

厚生労働行政推進調査事業費補助金（難治性疾患政策研究事業）

分担研究報告書

研究課題：プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究班

プリオン病サーベイランスにおける、 ヒトプリオン病の患者の髄液中のバイオマーカーの解析

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分野

研究協力者：西田教行 長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学

研究要旨

平成23年4月1日から平成30年11月1日に測定依頼のあった4662症例について検討を行った。この4213症例について髄液中のバイオマーカーの解析を行った。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2632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798症例、遺伝性プリオン病は132症例、獲得性プリオン病は3症例であった。非プリオン病は1701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(14-3-3蛋白WB,14-3-3蛋白ELISA,総タウ蛋白,RT-QUIC法)では感度79.8%,74.1%,75.7%,71.8% 特異度は82.2%,88.9%,77.2%,99.3%であった。RT-QUIC法は100%ではなく、偽陽性症例は15例であった。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か月後の再提出で陽性になった症例が8例あった。

A. 研究目的

プリオン病サーベイランスにおける、ヒトプリオン病患者の髄液中におけるバイオマーカーの有効性を明らかにすることを研究の課題の目的とする。

B. 研究方法

平成23年4月1日から平成30年11月1日までの長崎大学医歯薬学総合研究科感染分子解析学教室・医療科学専攻保健科学分

野に依頼された検体数は4213症例であった。

（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) 髄液検査に依頼された中で平成21-29年度プリオン病サーベイランス委員会にて検討された症例数の中で、986症例でプリオン病は891症例、遺伝性プリオン病は92症例、獲得性プリオン病は3症例であった。(表1)

表1.ヒトプリオン病患者の髄液におけるバイオマーカーの解析

| | 14-3-3 protein ELISA | 14-3-3 protein WB | total tau protein | RT-QUIC assay |
|-----|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| 感度 | 79.8% | 74.1% | 75.7% | 71.8% |
| 特異度 | 82.2% | 88.9% | 77.2% | 99.3% |

2) 非プリオン病は1648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。(表2)

表2. ヒトプリオン病患者の髄液におけるバイオマーカーの解析

| | 14-3-3 protein ELISA | 14-3-3 protein WB | Total tau protein | RT-QUIC assay |
|----------|----------------------|-------------------|-------------------|---------------|
| sporadic | 89.6% | 79.1% | 83.3% | 75.9% |
| genetic | 41.3% | 36.8% | 43.3% | 39.8% |
| acquired | 50.0% | 50.0% | 50.0% | 50.0% |

3) 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(14-3-3蛋白WB,14-3-3蛋白ELISA,総タウ蛋白,RT-QUIC法)では感度79.8%,74.1%,75.7%,71.8% 特異度は82.2%,88.9%,77.2%,99.3%であった。

4) 研究の中で早期症例について再検討を行った。特に早期RT-QUIC法陰性例症例に対してその後4週間後に再検討を行った。(表3)

表3. 再検依頼についてプリオン病

| 14-3-3 protein | total tau protein | RT-QUIC |
|----------------|-------------------|---------|
| - → + | 562 → 1369 | - → + |
| - → + | 874 → 3238 | - → + |
| - → + | 1021 → 8812 | - → + |
| - → + | 123 → 1329 | - → + |
| - → + | 673 → 1432 | - → + |
| - → + | 1192 → 2918 | - → + |
| - → - | 983 → 834 | - → + |
| - → - | 711 → 743 | - → + |

5) RT-QUIC法は100%ではなく、偽陽性症例は15例であった。(表4)

表4

QUIC法における偽陽性症例

| | |
|----------------------------------------------------------|---------|
| • Primary epilepsy | 5 cases |
| • Symptomatic epilepsy due to CVA | 2 cases |
| • Symptomatic epilepsy due to encephalitis | 1 case |
| • Symptomatic epilepsy due to Hashimoto's encephalopathy | 1 case |
| • Hashimoto's encephalopathy | 1 case |
| • FTLT-TDP-43 encephalopathy | 1 cases |
| • Alzheimer's disease | 1 case |
| • Hypoxic encephalopathy | 2 cases |
| • NMDA encephalopathy | 1 case |

6) PSDが出現される時期はQUIC法の検出率は高くなる。又現在まで偽陽性が15例あったが、1例は剖検にてCJDと判断され、又経過中1例CJDと診断された。

D. 考察

現在測定している髄液中のバイオマーカーについて診断に有用であると考えられる。さらに髄液以外の生体材料からのバイオマーカーの検討が必要であると考えられる。

E. 結論

さらなる症例の蓄積は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) Takahashi-Iwata I, Yabe I, Kudoh A, Eguchi K, Wakita M, Shir

ai S, Matsushima M, Toyoshima T, Chiba S, Tanikawa S, Tanaka S, Satoh K, Kitamoto T, Sasaki H. MM2 cortical form of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease without progressive dementia and akinetic mutism: A case deviating from current diagnostic criteria. *J Neurol Sci.* 2020 ;412:116759. doi: 10.1016/j.jns.2020.116759.

2) Matsubara T, Satoh K, Homma T, Nakagaki T, Yamaguchi N, Atarashi R, Sudo Y, Uezono Y, Ishibashi D, Nishida N. Prion protein interacts with the metabotropic glutamate receptor 1 and regulates the organization of Ca(2+) signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 pii: S0006-291X(20)30376-4. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.102.

3) Satoh K, Fuse T, Nonaka T, Dong T, Takao M, Nakagaki T, Ishibashi D, Taguchi Y, Mihara B, Iwasaki Y, Yoshida M, Nishida N. Postmortem Quantitative Analysis of Prion Seeding Activity in the Digestive System. *Molecules.* 2019. 24(24).

4) Hayashi Y, Iwasaki Y, Wazama M, Shibata H, Akagi A, Kimura A, Inuzuka T, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Shimohata T. Clinicopathological findings of an MM2-cortical-type sporadic

Creutzfeldt-Jakob disease patient with cortical blindness during a course of glaucoma and age-related macular degeneration. Prion. 2019 13(1):124-131.

- 5) Ishibashi D, Homma T, Nakagaki T, Fuse T, Sano K, Satoh K, Mori T, Atarashi R, Nishida N. Type I interferon protects neurons from prions in in vivo models. Brain. 2019 . 142(4):1035-1050.

2. 学会発表

- 1) 佐藤克也. Realtime quaking induced conversion (RTQuIC) 法を利用した認知症診断. 第38回日本認知症学会学術集会. 東京. 2019年11月9日
- 2) 佐藤克也. シヌクレイノパチーのバイオマーカー. 第37回日本神経治療学会学術集会. 横浜. 2019年11月6日
- 3) 佐藤克也. 脳腫瘍が多発した肺炎球菌性髄膜炎の1剖検例. 第24回日本神経感染症学会総会・学術大会. 東京. 2019年10月11日
- 4) 佐藤克也. ヒトプリオン病患者におけるバイオマーカーの検討. 第24回日本神経感染症学会総会・学術大会. 東京. 2019年10月11日
- 5) 佐藤克也. RT-QUIC法を応用したプリオン病患者のホルマリン固定能と病理ブロック

からのプリオンシーリング活性の固定法の挑戦. 名古屋. 2019年7月16日

- 6) 佐藤克也. ヒトプリオン病患者におけるバイオマーカーの検討. 大阪. 第60回日本神経学会学術大会. 2019年5月25日

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、布施竜一郎、布施隆行、佐野隆行、佐野和憲、出願人：国立大学法長崎大学、学校法人福岡大学、出願日：2016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

