例、遺伝性プリオン病は 49 症例、獲得性プリオン病は 2 症例であった。非プリオン病は 519 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(ELISA,WB)と総タウ蛋白の感度は 78.9%、70.2%、75.7%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 70.1%、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 27 年 9 月までに測定依頼のあった 1030 症例について検討を行った。

この 1030 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）

表1 1030症例の内訳

・プリオン病患者は511症例 (probable cases)	455	症例
・ 孤発性プリオン病	49	症例
・ 遺伝性プリオン病	2	症例
・ 獲得性プリオン病		
・ 非プリオン病は519症例		
・ てんかん(原発及び症候性を含めて)	125	症例
・ VGKCを含めた自己免疫性脳炎・脳症	115	症例
・ アルツハイマー型認知症	104	症例
・ 低酸素脳症	10	症例
・ 脊髄小脳変性症	43	症例
・ その他	114	症例

2) 孤発性プリオン病 455 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。孤発性プリオン病 431 症例について発症時期、検査所見について詳細に検討した。

**(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) 症例 1030 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) の感度・特異度について検討を行った。(表 2)

表2 総タウ蛋白、14-3-3蛋白、QUIC法の感度・特異度 (プリオン病 511症例と非プリオン病519症例)

	14-3-3 protein ELISA	14-3-3 protein WB	総タウ蛋白	RT-QUIC assay
感度	78.9%	70.2%	75.7%	70.1%
特異度	81.1%	89.5%	79.8%	97.8%

2) 孤発性プリオン病 455 症例について脳波検査・MRI にて分類を行った。(表 3)

表3 孤発性プリオン病 455症例における検討

- ・ 髄液提出時に脳波所見にてPSDが陰性が、その後PSDが陽性 299症例
- ・ 髄液提出時に脳波所見にてPSDがある症例 132症例
- ・ 髄液提出時に脳波所見にてPSDが陰性で、その後もPSDが陰性(MRI拡散強調画像陽性) 29症例
- ・ 髄液提出時に脳波所見にてPSDが陰性で、PSDが陰性(MRI拡散強調画像陰性) 2症例

3) 分類した孤発性プリオン病 455 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) の感度について検討した。結果を示す。(表 4)

表4 総タウ蛋白、14-3-3蛋白、QUIC法の陽性率 (孤発性プリオン病 455症例における)

	14-3-3 protein ELISA	14-3-3 protein WB	総タウ蛋白	RT-QUIC assay
髄液提出時に脳波所見にてPSDが陽性が、その後にてPSD所見が陽性	79.9%	72.6%	78.6%	64.2%
髄液提出時に脳波所見にてPSDがある症例	89.4%	78.8%	85.6%	86.4%
髄液提出時に脳波所見にてPSDが陰性で、その後もPSD所見が陰性(MRI拡散強調画像陽性)	86.2%	62.1%	65.5%	93.1%
髄液提出時に脳波所見にてPSDが陰性で、PSD所見が陰性(MRI拡散強調画像陰性)	0%	0%	0%	0%

4) 発症時期まで検討できた 455 症例中 431 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) の感度について検討した。結果を示す。(表 5)

表5 総タウ蛋白、14-3-3蛋白、QUIC法の陽性率  
(孤発性プリオン病 431症例における)

	全症例数	14-3-3 protein ELISA	14-3-3 protein WB	総タウ蛋白	RT-QUIC assay
0-4週	90	68.9 %	53.3 %	64.4 %	48.9 %
5-8週	127	70.1 %	52.8 %	66.1 %	55.1 %
9-12週	142	81.7 %	81.7 %	81.7 %	76.1 %
12週以降	103	87.4 %	87.4 %	87.4 %	81.6 %

## D. 考察

14-3-3 蛋白の感度(ELISA,WB)は 78.9%、総タウ蛋白は 75.7%、RT-QUIC 法は 70.1%であった。

## 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

### 1. 論文発表

- 1) Hayashi Y, Iwasaki Y, Takekoshi A, Yoshikura N, Asano T, Mimuro M, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Inuzuka T. An autopsy-verified case of FTLN-TDP type A with upper motor neuron-predominant motor neuron disease mimicking MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion*. 10(6) 492-501.2016
- 2) Takatsuki H, Fuse T, Nakagaki T, Mori T, Mihara B, Takao M, Iwasaki Y, Yoshida M, Murayama S, Atarashi R, Nishida N, Satoh K. Prion-Seeding Activity Is widely Distributed in

Tissues of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Patients. *EBioMedicine*. 12150-155.2016

- 3) Hayashi Y, Yoshikura N, Takekoshi A, Yamada M, Asano T, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Inuzuka T. Preserved regional cerebral blood flow in the occipital cortices, brainstem, and cerebellum of patients with V180I-129M genetic Creutzfeldt-Jakob disease in serial SPECT studies. *J Neurol Sci*. 370. 145-151.2016
- 4) Schmitz M, Cramm M, Llorens F, Müller-Cramm D, Collins S, Atarashi R, Satoh K, Orrù CD, Groveman BR, Zafar S, Schulz-Schaeffer WJ, Caughey B, Zerr I. The real-time quaking-induced conversion assay for detection of human prion disease and study of other protein misfolding diseases. *Nat Protoc*. 11(11). 2233-2242.2016
- 5) Nakano Y, Akamatsu N, Mori T, Sano K, Satoh K, Nagayasu T, Miyoshi Y, Sugio T, Sakai H, Sakae E, Ichimiya K, Hamada M, Nakayama T, Fujita Y, Yanagihara K, Nishida N. Sequential Washing with Electrolyzed Alkaline and Acidic Water Effectively Removes Pathogens from Metal Surfaces. *PLoS One*. 11(5). e0156058.2016
- 6) McGuire LI, Poleggi A, Poggiolini I, Suardi S, Grzmarova K, Shi S, de Vil B, Sarros S, Satoh K, Cheng K, Cramm M, Fairfoul G, Schmitz M, Zerr I, Cras P, Equestre M, Tagliavini F, Atarashi R, Knox D, Collins S, Haik S, Parchi P, Pocchiari M, Green A. Cerebrospinal fluid real-time quaking-induced conversion is a robust and reliable test

for sporadic creutzfeldt-jakob disease:  
An international study. *Ann Neurol.*  
80(1). 160-5.2016

- 7) Mori T, Atarashi R, Furukawa K, Takatsuki H, Satoh K, Sano K, Nakagaki T, Ishibashi D, Ichimiya K, Hamada M, Nakayama T, Nishida N. A direct assessment of human prion adhered to steel wire using real-time quaking-induced conversion. *Sci Rep.* 26(6). 24993.2016
- 8) Cramm M, Schmitz M, Karch A, Mitrova E, Kuhn F, Schroeder B, Raeber A, Varges D, Kim YS, Satoh K, Collins S, Zerr I. Stability and Reproducibility Underscore Utility of RT-QuIC for Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. *Mol Neurobiol.* 53(3). 2189-99.2016
- 9) Schmitz M, Ebert E, Stoeck K, Karch A, Collins S, Calero M, Sklaviadis T, Laplanche JL, Golanska E, Baldeiras I, Satoh K, Sanchez-Valle R, Ladogana A, Skinningsrud A, Hammarin AL, Mitrova E, Llorens F, Kim YS, Green A, Zerr I. Validation of 14-3-3 Protein as a Marker in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnostic. *Mol Neurobiol.* 53(4). 1896-904.2016

## **2.学会発表**

なし

## **H.知的財産権の出願・登録状況**

### **1.特許取得**

なし

### **2.実用新案登録**

なし

### **3.その他**

なし