

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461299

研究課題名(和文) 抗中性糖脂質抗体と脳脊髄根末梢神経炎の病態解明および抗体の意義

研究課題名(英文) Significance of anti-neutral glycolipid antibody in
encephalomyeloradiculoneuropathy(EMRN)

研究代表者

島 さゆり (Shima, Sayuri)

藤田保健衛生大学・医学部・講師

研究者番号：50725984

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：中枢から末梢神経に及ぶ広範な神経が障害される脳脊髄根末梢神経炎(EMRN)症例複数例経験し免疫学的な研究を実施、中性糖脂質に対する抗体を発見しこの抗体価は患者病勢によく相関することから本疾患の良いマーカーになる事を報告した。本抗体の病因論的意義と産生機序解明を目的として本研究を行い、国内外からの多数の検体も併せ、その検体数は400例を超える。本例20例の臨床像は、比較的均一であり本抗体は100%の症例で陽性かつ病勢に相関していた。又、中性糖脂質の脂肪酸の長さの相違が抗体反応性を規定していた。又、同患者髄液のLC/MS/MSを用いた分析では、患者群で明らかな異常を示すことを見出した(論文準備中)。

研究成果の概要(英文)：Encephalomyeloradiculoneuropathy (EMRN) is a devastating disorder involved in central and peripheral nervous systems. In 2014, we found autoantibodies against neutral glycolipids in EMRN were present and their titers well correlated to the status of clinical conditions. In this study, we explored biological activities of these autoantibodies and the molecular mechanisms how these autoantibodies are produced. The data disclosed the following facts; 1) all EMRN cases exhibit antibodies against neutral glycolipids, mainly to lactosylceramide in their sera and/or CSF; 2) clinical pictures of EMRN seemed rather uniform, but the reactivities against immune modulatory therapies showed varieties; 3) anti-neutral glycolipids antibodies are sensitive to fatty acid chain length of respective neutral glycolipids; 4) CSF samples from EMRN cases exhibited significant abnormal compositions of glycolipids compared with normal controls based upon the LC/MS/MS highly sensitive assay method.

研究分野：自己免疫性神経疾患

キーワード：Lipid rafts 脳脊髄根末梢神経炎 neutral glycolipid 自己免疫 中枢・末梢脱髄連合症(CCPD)

1. 研究開始当初の背景

神経免疫疾患は様々な検討によりその疾患特有の自己抗体が見出され、診断・治療効果判定などに役立っている。我々は2005年に再発性多発軟骨炎に辺縁系脳炎を合併した症例から抗中性糖脂質抗体(抗glucosylceramide抗体)を見出して以降(T Mihara et al. FEBS Lett. 2006 Sep 18;580(21):4991-5)、中性糖脂質や同様に細胞膜上にある酸性糖脂質、スフィンゴミエリンやコレステロールで形成される微小領域、lipid raftsに着目して研究を進めてきた。その結果脳脊髄根末梢神経炎(Encephalomyeloradiculoneuropathy: EMRN)の症例の試料中に中性糖脂質のlactosylceramideやgalactosylceramideに対する抗体が存在する事を発見し報告した(Neurology, 2014)。EMRNは中枢神経~末梢神経が広範に障害される病態で極めて重篤と考えられており、世界的にも報告例は十数例にとどまり、病態との関連・診断・鑑別に役立つマーカーなどの詳細も不明であった。我々のEMRN症例では、免疫治療で症状が改善するに伴い、抗体も全例で陰性化していた。従って、本抗中性糖脂質抗体は、EMRNの診断、治療におけるバイオマーカーになりえるのではないかと考えた。この背景を元に更なる症例の蓄積と、抗中性糖脂質抗体の作用機序など抗体の詳細を解明することが急務と考え、本研究を立案実施した。

2. 研究の目的

近年、中枢と末梢の両方が障害される症例の存在が知られ、combined central and peripheral demyelination syndrome (CCPD)あるいはencephalomyeloradiculoneuropathy (EMRN)などとされてきた。しかし、その病態は不明であり、またこれら疾患の診断バイオマーカーは全くの不明であった。本研究では、本抗体の免疫学的特徴を明らかにすると共に、何

故本疾患に当該抗体産生が起きるのかその機序解明を目的とする。さらに、本抗体の患特性も併せ検証する。

3. 研究の方法

・EMRN患者やその他神経疾患(とくに自己免疫が機序に関連すると考慮される疾患、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、ギランバレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経根炎など)との関係性を検討する。Far-Eastern blot法を用いて抗中性糖脂質抗体の抗体価を測定した。上記疾患のみならず、その他神経疾患の血清・髄液について治療前後で測定を行う。測定結果と患者背景(経過、重症度、検査・画像所見など)とを再度検討し、本抗体の疾患特異性を検討する。

・抗中性糖脂質抗体の産生機序の解明、lipid raftsへの影響 患者血清、髄液を凍結乾燥し、そこから全糖脂質の抽出を行い、定量を試みる。同様に対照検体からも抽出を行い、比較定量を行う。髄液、血清中の中性糖脂質が各々患者の臨床状態で変化するのか、もしする場合臨床上のどんなマーカーと関連するのかを明らかにする。この定量には、LC/MS/MSを使用する。さらに、剖検脳(できれば脊髄・神経根・末梢神経も同様 検討を行いたい)を用いて、lipid rafts分画をシヨ糖密度勾配超遠心法で調整、それらから全脂質を抽出(FASEB J 2012)し、免疫染色法及び従来の染色法(レゾルシノール試薬、アニサルデート試薬等)で定量を行い、その異常を検出・検討する。高感度の検出系を作るため、我々が先に報告している抗glucosylceramide抗体陽性の患者血清(FEBS Lett 2006)及び本研究でのEMRN患者血清中の抗体を用い患者脳の中性糖脂質の発現状態、さらにGM1ガングリオシド発現をコレラ毒素Bサブユニットをprobeとして解析を行う。同時に、ラフトマーカー蛋白であるTrk神経栄養因子受容体、Ras蛋白、fynチロシ

ンキナーゼ、flotilinなどの抗体で組織染色を行い rafts への影響を調べる。

4 . 研究成果

中枢から末梢神経に及ぶ広範な神経が障害される脳脊髄根末梢神経炎（EMRN）症例に関する免疫学的な研究を実施した。これら患者試料中に中性糖脂質に対する抗体を発見し、この抗体価は患者病勢によく相関することから本疾患の良いマーカーになる事を報告した。これらの背景のもとに、本抗体の病因論的意義解明と産生機序解明を目的として本研究を行った。国内外からの多数の検体も併せると、その検体数は400例を超えている。本例20例の臨床像をまとめると、比較的均一であり本抗体は100%の症例で陽性、かつ病勢によく相関していた。又、中性糖脂質の脂肪酸の長さの相違が抗体反応性を規定していた。同患者髄液のLC/MS/MSを用いた分析では、患者群で明らかな異常を示すことを見出した(論文準備中)。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 22件)

Shima S, Mutoh T et al. Anti-neutral glycolipids antibodies in encephalomyeloradiculoneuropathy.

Neurology 査読有 82:114-118, 2014

DOI:10.1212/WNL.000000000000015

Asakura K, Ueda A, Shima S, Mutoh T et al. Targeting of aquaporin 4 into lipid rafts and its biological significance.

Brain Res 査読有 1583:237-244, 2014

DOI:10.1016/j.brainres.2014.08.014

Ikeda M, Mutoh T, Matsuo K et al.

Effective elimination of contaminants after oral care in elderly institutionalized individuals.

Geria Nurs 査読有

pii:S0197-4572(14)00135-9,2014

Hirota S, Shima S, Mutoh T et al.

Voriconazole-responsive disseminated nodular lesions on spinal MRI. *Intern Med* 査読有 54:2015-2018, 2015

DOI:10.2169/internalmedicine.54.3148

Fukuda Y, Mutoh T et al. Neurotrophin promote NGF signaling through

interaction of GM1 ganglioside with Trk neurotrophin receptor in PC12 cells. *Brain Res* 査読有 1596:13-21,

2015 DOI:10.1016/j.brainres.

2014.11.041

Asakura K, Ueda A, Mutoh T. Lipid rafts and their possible involvements in neuroimmunological disorders: New reseach arena. *Front Biosci (Landmark Ed)* 査読有 20:303-313, 2015

Fukui T, Asakura K, Hikichi C, Ishikawa T, Murai R, Hirota S, Murate KI, Kizawa M, Ueda A, Ito S, Mutoh T.

Histone deacetylase inhibitor attenuates neurotoxicity of clioquinol in PC12 cells. *Toxicology* 査読有 331: 112-118, 2015 DOI 10.1016/j.tox.2015.01.013

Hirota S, Shima S, Kizawa M, Ueda A, Asakura K, Mutoh T et al.

Voriconazole-responsive Disseminated Nodular Lesions on Spinal MRI. *Intern Med* 査読有54: 215-18. 2015 doi:

10.2169/internalmedicine.54.3148.

Nakamura K, Shima S, Mutoh T, Nakano I et al. Hypertrophic pathymeningitis and encephalilits in a patient with relapsing polychondritis. *Neurol Clin Neurosci* 査読有 3: 42-43, 2015

DOI:10.1111/ncn3.130

Kitaguchi N, Hasegawa M, Ito S,

Kwaguchi K, Nakai S, Suzuki N, Shimano Y, Ishida O, Kushimoto H, Kata M, Koide S, KanayamaK, Kato T, Ito K, Mutoh T,

Sugiyama S, Yuzawa Y. A prospective study on blood Abeta levels and the cognitive function of patients with hemodialysis: a potential therapeutic strategy for Alzheimer ' s disease. *J Neural Transm* 査読有 122: 1593-1607, 2015 DOI:10.1007/s00702-015-1431-3

Fukuda Y, Mutoh T et al. Neurotrophin promotes NGF signaling through interaction of GM1 ganglioside with Trk neurotrophin receptor in PC12 cells. *Brain Res* 査読有 2015. 1596; 13-21 doi: 10.1016/j.brainres.2014.11.041.

Mizutan Yi, Shima S, Mutoh T et al. Retrospective analysis of parkinsonian patients exhibiting normal 123I-MIBG cardiac uptake. *J Neurol Sci.* 査読有 236-40. 2015 doi: 10.1016/j.jns.2015.10.059

Fukui T, Ueda A, Murate K, C Hikichi, S Ito, K Asakura, Mutoh T. Depressive state as an initial symptom for sub dural abscess. *Neurol and Clin Neurosci* 査読有 4: 31-3, 2016. DOI: 10.1111/ncn3.12029

Takeuchi Y, Ochiai J, Ueda M, Mabuchi C, Shima S, Mutoh T. A case of limbic encephalitis with anti-neutral glycosphingolipid antibodies. *Neurol Clin Neurosci* 査読有 4: 70-72, 2016 DOI 10.1111/ncn3.12037

Ito S, Ueda A, Shima S, Mutoh T et al. Differentiation of cancer from atrial fibrillation in patients with acute multifocal stroke. *J Neurol Sci* 査読有 368: 344-8, 2016 doi: 10.1016/j.jns.2016.07.054.

Ishikawa T , Shima S, Mutoh T et al. Magnetic resonance neurography for the

evaluation of CIDP. *Muscle Nerve* 査読有 2016 Aug 8. doi: 10.1002/mus.25368.

Mizuma A, Mutoh T, Abe K et al. Phase II trial of intravenous low-dose granulocyte colony-stimulating factor in acute ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 査読有 25:1451-7, 2016 DOI:

10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.01.022

Hayashi K, Hamano T, Kawamura Y, Kimura H, Matsunaga A, Ikawa M, Yamamura O, Mutoh T, Higuchi I, Kuriyama M, Nakamoto Y. Muscle MRI of the Upper Extremity in the Myotonic Dystrophy Type 1. *Eur Neurol* 査読有 76(1-2):87-94, 2016 doi: 10.1159/000448328

Kawai H, Mutoh T, Kimura A, Ozaki Y et al. Hypertrophic Cardiomyopathy Accompanied by Spinocerebellar Atrophy With a Novel Mutation in Troponin I Gene. *Int Heart J.* 査読有 57(4):507-10, 2016 doi: 10.1536/ihj.15-444

Kawabe M, Shima S, Mutoh T, Shiio Y et al. Relapsing polychondritis-associated limbic encephalitis preceding the emergence of systemic inflammation. *Neurol Clin Neurosci* 査読有 2016 DOI: 10.1111/ncn3.12060

②① Mutoh T. *Editorial*. Current understanding of immunopathogenesis of Parkinson ' s disease. *Austin J Clin Neurol* 査読有 3(3): 1097-1098, 2016

②② Niimi Y, Ito S, Murate K, Hirota S, Hikichi C, Ishikawa T, Maeda T, Nagao R , Shima S, Mizutani Y, Ueda A, and Mutoh T. Usefulness of Combining 123I-FP-CIT-SPECT Striatal Asymmetry Index and Cardiac

123I-metaiodobenzylguanidine
Scintigraphy Examinations for the
Diagnosis of Parkinsonisms. *J Neurol
Sci* (in press) 査読有

[学会発表](計 14件)

1. Clinical and Biochemical pictures of anti-neutral glycolipids antibody-positive central and peripheral nervous system-involving disorders. Mutoh T, Shima S, Ueda A, Asakura K, Ito S. AAN 2016, 2016.4.21, U.S.A.
2. CIDP 患者における末梢神経の volume 解析。石川等真、水谷泰彰、引地智加、島さゆり、植田晃広、木澤真努香、伊藤信二、武藤多津郎。第 57 回 日本神経学会学術集会, 2016.5.18, 神戸コンベンションセミナー 兵庫県
3. Clioquinol induces apoptosis in PC12 cells via caspase 9 and 3 Activation. 朝倉邦彦、石川等真、島さゆり、植田晃広、伊藤信二、武藤多津郎。第 57 回 日本神経学会学術集会, 2016.5.18, 神戸コンベンションセミナー 兵庫県。
4. The significance of serial D-dimer measurements on Trousseau's syndrome, 伊藤信二、村手健一郎、廣田政古、引地智加、石川等真、島さゆり、水谷泰彰、植田晃広、木澤真努香、武藤多津郎。第 57 回 日本神経学会学術集会, 2016.5.19, 神戸コンベンションセミナー 兵庫県。
5. 自験 16 例から分析した脳脊髄根末梢神経炎 (EMRN) の臨床像と抗体活性。島さゆり、植田晃広、水谷泰彰、村手健一郎、廣田政古、引地智加、石川等真、新美芳樹、木澤真努香、伊藤信二、武藤多津郎。第 57 回 日本神経学会学術集会, 2016.5.21, 神戸コンベンションセミナー 兵庫県。
6. 言語障害で発症し、脳内に MRI 異常信号が多発した 51 歳女性例。村手健一郎、前田利樹、長尾龍之介、廣田政古、引地智加、石川等真、島さゆり、新美芳樹、植田晃広、伊藤信二、武藤多津郎。第 145 回 日本神経学会東海北陸地方会, 2016.6.25, 名古屋国際会議場 愛知県
7. 抗 GM1 抗体の中性スフィンゴミエリナーゼに及ぼす影響の解明, 口頭, 植田晃広、村手健一郎、廣田政古、引地智加、石川等真、島さゆり、新美芳樹、伊藤信二、武藤多津郎。第 28 回 神経免疫学会学術集会, 2016.9.30, 長崎ブリックホール 長崎県
8. CIDP 患者における末梢神経の MRI neurography を用いた定量的解析の試み。石川等真、新美芳樹、植田晃広、村手健一郎、廣田政古、引地智加、島さゆり、伊藤信二、武藤多津郎。第 48 回 藤田医学会, 2016.10.6, 藤田保健衛生大学内 愛知県。
9. 反復する一過性複視を呈し神経梅毒と考えられた 1 例。石川等真、伊藤信二、長尾龍之介、前田利樹、村手健一郎、廣田政古、引地智加、島さゆり、新美芳樹、植田晃広、武藤多津郎。第 21 回 日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.21, 金沢東急ホテル 石川県
10. 抗 Th/To 抗体, 抗 SRP 抗体陽性壊死性筋炎の 1 例。引地智加、伊藤信二、

長尾龍之介、前田利樹、村手健一郎、
廣田政古、石川等真、島さゆり、新
美芳樹、植田晃広、武藤多津郎。第
146回 日本神経学会東海北陸地方
会，2016.10.29，石川県地場産業
振興センター 石川県

11. 妊娠中に発症し免疫治療と帝王切
開により健康な児を得て母体も回
復し得た NMDAR 脳炎の 1 症例，口
頭，植田晃広、長尾龍之介、前田
利樹、村手健一郎、廣田政古、引地
智加、石川等真、新美芳樹、伊藤信
二、武藤多津郎。第 34 回 日本神
経治療学会総会，2016.11.26，米
子コンベンションセンター 鳥
取県。
12. CIDP 患者末梢神経組織の画像化と
定量の試み。武藤多津郎、石川等真、
植田晃広、島さゆり、村手健一郎、
伊藤信二。平成 28 年度免疫性ニ
ューロパチー班班会議，
2017.1.19，都市センターホテル
東京都。
13. Clonazepam の神経系細胞に及ぼす
影響の解明。武藤多津郎、村手健一
郎、新美芳樹、水谷泰彰、島さゆり、
植田晃広、伊藤信二。口頭，平成
28 年度スモンに関する調査研究班
班会議，2017.02.03，フクラシア
東京ステーション 東京都。
14. 視神経炎を合併した抗 NMDA 受容体
(NMDAR) 脳炎の 1 例。廣田政古、
伊藤信二、植田晃広、長尾龍之介、
前田利樹、村手健一郎、引地智加、
石川等真、島さゆり、新美芳樹、武
藤多津郎。第 147 回神経学会地方
会，2017.3.11，名古屋国際会議
場 愛知県

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

- 1 藤田保健衛生大学医学部 教員実績
http://www.fujita-hu.ac.jp/open_info/08/med.html
- 2 藤田保健衛生大学医学部 脳神経内科学教室
<http://info.fujita-hu.ac.jp/~sinkei/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島 さゆり (SHIMA Sayuri)
藤田保健衛生大学医学部・脳神経内科学・
講師
研究者番号：50725984

(2) 研究分担者

武藤 多津郎 (MUTOH Tatsuro)
藤田保健衛生大学医学部・脳神経内科学・
主任教授
研究者番号：60190857

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()