

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07894

研究課題名(和文) 脱髄性ニューロパチーにおける糖脂質-蛋白複合抗原に対する自己抗体の解析と病態解明

研究課題名(英文) Analysis of antibodies to glycolipid-protein complexes and elucidation of pathology in autoimmune-mediated demyelinating neuropathies

研究代表者

桑原 基 (KUWAHARA, Motoi)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：40460860

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)：脱髄性ニューロパチーの病態解明を目的として、ギラン・バレー症候群の患者血清を用いて末梢神経に局在する2種類の糖脂質抗原(GM1・GD1b)と3種の傍絞輪部蛋白抗原(NF155・CNTN1・CASPR1)を混合した6種の混合抗原に対する抗体反応性について調べたが、糖脂質-蛋白複合抗原に対する特異的抗体は確認できなかった。また、自己免疫性ノドパチーが疑われる患者血清を用いてCaイオン依存性の傍絞輪部蛋白抗体について検討したがCaイオン依存性の自己抗体は検出されなかった。一方、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎の患者血清においてGQ1b抗原に対する反応性をもつ抗体が稀ながら存在することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

希少疾患の免疫介在性脱髄性ニューロパチーでは自己抗体がほとんど同定されておらず発症メカニズムは十分に解明されていない。本研究では糖脂質と蛋白複合抗原を標的とした自己抗体は検出されず、末梢神経ミエリンもしくは傍絞輪部に局在する未同定の分子が標的抗原となっている可能性が示唆された。また、慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチーにおけるGQ1b抗体の存在が明らかとなり、本研究結果が今後のさらなる病態解明につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：For elucidation of pathology in immune-mediated demyelinating neuropathies, we examined antibodies to glycolipid-protein complex which are consisting of one glycolipid (GM1 or GD1b) and one protein (NF155, CNTN1, or CASPR1) using ELISA. However, such antibody reactivities to glycolipid-protein complex were not observed in Guillain-Barre syndrome. Additionally, we examined Ca²⁺-dependent antibodies to paranodal proteins in patients who were suspected to be autoimmune neuropathies, whereas these were not detected. On the other hand, we clarified the presence of antibody reactivities to GQ1b in a few patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy.

研究分野：神経内科学

キーワード：糖脂質 蛋白 自己抗体 脱髄性ニューロパチー ギラン・バレー症候群 慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫性ニューロパチーでは末梢神経構成成分に対する自己抗体が検出されることがある。特に、急性の免疫性ニューロパチーであるギラン・バレー症候群(GBS)では急性期の患者血清中に糖脂質に対する自己抗体がみられる。GBS では約 70%に発症前に先行感染がみられ、*Campylobacter jejuni* や *Mycoplasma pneumoniae* といった先行感染因子に糖脂質類似の構造があることが示されており、先行感染因子によって糖脂質抗体の産生が惹起され末梢神経に局在する糖脂質に結合することで末梢神経障害を発症する。しかしながら、これまでに同定されてきた自己抗体の多くは主に軸索障害型 GBS に関わるものであり、大部分の脱髄型 GBS (AIDP) では未だに自己抗体が判明していない。一方、慢性の免疫性ニューロパチーである慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー (CIDP) でも自己抗体が検索されてきたが糖脂質に対する自己抗体の陽性率は GBS と比べて低く、病的意義は十分に解明されていない。近年、申請者らは末梢神経ミエリンに局在する糖脂質の LM1 に着目して単独の LM1、LM1 と GM1 の混合抗原、LM1 と GD1b の混合抗原に対する自己抗体を脱髄型 GBS と CIDP の一部の患者で同定した。さらに、LM1 のヒト末梢神経系における局在と LM1 関連抗体が検出される CIDP 患者の臨床的特徴が相関することを見出した (Kuwahara et al. J Neuroimmunol 2011, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2013)。

一方、2012 年に CIDP 患者血清において末梢神経の傍絞輪部に局在する膜蛋白である neurofascin155 (NF155) に対する自己抗体が同定され、さらに翌年には同じく傍絞輪部局在蛋白である contactin1 (CNTN1) に対する自己抗体が同定された。傍絞輪部局在蛋白においても CNTN1 と caspr1 (contactin associated protein1) の複合抗原に対する自己抗体が報告されている。申請者らは NF155 抗体陽性 CIDP 患者の電子顕微鏡所見および治療反応性の特徴を報告した (Kuwahara et al. Muscle Nerve 2018)。現在はこれらの自己抗体陽性例は自己免疫性ニューロパチーと呼ばれている。しかしながら、傍絞輪部局在蛋白に対する自己抗体が検出されるのは CIDP の約 10% 程度であるため未知の標的抗原が存在すると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 免疫介在性の脱髄性ニューロパチーにおける未同定の自己抗体の検索のために、これまでに報告されている単独の標的抗原である糖脂質や傍絞輪部局在蛋白を混合した糖脂質-蛋白複合抗原に対する自己抗体の有無を検討する。また、CIDP における糖脂質抗体も検討する。

(2) 免疫介在性の脱髄性ニューロパチーの傍絞輪部における未知の抗体反応の有無を調べるために、Ca 添加溶媒を用いたアッセイ系において傍絞輪部局在蛋白に対する Ca²⁺依存性抗体について検討する。

(3) 伝導ブロックを特徴とする多巣性運動ニューロパチー (MMN) において、その病態解明のために GM1 IgM 抗体におけるフォスファチジン酸 (PA) 添加による抗体反応性への影響を検討する。

(4) GBS における糖脂質抗体の臨床的意義の解明のために、糖脂質抗体と予後との関連、自律神経障害の 1 つであるたこつぼ型心筋症を合併した GBS の特徴の解析、さらに、80 歳以上の超高齢 GBS の特徴の解析を行う。

3. 研究の方法

(1) 傍絞輪部ミエリンに含まれるガングリオシドの GM1 と GD1b、傍絞輪部局在膜蛋白の

NF155、CNTN1、caspr1 を各 1 種類ずつ組み合わせた計 6 種類の糖脂質-蛋白複合抗原に対する IgG 抗体を検出するために ELISA 法による測定系を確立した。そして、AIDP を含む GBS 患者血清を用いて糖脂質-蛋白複合体に対する IgG 抗体を測定した。

(2) ガングリオシド GQ1b はヒト外眼筋支配神経の傍絞輪部ミエリンに局在しており、フィッシャー症候群では高率に GQ1b IgG 抗体が検出される。また、GQ1b IgG 抗体の中には Ca が含まれる溶媒を用いたアッセイ系にのみ検出される Ca²⁺依存性抗体が存在することが知られている。そこで、臨床的に自己免疫性ノドパチーが疑われる患者血清を用いて Ca²⁺依存性傍絞輪部局在蛋白抗体の有無について検討した。

(3) MMN 患者では約半数で GM1 IgM 抗体が検出されることが知られており、GM1 と PA の混合抗原に対する IgM 抗体について検討した。

(4) いずれかの糖脂質抗体が陽性の GBS において糖脂質抗体と発症 6 ヶ月後の独歩不能 (予後不良例) との関連を検討した。また、たこつぼ型心筋症を合併した GBS 症例においてその臨床的特徴と糖脂質抗体について検討した。さらに、80 歳以上の超高齢 GBS 症例の臨床的特徴と糖脂質抗体についても検討した。

4 . 研究成果

(1) AIDP を含む GBS 患者 62 例において計 6 種類の糖脂質-蛋白複合体 (GM1/NF155、GD1b/NF155、GM1/CNTN1、GD1b/CNTN1、GM1/Caspr1、GD1b/Caspr1) に対する IgG 抗体を調べたがいずれの混合抗原に対しても特異的な反応は検出されなかった。一方で、CIDP において稀に GQ1b IgG 抗体が陽性となることが明らかとなった。

(2) 臨床的に自己免疫性ノドパチーが疑われる CIDP18 例 (電気生理検査で明らかな脱髄所見、運動失調、脳脊髄液蛋白 200mg/dl 以上、経静脈的免疫グロブリン療法が無効) の血清を用いて溶媒として PBS または Ca を含んだ TBS を使用した ELISA で NF155、CNTN1、Caspr1 に対する IgG 抗体を測定した。NF155 抗体が 4 例、CNTN1 抗体が 1 例で検出されたが、いずれも PBS、TBS の両方の EILSA で検出されており、Ca²⁺依存性の特異的抗体はみられなかった。

(3) MMN37 例、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 24 例、正常対象 (HC) 24 例の血清で GM1 および GM1 と PA の混合抗原 (GM/PA) に対する IgM 抗体を調べた。GM1 に対する IgM 抗体は MMN で 20 例 (54%)、HC で 1 例 (4%)、ALS で 1 例 (4%) でみられ、GM1/PA に対する特異的抗体反応は MMN で 9 例 (24%)、HC で 3 例 (13%) みられたが、ALS ではみられなかった。全体で、GM1 または GM1/PA に対する IgM 抗体は MMN で 26 例 (70%)、対象群で 4 例 (8%) でみられており、MMN で有意に多かった (p<0.01)。この結果により、GM1/PA は MMN の診断マーカーとして有用である可能性が示唆された。

(4) いずれかの糖脂質抗体が陽性の GBS334 例を解析したところ、GD1a 抗体において陽性例は陰性例と比べて有意に発症 6 ヶ月後の独歩不能例が多いことが明らかとなった (20% vs 9%、p<0.05)。また、たこつぼ型心筋症を合併した GBS8 例では、合併しない GBS62 例に比較して、有意に高齢・下位脳神経障害の合併・重度の筋力低下・人工呼吸器の装着が多いことが明らかとなった。一方、検出される糖脂質抗体に特定の傾向はみられなかった。80 歳以上の超高齢発症 GBS74 例の特徴の解析では 80 歳未満の GBS 患者と比較して、先行感染を有する患者が 50% と少なく、ピークまでの日数が 9.1 日と長く、呼吸器障害を有する例では人工呼吸器の装着率が高く、重症例が多いことが明らかとなった。一方、糖脂質抗体の有無には違いに認めなかった。この結果から、超高齢の GBS 患者は重症化しやすいため、先行感染の有無がはっきりせずとも正確な診断と速やかな治療が重要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sato R, Shimizu F, Kuwahara M, Mizukami Y, Watanabe K, Maeda T, Sano Y, Takeshita Y, Koga M, Kusunoki S, Kanda T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Autocrine TNF- Increases Penetration of Myelin-Associated Glycoprotein Antibodies Across the Blood-Nerve Barrier in Anti-MAG Neuropathy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 e200086
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1212/NXI.000000000200086	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 Miyamoto K, Minamino M, Kuwahara M, Tsujimoto H, Ohtani K, Wakamiya N, Katayama KI, Inoue N, Ito H.	4. 巻 14
2. 論文標題 Complement biomarkers reflect the pathological status of neuromyelitis optica spectrum disorders	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1090548
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2023.1090548	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 Omura S, Shimizu K, Kuwahara M, Morikawa-Urase M, Kusunoki S, Tsunoda I.	4. 巻 12
2. 論文標題 Exploratory factor analysis determines latent factors in Guillain-Barre syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 21837
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-26422-5	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 Minamino M, Miyamoto K, Kuwahara M, Yoshikawa K, Koh J, Kusunoki S, Nagai Y, Ito H.	4. 巻 270
2. 論文標題 Characteristics of Guillain-Barre syndrome in super-elderly individuals	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 2191-2196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00415-023-11567-8	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 Yoshikawa Keisuke, Kuwahara Motoi, Morikawa Miyuki, Kusunoki Susumu	4. 巻 7
2. 論文標題 Bickerstaff brainstem encephalitis with or without anti-GQ1b antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurology - Neuroimmunology Neuroinflammation	6. 最初と最後の頁 e889 ~ e889
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/NXI.0000000000000889	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 Yamagishi Yuko, Kuwahara Motoi, Suzuki Hidekazu, Sonoo Masahiro, Kuwabara Satoshi, Yokota Takanori, Nomura Kyoichi, Chiba Atsuro, Kaji Ryuji, Kanda Takashi, Kaida Ken-ichi, Mutoh Tatsuro, Yamasaki Ryo, Takashima Hiroshi, Matsui Makoto, Nishiyama Kazutoshi, Sobue Gen, Kusunoki Susumu	4. 巻 91
2. 論文標題 Serum IgG anti-GD1a antibody and mEGOS predict outcome in Guillain-Barre syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1339 ~ 1342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jnnp-2020-323960	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19件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 寺山 敦之, 桑原 基, 山下 翔子, 定金 秀爾, 吉川 恵輔, 山岸 裕子, 寒川 真, 大西 教平, 永野 兼也, 永井 義隆, 楠 進
2. 発表標題 たこつぼ型心筋症を発症したGuillain-Barre症候群の臨床的特徴の検討
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川 恵輔, 桑原 基, 寺山 敦之, 山岸 裕子, 寒川 真, 永井 義隆, 楠 進
2. 発表標題 本邦における対麻痺型ギラン・バレー症候群の臨床的特徴の解析
3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 ニューロパチーと自己抗体～自己抗体の臨床的意義、病因的役割に関する最新知見～ 急性免疫性ニューロパチーにおける自己抗体
3. 学会等名 第33回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 寺山 敦之, 桑原 基, 山下 翔子, 吉川 恵輔, 山岸 裕子, 寒川 真, 楠 進, 永井 義隆
2. 発表標題 たこつぼ型心筋症を合併したギラン・バレー症候群の臨床的特徴の検討
3. 学会等名 第 33 回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桑原 基, 荒武 由利子, 細川 裕子, 寺山 敦之, 吉川 恵輔, 永井 義隆
2. 発表標題 Caspr1抗体陽性自己免疫性ノドパチー2例の臨床的検討
3. 学会等名 第34回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 南野 麻衣, 宮本 勝一, 桑原 基, 吉川 恵輔, 楠 進, 永井 義隆, 伊東 秀文
2. 発表標題 高齢者ギラン・バレー症候群の特徴
3. 学会等名 第34回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 自己免疫性ニューロパチーの病態最前線 COVID-19とGBS
3. 学会等名 第40回日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Motoi Kuwahara
2. 発表標題 Autoantibody in autoimmune polyneuropathy-update-
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 桑原 基、吉川 恵輔、楠 進
2. 発表標題 多巣性運動ニューロパチーにおけるフォスファチジン酸添加GM1抗原に対するIgM抗体反応の検討
3. 学会等名 第32回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 ノドパチーと自己免疫性末梢神経障害-nodpathyの観点から見た免疫性末梢神経疾患の未来像- 急性自己免疫性ニューロパチーの病態メカニズム
3. 学会等名 第33回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺山 敦之、吉川 恵輔、定金 秀爾、稲田 莉乃、桑原 基、宮本 勝一、大賀 智行、永井 義隆
2. 発表標題 外眼筋麻痺を伴わず両側内眼筋麻痺を主徴とした不全型Fisher症候群の2例
3. 学会等名 第33回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川 恵輔、寺山 敦之、桑原 基、永井 義隆、楠 進
2. 発表標題 COVID-19の流行がギラン・バレー症候群発生数に及ぼす影響
3. 学会等名 第33回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 未来志向の治療戦略におけるアフェレンス療法の位置付け 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーにおけるアフェレンス療法
3. 学会等名 第42回日本アフェレンス学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 CIDPにおける臨床病型と自己抗体
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 診療に難渋したGBS症例から考える～現在の課題と今後への期待～
3. 学会等名 第31回日本末梢神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 CIDPの多様性と治療の新たな展開 ～どのように治療を選択するか～
3. 学会等名 第32回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 ギラン・バレー症候群の診断と治療 Update
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 GBS最新の治療
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 桑原 基
2. 発表標題 ガングリオシド抗体陽性ニューロパチー
3. 学会等名 第38回日本神経治療学会学術集会
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	楠 進 (KUSUNOKI Susumu) (90195438)	近畿大学・医学部・教授 (34419)	
研究分担者	宮本 勝一 (MIYAMOTO Karsuichi) (50388526)	和歌山県立医科大学・医学部・准教授 (24701)	
研究分担者	山岸 裕子 (YAMAGISHI Yuko) (80826040)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	

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
---------	---------