

ヒトプリオン病患者の髄液中のバイオマーカーの解析と次世代QuIC法の開発

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

背景：2011年我々は異常型プリオンタンパク試験管内増幅法（RT-QuIC法）を発表した。ハムスタープリオン蛋白と比較して感度が低いためにハムスタープリオン蛋白を利用した1st generation QuIC法を改良した2nd generation QuIC法が報告され、現在主流となりつつある。さらにプリオンサーベイランス委員会における感度・特異度を各国間で比較できうるために2nd generation QuIC法の開発が求められている。

方法：各国間の比較を行うために、2nd generation QuIC法を確立する。長崎大学に検査依頼された4153検体において次世代QuIC法利用し、髄液検査を行う。

結果：EUにおける2nd generation RT-QuICを採用し、反応時間は60時間、温度は55度、CSFは20ulとした。4153検体ではプリオン病は2030症例、非プリオン病では2123症例であり、感度は74.3%、特異度は100%であった。

結論：1st generation QuIC法と2nd generation QuICの感度はほぼ変わらない。EUで90%以上の感度の2nd generation QuICもあるためさらに改良が必要であると思われる。

A. 研究目的

2011年我々は異常型プリオンタンパク試験管内増幅法（RT-QuIC法）を発表した。我々のリコンビナント蛋白はヒトプリオン蛋白では利用したが、その後EUではリコンビナント蛋白はヒトプリオン蛋白を利用できないためにハムスターが利用されてきた。（1st generation QuIC法）しかしながらリコンビナント蛋白においてヒトプリオン蛋白を利用した場合とハムスタープリオン蛋白と比較して感度が低いためにハムスタープリオン蛋白を利用した1st generation QuIC法を改良した2nd generation QuIC法が報告され、現在主流となりつつある。さらにプリオンサーベイランス委員会における感度・特異度を各国間で比較できうるために2nd generation QuIC法の開発が求められている。

B. 研究方法

各国間の比較を行うために、2nd generation QuIC法を確立する。

2011年4月1日から2020年8月31日までに長崎大

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検査依頼された4153検体において次世代QuIC法利用し、髄液検査を行う。

（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) EUにおける2nd generation RT-QuICを採用し、反応時間は60時間、温度は55度、CSFは20ulとした。

2) 4153検体ではプリオン病は2030症例、非プリオン病では2123症例であり、バイオマーカーの検討結果を表1にて示す。

3) プリオン病の2030症例について詳細に検討した。(表2と表3)

表1. プリオン病のバイオマーカーの感度・特異度

| | 14-3-3 protein WB | 14-3-3 protein ELISA | total tau protein | RT-QuIC assay | |
|-----|-------------------|----------------------|-------------------|----------------|----------------|
| | | | | 1st generation | 2nd generation |
| 感度 | 79.30% | 81.40% | 80.10% | 70.60% | 74.30% |
| 特異度 | 81.20% | 80.40% | 86.80% | 97.60% | 100% |

表2. プリオン病 (2030症例) のタイプ別のバイオマーカーの感度

| | 総数 | 14-3-3 protein WB | 14-3-3 protein ELISA | Total tau protein | RT-QuIC assay | |
|-----|-------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------|----------------|
| | | | | | 1st generation | 2nd generation |
| 孤発性 | 1,592 | 80.10% | 81.70% | 81.30% | 79.40% | 83.90% |
| 遺伝性 | 427 | 71.40% | 74.00% | 71.90% | 38.40% | 38.40% |
| 獲得性 | 11 | 90.90% | 90.90% | 72.70% | 72.70% | 72.70% |

表3. 孤発性プリオン病 (1,592症例)のタイプ別のバイオマーカーの感度

| | 総数 | 14-3-3 protein WB | 14-3-3 protein ELISA | Total tau protein | RT-QuIC assay | |
|---------------|------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------|----------------|
| | | | | | 1st generation | 2nd generation |
| Definite case | 158 | 83.20% | 88.60% | 86.50% | 77.80% | 79.40% |
| Probable case | 1153 | 85.70% | 88.50% | 86.70% | 84.60% | 86.90% |
| Possible case | 281 | 61.90% | 59.10% | 62.60% | 61.20% | 75.80% |

D. 考察

2nd generation QuICの感度はほぼ変わらない。しかしながらイタリアのグループではFFIやMM2-視床型 (SFI) においてもほぼ100%検出できている。我々は、現状の2nd generation QuIC法を改善する必要性がある。

E. 結論

EUで90%以上の感度の2nd generation QuICがあるためさらに我々の2nd generation QuICの改良が必要であると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Satoh K. CSF biomarkers for prion diseases. *Neurochem Int.* 2022;155:105306.
- 2) Hamada Y, Deguchi K, Tachi K, Kita M, Nonaka W, Takata T, Kobara H, Toge T, Satoh K, Masaki T. Significance of Cortical Ribboning as a Biomarker in the Prodromal Phase of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Intern Med.* 2022; 61(17):2667-2670.
- 3) Matsubayashi T, Akaza M, Hayashi Y, Hamaguchi T, Satoh K., Kosami K, Ae R, Kitamoto T, Yamada M, Shimohata T, Yokota T, Sanjo N. Specific electroencephalogram features in the very early phases of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci.* 2022;437:120265.
- 4) Suzuki Y, Sugiyama A, Muto M, Satoh K, Kitamoto T, Kuwabara S. Early Diagnosis of V180I Genetic Creutzfeldt-Jakob Disease at the Preserved Cognitive Function Stage. *Cureus.* 2022;14(3):e23374.
- 5) Nakagaki T, Kaneko M, Satoh K., Murai K, Saiki K, Matsumoto G, Ogami-Takamura K, Ikematsu K, Akagi A, Iwasaki Y, Tsurumoto T, Nishida N. Detection of Prions in a Cadaver for Anatomical Practice. *N Engl J Med.* 2022;386(23):2245-2246.
- 6) Yasuda M, Sugiyama A, Hokkoku H, Suichi T, Ito K, Satoh K, Kitamoto T, Kuwabara S. Propagation of Diffusion-Weighted MRI Abnormalities in the Preclinical Stage of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Neurology.* 2022;99(16):699-702.
- 7) Hamada S, Takahashi-Iwata I, Satoh K,

Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Yabe I. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease with 5-octapeptide repeats presented as frontotemporal dementia. *Hum Genome Var.* 2023;10(1):10.

- 8) Muroga Y, Sugiyama A, Mukai H, Hashiba J, Yokota H, Satoh K, Kitamoto T, Wang J, Ito S, Kuwabara S. Cerebral cortex swelling in V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease: comparative imaging study between sporadic and V180I genetic Creutzfeldt-Jakob disease in the early stage. *Prion.* 2023;17(1):105-110.

〈書籍〉

- 1) 佐藤克也【プリオン病】プリオン病の感染予防. In 脳神経内科編集委員会. 脳神経内科, 科学評論社 東京, 2022. P445-449.

2. 学会発表

- 1) 佐藤克也:非公開プリオン病患者からのホルマリン固定脳からのプリオン活性の検出. 第63回日本神経学会大会, 2022. 東京, 5月22日, 2022年 (ポスター)
- 2) 佐藤克也:プリオン病患者の脳ホルマリン固定・ギ酸処理によるプリオン活性の変化. 第26回日本神経感染症学会総会, 2022. 鹿児島, 10月15日, 2022年
- 3) 佐藤克也:プリオン病の早期診断と治療薬開発. 第41回日本認知症学会学術集会・第37回日本老年精神医学会, 2022. 東京, 11月25日, 2022年 (口演)
- 4) 佐藤克也:プリオン病患者脳ホルマリン固定・ギ酸処理によるプリオン活性の変化. 第41回日本認知症学会学術集会・第37回日本老年精神医学会, 東京, 2022. 11月25日, 2022年 (ポスター)
- 5) 佐藤克也:プリオン病 再考 早期診断の視点から. 第41回日本認知症学会学術集会・第37回日本老年精神医学会, 2022. 東京, 11月26日, 2022年 (ポスター)

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

