

高感度異常型プリオンタンパク増幅法技術の開発 —プリオン病の生前確定診断への応用—

長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 テニユアトラック准教授

新電一郎



研究の背景

プリオン病(別名、伝達性海綿状脳症)は、感染性(伝達性)病原体プリオンにより引き起こされる致死性の神経変性疾患です。ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)、牛の牛海綿状脳症(BSE)などが代表的な疾患とされています。CJDは、一年間でおおよそ百万人に一人の割合で世界共通に発病すると報告され、認知症の原因疾患の一つにも挙げられています。

現在プリオンは、ウイルス・細菌等の微生物とは異なり、単一のタンパク質である異常型Prion protein (PrP)のみから構成されている、とする「タンパク単独仮説」が広く受け入れられています。この仮説によれば、外部より侵入、あるいは自発的に生成した異常型PrPが宿主内で正常型PrPに作用し、正常型から異常型へと構造変化が誘導され、異常型PrPが蓄積することによりプリオン病が引き起こされます。プリオン病の生前確定診断のためには脳の一部を採取する脳生検を行う必要がありますが、脳生検の実施は困難で危険を伴います。そこで私達は、採取が容易な髄液中に含まれるごく微量の異常型PrPを検出が容易なレベルまで試験管内で増やす方法を開発し、プリオン病の生前確定診断法として用いることを試みました。

研究の成果

本研究では、新たな異常型PrP高感度増幅法(Real-time QUIC法と命名)を開発し、CJD患者由来髄

液中の異常型PrPを検出することに成功しました。この方法は、ごく少量の異常型PrPと、大腸菌に発現させ精製したリコンビナントPrP (rPrP)とを混合し相互作用させることで、反応基質であるrPrPに異常型PrP依存的な凝集(フィブリル形成)反応を起こさせ、サンプル(例えば髄液)中の異常型PrPの有無を判定するという方式です(図1)。このReal-time QUIC法をCJD患者由来の髄液を用いて、異常型PrPの検出を試みたところ、感度は80%以上、特異度は100%と生存中でのCJD疑い例を評価する高い診断能力が期待できることが示されました(表1)。本研究の成果は、「Nature Medicine」2011年2月号に掲載されました。

今後の展望

これまでのプリオン病の診断補助として用いられてきた14-3-3蛋白等の髄液中生化学的マーカー測定やMRI検査と今回のReal-time QUIC法を組み合わせることで、CJDを中心としたヒトプリオン病の早期発見、早期確定診断が可能となる日が近いことが予想されます。今後は現在不治な疾患であるプリオン病に対する有効な治療法の開発が強く望まれます。

関連する科研費

平成20-22年度 基盤研究(B)「異常型プリオンタンパク試験管内増幅法によるプリオン病の早期診断法の開発」

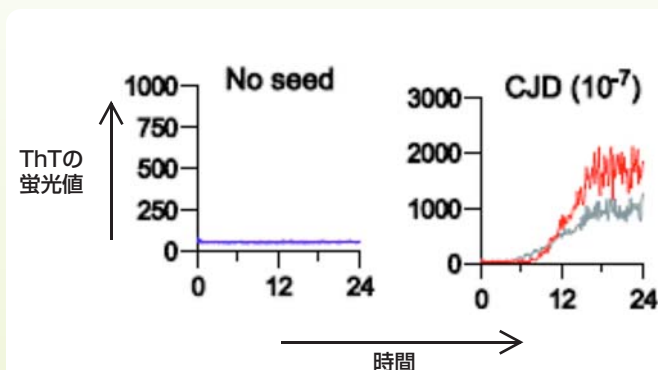


図1: Real-time QUIC法での反応の例
No seed; 異常型PrPなしでの反応(蛍光値の上昇は見られない)
CJD; CJD脳乳剤の希釈液(10^{-7})を添加した場合(蛍光値の上昇が見られ、異常型PrPが検出されたことを示す)

	日本の 髄液検体53例 (CJD18例、 非CJD35例) の結果	オーストラリアの 髄液検体30例 (CJD16例、 非CJD14例) の結果 [盲検試験]
感 度	83.3% (15/18)	87.5% (14/16)
特異度	100% (0/35)	100% (0/14)

表1 髄液を用いたCJD診断におけるReal-time QUIC法の感度・特異度の結果

*括弧内は陽性/サンプル数を示す。

感 度; 異常型が高い精度で検出されたことを示す

特異度; 誤判定のケースがないことを示す

(記事制作協力: 日本科学未来館科学コミュニケーター 中村江利子)