

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  
 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

**ヒトプリオン病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 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科保健科学分野

**研究要旨**

【目的】ヒトプリオン病患者の髄液中の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。

【方法】2011年4月1日から2020年8月31日までの長崎大学感染分子解析学教室・運動障害リハビリテーション学講座に依頼された検体数は4153症例であった。

【結果】髄液検査に依頼された中で平成18～令和2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、4153症例中でプリオン病は2030症例、孤発性プリオン病は1592症例、遺伝性プリオン病は427症例、獲得性プリオン病は11症例であった。非プリオン病は2123症例であった。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（14-3-3蛋白WB、14-3-3蛋白WB法・ELISA、総タウ蛋白、RT-QUIC法）では感度は79.3%、81.4%、80.1%、70.6%特異度は81.2%、80.4%、86.4%、97.6%であった。RT-QUIC法は100%ではなく、擬陽性症例は25例であった。

【考察】早期におけるQUIC法の検出は低いが、PSDが出現される時期はQUIC法の検出率は高くなる。又現在まで擬陽性が25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。

【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。又髄液以外からの異常プリオン蛋白の検出法を開発すべきであると考えられる。

**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の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**

2011年4月1日から2020年8月31日までの長崎大学感染分子解析学教室・運動障害リハビリテーション学講座に依頼された検体数は4153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18～令和2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、4153症例中でプリオン病は2030症例、孤発性プリオン病は1592症例、遺伝性プリオン病は427症例、獲得性プリオン病は11症例であった。非プリオン病は2123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（14-3-3蛋白WB、14-3-3蛋白WB法・ELISA、総タウ蛋白、RT-QUIC法）では感度は79.3%、81.4%、80.1%、70.6%、特異度は81.2%、80.4%、86.4%、97.6%であった。RT-QUIC法は100%ではなく、擬陽性症例は25例であった。

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 WB	14-3-3 protein ELISA	total tau protein	RT- QUIC assay
感度	79.30%	81.40%	80.10%	70.60%
特異度	81.20%	80.40%	86.80%	97.60%

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（14-3-3蛋白WB、14-3-3蛋白ELISA、総タウ蛋白、RT-QUIC法）では感度80.1%、81.7%、81.3%、79.4%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

	総数	14-3-3 protein WB	14-3-3 protein ELISA	Total tau protein	RT- QUIC assay
孤発性	1,592	80.10%	81.70%	81.30%	79.40%
遺伝性	427	71.40%	74.00%	71.90%	38.40%
獲得性	11	90.90%	90.90%	72.70%	72.70%

3) 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における発症期間からの感度（definite casesにおける）を示す（表3）。

表 3. 孤発性プリオン病（definite cases に  
おける 158 症例）バイオマーカーの感度  
発症時期から髄液採取までの期間

	総数	14-3-3 protein WB	14-3-3 protein ELISA	Total tau protein	RT- QUIC assay
before the onset	2	100%	100%	100%	100%
0-4 weeks	13	85.70%	100%	100%	79%
4-8 weeks	39	94.70%	94.70%	94.70%	97.40%
9-12 weeks	21	95.80%	95.80%	91.70%	79.20%
12-24 weeks	52	77.10%	82.90%	88.60%	82.90%
7-9 month	10	75.00%	81.30%	62.50%	50.00%
10-12 month	5	62.50%	62.50%	62.50%	50.00%
13-24 month	11	70.00%	70.00%	80.00%	60.00%

25-36 month	2	0%	50.00%	50.00%	50.00%
> 36 month	3	100%	100%	100%	67%

4) 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25症例	
Primary epilepsy	4 症例
Symptomatic epilepsy due to CVA	2 症例
Symptomatic epilepsy due to encephalitis	1 症例
FTLD-TDP-43 encephalopathy	2 症例
Corticobasal syndrome	2 症例
Steroid responsive encephalopathy	2 症例
NMDA encephalopathy	1 症例
Progressive supranucleus palsy	1 症例
Wilson's disease	1 症例
Multiple System Atrophy	1 症例
Neurosyphilis	1 症例
Leukoencephalopathy	1 症例
Viral encephalitis	1 症例
Dural arteriovenous fistula	1 症例
Encephalopathy due to unknown	1 症例

#### D. 考察

早期におけるQUIC法の検出は低い、PSDが出現される時期はQUIC法の検出率は高くなる。又現在まで擬陽性が25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。

#### 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。又髄液以外からの異常プリオン蛋白の検出法を開発すべき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) Hermann P, Appleby B, Brandel JP, Caughey B, Collins S, Geschwind MD, Green A, Haik S, Kovacs GG, Ladogana A, Llorens F, Mead S, Nishida N, Pal S, Parchi P, Pocchiari M, Satoh K, Zanusso G, Zerr I. Biomarkers and diagnostic guidelines for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet Neurol* 2021; 20:235-246.

- 2) Dong TT, Satoh K. The latest research on RT-QuIC assays-A literature review. *Pathogens* 2021; 10:305.
- 3) Honda H, Mori S, Watanabe A, Sasagasako N, Sadashima S, Đông T, Satoh K, Nishida N, Iwaki T. Abnormal prion protein deposits with high seeding activities in the skeletal muscle, femoral nerve, and scalp of an autopsied case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology*, in press.
- 4) Fujita H, Ogaki K, Shiina T, Onuma H, Sakuramoto H, Satoh K, Suzuki K. V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease with cardiac sympathetic nerve denervation masquerading as Parkinson's disease: A case report. *Medicine(Baltimore)* 2021; 100:e24294.
- 5) Nomura T, Iwata I, Naganuma R, Matsushima M, Satoh K, Kitamoto T, Yabe I. A patient with spastic paralysis finally diagnosed as V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease 9 years after onset. *Prion* 2020; 14:226-231.
- 6) Hamaguchi T, Sanjo N, Ae R, Nakamura Y, Sakai K, Takao M, Murayama S, Iwasaki Y, Satoh K, Murai H, Harada M, Tsukamoto T, Mizusawa H, Yamada M. MM2 type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: new diagnostic criteria for MM2-cortical type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2020; 91:1158-1165.
- 7) Nakagaki T, Ishibashi D, Mori T, Miyazaki Y, Takatsuki H, Tange H, Taguchi Y, Satoh K, Atarashi R, Nishida N. Administration of FK506 from late stage of disease prolongs survival of human prion-inoculated mice. *Neurotherapeutics* 2020; 17:1850-1860.
- 8) Hayashi Y, Iwasaki Y, Waza M, Kato S, Akagi A, Kimura A, Inuzuka T, Satoh K, Kitamoto T, Yoshida M, Shimohata T. Clinicopathological findings of a long-term survivor of V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion* 2020; 14:109-117.
- 9) Takahashi-Iwata I, Yabe I, Kudo A, Eguchi K, Wakita M, Shirai 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.
- 10) 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<sup>2+</sup> signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 525:447-454.
- 11) 佐藤克也. プリオン病. *Pharma Medica*, 2021; 39:63-68.

## 2. 学会発表

- 1) 佐藤克也. プリオン病の髄液診断. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山 (現地・WEB), 8.31-9.2, 2020.
- 2) 佐藤克也. バイオマーカーとしての  $\alpha$  シヌクレイン. 第 61 回日本神経学会学術大会, 岡山 (現地・WEB), 8.31-9.2, 2020.

## 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

