

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：23401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09440

研究課題名(和文) 橋本脳症における自己抗体の新規測定法の開発と多様性の解明

研究課題名(英文) Development of a new detection system of autoantibodies in Hashimoto encephalopathy and search for the pleiotropy

研究代表者

米田 誠 (YONEDA, Makoto)

福井県立大学・看護福祉学部・教授

研究者番号：70270551

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：“橋本脳症”は、慢性甲状腺炎に伴う自己免疫性疾患であり、免疫治療が奏効する。申請者らは患者血清中の分子診断マーカーとして抗N末端 エノラーゼ(NAE)抗体を開発している。本研究では、生物発光を用いた免疫沈降法(LIPS法)による新規の自己抗体測定法を開発した。まず、NAE抗原とルシフェラーゼのキメラ組換え蛋白を調整した。次に、抗NAE抗体の陽性・陰性が既知の血清を用いて、生物発光を用いた免疫沈降法(luciferase immunoprecipitation systems; LIPS法)を行い、従来法(電気泳動)と比較した結果、同様の傾向が見出された。

研究成果の概要(英文)：Hashimoto's encephalopathy is an autoimmune neuropsychiatric disorder associated with chronic thyroiditis, Hashimoto's thyroiditis. We discovered specific autoantibodies (Abs) against NAE protein in the patient's serum. In this research, we developed a new detection system of anti-NAE Abs by a bioluminescence/immunoprecipitation method (luciferase immunoprecipitation systems; LIPS). We were succeeded in the construction of a plasmid expressing a NAE/luciferase chimeric protein, expressed it in a human cultured cells HEK293, and purified the recombinant protein. We verified the immunoreactivity and bioluminescence of the recombinant NAE/luciferase chimeric protein with the patient's serum. This LIPS system to detect anti-NAE Abs showed a similar tendency to that in the previous immunoblot method.

研究分野：神経内科学

キーワード：橋本脳症 抗NAE抗体 分子診断マーカー LIPS法

1. 研究開始当初の背景

慢性甲状腺炎(橋本病)に伴う自己免疫性疾患である“橋本脳症”は免疫治療によって治癒可能な精神神経疾患である。申請者らは本症の分子診断マーカーとして患者血清中の自己抗体(抗N末端 エノラーゼ抗体;抗NAE抗体)を同定している。

2. 研究の目的

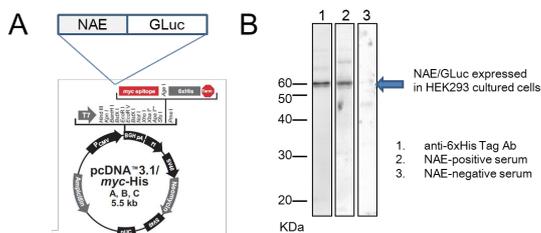
本研究では、生物発光を用いた免疫沈降法(LIPS法)による新規の定量的・迅速な自己抗体(抗NAE抗体)の測定法の開発、橋本脳症の発症・臨床病型・治療効果等の臨床要素を規定する自己抗体の多様性の解明のための抗原部位(エピトープ)や新規自己抗体の検索を行う。本研究によって、橋本脳症の発症予知や早期診断・治療に結びつけることができる自己抗体測定システムを構築する。

3. 研究の方法

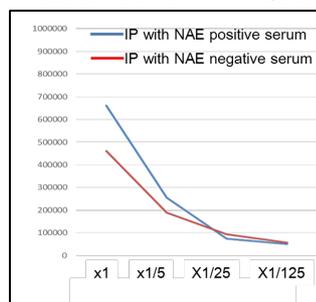
全国より橋本脳症が疑われ、抗NAE抗体測定の依頼があった患者血清は順調に集積され、総数3500検体(毎年350検体)に上る。平成29年度も全国から400件以上の解析の依頼があり、研究遂行に必要な十分な検体は確保できている。これらの中から、抗NAE抗体の存在が既知の血清を用いて、電気泳動を用いる従来の方法と生物発光を用いるLIPS報の間での相関を検定する。

4. 研究成果

まず、NAE抗原とルシフェラーゼ(GLuc)のキメラ蛋白を発現する融合cDNAを哺乳類発現プラスミドベクターに挿入・構築した。このプラスミドをヒト培養細胞HEK293において発現、カラム精製し、組み換え蛋白を調整した(図1A)。この組み換え蛋白は、橋本脳症患者血清と免疫学的に反応することを確認した(図1B)。また、ルシフェラーゼによる生物発光が得られることも確認した。



そこで、電気泳動を用いる従来の方法から抗NAE抗体の陽性・陰性が既知であることが判明している血清を用いて、生物発光を用いた免疫沈降法(LIPS法)を行った結果、従来法と同様の傾向が見出された(図2)。



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25件)

米田 誠. 橋本脳症と自己抗体. Autoantibody Update2018. Brain and Nerve 70, 305-314, 2018. (査読無)

Kishitani T, Matsunaga A, Ikawa M, Hayashi K, Yamamura O, Hamano T, Watanabe O, Tanaka K, Nakamoto Y, Yoneda M. Limbic encephalitis associated with anti-NH₂-terminal of -enolase antibodies: A clinical subtype of Hashimoto encephalopathy. Medicine (Baltimore). 2017 Mar;96(10):e6181. doi:10.1097/MD.0000000000006181. (査読有)

Neishi H, Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Arishima H, Kikuta KI, Yoneda M. Precise Evaluation of Striatal Oxidative Stress Corrected for Severity of Dopaminergic Neuronal Degeneration in Patients with Parkinson's Disease: A Study with 62Cu-ATSM PET and 123I-FP-CIT SPECT. Eur Neurol. 2017;78(3-4):161-168. doi: 10.1159/000479627. (査読有)

Hirose D, Hirao K, Kaneko Y, Fukasawa R, Sato T, Shimizu S, Kanetaka H, Umahara T, Sakurai H, Yoneda M, Hanyu H. Case of Hashimoto's encephalopathy showing atypical clinical course with magnetic resonance imaging abnormalities. Geriatr Gerontol Int. 2017 Aug;17(8):1235-1237. doi: 10.1111/ggi.13057. (査読有)

Hayashi Y, Yamada M, Kimura A, Asano T, Satoh K, Kitamoto T, Yoneda M, Inuzuka T. Clinical findings of a probable case of MM2-cortical-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with antibodies to anti-N-terminus of -enolase. Prion. 2017 Nov 2;11(6):454-464. doi: 10.1080/19336896.2017. (査読有)

米田 誠, 松永晶子. 橋本脳症, 特集: 内科診療に潜む脳炎・脳症. 日本内科学会誌 106, 1550-1554, 2017. (査読無)

松永晶子, 米田 誠. 甲状腺ホルモンと認知症・フレイル, 認知症の最新医療 7, 136-140, 2017. (査読無)

米田 誠. 橋本脳症 診断と治療のヒント. 特集: 橋本脳症の診断と治療. 日本医事新報社 4888, 24 - 29, 2017. (査読無)

Nanri K, Okuma M, Sato S, Yoneda M, Taguchi T, Mitoma H, Yamada J, Unezaki S, Nagatani T, Otsubo S, Sugawara M, Tanaka N, Mizusawa H. Prevalence of autoantibodies and the efficacy of

immunotherapy for autoimmune cerebellar ataxia. Intern Med. 2016;55(5):449-54. doi: 10.2169/internalmedicine.55.5156. (査読有)

Mitoma H, Adhikari K, Aeschlimann D, Chattopadhyay P, Hadjivassiliou M, Hampe CS, Honnorat J, Joubert B, Kakei S, Lee J, Manto M, Matsunaga A, Mizusawa H, Nanri K, Shanmugarajah P, Yoneda M, Yuki N. Consensus Paper: Neuroimmune Mechanisms of Cerebellar Ataxias. Cerebellum. 2016 Apr;15(2):213-32. doi: 10.1007/s12311-015-0664-x. (査読有)

Yoneda M. Acute Disseminated Encephalomyelitis Following Immunization with Human Papillomavirus Vaccines. Intern Med. 2016;55(21):3077-3078. Epub 2016 Nov1. (査読有)

米田誠. 橋本脳症の症状, 診断, 治療. 日本医事新報社 質疑応答, 日本医事新報社 4816, 60-60, 2016. (査読無)

松永晶子, 米田誠. 内分泌疾患に伴う認知症 (甲状腺機能低下症を含む), Brain & Nerve 68, 399-405, 2016. (査読無)

米田誠. 橋本脳症. Modern Physician 36(7), 692-695, 2016. (査読無)

米田誠. 橋本脳症の臨床スペクトラムとその病態. 神経治療学 33, 27-33, 2016. (査読無)

米田誠. 橋本脳症. Modern Physician 36(7), 692-695, 2016. (査読無)

米田誠. 橋本脳症 - 辺縁系脳炎との関連から - Neuroinfection 21, 14-17, 2016. (査読無)

米田誠. One point advice, 橋本病と小脳失調. Medical Practice 33, 816, 2016. (査読無)

伊倉 崇浩, 藤城 弘樹, 高橋 幸利, 米田 誠, 斎藤 知之, 千葉 悠平, 鎌田 鮎子, 勝瀬 海, 平安 良雄. 抗 エノラーゼ N 末端抗体陽性のレヴィ小体型認知症の 1 例 橋本脳症との鑑別診断. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩 67 巻 7 号, 967-972, 2015. (査読有)

徳田直輝, 今井啓輔, 笠井高士, 木村彩香, 阿部能成, 富永敏行, 福居顯二, 米田誠, 中川正法, 水野敏樹. 免疫グロブリン静注療法, 血漿交換療法に抵抗性で, 長期ステロイド経口投与が有効であった辺縁系型の橋本脳症の一例. 臨床神経 55, 737-741, 2015. (査読有)

②①米田誠. 橋本脳症. - エノラーゼ, 自己免疫性脳炎: 抗原・抗体は何をしている? Clin Neurosci 33, 104-107, 2015. (査読無)

②②松永晶子, 米田誠. 橋本脳症. . 知っておきたい神経疾患. 精神科 26, 159-163,

2015. (査読無)

②③米田誠. 橋本脳症. 免疫性神経疾患 - 基礎・臨床研究の最新知見 - . 日本臨床(別冊), 603-606, 2015. (査読無)

②④松永晶子, 米田誠. 橋本脳症. 免疫症候群 () - その他の免疫疾患を含めて - . 日本臨床別冊(増刊)領域別症候群シリーズ vol. 34, 99-101, 2015. (査読無)

②⑤米田誠. 橋本脳症. 免疫性神経疾患 - 病態解明と治療の最前線. 医学のあゆみ 255, 533-535, 2015. (査読無)

[学会発表](計 5 件)

Makoto Yoneda, Akiko Matsunaga, Masamichi Ikawa, Yasunari Nakamoto, Hiroshi Mitoma. The clinical features and pathophysiology of ataxic form of Hashimoto's encephalopathy. The 70th Annual Meeting of American Academy of Neurology (AAN), Apr 20-27, 2018, Los Angeles, CA, USA.

Akiko Matsunaga, Toru Kishitani, Masamichi Ikawa, Kouji Hayashi, Osamu Yamamura, Tadanori Hamano, Osamu Watanabe, Keiko Tanaka, Yasunari Nakamoto, Makoto Yoneda. Autoimmune limbic encephalitis associated with anti-NAE antibodies as a clinical subtype of Hashimoto's encephalopathy. World Congress of Neurology 2017, Sep 16-21, Kyoto, Japan.

米田誠. 認知症と橋本脳症, シンポジウム「自己免疫性神経疾患と認知症」, 第 36 回 日本認知症学会学術集会, 平成 29 年 11 月 28 日, 金沢.

野村俊, 高橋祐介, 阿部隆太, 小川有香, 宮崎大吾, 関島良樹, 米田誠, 池田修一. 抗甲状腺抗体と抗 GAD 抗体が陽性であった自己免疫性小脳失調症の一例, 第 21 回 日本神経感染症学会, 平成 28 年 10 月 21-22 日, 金沢.

米田誠. 橋本脳症の診断と治療. シンポジウム「自己免疫性脳炎の臨床像と治療」. 第 20 回 日本神経感染症学会総会・学術大会, 平成 27 年 10 月 22-23, 長野.

[図書](計 11 件)

Masamichi Ikawa, Akiko Matsunaga, Makoto Yoneda. Hashimoto's encephalopathy as a treatable dementia. In Case Study in Dementia volume 2, 2018 (in press)

米田誠. 帯状回発作. てんかん用語集(第 2 版). 日本てんかん学会編, 診断と治療社, p27-28, 2017.

Makoto Yoneda, Akiko Matsunaga, Masamichi Ikawa. Hashimoto's encephalopathy. In Neuroimmunological Diseases. Edited by Susumu Kusunoki, Springer, NY, USA, p235-244, 2016.

米田誠. 橋本脳症. シリーズ《アクチュアル 脳・神経疾患の臨床》『免疫性神経疾患

病態と治療のすべて』免疫性神経疾患．
中山書店，東京，p280-284，2016.
南里和紀，大熊美咲，米田誠．小脳失調症
に免疫療法は有用か．シリーズ《アクチュ
アル 脳・神経疾患の臨床》『免疫性神経疾
患 病態と治療のすべて』中山書店免疫
性神経疾患．中山書店，東京，p498-502，
2016.
米田誠．SIADH，CPM，橋本脳症，感染と薬
剤の両方が関与する脳炎 臨床神経内科学
改定第6版 南山堂 東京 p315-319，2016.
米田誠．甲状腺機能異常に伴う神経・筋障
害（橋本脳症を含む），「EBM に基づく脳
神経疾患の「基本治療指針第4版」，メデ
ィカルビュー社，東京，p582-586，2016.
米田誠．甲状腺機能異常に伴う神経・筋障
害，「EBM に基づく脳神経疾患の「基本治
療指針第4版」，メディカルビュー社，東
京，p582-586，2016.
米田誠．SIADH，CPM，橋本脳症，感染と薬
剤の両方が関与する脳炎 臨床神経内科学
改定第6版 南山堂 東京 p315-319，2016.
米田誠．橋本脳症．シリーズ《アクチュ
アル 脳・神経疾患の臨床》『免疫性神経疾
患病態と治療のすべて』中山書店免疫性神
経疾患．中山書店，東京，p280-284，2016.
南里和紀，大熊美咲，米田誠．小脳失調症
に免疫療法は有用か．シリーズ《アクチュ
アル 脳・神経疾患の臨床》『免疫性神経疾
患 病態と治療のすべて』中山書店免疫
性神経疾患．中山書店，東京，p498-502，
2016.

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

米田 誠 (YONEDA, Makoto)
福井県立大学・看護福祉学部・教授
研究者番号：70270551

(2)研究分担者

篁 俊成 (TAKAMURA, Toshinari)
金沢大学・医学系・教授
研究者番号：00324111

(3) 研究分担者

樋口 理 (HIGUCHI, Osamu)
独立行政法人国立病院機構長崎川棚医療
センター（臨床研究部）・医学系・研究員
研究者番号：50361720