

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

研究分担者：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。

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。

B. 研究方法

(1) 主要な研究方法：

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。

(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。

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。

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) Hayashi Y, Yamada M, Kimura A, Asano T, Satoh K, Kitamoto T, Yoneda M, Inuzuka T: Clinical findings of a probable case of MM2-cortical-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease

- with antibodies to anti-N-terminus of α -enolase. *Prion* 11(6): 454-464, 2017 (IF: 2.343)
- 2) Hayashi Y, Iwasaki Y, Yoshikura N, Asano T, Mimuro M, Kimura A, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Inuzuka T. An autopsy-verified case of steroid-responsive encephalopathy with convulsion and a false-positive result from the real-time quaking-induced conversion assay. *Prion* 11(4): 284-292, 2017 (IF: 2.343)
 - 3) 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 α -Synuclein in the Brains of Dementia with Lewy Body Patients in RT-QUIC. *Mol Neurobiol* (www.springer.com) 26 May, 2017 (IF: 6.190)
 - 4) Ichinose K, Ohyama K, Furukawa K, Higuchi O, Mukaino A, Satoh K, Nakane S, Shimizu T, Umeda M, Fukui S, Nishino A, Nakajima H, Koga T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Yoshida M, Kuroda N, Kawakami A. Novel anti-suprabasin antibodies may contribute to the pathogenesis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* (www.elsevier.com/locate/yclim): xxx, 2017 (IF: 3.990)
 - 5) Yamaguchi S, Horie N, Satoh K, Ishikawa T, Mori T, Maeda H, Fukuda Y, Ishizaka S, Hiu T, Morofuji Y, Izumo T, Nishida N, Matsuo T. Age of donor of human mesenchymal stem cells affects structural and functional recovery after cell therapy following ischaemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*(journals.sagepub.com/home/jcbfm) 0(00): 1-14, 2017 (IF: 5.081)
 - 6) Yaguchi H, Takeuchi A, Horiuchi K, Takahashi I, Shirai S, Akimoto S, Satoh K, Moriwaka F, Yabe I, Sasaki H. Reply to: The Letter to be published with the Letter, Amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia (ALS-FTD) syndrome as a phenotype of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)? A case report. *J Neurol Sci* 375: 490-491, 2017 (IF: 2.295)
 - 7) 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. *Molecular neurobiology* 53: 1896-904, 2016
 - 8) 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 FTLD-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
 - 9) 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. *Journal of the neurological sciences* 370: 145-51, 2016
- 10) McGuire LI, Poleggi A, Poggiolini I, Suardi S, Grznarova 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. *Annals of neurology* 80(1): 160-5, 2016
- 11) 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. *Scientific reports* 6: 24993, 2016
- 12) 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: e0156058, 2016
- 13) 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. *Nature protocols* 11: 2233-42, 2016
- 14) 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. Validation of 14-3-3 Protein as a Marker in Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Diagnostic. *Molecular neurobiology* 53(4): 2189-99, 2016
- 15) 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* 12: 150-5, 2016

2. 学会発表

- 1) 佐藤克也. Biomarkers for human prion disease : Results from the Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Committee in Japan、WCN 2017 2017年9月16-20日、京都
- 2) 佐藤克也. Update on the utility of techniques for CSF biomarkers、APPS 2017、2017年10月21-22日、メルボル

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 名称： α -シヌクレイン検出方法、出願番号：特願2016-231861、発明者：西田 教行、佐藤 克也、新 竜一郎、布施 隆行、佐野 和憲、出願人：国立大学法人長崎大学、学校法人福岡大学、出願日：平成28年11月29日
- 2) 名称：14-3-3蛋白 γ アイソフォーム特異的ELISA、出願番号：特願2011-244809、発明者：佐藤克也、調漸、宮崎敏昭、出願人：国立大学法人長崎大学、出願日：2011年11月8日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

