

研究助成 2020 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学
氏 名	中垣 岳大
研 究 テーマ	プリオン病スクリーニング法の確立

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
(図表、写真などの貼付を含む)

I: 研究目的

プリオン病を引き起こす「プリオン」は異常型プリオンタンパク (PrP^{Sc}) を主体とする病原体であり、個体から個体へ伝播する、一般的な滅菌方法では不活化できないという性質があることから、過去に医療行為による伝播が問題になってきた。我々は、長崎大学医学部歯学部で使用される解剖実習の御遺体のプリオンスクリーニングを実施しているが、75 例を検査したところ、1 例のプリオン病未診断例を発見した (Nakagaki et al., *N Engl J Med.* 2022)。プリオン病の有病率は 100 万人当たり 1–2 例であるが、未診断例はそれよりもはるかに多いと考えられる。そのため本研究ではプリオン検出法の感度を向上させ、血液からのプリオン検出法の確立を目指す。

II : 研究方法、結果

高感度の RT-QuIC 法でも血中に含まれるプリオンが極めて少ないなどの理由から、血液中のプリオン検出は容易ではない。そこで、ヒトプリオンに対して高感受性の細胞を樹立して、細胞中でプリオンの感染増殖をさせた後に Real Time Quaking Induced Conversion (RT-QuIC) 法でプリオンを検出した。

今回、ヒト子宮頸がん由来の Hela 細胞にプリオンタンパク (PrP) を安定的に過剰発現する細胞を樹立した。この細胞の培養液中に孤発性クロイツフェルトヤコブ病 (sCJD) 患者の脳乳剤を添加した後、細胞を回収して RT-QuIC 法によってプリオンを検出したところ、わずか 10 個の細胞からプリオンを検出することに成功した (図)。

さらに、RT-QuIC 法の反応条件も検討した。RT-QuIC 法ではリコンビナント PrP

にプリオンを加えて振盪と静置を繰り返し PrP の異常化を促す。これによって微量のプリオンでも検出可能になる。RT-QuIC 法で陰性と確認するためには 48 時間程度が必要である。我々は反応条件を検討することで、反応時間を短縮し、感度も 10 倍上昇することに成功した (Rapid-QuIC: Ra-QuIC 法)。

III : 研究成果

御遺体からプリオン病未診断例を発見したことにより、法医学教室からも検査を依頼されている。とくに時間が限られる移植手術や患者背景がわからない法医解剖では、可能な限り迅速に診断する方法の確立が望まれる。今回開発した Ra-QuIC 法をさらに改良することで、より簡便に、短時間でスクリーニングが可能になると考えられる。

また、今回樹立したプリオン高感受性細胞も組み合わせ、実験条件を最適化することで、血液等の低侵襲で得られる検体からのプリオン検出に取り組む予定である。

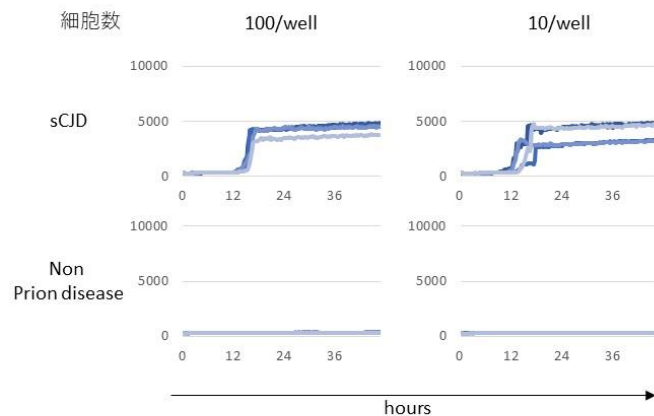


図: PrP 過剰発現細胞を用いたプリオン検出

研究助成 2020 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所	属
氏	名

1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Mari Nakaie, Fumihiro Katayama, <u>Takehiro Nakagaki</u> , Sakura Yoshida, Masao Kawasaki, Kodai Nishi, Kazuma Ogawa, Akira Toriba, Noriyuki Nishida, Morio Nakayama, Takeshi Fuchigami. Synthesis and Biological Evaluation of Novel 2-(Benzofuran-2-yl)-chromone Derivatives for In Vivo Imaging of Prion Deposits in the Brain. <i>ACS infectious diseases</i> . 2022. 査読あり
2	<u>Takehiro Nakagaki</u> *, Miho Kaneko, Katsuya Satoh, Kiyohito Murai, Kazunobu Saiki, Gen Matsumoto, Keiko Ogami-Takamura, Kazuya Ikematsu, Akio Akagi, Yasushi Iwasaki, Toshiyuki Tsurumoto, Noriyuki Nishida. Detection of Prions in a Cadaver for Anatomical Practice. <i>The New England journal of medicine</i> 386(23) 2245-2246 2022. *Corresponding author 査読あり
3	Mari Nakaie, Fumihiro Katayama, <u>Takehiro Nakagaki</u> , Masao Kawasaki, Sakura Yoshida, Akira Toriba, Kazuma Ogawa, Noriyuki Nishida, Morio Nakayama, Takeshi Fuchigami. Synthesis and Characterization of Hydroxyethylamino- and Pyridyl-Substituted 2-Vinyl Chromone Derivatives for Detection of Cerebral Abnormal Prion Protein Deposits. <i>Chemical & pharmaceutical bulletin</i> 70(3) 211-219 2022 査読あり
4	Thi-Thu-Trang Dong, Akio Akagi, Toshiaki Nonaka, <u>Takehiro Nakagaki</u> , Ban Mihara, Masaki Takao, Yasushi Iwasaki, Noriyuki Nishida, Katsuya Satoh. Formalin RT-QuIC assay detects prion-seeding activity in formalin-fixed brain samples from sporadic Creutzfeldt-Jakob disease patients. <i>Neurobiology of disease</i> 159 105504-105504 2021 査読あり
5	Takayuki Fuse, <u>Takehiro Nakagaki</u> , Takujiro Homma, Hiroya Tange, Naohiro Yamaguchi, Ryuichiro Atarashi, Daisuke Ishibashi, Noriyuki Nishida. Dextran sulphate inhibits an association of prions with plasma membrane at the early phase of infection. <i>Neuroscience research</i> ;171:34-40. 2021 査読あり
6	<u>Takehiro Nakagaki</u> , Noriyuki Nishida, Katsuya Satoh. Development of α -Synuclein Real-Time Quaking-Induced Conversion as a Diagnostic Method for α -Synucleinopathies. <i>Frontiers in Aging Neuroscience</i> 13 703984-703984 2021 査読あり
7	Hiroya Tange, Daisuke Ishibashi, <u>Takehiro Nakagaki</u> , Yuzuru Taguchi, Yuji O. Kamatari, Hiroki Ozawa, Noriyuki Nishida. Liquid-liquid phase separation of full-length prion protein initiates conformational conversion in vitro. <i>Journal of Biological Chemistry</i> 296 100367-100367 2021 査読あり

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022年12月	Asia Pacific Prion Symposium (藤沢市、国際学会、招待講演) Takehiro Nakagaki “Prion screening test for autopsied cadavers”
2	2022年11月	第69回日本ウイルス学会（長崎市、口頭発表） 中垣岳大、金子美穂、西田教行 MM1型プリオン多様性の検証
3	2022年10月	第26回神経感染症学会（鹿児島市、口頭発表） 中垣岳大、金子美穂、赤木明生、佐藤克也、岩崎靖、西田教行 解剖実習御遺体のプリオンスクリーニング
4	2022年9月	PRION2022 (Germany, poster presentation) Takehiro Nakagaki, Katsuya Satoh and Noriyuki Nishida. “An undiagnosed case of prion disease found in donated bodies for anatomical practice of medical students”
	2021年10月	第25回神経感染症学会（愛知、web開催、口頭発表） 中垣岳大、佐藤克也、西田教行 孤発性プリオン多様性の検証
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		