

脳脊髄液検査における循環遊離ミトコンドリア DNA 定量の妥当性検証、
および質量分析オミクスアプローチによる関連成分の探索

1. 観察研究について

九州大学病院では、最適な治療を患者さんに提供するために、病気の特徴を研究し、診断法、治療法の改善に努めています。患者さんの生活習慣や検査結果、疾病への治療の効果などの情報を集め、これを詳しく調べて医療の改善につながる新たな知見を発見する研究を「観察研究」といいます。その一つとして、九州大学病院検査部では、本院で髄液検査を実施した患者さんを対象として、髄液中の mtDNA と関連する代謝物・蛋白質に関する「観察研究」を行っています。

今回の研究の実施にあたっては、九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会の審査を経て、研究機関の長より許可を受けています。この研究が許可されている期間は、2024年3月31日までです。

2. 研究の目的や意義について

脳脊髄液（以下、CSF：cerebrospinal fluid）は、脳・脊髄を機械的衝撃から保護、神経細胞の浸透圧平衡を保持、また中枢神経の分解不要物質の除去など、物理化学的環境の恒常性を保つ役割がある。生検が困難なことが多い脳・神経組織の中で、CSF採取は比較的侵襲性が高いものの生体から採取しやすい貴重な試料であり、その成分の変化が中枢神経系の機能や異常を反映すると考えられている。病的状態において、血液-脳脊髄液関門の破綻や炎症反応による細胞浸潤などにより、CSFの物理化学的性質や出現する細胞の種類・数や比率が変化する。そのためCSFの生化学検査では、髄膜炎・脳炎診断や脳腫瘍、髄膜白血病の検査方針や治療効果のため重要な検査の一つとして位置付けられている。しかし、現行の検査項目には反映されない、すなわち異常検査値として検知できない脳・中枢神経系疾患も多く報告されている。

近年、CSF中の循環セルフリーmtDNA（以下、ccf-mtDNA）が脳や中枢神経系の機能異常を反映するバイオマーカーとして注目されている。CSFは脳室を裏打ちする脈絡叢で生産・分泌されるが、CSFのccf-mtDNAがどの組織に由来するのか詳細は不明である。しかし、脳実質および中枢神経系の障害程度に応じてCSFのccf-mtDNAが変動することがこれまで数多く報告されている。実際、種々の脳炎(encephalitis)²や脊髄炎(neuromyelitis)、あるいはミトコンドリア脳筋症(MELAS)を始めとする様々なミトコンドリア病患者のCSFでccf-mtDNAが増加していること、一方で神経変性を伴う進行性の多発性硬化症(Multiple sclerosis)やパーキンソン病、アルツハイマー病の患者CSFでは逆にccf-mtDNAが低下することが報告されている。更に、神経精神疾患の領域においても活発に研究が進んでいる。重要なことは、臨床検査上、これらの患者CSFの検査値において顕著な異常が認められない場合が多く、比較的侵襲性の高い検査にもかかわらず臨床上有益な情報(検査結果として)を十分に提供できていない現状が課題であった。

そこで本研究は、CSF中のccf-mtDNA検査の妥当性評価を目的とし、検査終了後のCSF検体を用い、ccf-mtDNA濃度をqPCR法によって絶対定量(コピー数/mL)し、実際の検査結果および疾患名に照合してその定量値を評価する。更に、同一検体を用いて質量分析によるタンパク質、代謝物、脂質の網羅的解析を行い、ccf-mtDNA濃度に関する成分を同定し、CSF中ccf-mtDNAの放出メカニズムの研究を行っていく。これらの研究は、CSFの新たな臨床検査法としてccf-mtDNA検査の可能性を提示することで、将来的に脳・中枢神経疾患の正確な診断法確立に貢献できるだけでなく、治療方針の決定、発症予測及び治療予後モニタリングなどのへの応用も期待できると考えている。

3. 研究の対象者について

九州大学病院検査部において2022年5月1日から2022年10月31日までに髄液検査を実施し、本研究の必要量が残存する検体、100名を対象にします。研究の対象者となることを希望されない方又は、研究対象者のご家族等の代理人の方は、事務局までご連絡下さい。

4. 研究の方法について

この研究を行う際は、カルテより以下の情報を取得します。また、保管されている髄液検体を用いて、PCRという方法でmtDNAを測定し、質量分析装置により代謝物・蛋白質を測定します。測定結果と取得した情報の関係性を分析し、髄液検査の有用性を広げます。

[取得する情報]

診療科、年齢、性別、診断名
髄液・血液の検査結果

5. 個人情報の取扱いについて

研究対象者の測定結果、カルテの情報をこの研究に使用する際には、研究対象者のお名前の代わりに研究用の番号を付けて取り扱います。研究対象者と研究用の番号を結びつける対応表のファイルにはパスワードを設定し、九州大学大学院検査部内のインターネットに接続できないパソコンに保存します。このパソコンが設置されている部屋は、同分野の職員によって入室が管理されており、第三者が立ち入ることはできません。

また、この研究の成果を発表したり、それを元に特許等の申請をしたりする場合にも、研究対象者が特定できる情報を使用することはありません。

この研究によって取得した情報は、九州大学病院検査部 部長・赤司 浩一の責任の下、厳重な管理を行います。

ご本人等からの求めに応じて、保有する個人情報を開示します。情報の開示を希望される方は、ご連絡ください。

6. 試料や情報の保管等について

[試料について]

この研究において得られた研究対象者の血液や病理組織等は原則としてこの研究のために使用し、研究終了後は、九州大学病院検査部において九州大学病院検査部 部長・赤司 浩一の責任の下、研究終了後、研究用の番号等を消去し、廃棄します。

[情報について]

この研究において得られた研究対象者のカルテの情報等は原則としてこの研究のために使用し、研究終了後は、九州大学病院検査部において九州大学病院検査部 部長・赤司 浩一の責任の下、10年間保存した後、研究用の番号等を消去し、廃棄します。

7. 利益相反について

九州大学では、よりよい医療を社会に提供するために積極的に臨床研究を推進しています。そのため資金は公的資金以外に、企業や財団からの寄付や契約でまかなわれることもあります。医学研究の発展のために企業等との連携は必要不可欠なものとなっており、国や大学も健全な産学連携を推奨してい

ます。

一方で、産学連携を進めた場合、患者さんの利益と研究者や企業等の利益が相反（利益相反）しているのではないかという疑問が生じる事があります。そのような問題に対して九州大学では「九州大学利益相反マネジメント要項」及び「医系地区部局における臨床研究に係る利益相反マネジメント要項」を定めています。本研究はこれらの要項に基づいて実施されます。

本研究に関する必要な経費は寄付金であり、研究遂行にあたって特別な利益相反状態にはありません。利益相反についてもっと詳しくお知りになりたい方は、下記の窓口へお問い合わせください。

利益相反マネジメント委員会

(窓口：九州大学病院 ARO 次世代医療センター 電話：092-642-5082)

8. 研究に関する情報の開示について

この研究に参加して下さった方々の個人情報の保護や、この研究の独創性の確保に支障がない範囲で、この研究の研究計画書や研究の方法に関する資料をご覧いただくことができます。資料の閲覧を希望される方は、ご連絡ください。

9. 研究の実施体制について

この研究は以下の体制で実施します。

研究実施場所	九州大学病院検査部
研究責任者	九州大学病院検査部 部長 赤司 浩一
研究分担者	九州大学病院検査部 技師長 堀田 多恵子 九州大学病院検査部 助教 瀬戸山 大樹 九州大学病院検査部 主任 衛生検査技師 山中 基子 九州大学病院検査部 臨床検査技師 野見山 倫子 九州大学病院検査部 臨床検査技師 垣野 星

10. 相談窓口について

この研究に関してご質問や相談等ある場合は、下記担当者までご連絡ください。

事務局 担当者：九州大学病院検査部 技師長 堀田多恵子
(相談窓口) 連絡先：〔TEL〕 092-642-5749 (直通)

〔FAX〕 92-642-5772

メールアドレス：hotta.taeko.007@m.kyushu-u.ac.jp