

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591239

研究課題名(和文)自己免疫介在性脳炎に関する新規抗神経抗体・抗血管内皮抗体の同定と診断・治療への応用

研究課題名(英文) Identification of novel anti-neural and anti-endothelial cell antibodies for diagnosis and therapy of autoimmune-mediated encephalitis

研究代表者

木村 暁夫(KIMURA, Akio)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00362161

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト神経芽細胞腫細胞や大脳微小血管内皮細胞などの培養細胞もしくはラット大脳・小脳を抗原とした二次元免疫ブロット法および免疫沈降法を用い既知の自己抗体を有さない自己免疫介在性脳炎患者の血清・髄液中より新規に抗神経抗体と抗血管内皮抗体を同定した。その結果、橋本脳症患者の血清から新たにintracellular adhesion molecule 5に対する自己抗体を、傍腫瘍性小脳失調症患者の血清中より抗Ryanodine receptor 1などに対する自己抗体を、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者の髄液中よりMyosin regulatory light chain 12Aに対する自己抗体を新たに同定した。

研究成果の概要(英文)：We identified novel anti-neural and anti-endothelial cell antibodies in serum and cerebrospinal fluid samples from patients with autoimmune-mediated encephalitis, who had no previous reported anti-neural and anti-endothelial cell antibodies. To identify these novel antibodies, we employed two-dimensional immunoblotting or immunoprecipitation using human neuroblastoma cells, human brain microvascular endothelial cells, or rat brain homogenate as the antigen source. As a result, we identified antibodies against intracellular adhesion molecule 5 in serum from a patient with Hashimoto encephalitis, ryanodine receptor 1 in serum from a patient with paraneoplastic cerebellar degeneration, and myosin regulatory light chain 12A in cerebrospinal fluid from a patient with paraneoplastic limbic encephalitis.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：抗神経抗体 自己免疫介在性脳炎 傍腫瘍性神経症候群

### 1. 研究開始当初の背景

近年、非ヘルペス性辺縁系脳炎、CNS ループス、傍腫瘍症候群、橋本脳症などのいわゆる自己免疫介在性脳炎・脳症患者における自己抗体に関する報告が多数なされている。とりわけここ数年の非ヘルペス性辺縁系脳炎における各種受容体 (NMDAR, GluR2, AMPAR, GABA<sub>B</sub>R) や受容体関連蛋白 (LGII) を認識抗原とする自己抗体の報告は、新たな疾患概念の確立と、診断・治療法の確立に極めて重要な役割を果たしてきた。さらに、これらの受容体が神経シナプスに存在し、自己抗体が直接的にシナプス機能障害をもたらす痙攣発作や精神症状を呈する可能性が示唆されている[1,2]。また、中枢神経障害と自己抗体に関しては、従来から細胞内蛋白を認識抗原とする傍腫瘍症候群に関連した抗神経抗体が腫瘍の早期診断マーカーとして臨床的意義を持つことが知られており、最近でも抗 NMDAR 抗体陽性辺縁系脳炎における卵巣奇形腫の検索は治療方針の決定において極めて重要である。このように临床上、自己免疫介在性脳炎・脳症患者に対し自己抗体を検索することは、診断・治療法の決定の上で、極めて重要な意味をもつものである。

### 2. 研究の目的

自己免疫介在性脳炎・脳症の病態機序の解明と診断・治療法の開発を目的として、本研究では、液性免疫の関与に着目し、患者血清・髄液中より新たに疾患・病態特異的な抗神経抗体および抗血管内皮抗体を検出し、その認識抗原を同定する。

### 3. 研究の方法

ヒト神経芽細胞腫由来細胞やヒト大脳微小血管内皮細胞などの培養細胞もしくはラット大脳・小脳を抗原とした二次免疫ブロット法および免疫沈降法を用い、既知の自己抗体を有さない自己免疫介在性脳炎・脳症患者の血清・髄液中より新規に、抗神経抗体と抗血管内皮抗体を検出した。その後、検出したこれら自己抗体の認識抗原蛋白を LC-MS/MS もしくは MALDI-TOF/MS 解析により同定した。

### 4. 研究成果

上記方法を用い、自己免疫介在性脳炎・脳症患者の血清・髄液中より、あらたに多数の自己抗体を同定した。約半年の経過で進行する認知機能障害と両手の振戦をきたし、ステロイド治療が奏功した橋本脳症の 66 歳女性患者の血清から intracellular adhesion molecule 5 (ICAM5) に対する自己抗体を同定した。ICAM5 は終脳の神経細胞膜表面に存在し、神経細胞間や神経細胞とリンパ球の結合、神経細胞とミクログリア間の相互作用に重要な役割を担っていることが知られている。抗 ICAM5 抗体と同患者の病態機序の間に何らかの関連性がある可能性が示唆された。

また膀胱癌を合併し、約半年の経過で小脳失調を呈した傍腫瘍性小脳失調症の 80 歳男性患者の血清中から新たに抗 Ryanodine receptor 1 (RyR1) 抗体を同定した。抗 RyR1 抗体に関しては、以前より重症筋無力症患者で陽性になることが知られており、特に胸腺腫合併例ではその陽性率が高いことが報告されている。一方、RyR1 は横紋筋と中枢神経 (小脳・海馬) に発現していることが知られており、小脳では主にプルキンエ細胞の細胞質で発現し、ラット脳組織を用いて施行した患者血清による免疫染色の結果と一致した。ちなみに本例では、重症筋無力症を示唆する神経学的所見は認めなかった。抗 RyR1 抗体と小脳失調症状との関連性に関しては今後、更なる検討が必要と考えるが、傍腫瘍症候群の側面をもつ胸腺腫合併重症筋無力症以外にも一部の傍腫瘍性小脳失調症患者においても、抗 RyR1 抗体が陽性となる可能性が示唆され、今後さらに多数例での検討により、新たな傍腫瘍性小脳失調症の診断マーカーの確立につながる可能性が示唆された。

また、自己抗体以外の液性免疫に関連する因子として B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF) と a proliferation-inducing ligand (APRIL) に着目し、自己免疫介在性脳炎患者を含む多数の神経疾患患者の髄液中 BAFF, APRIL 値を測定した。その結果、自己免疫介在性脳炎患者においてこれらの上昇はみられなかった。一方、時に鑑別が問題となる単純ヘルペス脳炎患者では上昇を認め、両疾患の鑑別に有用なマーカーとなることを報告した。

### 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 10 件)

1. Kimura A, Sakurai T, Yoshikura N (他 5 名、1 番目) : Corticosteroid therapy in a patient with cerebral amyloid angiopathy-related inflammation. *J Neuroinflammation*. 査読有, 10, 39, 2013
2. Tanaka Y, Kato T, Kimura A (他 11 名、8 番目) : Is there a difference in gastric emptying between myotonic dystrophy type 1 patients with and without gastrointestinal symptoms? *J Neurol*. 査読有, 260, 1611-1616, 2013
3. Kimura A, Sakurai T, Yamada M (他 7 名、1 番目) : Elevated anti-heat shock protein 60 antibody titer is related to white matter hyperintensities. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 査読有, 21, 305-309, 2012
4. Kimura A, Sakurai T, Yamada M (他 9 名、1 番目) : Anti-Endothelial Cell Antibodies in Patients with Cerebral Small Vessel Disease. *Curr Neurovasc Res*. 査読有, 9, 296-301, 2012

5. Kimura A, Sakurai T, Yamada M (他 9 名、1 番目) : Antibodies Against the Tom40 Subunit of the Translocase of the Outer Mitochondrial Membrane Complex and Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 査読有, 29, 373-377, 2012
6. Yamaguchi Y, Hayashi A, Kimura A (他 3 名、4 番目) L-MPZ, a novel isoform of myelin P0, is produced by stop codon readthrough. *J Biol Chem.* 査読有, 287, 17765-17776, 2012
7. Tanaka Y, Yoshikura N, Kimura A (他 7 名、8 番目) Late-onset patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis in Japan have a higher progression rate of ALSFRS-R at the time of diagnosis. *Intern Med.* 査読有, 51, 579-584, 2012
8. Hayashi Y, Yoshikura N, Kimura A (他 1 名、3 番目) Peduncular hallucinations in brainstem encephalitis drawn by a patient. *Neurology.* 査読有, 79, 1625, 2012
9. Tanaka Y, Kato T, Kimura A (他 11 名、8 番目) : Is there delayed gastric emptying in patients with multiple system atrophy? An analysis using the (13) C-acetate breath test. *J Neurol.* 査読有, 259, 1448-1452, 2012
10. Ishizaki S, Sakai Y, Yano T (他 6 名、3 番目) : Specific Detection by the Polymerase Chain Reaction of Potentially Allergenic Salmonid Fish Residues in Processed Foods. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 査読有, 76, 980-985, 2012

[学会発表] (計 21 件)

1. 第 25 回日本神経免疫学会学術集会 (2013/11/27、下関) 免疫介在性ニューロパチーにおける血清 BAFF 値と臨床所見との関連性の検討  
木村暁夫、吉倉延亮、原田斉子、香村彰宏、林 祐一、犬塚 貴
2. 第 25 回日本神経免疫学会学術集会 (2013/11/27、下関) 亜急性小脳失調症における新規抗神経抗体の同定  
香村彰宏、木村暁夫、吉倉延亮、原田斉子、林 祐一、犬塚 貴
3. 第 25 回日本神経免疫学会学術集会 (2013/11/27、下関) 自己抗体関連脳炎における髄液中 BAFF, APRIL 値の検討  
吉倉延亮、木村暁夫、香村彰宏、原田斉子、林 祐一、犬塚 貴
4. 第 134 回日本神経学会東海北陸地方会 (2013/10/20、金沢) 急性の認知機能低下を主訴とし肺小細胞癌を合併した抗 ANPA 受容体抗体陽性辺縁系脳炎の 1 例  
原田斉子、林 祐一、吉倉延亮、香村彰宏、木村暁夫、犬塚 貴
5. 第 134 回日本神経学会東海北陸地方会 (2013/10/20、金沢) 辺縁系脳炎、急性運動感覚性ニューロパチーを呈した抗 Hu 抗体陽性傍腫瘍症候群の 1 例  
櫻井岳朗、脇田賢治、西田 浩、木村暁夫、犬塚 貴
6. 第 18 回日本神経感染症学会総会 (2013/10/11、宮崎) ACTH 単独欠損症に生じたインフルエンザ脳症の 2 例  
瀬川 一、林 祐一、吉倉延亮、櫻井岳郎、原田斉子、香村彰宏、木村暁夫、牛越博昭、諏訪哲也、犬塚 貴
7. 第 133 回日本神経学会東海北陸地方会 (2013/7/7、名古屋) リツキシマブ投与にて症状改善を得た、治療抵抗性の Stiff-person 症候群の 1 例  
吉倉延亮、林 祐一、原田斉子、香村彰宏、木村暁夫、犬塚 貴
8. 第 54 回日本神経学会学術大会 (2013/5/31、東京) 亜急性小脳失調症における新規抗神経抗体の同定  
香村彰宏、木村暁夫、原田斉子、吉倉延亮、林 祐一、犬塚 貴
9. 第 54 回日本神経学会学術大会 (2013/5/29、東京) CAA 関連炎症・血管炎に対するステロイド治療と髄液マーカーの検索。  
木村暁夫、吉倉延亮、原田斉子、香村彰宏、林 祐一、犬塚 貴
10. 第 54 回日本神経学会学術大会 (2013/5/29、東京) 自己免疫性中枢性神経疾患患者における血清 BAFF, APRIL 値の検討。  
吉倉延亮、香村彰宏、木村暁夫、原田斉子、林 祐一、犬塚 貴
11. The 65<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Neurology (2013/3/18, San Diego) Pure motor chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy.  
Kimura A, Koumura A, Sakurai T, Hayashi Y, Inuzuka T.
12. 第 132 回日本神経学会東海北陸地方会 (2013/3/3、名古屋) 痙攣重積で発症した若年男性の腫瘍非合併抗 NMDA 受容体抗体陽性脳炎の 1 例  
櫻井岳朗、林 祐一、武田明子、原田斉子、吉倉延亮、香村彰宏、木村暁夫、犬塚 貴
13. 第 30 回日本神経治療学会総会 (2012/11/30、北九州) 単純血漿交換療法およびIVIg 療法が有効であった抗 mGluR1 抗体陽性亜急性小脳失調症の 1 例  
原田斉子、林 祐一、吉倉延亮、香村彰宏、木村暁夫、犬塚 貴
14. 第 24 回日本神経免疫学会学術集会 (2012/9/20-21、軽井沢) A $\beta$  関連血管炎患者における血清・髄液中 A $\beta$  抗体の検討  
木村暁夫、櫻井岳朗、吉倉延亮、原田斉子、香村彰宏、林 祐一、犬塚 貴
15. 第 23 回日本神経免疫学会学術集会 (2012/9/15、東京) 多発性筋炎患者にお

- ける抗 MYBPC2 抗体および抗 PK M1/M2 抗体の同定と特異性の検討  
木村暁夫、櫻井岳朗、吉倉延亮、山田 恵、林 祐一、田中優司、保住 功、大瀧博文、帖佐光洋、犬塚 貴
16. 第 53 回日本神経学会学術大会 (2012/5/24、東京) 自己免疫介在性脳炎・脳症における新規自己抗体の同定  
木村暁夫、櫻井岳朗、吉倉延亮、原田斉子、香村彰宏、林 祐一、犬塚 貴
17. The 64<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Neurology (2012/4/25, New Orleans) Anti-endothelial cell antibodies in patients with Alzheimer disease.  
Kimura A, Sakurai T, Yamada M, Koumura A, Hayashi Y, Tanaka Y, Hozumi I, Otaki H, Chousa M, Inuzuka T.
18. 第 29 回日本神経治療学会総会 (2011/11/18、福井) 頻回の呼吸停止をきたし、単純血漿交換が著効した stiff-person 症候群の 1 例  
吉倉延亮、林 祐一、山田 恵、原田斉子、香村彰宏、木村暁夫、田中優司、保住 功、犬塚 貴
19. 第 52 回日本神経学会学術大会 (2011/5/20、名古屋) プロテオーム解析を用いた大脳白質病変に関連する抗血管内皮細胞抗体の同定  
木村暁夫、櫻井岳朗、山田 恵、香村彰宏、林 祐一、田中優司、保住 功、犬塚 貴
20. 第 52 回日本神経学会学術大会 (2011/5/18、名古屋) 新規自己抗体による多発性硬化症の血清学的診断マーカーの検索  
櫻井岳朗、木村暁夫、原田斉子、吉倉延亮、山田 恵、香村彰宏、林 祐一、田中優司、保住 功、犬塚 貴
21. The 63<sup>th</sup> Annual Meeting of American Academy of Neurology (2011/4/13, Honolulu) Anti-endothelial cell antibodies in the Elderly with Extended White Matter Hyperintensity.  
Kimura A, Sakurai T, Yamada M, Koumura A, Hayashi Y, Tanaka Y, Hozumi I, Otaki H, Chousa M, Takemura M, Seishima M, Inuzuka T.

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 暁夫 (KIMURA, Akio)  
岐阜大学大学院医学系研究科  
神経内科・老年学分野 准教授  
研究者番号：00362161

### (2) 研究分担者

矢野 竹男 (YANO, Takeo)  
三重大学・地域イノベーション学研究科  
教授  
研究者番号：00569197