

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03549

研究課題名(和文) 自己免疫性自律神経節障害の「多様性」に関する多角的研究

研究課題名(英文) Multidisciplinary analysis of heterogeneity in autoimmune autonomic ganglionopathy

研究代表者

中根 俊成 (Nakane, Shunya)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70398022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：AAGの臨床研究に属するものとして抗体陽性AAGの臨床像解析、免疫異常による全身性疾患(膠原病、サルコイドーシスなど)における自律神経障害とgAChR抗体にも着目した。成人AAGと病像の異なる小児AAGにフォーカスした臨床研究、AAGの免疫治療の効果について特に複合的免疫治療の有効性について報告した。また、本研究計画における基礎研究成果としては新規動物モデルの樹立を目標としてニコチン性gAChRの3サブユニットの細胞外領域ペプチドの能動免疫によって新たな動物モデルの作製に成功した。「膠原病におけるgAChR抗体陽性頻度と自律神経障害の臨床調査」について解析が終了しており、論文作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫性自律神経節障害は2000年に米国から提示された比較的新しい疾患概念である。我々は日本でも本症の自己抗体である自律神経節アセチルコリン受容体(gAChR)抗体の測定系を2012年に樹立・整備し、それ以来全国からの抗体測定の依頼に応えてきた(測定事業は現在は検査会社に移管)。日本のAAG症例の臨床像、治療法を本研究で明らかにすることができ、さらに非典型的な経過や症候を呈する限局型AAGや小児AAG、膠原病との併発についても臨床研究を行った。これらの蓄積は今後、日本におけるAAG診断基準策定に役立つと考える。基礎研究では世界で初めて能動免疫モデルマウスを樹立したことが大きな成果である。

研究成果の概要(英文)：As a clinical study of AAG, we analyzed the clinical picture of antibody-positive AAG. In addition, we also focused on autonomic neuropathy and gAChR antibodies in systemic diseases (collagen disease, sarcoidosis, etc.) caused by immune abnormalities. Clinical studies focused on pediatric AAG, which has a different disease profile from adult AAG, and the efficacy of immunotherapy for AAG, especially complex immunotherapy, were also reported. As a result of basic research in this project, a new animal model was successfully generated by active immunization with peptides from the extracellular region of the 3 subunit of nicotinic gAChR. The analysis of "Clinical investigation of gAChR antibody-positive frequency and autonomic neuropathy in collagen diseases" has been completed, and the paper is under preparation.

研究分野：神経内科学

キーワード：自己免疫性自律神経節障害 自律神経節 自己抗体 動物モデル 自律神経障害

1. 研究開始当初の背景

自己免疫性自律神経節障害 (autoimmune autonomic ganglionopathy, AAG) は自律神経系が免疫異常の標的となる比較的新しい疾患概念である。本症では自律神経節アセチルコリン受容体 (gAChR) 抗体が病原性自己抗体として病態の鍵となる役割を果たす。gAChR 抗体は 1998 年に米国メイヨークリニックの研究グループによって発見され、2000 年より米国での AAG 研究が本格的にスタートした。日本においては同抗体の測定は米国の検査機関に依頼せざるを得ず、症例集積研究は遂行困難であった。国内外のこれらの状況に鑑み、2012 年にルシフェラーゼ免疫沈降法による gAChR 抗体検出系を日本では初めて我々は樹立し、国内医療機関からの測定依頼に応え得る態勢を整えた。以来、本邦の AAG 症例を集積し、臨床像解析を積み重ねた。その中で、AAG は自律神経系外の症候 (中枢神経系障害、感覚障害、内分泌障害) や併存症 (膠原病、腫瘍など) 成人とは異なる病像を呈する小児症例が存在することが判ってきた。こういった「多様性」が本症の診断しにくさ、難治化につながっていると考えた。

2. 研究の目的

本研究では 1) 自己抗体の病原性検証、2) 病態モデル開発、3) 小児症例および膠原病症例における臨床的特徴の綿密な解析、を目的とした。これらを遂行することにより、「複雑な病態と臨床像 = 多様性」への多角的アプローチが AAG の診断基準作成、治療ストラテジーの確立に貢献すると考えた。

3. 研究の方法

研究分担体制 (図 2)

本研究は 3 つのパートに分かれる。それぞれのパートにおける各プロジェクトはそのスペシャリストに牽引され、各プロジェクトの進捗状況、問題点等を定期的に話し合いつつ進めていく。

試料とその収集方法

同意の得られた患者から匿名化臨床情報と血清を用いる。これらはこれまで我々が全国の医療機関より gAChR 抗体の測定依頼を受けて集積した 1,787 検体 (1,381 症例、うち gAChR 抗体陽性 AAG 症例は 179 症例) の血清検体と臨床情報である。条件が許す場合、末梢血リンパ球と口腔スワブを収集する。

各プロジェクトの研究手法 (右図)

自己抗体サブクラス, gAChR の内在化, エピトープ検討

患者血清, 対照血清を用いてルシフェラーゼ免疫沈降, cell-based assay による抗 gAChR 抗体サブクラスの解析を行う。自己抗体の IgG サブクラスの解明は免疫病態として補体の介在があるかどうかを見極める。樹立された cell-based assay にて gAChR 抗体の作用によって gAChR が内在化に至るかを検討する。gAChR 抗体のエピトープ解析を行う予定である。

末梢血リンパ球を用いた免疫細胞, レパトア, HLA などの免疫学的解析

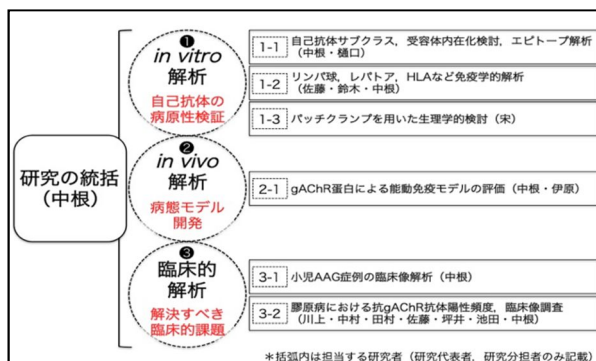
このプロジェクトでは gAChR 抗体陽性 AAG を 1) 純粋な自律神経障害のみの AAG, 2) extra-autonomic manifestations の併存する AAG, 3) 膠原病の併存する AAG, と 3 群に分け、それぞれの群から最低 5 症例から末梢血リンパ球を採取し、下記の検討を行う。フローサイトメトリーによる T 細胞・B 細胞分析を行い、T 細胞系では制御性 T 細胞, B 細胞系では plasmablast など免疫病態に関わるサブセットの変化を調査。また末梢血リンパ球より抽出した RNA にて次世代シーケンシングによる T 細胞・B 細胞抗原受容体のレパトアとクローン性を定量的に解析。HLA 遺伝子型検査については口腔内粘膜用スポンジで採取したスワブを用いて Luminex 法にて施行。

パッチクランプを用いた生理学的検討

gAChR が発現した細胞を用い、抗体陽性 AAG 患者血清, 健常対照血清, 各種薬剤 (gAChR のアゴニスト, アンタゴニスト) 等を灌流して細胞膜上のチャネル活動を測定し、それぞれの灌流液, 特に患者血清での変化を評価。

gAChR 蛋白による能動免疫モデルの評価

C57BL/6 マウスに AChR 細胞外ドメインタンパクを免疫後、抗体価・自律神経機能 (脈拍数・血圧・消化管運動機能), 体重, 脳・頸部交感神経節病理等を経時的 (免疫後急性期・亜急性期・慢性期) に評価。



小児 AAG 症例の臨床像解析

20歳未満の小児 AAG 症例の集積を行い、gAChR 抗体測定と臨床評価、COMPASS 31 (自律神経症状スコア) を施行し、抗体レベルと臨床症状の関連や臨床的特徴を解析する。臨床評価についてはこれまで gAChR 抗体測定時に収集した臨床評価票を用いる。この書式は【年齢・性別・発症年齢・発症様式などの疫学的項目】、【自律神経障害を主とする神経症状】、【自律神経機能検査(心電図 RR 間隔パワースペクトル解析、MIBG 心筋シンチ、血漿中カテコラミン 3 分画など)結果】、【自律神経系外の症状(脳などの中枢神経障害、内分泌異常、感覚障害など)】、【併発する疾患(膠原病、腫瘍など)】、【免疫治療への反応性】から成る。

膠原病における gAChR 抗体陽性頻度と臨床像調査

関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、強皮症、シェーグレン症候群の専門施設と連携する。関節リウマチは長崎大学膠原病内科、全身性エリテマトーデスは順天堂大学膠原病内科、強皮症は東京大学皮膚科、シェーグレン症候群は筑波大学膠原病内科において前向きな症例登録がなされる。そして gAChR 抗体測定、臨床評価(上述の臨床評価票使用)、COMPASS 31 を施行し、抗体レベルと臨床症状の関連や臨床的特徴を解析する。各施設では既にそれぞれの疾患において 50-100 という多数の症例登録が見込まれており、統計解析にあたっては生物統計のスペシャリストがあたる予定である。

4. 研究成果

今回の研究計画による成果として論文報告(国際誌、査読あり)できたものは下記のものである。

- 1) 日本国内の AAG 179 症例の臨床像及び検査所見に関する包括的解析 (*J Autoimmun.*2020)
- 2) gAChR 抗体を用いた強皮症患者における消化管運動障害の検出 (*Arthritis Res Ther.*2020)
- 3) 自己免疫性脳炎における自律神経障害と gAChR 抗体陽性の頻度 (*J Neuroimmunol.*2020)
- 4) 多発性硬化症における Kir4.1 抗体: 特異性と病原性 (*Int J Mol Sci.*2020)
- 5) 自己免疫性消化管運動障害 (*Immunol Med.*2021)
- 6) 日本における小児・思春期 AAG の臨床像 (*Ann Clin Transl Neurol.*2021)
- 7) 自律神経障害を呈した神経サルコイドーシスと gAChR 抗体の関連 (*J Neurol.*2021)
- 8) 超高齢発症視神経脊髄炎スペクトラム障害の臨床像 (*Eur J Neurol.*2021)
- 9) gAChR タンパクによる新規能動免疫 AAG モデルの樹立 (*Front Neurosci.*2022)
- 10) 日本国内 AAG 31 症例に対する治療効果の検討 (*Ther Adv Neurol Disord.*2023)
- 11) 眼筋型重症筋無力症に対する免疫治療の効果に関する観察研究 (*Ther Adv Neurol Disord.*2023)

AAG の臨床研究に属するものとしては 1) が代表的であるが、免疫異常による全身性疾患における自律神経障害と gAChR 抗体に着目したものとしては 2)・3)・7) が挙げられる。限局型 AAG のひとつである自己免疫性消化管運動障害の病態を考察した 5) 成人 AAG と病像の異なる小児 AAG にフォーカスした臨床研究 6) AAG の免疫治療の効果について特に複合的免疫治療の有効性について報告した 10) は実臨床のクエスチョンに基づいた臨床研究の成果である。また、本研究計画における基礎研究成果は 9) であり、新規動物モデルの樹立を目標としてニコチン性 gAChR の 3 サブユニットの細胞外領域ペプチドの能動免疫によって新たな動物モデルの作製に成功した。これら 8 論文以外に自己抗体が介在する神経疾患である多発性硬化症、視神経脊髄炎、重症筋無力症に関する臨床研究を行い、その成果が 4)・8)・11) になる。

上記以外では「膠原病における gAChR 抗体陽性頻度と自律神経障害の臨床調査」については結果回収と解析が終了しており、現在論文作成中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yamakawa M, Watari M, Torii KI, Kuki I, Miharu M, Kawazu M, Mukaino A, Higuchi O, Maeda Y, Ikeda T, Takamatsu K, Tawara N, Nakahara K, Matsuo H, Ueda M, Takahashi T, Nakane S	4. 巻 8
2. 論文標題 gAChR antibodies in children and adolescents with acquired autoimmune dysautonomia in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Clin Transl Neurol.	6. 最初と最後の頁 790-799
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/acn3.51317	査読の有無 無
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 Oishi M, Mukaino A, Kunii M, Saito A, Arita Y, Koike H, Higuchi O, Maeda Y, Abiru N, Yamaguchi N, Kawano H, Tsuiki E, Tanaka T, Matsuo H, Katsuno M, Tanaka F, Tsujino A, Nakane S	4. 巻 268
2. 論文標題 Association between neurosarcoidosis with autonomic dysfunction and anti-ganglionic acetylcholine receptor antibodies.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurol.	6. 最初と最後の頁 4265-4279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00415-021-10551-4	査読の有無 無
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 Nakane S, Mukaino A, Ihara E, Ogawa Y.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Autoimmune gastrointestinal dysmotility: the interface between clinical immunology and neurogastroenterology.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Immunol Med	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/25785826.2020.1797319	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 -
1. 著者名 Yamakawa M, Mukaino A, Kimura A, Nagasako Y, Kitazaki Y, Maeda Y, Higuchi O, Takamatsu K, Watari M, Yoshikura N, Ikawa M, Sugimoto I, Sakurai Y, Matsuo H, Ando Y, Shimohata T, Nakane S.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Antibodies to the 3 subunit of the ganglionic-type nicotinic acetylcholine receptors in patients with autoimmune encephalitis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neuroimmunol	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jneuroim.2020.577399	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 -

1. 著者名 Yamakawa M, Watari M, Torii KI, Kuki I, Miharū M, Kawazu M, Mukaino A, Higuchi O, Maeda Y, Ikeda T, Takamatsu K, Tawara N, Nakahara K, Matsuo H, Ueda M, Takahashi T, Nakane S.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 gAChR antibodies in children and adolescents with acquired autoimmune dysautonomia in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Clin Transl Neurol	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/acn3.51317	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 -

1. 著者名 Nakane S, Mukaino A, Higuchi O, Yasuhiro M, Takamatsu K, Yamakawa M, Watari M, Tawara N, Nakahara KI, Kawakami A, Matsuo H, Ando Y.	4. 巻 108
2. 論文標題 A comprehensive analysis of the clinical characteristics and laboratory features in 179 patients with autoimmune autonomic ganglionopathy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Autoimmun	6. 最初と最後の頁 102403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaut.2020.102403	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 Imamura M, Mukaino A, Takamatsu K, Tsuboi H, Higuchi O, Nakamura H, Abe S, Ando Y, Matsuo H, Nakamura T, Sumida T, Kawakami A, Nakane S	4. 巻 21
2. 論文標題 Ganglionic Acetylcholine Receptor Antibodies and Autonomic Dysfunction in Autoimmune Rheumatic Diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 1332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21041332	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 -

1. 著者名 Nakane S, Umeda M, Kawashiri SY, Mukaino A, Ichinose K, Higuchi O, Maeda Y, Nakamura H, Matsuo H, Kawakami A.	4. 巻 22
2. 論文標題 Detecting gastrointestinal manifestations in patients with systemic sclerosis using anti-gAChR antibodies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-020-2128-z	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 -

1. 著者名 中根俊成	4. 巻 59
2. 論文標題 自己免疫性自律神経節障害	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床神経	6. 最初と最後の頁 783-790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5692/clinicalneuroi.cn-001354	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14件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 自己免疫性自律神経節障害pdate
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 自己抗体から考える重症筋無力症の病態と診療
3. 学会等名 第29回日本神経学会中国・四国地区生涯教育講演会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 Research on AAG
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 Immunization of mice with 3 nicotinic acetylcholine receptor induces autonomic dysfunction
3. 学会等名 32ND INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 自己免疫性自律神経節障害 =今、われわれがわかっていること=
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 小児における自己免疫性自律神経節障害の臨床的特徴
3. 学会等名 48回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 VGKC複合体抗体関連疾患、スティッフパーソン症候群、自己免疫性自律神経節障害
3. 学会等名 第41回日本アフェレンス学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 自己免疫性自律神経節障害の過去・現在・未来
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 神経筋接合部疾患における自己抗体測定
3. 学会等名 第50回日本臨床神経生理学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nakane S
2. 発表標題 The ganglionic AChR autoantibodies in autoimmune autonomic ganglionopathy: An update on diagnosis and treatment
3. 学会等名 60th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 パーキンソン病における 自己免疫基盤を考える
3. 学会等名 第13回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 パーキンソニズムを呈した抗自律神経節アセチルコリン受容体抗体陽性症例
3. 学会等名 第31回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 広がりゆく自己免疫性自律神経節障害の概念
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中根俊成
2. 発表標題 自己免疫性自律神経節障害 = 免疫系の標的としての自律神経系 =
3. 学会等名 第72回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019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	池田 徳典 (Ikeda Tokunori) (00613530)	崇城大学・薬学部・准教授 (37401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐藤 伸一 (Sato Shinichi) (20215792)	東京大学・医学部附属病院・教授 (12601)	
研究分担者	田村 直人 (Naoto Tamura) (20227284)	順天堂大学・医学部・教授 (32620)	
研究分担者	樋口 理 (Osamu Higuchi) (50361720)	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）・その他の研究科・研究員（移行） (87302)	
研究分担者	鈴木 隆二 (Ryuji Suzuki) (70373470)	独立行政法人国立病院機構（相模原病院臨床研究センター）・臨床免疫研究室・室長 (82710)	
研究分担者	坪井 洋人 (Hirotoshi Tsuboi) (80580505)	筑波大学・医学医療系・講師 (12102)	
研究分担者	伊原 栄吉 (Eikichi Ihara) (80612390)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	宋 文杰 (Song Wen-Jie) (90216573)	熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授 (17401)	
研究分担者	川上 純 (Atsushi Kawakami) (90325639)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	佐藤 和貴郎 (Wakiro Sato) (90469990)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 免疫研究部・室長 (82611)	

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