

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07864

研究課題名(和文) 免疫介在性ニューロパチーの疾患活動性を反映する新規バイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of a novel biomarker reflecting disease activity in immune-mediated neuropathy

研究代表者

飯島 正博 (IIJIMA, MASAHIRO)

名古屋大学・医学部附属病院・客員研究者

研究者番号：40437041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ニューロフィラメント-light(NF-L)が、CIDPの病勢を反映することを確認し、治療反応性の評価における有用性を明らかにした。NF-LはCIDPで増加するとともに、mRSスコアと髄液蛋白と正の相関を認めた。また免疫療法に抵抗性を示すIgG4 抗NF155抗体陽性例は陰性例より高値であった。神経伝導検査(下肢CMAP)や病理所見(axonal degeneration)から、NF-Lは軸索障害を反映することが示された。

また、人ならびにマウス末梢神経におけるCIDP患者血清の反応性を網羅的に解析することにより、感覚性運動失調を特徴とする免疫性ニューロパチーの新たなバイオマーカーを特定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、CIDPの診断、ならびに疾患活動性を反映するバイオマーカーとしてNF-Lの有用性が確認された。この成果は、CIDP患者における治療反応性の客観的評価による治療適正化に有用であるとともに、軸索変性に至り可塑性に乏しい患者を治療前に推測する方法としても有用である。

また、本研究で明らかになったCIDPをはじめとする各種免疫介在性ニューロパチーにおいて、感覚運動失調を前兆とした臨床像を有する患者を反映するバイオマーカーとして、新たな自己抗体を確認した。治療反応性の観点からは既存の免疫療法への反応は良好であることから、本自己抗体陽性例の治療方針ならびに予後判定に有用と期待できる。

研究成果の概要(英文)：Neurofilament-light (NF-L) reflects disease activity in CIDP and helps to assess therapeutic responses; NF-L is increased in CIDP and positively correlates with mRS score and CSF protein. The IgG4 anti-NF155 antibody-positive patients, who were resistant to immunotherapy, had higher levels of NF-L than those with opposing. Nerve conduction studies (lower extremity CMAP) and pathological findings (axonal degeneration) suggest that NF-L reflected axonal degeneration. Comprehensive analysis of the reactivity of CIDP patient sera in human and mouse peripheral nerves identified a new biomarker for immune-mediated neuropathy characterized by sensory ataxia.

研究分野：神経内科学

キーワード：免疫介在性ニューロパチー 慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP) バイオマーカー Neurofascin-155 自己抗体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 慢性炎症性脱髄性多発神経炎 (chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, CIDP) は後天性かつ難治性の自己免疫疾患である。患者は四肢の運動感覚障害により歩行や階段昇降、また上肢では洗髪や食事等に大きな支障をきたす。本疾患の病態は、末梢神経を標的とする細胞性ならびに液性免疫機序の関与が推測されているが、共通の標的抗原は確認されていない。また、本疾患には診断ならびに疾患活動性にかかるバイオマーカーが特定されていない。

(2) CIDP の治療にはランダム化比較対照試験が複数の治療法で確立しており、様々な免疫学的介入が治療効果を有することが知られている。代表的な治療として副腎皮質ステロイド、血漿浄化療法、また国内外でもっとも用いられる免疫グロブリン静注療法の3オプションがファーストライン治療であり、これらの治療のいずれかが有効な患者は複数の報告から全体の6割から8割と想定される。これらの治療効果の判定には患者の主観的ならびに客観的指標による評価の両者が重要であるが、このうち客観的指標の多くは運動機能や生活レベルの改善などの臨床的な指標に頼ることが多く、また握力変化や髄液タンパク量の変化なども参考になるが validation された指標としては確立していない。

2. 研究の目的

(1) CIDP の疾患活動性を規定するバイオマーカーの探索：これまで臨床的増悪として捉えられた、もしくは治療下でマスクされていた疾患活動性を客観的に可視化するマーカーを明らかにすることで、1) 単相性・再発性・緩徐進行性等の経過や特徴を厳密に定義可能となり、over treatment のリスクを回避する、2) 最小限の投与量・期間が明らかとなり、血液製剤の特徴である感染症罹患リスクと副作用の軽減、3) 適切な治療介入と病勢コントロールが容易となり、医療経済的に有用 (免疫グロブリン製剤の効率的運用)、また多様な病態背景に裏付けられた CIDP の病態に基づく亜型の再構築に向けて、病勢・病期に由来するノイズを排除できる。

(2) CIDP をはじめとする病態にかかわる標的抗原が特定されていない免疫性ニューロパチーにおける標的抗原の探索：これまで多くの発症に関わる標的抗原が解析、報告されてきた。このうち末梢神経のランヴィエ絞輪部における接着分子への自己抗体が10%以下で検出される事がわかってきたが、未だ多くは不明である。疾患の病態と関連する抗体を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) CIDP患者血清における疾患活動性マーカーの探索

名古屋大学ならびに関連施設において、文書により同意を得、採取した治療前後のCIDP血清について、neurofilament-light (NF-light) の経時的変動を超高感度ELISAのSimoaシステムにより解析する。これにそれぞれの時系列におけるdemographics (運動機能評価、INCAT、電気生理検査、等)との相関を解析する。

(2) CIDPの新たな病因もしくは臨床像に対応する自己抗体の探索

CIDP患者血清を人ならびにマウス末梢神経における患者血清の反応性をwestern-blotで確認し、反応性を示した複数のバンドについて、質量解析を行うとともに、候補タンパクと患者血清との反応性を検証する。

(3) B. CIDPモデルマウスを用いた解析

NOD B7-2ノックアウトマウスは免疫性ニューロパチーの動物モデルとして確立しており、CIDPに類似の中枢障害を伴わない炎症性ニューロパチーをきたす。病期を経るに従い、脱髄と四肢運動障害、さらには二次性軸索変性と筋肉量減少 (体重減少) を特徴とする。病変部神経における免疫組織学的解析 (immunohistochemistry, IHC) を発症前から時系列で採取し、個々の採取大腿神経のIHCからCD4, CD8, CD68を含む免疫担当細胞の出現と脱髄ならびに軸索変性の有無を確認する。

4. 研究成果

(1) CIDP患者血清における疾患活動性マーカーの探索

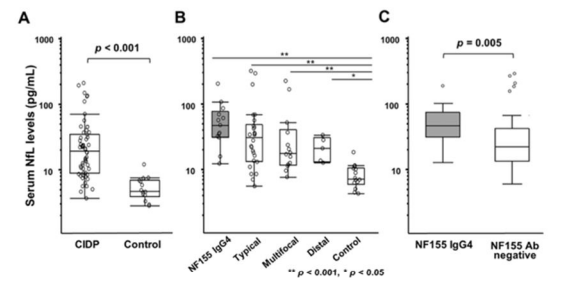
CIDPの各亜型を含む全体とコントロールの血清NF-L濃度の比較では、CIDPで有意に高い結果を得た (median 29.63 vs. 7.71 pg/mL, $p < 0.001$)。亜型間の比較では有意な差は確認できなかったが、既知のNF155 IgG4自己抗体陽性例は陰性例と比べて顕著な増加を呈した (46.65 vs. 22.28 pg/mL, $p = 0.005$) (図1)。

次にNF155 IgG4自己抗体陽性例について、治療後に有意なNF-L低下を示した。同じくNF155自己抗体価も有意な低下を示し、これらの結果から疾患活動性を反映するマーカーとなることが示された。また臨床的予後としてmodified Rankin Scoreについても治療後早期と半年後に改善を呈しており、このことからNF-Lの低下は自己抗体価だけではなく、臨床的予後も反映することが示された (図2)。

(2) CIDPの新たな病因もしくは臨床像に対応する自己抗体の探索として、免疫介在性ニューロパチー患者血清90例(うちCIDP78例)をマウス脳ホモジネートに対しwestern-blottingにて反応させて得られたバンドを切り出し、LC-MS/MSを施行したところ、candidate antigen Xが候補抗原と判明した。Candidate antigen Xに対する各免疫介在性ニューロパチーの患者血清の反応性を評価した結果、CIDP全体の18%であり、臨床的には感覚障害が顕著である点が共通した。また他のニューロパチー全体のうち陽性例はいずれも感覚障害が前景であることが示された。CIDPにおいて本抗体陽性例は発症年齢の中央値が66歳、感覚障害とくに感覚性運動失調を呈すること、脳神経障害や悪性腫瘍の合併例が多く、治療としてIVIgや副腎皮質ステロイドなどの免疫療法には良好に反応性を示すことが判明した。

患者血清の反応性はいずれもrecombinant candidate Xを添加することで阻害することから、今回特定した候補抗原の妥当性が示されている。末梢神経性の感覚障害の病変部位候補として、マウスから摘出した後根神経節に対しcandidate X抗体を有する患者血清を用いたtissue-based assayを施行したところ、健常コントロールで反応しない一方、患者血清はいずれも高度の陽性を示した。本抗原は後根神経節細胞では細胞質への局在が示された (図3)。

図1. CIDPならびに亜型における血清NF-L濃度



A: CIDP vs. Control, B: Variants with Control, C: NF155 antibody positive vs. negative

図2. IgG4 NF155 抗体陽性例における、治療前後の血清NF-L濃度 (A)、NF155 抗体価 (B)、mRsの変動 (C)

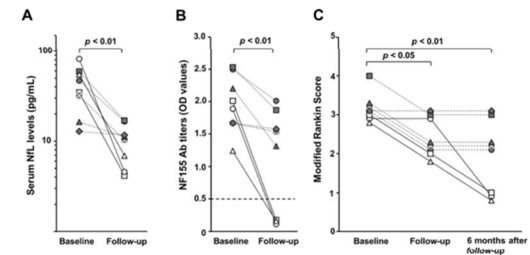
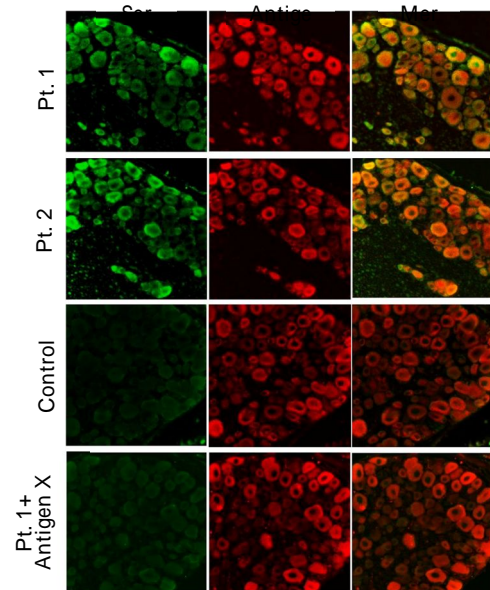


図3. (Candidate) antigen Xの局在 (マウス DRG)



< 引用文献 >

Fukami Y, Iijima M, Koike H, et al. *J Neurol*. 2021. 268:3835-44

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fukami Y, Koike H, Iijima M, Mouri N, Nishi R, Katsuno M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Role of complement components in vasculitic neuropathy associated with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Muscle Nerve.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/mus.27636.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukami Y, Iijima M, Koike H, Yamada S, Hashizume A, Katsuno M.	4. 巻 268
2. 論文標題 Association of serum neurofilament light chain levels with clinicopathology of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, including NF155 reactive patients.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurol.	6. 最初と最後の頁 3835-3844
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00415-021-10537-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Iijima M, Fukami Y, Mohri N, Koike H, Murakami H, Nakagawa H, Katsuno M.
2. 発表標題 Which Ig component is essential as an immunomodulator for CIDP model mice?
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯島正博, 清水忍, 深見祐樹, 田村奈津子, 中枋昌弘, 安藤昌彦, 小池春樹, 海田賢一, 古賀道明, 神田隆, 緒方英紀, 山崎亮, 吉良潤一, 森雅裕, 桑原聡, 勝野雅央
2. 発表標題 IgG4自己抗体陽性の難治性慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIDP）患者を対象としたリツキシマブの有効性と安全性評価に関する多施設共同臨床試験
3. 学会等名 神経免疫班合同班会議
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 深見 祐樹, 飯島 正博, 小池 春樹, 橋詰 淳, 勝野 雅央
2. 発表標題 CIDPにおける血清ニューロフィラメント軽鎖濃度と臨床病理所見およびNF155自己抗体との関連
3. 学会等名 日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯島 正博
2. 発表標題 CIDP:病態解明から新規治療へ CIDPモデルマウスにおける病態の検討
3. 学会等名 日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 深見 祐樹, 飯島 正博, 小池 春樹, 橋詰 淳, 勝野 雅央
2. 発表標題 CIDPにおける電気生理・病理学的所見およびNF155自己抗体と血清ニューロフィラメント濃度との関連
3. 学会等名 日本神経生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 深見 祐樹, 飯島 正博, 小池 春樹, 橋詰 淳, 勝野 雅央
2. 発表標題 CIDPにおける血清ニューロフィラメント軽鎖濃度と臨床病理学およびNF155自己抗体との関連
3. 学会等名 日本神経免疫学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯島 正博
2. 発表標題 CIDP 最新の治療
3. 学会等名 日本神経治療学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飯島 正博
2. 発表標題 免疫介在性神経・筋疾患の動物モデルの実験的治療 免疫介在性神経・筋疾患の動物モデルの実験的治療 脱髄性ニューロパチー
3. 学会等名 日本神経治療学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小池 春樹 (Koike Haruki) (80378174)	名古屋大学・医学系研究科・准教授 (13901)	
研究分担者	勝野 雅央 (Katsuno Masahisa) (50402566)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------