

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09781

研究課題名(和文) 自己免疫性ミオパチー発症における抗横紋筋抗体、壊死性ミオパチー抗体の意味論

研究課題名(英文) Meanings of auto-antibodies against immune-mediated myositis

研究代表者

高松 孝太郎 (Takamatsu, Koutaro)

熊本大学・病院・特任助教

研究者番号：50706447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：重症筋無力症は、神経筋接合部を標的とする自己免疫疾患だが、一部で筋炎・心筋炎を合併する。筋炎、心筋炎を合併した重症筋無力症の多くは、抗横紋筋抗体が陽性だが、その詳細な病態は不明である。我々が経験した筋炎および心筋炎を合併した症例も抗横紋筋抗体が陽性であった。マウス横紋筋由来細胞に抗横紋筋抗体陽性患者血清を添加すると筋細胞に障害を認めた。患者血清を非動化すると細胞障害を認めず、補体依存性に細胞障害が生じていることが考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症筋無力症に合併する筋炎における抗横紋筋抗体が補体依存性に筋細胞障害を起こす可能性が示唆された。従来の急性期治療であるステロイド、免疫抑制剤による免疫療法に加え、抗補体療法による治療効果が期待される。免疫チェックポイント阻害薬による副作用で発症する筋炎でも抗横紋筋抗体陽性例は重篤で致死的であるため、従来の治療法にアドオン可能な抗補体療法の有効性を実証することは、今後のICI関連免疫有害事象における治療戦略の確立にとっても重要である。

研究成果の概要(英文)：Myasthenia gravis is an autoimmune disease that targets the neuromuscular junction, but it is partially complicated by myositis and myocarditis. Many myasthenia gravis with myositis and myocarditis are positive for anti-striated muscle antibody, but the detailed pathology is unknown. The cases of myositis and myocarditis that we experienced were also positive for anti-striated muscle antibody. When anti-striated muscle antibody-positive patient serum was added to cells derived from mouse striated muscle, damage was observed in myocytes. When the patient's serum is immobilized, no cytotoxicity is observed, and it is considered that complement-dependent cytotoxicity occurs.

研究分野：神経免疫

キーワード：筋炎 壊死性ミオパチー 免疫チェックポイント阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

MG は、眼瞼下垂や複視といった眼症状、嚥下障害などの球症状、四肢の筋力低下、易疲労性を主訴とする自己免疫性疾患である。病原性自己抗体として、神経筋接合部に存在するアセチルコリン受容体 (AChR) に対する抗 AChR 抗体の頻度が高く、約 80% の症例で陽性となる。従って MG は自己抗体が介在する液性免疫の自己免疫神経疾患の代表として知られる。抗 AChR 抗体陽性 MG の一部では胸腺腫を認め、MG 以外の自己免疫疾患も併発する。MG に筋炎、心筋炎を合併する頻度は本邦の多施設共同研究の結果 0.9% と頻度は少ないが、特に心筋炎は重篤な経過をたどり、致死적이다。筋炎、心筋炎を合併する MG では、抗横紋筋抗体(抗 Kv1.4 抗体、抗 titin 抗体、抗 リアノジン受容体抗体)が陽性となることが報告されている(Suzuki et al, Autoimmune Dis. 2011)。筋炎、心筋炎を合併する重症筋無力症の多くは、抗横紋筋抗体が陽性だが、抗体、補体(液性免疫)と免疫担当細胞(細胞性免疫)が複合的に絡み合うと考えられるが、その詳細な機序は不明である。ICI (immune checkpoint inhibitor: ICI) 投与後に MG や筋炎を発症、抗横紋筋抗体陽性となることがあり、我々は ICI による筋障害の病態を解明する重要性を考え、今回の研究計画を立案するに至った。

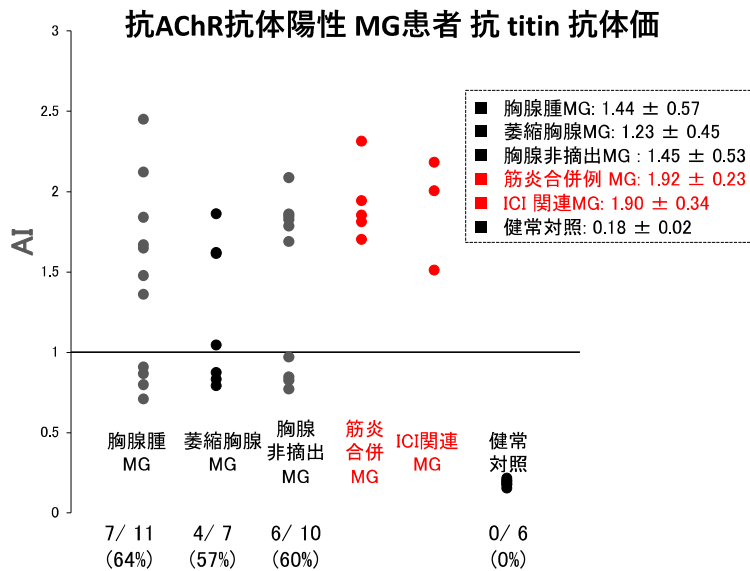
2. 研究の目的

重症筋無力症に合併する筋炎・心筋炎で陽性となる抗横紋筋抗体ならびに壊死性ミオパチーで陽性となる抗体(抗 SRP 抗体、抗 HMGR 抗体)が筋肉にどのような影響を及ぼすかを検討し、自己免疫性ミオパチーの病態解明、治療法の開発の礎とする。

3. 研究の方法

ICI 投与後に高CK血症、筋のこわばり、倦怠感を認めた症例の血清と筋細胞（マウス由来筋芽細胞株 C2C12 細胞）を用いて病態を解析する。使用する患者血清として ICI

投与後に筋症状を呈した患者血清に加えて、ICI 投与とは無関係に重症筋無力症、筋炎



を発症した患者血清 (抗横紋筋抗体陽性例、陰性例)も使用する。患者血清の及ぼす細

胞毒性に関しては、MTS 法を用いて検討する。

MTS assay に使用した MG 患者背景

	歳	性	MGFA	titin	titin AI	抗 AChR 抗体 (n/moL)	胸腺	PSL	免疫抑制剤	CEI	テンシロン	反復刺激
No. 1	32	F	II b	—	0.71	98.8	胸腺腫	—	—	+	+	+
No. 2	43	F	III b	—	0.79	2470	遺残胸腺	37.5 mg 隔日	タクロリムス 4 mg	+	—	—
No. 3	80	M	II a	+	1.79	22	—	—	—	+	—	+
No. 4	83	F	IV b		1.86	23	縦隔腫瘍の既往	—	—	—	+	+
myositis1 筋炎合併 MG	33	F	V		1.85	51.5	浸潤性胸腺腫	10 mg	シクロスポリン 100 mg	+	?	?
myositis2 ICI 関連 MG	80	M	V		2.0	8.3	—	50 mg	—	—	—	?

4 . 研究成果

通常のMGにおける筋炎、心筋炎の合併は上記のように稀であるが、ICI 投与後に発症

したMGに筋炎を合併する頻度が高いことに我々は着目、当院での経験症例を含め臨床

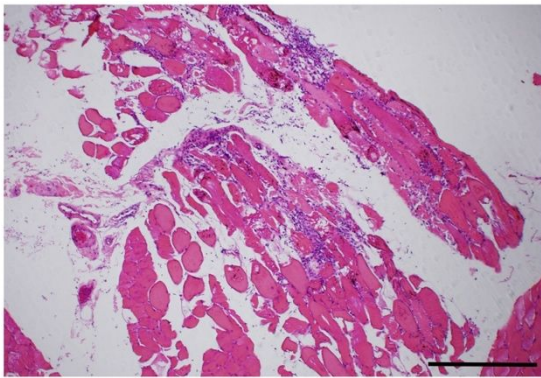
症状、血清学的異常について検討、報告した(Takamatsu et al, Ann Clin Transl Neurol.

2018)。我々が経験した80歳男性の症例も悪性黒色腫に対し、ICIであるニボルマブ開

ニボルマブ投与前後での自己抗体

自己抗体	ニボルマブ投与前	ニボルマブ投与後	測定方法
抗 AChR 抗体	10.2 nmol/L (+)	28.0 nmol/L (+)	Radioimmunoassay
抗 MuSK 抗体	未検	(-)	Radioimmunoassay
抗 LRP4 抗体	未検	(-)	Luciferase immunoprecipitation systems
抗 gAChR 抗体	未検	(-)	Luciferase immunoprecipitation systems
抗 SRP 抗体	未検	(-)	RNA immunoprecipitation assay
抗 HMGR 抗体	未検	(-)	ELISA
抗 titin 抗体	陽性	陽性	ELISA
抗 Kv1.4 抗体	(-)	陽性	Protein immunoprecipitation assay

AChR = acetylcholine receptor, ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay, gAChR = ganglionic acetylcholine receptor, HMGR = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, Kv1.4 = voltage-gated potassium channel subunit Kv1.4, LRP4 = low-density lipoprotein receptor-related protein 4; MuSK = muscle-specific kinase, SRP = signal recognition particle.



Bar= 500 μm

始後にMGに加え、筋炎、心筋炎を合併、抗AChR抗体に加えて、抗横紋筋抗体(抗

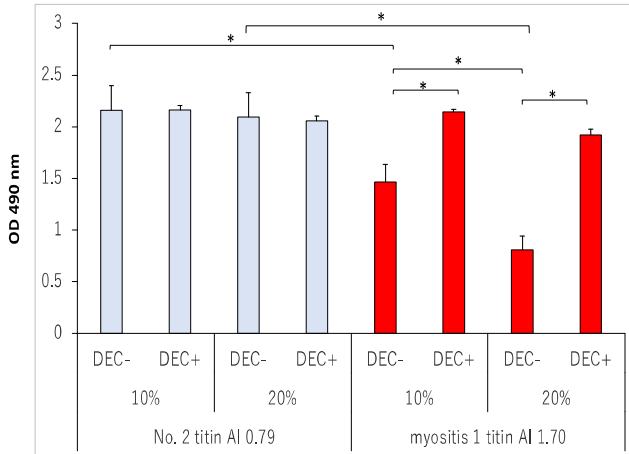
Kv1.4抗体、抗titin抗体)が陽性であり、筋組織では免疫担当細胞の浸潤を認めた。

筋炎合併 MG 患者血清が濃度に比例してマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞の増殖を抑制、

血清を**非働化することにより筋炎非合併 MG 患者血清と同等の増殖**を示しており、**患**

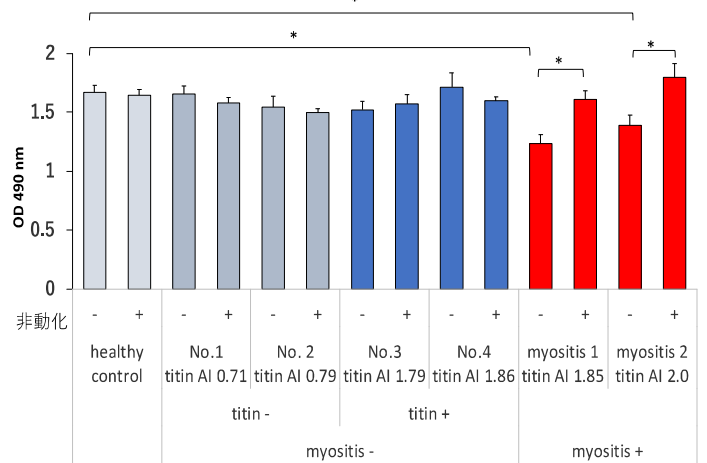
患者血清濃度による検討

n= 3, *p< 0.05



MG患者血清によるC2C12 細胞 MTS assay

n= 5, *p< 0.001



者血清中の補体の関与も示唆された。

- 筋炎 (-) MG 血清は、抗 titin 抗体陽性でも C2C12 個
- 筋炎、心筋炎合併 MG 血清は、非働化せず培地に添加すると量依存性に C2C12 ↓
- 血清を非働化して添加すると C2C12 個

筋炎合併	抗titin抗体	血清量	非働化	
			なし	あり
なし	-	10, 20 %	↑	↑
	+	10, 20 %	↑	↑
あり	+	10%	↓	↑
		20%	↓↓	↑



抗 titin 抗体以外の抗体 (抗 Kv 1.4 抗体?) および補体が生細胞数の増加に関与



筋炎、心筋炎を合併MGでも抗補体療法が治療に期待

従来の治療法にアドオン可能な抗補体療法の有効性を実証することは、今後の ICI 関連

免疫有害事象における治療戦略の確立にとっても重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koutaro Takamatsu, Shunya Nakane, Shigeaki Suzuki, Takayuki Kosaka, Satoshi Fukushima, Toshihiro Kimura, Azusa Miyashita, Akihiro Mukaino, Shiori Yamakawa, Keisuke Watanabe, Masatoshi Jinnin, Yoshihiro Komohara, Hironobu Ihn, and Yukio Ando	4. 巻 5
2. 論文標題 Immune checkpoint inhibitors in the onset of myasthenia gravis with hyperCKemia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Clin Transl Neurol.	6. 最初と最後の頁 1421-1427
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/acn3.654. eCollection 2018 Nov.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高松孝太郎
2. 発表標題 筋炎、心筋炎を合併した重症筋無力症患者血清の筋細胞に対する細胞傷害の検討
3. 学会等名 神経免疫学会
4. 発表年 2018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	中根 俊成 (Nakane Shunya) (70398022)	熊本大学・病院・特任教授 (17401)	
研究分担者	安東 由喜雄 (Ando Yukio) (20253742)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授 (17401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐野 泰照 (Sano Yasuteru) (20379978)	山口大学・大学院医学系研究科・助教 (15501)	
研究分担者	神田 隆 (Kanda Takashi) (40204797)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	
研究分担者	鈴木 重明 (Suzuki Shigeaki) (50276242)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授 (32612)	