

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：37301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591248

研究課題名(和文) 新たな病因自己抗体、LRP4抗体陽性重症筋無力症の臨床像と神経筋接合部病態

研究課題名(英文) Clinical pictures and neuromuscular junction pathomechanism in novel LDL-related protein 4 antibody-positive myasthenia gravis

研究代表者

本村 政勝 (MOTOMURA, Masakatsu)

長崎総合科学大学・工学部・教授

研究者番号：70244093

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：LDL受容体関連蛋白質4(Lrp4)抗体陽性重症筋無力症(MG)の臨床像と神経筋接合部病態を解明し「アセチルコリン受容体(AChR)抗体と筋特異的受容体型チロシンキナーゼ(MuSK)抗体に次ぐ、第3番目の病因自己抗体になる」という理論仮説を検証した。我々はAChR抗体陰性MG患者から、Lrp4抗体を有する9症例を報告した(Ann Neurol. 2011)。その臨床像は、男女比4対5、発症平均年齢57歳、嚥下障害を主体とする全身型MGで胸腺腫の合併はなかった。神経筋接合部生検は、3例とも運動終板に免疫複合体の沈着は無く、電顕でも運動終板の破壊像は無くAChR抗体陽性MGとは異なるものであった。

研究成果の概要(英文)：Myasthenia gravis (MG) is caused by the failure of neuromuscular transmission mediated by pathogenic autoantibodies (Abs) against acetylcholine receptor (AChR) and muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK). The seropositivity rates for routine AChR binding Ab and MuSK Ab in MG are 80-85% and 5-10% for MG patients in Japan, respectively. In 2011, autoantibodies against low-density lipoprotein receptor-related protein 4 (Lrp4) were identified in Japanese MG patients. We developed a simple technique termed Gaussia luciferase immunoprecipitation for detecting antibodies to Lrp4. As a result, nine generalized MG patients from 300 lacking AChR Ab are positive for Lrp4 antibodies. These antibodies inhibit binding of Lrp4 to its ligand and are predominantly of the IgG1 subclass. Further studies including neuromuscular junction biopsy are needed to clarify the pathomechanism of Lrp4 ab positive MG. These results indicate that Lrp4 is a third pathogenic autoantigen in patients with MG.

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：重症筋無力症 自己抗体 神経筋接合部疾患

1. 研究開始当初の背景

近年、アセチルコリン受容体(acetylcholine receptor; AChR)の集中的な発現(clustering)に関わる蛋白質が徐々に発見されている。従来から、神経・筋接合部の形成は神経終末から分泌される糖タンパク質 agrin が筋側に作用することによって起きるといふ「agrin 仮説」が提唱されていたが、agrin と筋側の筋特異的受容体型チロシンキナーゼ(muscle specific receptor tyrosine kinase; MuSK)の間にギャップがあり、その間に仮想分子の存在が予想されていた。2006年、神経筋接合部のプロテオームの解析より、LDL 受容体関連蛋白質 4(Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; Lrp4)蛋白質が発見され、その解析がなされた。これらの遺伝子欠損マウスでは神経・筋接合部の形成が起きなくなる。2008年、Agrin の受容体が Lrp4 蛋白質であるということが分かった(Kim et al, Cell, Zhang et al. Neuron, 2008)。つまり、この Lrp4 分子が、長年にわたって探し求められてきた仮想分子そのものであることが判明した。

2. 研究の目的

重症筋無力症(MG)は、自己抗体の種類によって、1)アセチルコリン受容体(AChR)抗体陽性MG、2)筋特異的受容体型チロシンキナーゼ(MuSK)抗体陽性MG、そして、3)前記の抗体が検出されないdouble seronegative MGに分類される。我々は、AChR抗体陰性MG患者から、新たな自己抗体、Lrp4抗体を有する9症例を報告した(Ann Neurol. 2011)。本研究では、Lrp4抗体陽性MGの臨床像と神経筋接合部病態を解明し、「AChR抗体とMuSK抗体に次ぐ、第3番目の病因自己抗体になる」という理論仮説を検証する。

3. 研究の方法

Lrp4抗体測定法は、Lrp4-Luciferase reporter Immunoprecipitation, LUCIP assayを開発した。ヒトLrp4蛋白質にルシフェラーゼという発光酵素を標識し、患者血清を加え、免疫沈降させた。その後、発光させて光度計で計測し、抗体価とした。対象として、既に当研究室で保存されているAChR抗体陰性MG患者300例、AChR抗体陽性MG患者100例、P/Q型VGCC抗体陽性LEMS患者101例、そして、正常者(HC)100例の保存血清を用いた。正常上限値としては、正常者100例の平均+4SDの0.015 nMを用いた。また、この3年間にLrp4抗体測定依頼があった症例を同じ方法で抗体測定した。神経筋接合部生検は、上腕二頭筋から行い、通常の免疫染色と電子顕微鏡による微細構造の観察をおこなった。

4. 研究成果

Lrp4抗体測定の結果、AChR抗体陰性MG患者300例中9例がLrp4抗体陽性で、抗体価は

0.019~2.07 nM、平均0.65 nMであることが判明した。その臨床像は、男女比4対5、発症平均年齢57歳、嚥下障害を主体とする全身型MGで胸腺腫の合併は無かった。さらに、受容体結合実験で、AgrinとLrp4の結合をMG患者のLrp4抗体が阻害することを証明した。本研究では、さらに検体数を増やして、Lrp4抗体陽性MG症例を蓄積し、特に、神経筋接合部生検の症例数を目標3例とした。その結果、この2年間では、新しいLrp4抗体陽性患者は出なかった。しかしながら、神経筋接合部生検の症例数は目標3例に達した。その結果は、3例とも運動終板に免疫複合体の沈着は無く、電顕でも運動終板の破壊像は無く、アセチルコリン受容体抗体陽性MGとは異なるものであった。現在、その病理像を中心とした症例報告を作成中である。

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44件)

Takamori M, Nakamura T, Motomura M. Antibodies against Wnt receptor of muscle-specific tyrosine kinase in myasthenia gravis. J Neuroimmunol. 254(1-2);183-186,2013. 査読有

Nakata R, Motomura M, Masuda T, Shiraishi H, Tokuda M, Fukuda T, Ando T, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A. Thymus histology and concomitant autoimmune diseases in Japanese patients with muscle-specific receptor tyrosine kinase-antibody-positive myasthenia gravis. Eur J Neurol. 20(9);1272-1276,2013. 査読有

本村政勝, 中田るか, 白石裕一, 栢田智子, 福田卓, 徳田昌紘, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 向野晃弘, 前田泰宏, 太田理絵, 吉村俊祐, 吉村俊朗, 川上純, 佐藤聡, 辻畑光宏, 菊池強
放射性免疫測定法による筋特異的受容体型チロシンキナーゼ抗体測定キットの基礎的・臨床的検討. 医学と薬学 70(2);421-428,2013. 査読無

樋口理, 本村政勝
重症筋無力症の診療 -最近の進歩-
Neurological Science.
19-20;10-11,2013. 査読無

本村政勝, 中田るか, 白石裕一
重症筋無力症. 日本医師会雑誌
142(2);238-239,2013. 査読無

中田るか, 本村政勝
重症筋無力症、ランバートイートン筋無力症候群. 疾患・症状別 今日の治療と看護 改定第3版 773-776, 2013. 査読無

本村政勝
重症筋無力症. 今日の神経疾患治療指針 2; 173-177, 2013. 査読無

本村政勝, 成田智子
重症筋無力症の自己抗体. BRAIN and NERVE 65(4); 433-439, 2013. 査読無

永石彰子, 酒井和香, 本村政勝
重症筋無力症と新規自己抗体. 日本臨床 71; 876-880, 2013. 査読無

永石彰子, 本村政勝
重症筋無力症. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科. 85(6); 444-448, 2013. 査読無

本村政勝
Lambert-Eaton 筋無力症候群. 内科学 2316-2318, 2013. 査読無

Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yoshikawa H, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Motomura M, Kawamata J, Shimohama S: Contribution of anti-ryanodine receptor antibody to impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis. Clin Neurophysiol 123(6):1242-1247, 2012. 査読有

Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Yoshikawa H, Motomura M, Kawamata J, Shimohama S: Early effect of tacrolimus in improving excitation-contraction coupling in myasthenia gravis. Clin Neurophysiol, 123(9):1886-1890, 2012. 査読有

Masuda T, Motomura M, Utsugisawa K, Nagane Y, Nakata R, Tokuda M, Fukuda T, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A: Antibodies against the main immunogenic region of the acetylcholine receptor correlate with disease severity in myasthenia gravis. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 83(9):935-940, 2012. 査読有

Nakata R, Motomura M, Tokuda M, Nakajima H, Masuda T, Fukuda T, Tsujino A, Yoshimura T, Kawakami A: A case of Japanese spotted fever Complicated with central nervous System involvement and multiple organ failure. Intern Med, 51(7):783-786, 2012. 査読有

Takahashi Y, Sugiyama M, Ueda Y, Itoh T, Yagyu K, Shiraishi H, Ukeba-Terashita Y, Nakanishi M, Nagashima T, Imai T, Motomura M, Saitoh S: Childhood-onset anti-MuSK antibody positive myasthenia gravis demonstrates a distinct clinical course. Brain Dev, 34(9):784-786, 2012. 査読有

本村政勝, 石飛進吾, 大久保英梨子: 【神経難病のリハビリテーション-症例を通して学ぶ】(第2章)症例を通して学ぶ神経難病のリハビリテーション 重症筋無力症 嚥下障害を主訴とする症例. Journal of Clinical Rehabilitation, 別冊(神経難病のリハビリテーション-症例を通して学ぶ) 183-187, 2012. 査読無

中根俊成, 本村政勝: 【知っておきたい内科症候群】 神経・筋《腫瘍関連症候群》ランバート・イートン筋無力症候群. 内科, 109(6):944-946, 2012. 査読無

中嶋秀樹, 本村政勝: 【最新の神経難病治療と今後の展望】重症筋無力症, 医薬ジャーナル, 48(5):1317-1323, 2012. 査読無

本村政勝, 樋口理: 重症筋無力症の進歩: Lrp4 抗体陽性 MG の発見. 臨床神経 52(11):1303-1305, 2012. 査読無

⑳ 本村政勝, 向野晃弘, 福留隆泰: 第6章: 神経・筋疾患の医療ニーズ第7節重症筋無力症. 希少疾患/難病の診断・治療と製品開発 抜刷, 2012. 査読無

㉑ 白石雄一, 本村政勝: 抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の重症診断と治療. 2012. 査読無

㉒ 宮崎禎一郎, 本村政勝: 【コリン作動性シナプスの基礎と臨床】コリン作動性シナプスの病態と治療 重症筋無力症. Clinical Neuroscience, 30(6):680-684, 2012. 査読無

㉓ 福留隆泰, 田中竜太, 本村政勝, 東慶, 大野欽司: Prednisolone が奏効した先天性筋無力症候群の兄弟例. 神経治療学, 29(5):627, 2012. 査読有

㉔ 本村政勝: 重症筋無力症治療の基本. 神経治療学, 29(5):596, 2012. 査読無

㉕ 吉村俊祐, 本村政勝: 【免疫性神経疾患の治療: 標準的治療とトピックス】重症筋無力症. 神経治療学, 29(1):15-21, 2012. 査読無

- ⑳ Imai T, Tsuda E, Hozuki T, Yoshikawa H, Yamauchi R, Saitoh M, Hisahara S, Motomura M, Kawamata J, Shimohama S. Contribution of anti-ryanodine receptor antibody to impairment of excitation-contraction coupling in myasthenia gravis. Clin Neurophysiol 2011. 査読有
- ㉑ Murai H, Yamashita N, Watanabe M, Nomura Y, Motomura M, Yoshikawa H, Nakamura Y, Kawaguchi N, Onodera H, Araga S, Isobe N, Nagai M, Kira J. Characteristics of myasthenia gravis according to onset-age: Japanese nationwide survey. J Neurol Sci. 305(1-2);97-102,2011. 査読有
- ㉒ 神崎昭浩, 本村政勝
抗 MuSK 抗体陽性の重症筋無力症の妊婦例と新生児一過性重症筋無力症児例. 臨床神経学. 51(3);188-191,2011. 査読無
- ㉓ 本村政勝, 白石裕一
各種疾患 筋肉疾患 抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症. Annual Review 神経. 328-336,2011. 査読無
- ㉔ 中田るか, 本村政勝
各種難病の最新治療情報 重症筋無力症の最新の薬物療法情報. 難病と在宅ケア. 17(4);47-50,2011. 査読無
- ㉕ 本村政勝, 福田 卓
【神経筋接合部 基礎から臨床まで】 Lambert-Eaton 筋無力症候群. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩. 63(7);745-754,2011. 査読無
- ㉖ 吉村俊朗, 本村政勝, 辻畑光宏
【神経筋接合部 基礎から臨床まで】 神経筋接合部病態の定性・定量的評価 超微形態と組織化学. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩. 63(7);719-727,2011. 査読無
- ㉗ 本村政勝
高齢発症重症筋無力症の標準的神経治療. 臨床神経学. 51(8);576-582,2011. 査読無

〔学会発表〕(計 65 件)

第 110 回 日本内科学会総会・講演会
2013.4.12-14 東京国際フォーラム

- ・一般講演
本村政勝
当科における眼筋性重症筋無力症の治療
成績:ステロイドパルスを含めたステロイド治療の有用性

第 54 回 日本神経学会学術大会
2013.5.29-6/1 東京国際フォーラム

- ・一般講演
本村政勝
受動免疫性重症筋無力症ラットの神経筋接合部分子病態
- ・ポスター
中嶋秀樹, 本村政勝, 向野晃弘, 吉村俊祐, 宮崎禎一郎, 中田るか, 成田智子, 吉村俊朗, 川上 純
多発性硬化症および視神経脊髄炎におけるカリウムチャンネル(KIR4.1)抗体の意義
中田るか, 本村政勝, 成田智子, 吉村俊祐, 向野晃弘, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 吉村俊朗, 川上 純
本邦の小児 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の検討
- ・ランチョンセミナー
本村政勝
MuSK/Lrp4 に対する自己抗体の最新知見
- ・イブニングセミナー
本村政勝
MuSK 抗体陽性重症筋無力症治療の現状

第 34 回日本アフェレンス学会学術大会
2013.11.1-3 軽井沢プリンスホテル

本村政勝,
入院中 2 度の筋無力症クリナーゼを起こし、繰り返しの単純血漿交換療法が有効であった抗 MuSK 抗体重症筋無力症の 1 例

第 198 回日本神経学会九州地方会
2012.6.30 長崎大学

本村政勝,
免疫グロブリン大量療法とタクロリムスが奏功した高齢発症の抗 MuSK 抗体陽性全身型重症筋無力症の 1 例.

12th International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders.

2012.5.21-23 The New York Academy of Sciences

- ・ポスター発表
Yoshimura T, Motomura M, Iwanaga H, Fukuda T, Tujino A, Masuda T, Yoshimura S, Kawakami A, Tsujihata M: MORPHOMETRIC

ANALYSIS Moter END-PLATES IN PATIENTS IN WITH CIBENZOLINE SUCCINATE OVERDOSE AND LAMBERT EATON MYASTHENIC SYNDROME.

Yoshimura S, Yoshimura T, Motomura M, Myazaki T, Nakata R, Nakajima H, Fukuda T: FINE STRUCTURE OF THE NEUROMUSCULAR JUNCTION IN PATIENTS WITH ANTI-LPR4 ANTIBODY-POSITIVE MYASTHENIA GRAVIS. Motomura M, Masuda T, Utsugisawa K, Nagane Y, Tokuda M, Yoshimura T, Tsujihata M, Kawakami A: ANTI-BODIES BINDING TO THE MAIN IMMUNOGENIC REGION OF THE NICOTINIC ACETYLCHOLINE RECEPTORS CORRELATE MYASTHENIA GRAVIS SAVERITY.

Takamori M, Nakamura T, Motomura M: Structure of the Neuromuscular Junction: Function and Cooperative Mechanisms in the Synapse.

第 53 回日本神経学会学術大会
2012.5.22-25 東京国際フォーラム

・ポスター発表

白石裕一, 樋口理, 中根俊成, 本村政勝, 柘田智子, 松尾秀徳: 生物発光を利用した重症筋無力症関連自己抗体測定法の確立. 柘田智子, 本村政勝, 槍澤公明, 長根百合子, 中田るか, 徳田昌紘, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 吉村俊祐, 福田卓, 吉村俊朗, 辻畑光宏, 川上純: 重症筋無力症における AChR MIR 抗体価とその臨床像. 吉村俊祐, 吉村俊朗, 本村政勝, 福田卓, 柘田智子, 中田るか, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 川上純: 抗LRP4・MuSK抗体陽性患者の運動終板の微細構造.

湯淺隆行, 本村政勝, 柘田智子, 中田るか, 佐藤聡, 辻畑光宏, 川上純, 吉村俊朗, 松下新子, 久松徳子, 小山善哉, 石飛進吾: Lambert-Eaton 筋無力症候群における嚙下機能障害に対する検討.

吉村俊朗, 吉村俊祐, 本村政勝, 岩永洋, 福田卓, 辻野彰, 柘田智子, 中嶋秀樹, 宮崎禎一郎, 川上純: コハク酸シベンゾリンによる筋無力症候群とLEMSの運動終板の微細構造の差異.

・シンポジウム講演

本村政勝, 樋口理: 重症筋無力症の進歩: Lrp4抗体陽性MGの発見.

第 30 回日本神経治療学会総会
2012.11.28-30 北九州国際会議場

・ランチョンセミナー

本村政勝: 重症筋無力症治療の基本

第 24 回日本神経免疫学会学術集会

2012.9.20-21 軽井沢プリンスホテル

・ワークショップ

宮崎禎一郎, 本村政勝, 柘田智子, 中嶋秀

樹, 中田るか, 吉村俊祐, 向野晃弘, 吉村俊朗, 中村龍文: 当科における眼筋型重症筋無力症の治療成績: ステロイドパルスを含めたステロイド.

・シンポジウム講演

②①本村政勝

自己免疫性自律神経節障害 = 新しい自己抗体測定系の確立とその臨床像の解析.

・ポスター発表

②②吉村俊祐, 本村政勝, 柘田智子, 向野晃弘, 宮崎禎一郎, 中田るか, 中嶋秀樹, 川上純 吉村俊朗: 抗MuSK抗体陽性重症筋無力症患者の呼吸不全に対してコリンエステラーゼ阻害薬が有用であった 1 例.

第 108 回 日本内科学会総会・講演会
2011.04.15-04.17 東京国際フォーラム

・ポスター

②③柘田智子, 本村政勝, 徳田昌紘, 福田卓, 辻野彰, 川上純, 吉村俊朗, 森雅裕, 樋口理, 山梨裕司
新たな病因自己抗体、Lrp4 抗体陽性重症筋無力症(MG)の発見

第 52 回 日本神経学会学術大会
2011.05.18-05.20 名古屋国際会議場

・ポスター

②④中田るか, 中嶋秀樹, 柘田智子, 徳田昌紘, 福田卓, 辻野彰, 本村政勝, 中村龍文, 吉村俊朗, 川上純
重症筋無力症と自己免疫疾患の合併; 臨床的特徴と自己抗体の検索

②⑤柘田智子, 本村政勝, 中田るか, 徳田昌紘, 福田卓, 辻野彰, 中嶋秀樹, 立石洋平, 吉村俊朗, 川上純
重症筋無力症における AchR MIR 抗体価とその臨床像

②⑥吉村俊朗, 伊藤美佳子, 片岡英樹, 福留隆泰, Krejci Eric, 岡田尚己, 武田伸一, 本村政勝, 辻野彰, 吉村俊祐, 柘田智子, 中田るか, 徳田昌紘, 福田卓, 大野欽司

コリンエステラーゼ阻害剤投与マウスとCollargenQ 欠損マウスにおける運動終板微細構造の比較

・教育講演

②⑦本村政勝

自己免疫性神経筋接合部疾患の病態と治療

第 23 回日本神経免疫学会学術集会
2011.09.15-09.17 京王プラザホテル

・シンポジウム

②⑧本村政勝

MG LDL 受容体関連蛋白 4(Lrp4)抗体陽性重症筋無力症の臨床

②⑨本村政勝

重症筋無力症の最近の話題 抗MuSK抗体を含めたAChR抗体陰性MG

6 . 研究組織

(1)研究代表者

本村 政勝 (MOTOMURA, Masakatsu)
長崎総合科学大学・工学部・教授
研究者番号：70244093

(2)研究分担者

福田 卓 (FUKUDA, Taku)
長崎大学・大学病院・研究員
研究者番号：50437894

吉村 俊朗 (YOSHIMURA, Toshiro)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：80182822