

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

## プリオン病患者の髄液中のバイオマーカーの検討 及び消化管組織のプリオン活性の検討

研究分担者：西田教行 長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学  
 研究協力者：佐藤克也 長崎大学医歯薬学総合研究科運動障害リハビリテーション学講座

**研究要旨** 平成 23 年 10 月から平成 28 年 9 月までに測定依頼のあった 1233 症例について検討を行った。この 1233 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 611 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 533 症例、遺伝性プリオン病は 76 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 621 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 78.7%、70.7%、75.4% であった。ヒトプリオン病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。さらに我々はプリオン病患者に髄液以外の確定診断法を行うために消化管組織からのプリオン活性を測定した。

### A. 研究目的

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プリオン病の髄液中のバイオマーカーの検討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。さらに髄液以外からの臓器特に消化管組織よりプリオン活性を測定し、診断法に利用することも本研究の目的とした。

### B. 研究方法

a) 平成 23 年 10 月から平成 28 年 9 月までに測定依頼のあった 1233 症例について検討を行った。

この 1233 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。

b) 孤発性プリオン病 611 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 455 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。

c) 平成 23 年 10 月から平成 28 年 9 月まで長崎大学に髄液検査の測定依頼のあった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) を 100% 行った。

d) 孤発性プリオン病患者 4 症例と遺伝性プリオン 2 症例の消化管組織のプリオン活性を測定した。

### (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)平成 23 年 10 月から平成 28 年 9 月までに測定依頼のあった 1233 症例について検討を行った。この 1233 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 611 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 533 症例、遺伝性プリオン病は 76 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 621 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。

2)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 78.7%、70.7%、75.4%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。

3) 遺伝性プリオン病患者の消化管では比較的高いシード活性が検出された。

### 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性がある。

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。

3) 遺伝性プリオン病患者の消化管では比較的高いシード活性が検出された。

### E. 結論

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。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Sano K, Atarashi R, Satoh K, Ishibashi D, Nakagaki T, Iwasaki Y, Yoshida M, Murayama S, Mishima K, Nishida N. Prion-like seeding of misfolded  $\alpha$ -synuclein in the brains of dementia with Lewy body patients in RT-QUIC. *Mol Neurobiol* 55:3916-3930, 2017.

2) Satoh K, Atarashi R, Nishida N. Real-time quaking-induced conversion for diagnosis of Prion disease. In: Victoria A Lawson ed. *Prions Methods and Protocols*, Springer, USA, pp305-310, 2017.

#### 2. 学会発表

1) Satoh K, Nishida N, Shirabe S. Biomarkers for human prion disease: Results from the Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Committee in Japan. XXIII World Congress of Neurology/58th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, Kyoto, September 16-21, 2017.

### 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

表 1. 孤発性プリオン病患者の消化管組織の SD50

	log SD <sub>50</sub> /g tissue											
	Patient 1			Patient 2			Patient 3			Patient 4		
	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
食道	8.2	8.43	8.5	8.43	7.75	7.53	N.E.	N.E.	N.E.	N.D. <sup>#2</sup>	≤ 6.57	≤ 6.70
胃	7	≤ 6.90	7.2	N.D.	≤ 6.57	≤ 6.23	≤ 6.80	≤ 6.67	≤ 6.57	N.D.	N.D.	6.5
十二指腸	7.43	7.57	6.3	≤ 5.75	6.41	6.06	8.1	8.5	8.34	N.E.	N.E.	N.E.
小腸	≤ 6.80	7.12	7.29	6.5	6.5	6.33	N.D.	≤ 6.67	N.D.	≤ 5.80	6.67	≤ 6.00
虫垂	7.5	8	7.71	N.D.	≤ 6.75	≤ 6.90	N.D.	N.D.	N.D.	≤ 5.64	6.88	7.25
横行結腸	6.14	≤ 5.80	≤ 5.90	≤ 5.80	7	≤ 5.56	≤ 5.57	6.57	6.42	N.E.	N.E.	N.E.
S 状結腸	N.D.	N.D.	N.D.	N.E.	N.E.	N.E.	7.8	7.5	7.5	N.D.	≤ 5.67	6.12
脳	9.25	9.5	9.5	9.75	9	8.75	9.75	10.5	9.75	10.25	10	10

表 2. 遺伝性プリオン病患者の消化管組織の SD50

	log SD <sub>50</sub> /g tissue					
	Patient 5(GSSP102L)			Patient 6(CJDE200K)		
	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>	1 <sup>st</sup>	2 <sup>nd</sup>	3 <sup>rd</sup>
食道	6.81	6.69	7.29	8.5	8.5	8.5
胃	7.5	7.12	7.41	7.8	8.41	8.43
十二指腸	≤ 6.57	≤ 6.57	N.D.	7.12	6.5	6.81
小腸	ND <sup>#2</sup>	7.43	7	≤ 5.80	6.33	6.33
虫垂	6.23	6.67	7.77	ND	6.5	7.83
横行結腸	7	7.39	7.5	7.39	7	7.29
S 状結腸	9	8.33	7.67	≤ 6.57	≤ 6.64	6.5