

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790877

研究課題名(和文)小脳失調型橋本脳症の臨床像と病態機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of clinical-immunological feature of ataxic form of Hashimoto's encephalopathy

研究代表者

松永 晶子 (MATSUNAGA, AKIKO)

福井大学・医学部・助教

研究者番号：40401971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：橋本脳症は進行性小脳失調を呈することがあり、脊髄小脳変性症(SCD)の鑑別上重要である。小脳失調型橋本脳症13例を対象とした解析では、SCDと異なり眼振や小脳萎縮の割合が少なく、全例で免疫療法が奏功した。特に抗NAE抗体陽性例は陰性例より免疫療法への反応性が良好であった。また、ラット脳スライスに患者髄液添加後、小脳プルキンエ細胞のシナプス伝達の障害が生じることがパッチクランプ法により明らかとなった。さらに、ヒト血液脳関門由来血管内皮細胞を用い、患者血清添加後のプロテオーム変化を解析した。正常対照と比較し2症例で共通して有意に増加するプロテオームを認めた。

研究成果の概要(英文)：We investigated 13 patients with ataxic Hashimoto's encephalopathy (HE). This study revealed that insidious adult-onset and truncal ataxia are common in ataxic HE. The ataxic HE mimics spinocerebellar degeneration (SCD), but nystagmus and cerebellar atrophy are uncommon. All patients had good responsiveness to immunotherapy. The patients with the anti-NAE Abs were showed a tendency better responsiveness to immunotherapy toward than those without the anti-NAE Abs. We tested the effects of cerebrospinal fluid (CSF) from HE patients on cerebellar synaptic transmission in rat cerebellar slices. The CSF from a HE patient with anti-NAE antibodies induced presynaptic impairment, suggesting impaired release of glutamate. Moreover, we analyzed the effects of sera obtained from two ataxic HE patients with anti-NAE in a human brain microvascular endothelial cell line using 2D-DIGE method. One proteome spot was significantly increased when these sera were applied to the cell line.

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：橋本脳症 小脳失調 プロテオミクス パッチクランプ法

1. 研究開始当初の背景

成人発症の小脳失調症の原因は、変性疾患、中毒、代謝異常、血管障害、自己免疫疾患など多様である。なかでも、慢性甲状腺炎の一部に生じ、多彩な精神・神経症状をきたす橋本脳症は、自己免疫機序によって小脳失調を呈することが示唆されているが詳細な病態は不明である。

申請者らの研究チームは 2005 年に α -enolase の N 末端側に特異的に反応する血清中自己抗体 (抗 NAE 抗体: autoantibodies against the amino terminal of α -enolase) を同定し、本症の診断マーカーとして提唱した。また、2007 年には、治療のない神経変性疾患である脊髄小脳変性症 (SCD) に類似した臨床像を呈しながら、免疫治療が著効した“小脳失調型橋本脳症”の一症例を見出し報告した。当施設は抗 NAE 抗体の解析が唯一可能であり、国内外より多数の橋本脳症患者の自己抗体解析依頼がある。その数は、約 1200 件にも及び、国内外で他に類をみない症例数の蓄積と臨床情報の集積がある。

2. 研究の目的

小脳失調型橋本脳症 (以下、本症) において、以下の点を明らかにする。

(1) 臨床研究

本症の臨床症状、検査・画像所見などについて SCD 等との差異を明らかにするとともに、本症における抗 NAE 抗体の臨床的意義を確立することを目的とした。

(2) 病態研究

自己抗体による小脳の神経伝達障害の有無を解析する。

本症患者 (抗 NAE 抗体陽性あるいは陰性) の血清/髄液添加による、小脳機能障害の分子機構を解析する。

3. 研究の方法

(1) 臨床研究

対象は、小脳失調症状を主徴とし、抗甲状腺抗体が陽性、免疫療法に反応性を有し、他の疾患が除外され、橋本脳症と診断された多施設 13 例 (自験例 2 例) とした (男性 5 例、女性 8 例、平均年齢 56 歳)。福井大学医学部倫理審査委員会承認の元で行った。

臨床徴候解析: 神経徴候、発症様式、治療反応性の特徴を解析した。特に、神経徴候については、眼振、構音障害、失調などの小脳症状の詳細や、精神症状などの随伴症状についても調査した。

検査・画像解析: 血液検査 (甲状腺機能、自己抗体)、髄液検査、脳波、頭部 MRI (小脳萎縮の有無)、脳血流 SPECT (小脳血流低下の有無) の特徴を明らかとした。

(2) 病態研究

小脳の神経伝達障害: 本症患者 6 例の髄液を使用した。正常ラット小脳スライスに患者髄液 (100 倍希釈) を 1 時間反応させ、プ

ルキンエ細胞からガラス電極にて膜電位を記録した。

分子機構の解明: 対象は、抗 NAE 抗体陽性の本症患者 2 例 (症例 1: 66 歳、女性、抗 NAE 抗体価 2560 倍、症例 2: 63 歳、女性、抗 NAE 抗体価 1280 倍) と正常コントロールとした。

それぞれの血清を培養ヒト脳由来微小血管内皮細胞株 (TY10 細胞) (J Cell Physiol 2010; 山口大 神田ら) に添加し、37 で 24 時間培養後、各々の蛋白を回収。蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析システム (2D-DIGE) 法 (Amersham Bioscience) によりプロテオーム変化を比較検討した。画像解析ソフト Progenesis (Perkinelmer) を用い、t-検定、ANOVA 検定で $p < 0.01$ を有意なスポットとした。

4. 研究成果

(1) 小脳失調型橋本脳症 13 例を対象とした臨床研究

抗 NAE 抗体陽性 8 例、陰性 5 例。抗 NAE 抗体価は 640 ~ 20,480 倍。橋本病の既往 5 例。発症様式は、慢性 8 例、亜急性 5 例。

小脳症状は、体幹失調 全例 (100%)、四肢失調 9 例 (69%)、構音障害 8 例 (62%)、眼振 2 例 (17%)。抗 NAE 抗体陽性例では全例で眼振を認めなかった ($p < 0.05$)。失調以外の症状を伴った例は 7 例 (54%)；軽度意識障害 1 例、痙攣 0 例、軽度認知機能低下・精神症状 4 例、振戦 3 例、ミオクローヌス 1 例。

治療までの期間は、1 か月 ~ 10 年間 (平均 2.5 年間)。治療内容は 10 例がステロイド療法、1 例は大量免疫グロブリン静注療法とステロイド治療、1 例は糖尿病のために大量免疫グロブリン静注療法を受けた。治療反応性は、著効 (後遺症なし) 4 例、中等度効果 (軽度後遺症) 4 例、軽度効果 5 例。

血清抗甲状腺抗体は全例で陽性。甲状腺機能正常は 11 例。脳脊髄液中の蛋白上昇は 1 例のみで、脳脊髄液中の抗 TPO 抗体は測定した 6 例全て陰性。オリゴクローナルバンドは 6 例中 2 例で陽性。頭部 MRI は、8 例で小脳萎縮がなく正常 (62%)、5 例は軽度小脳萎縮を認めた。脳波での基礎波の徐波化 4 例 (36%)、脳血流 SPECT で小脳の血流低下を認めたものは 5 例 (50%)。

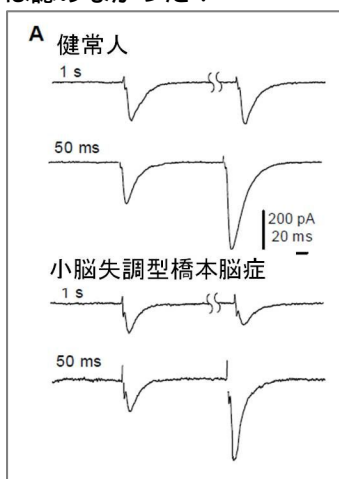
本研究から、本症では慢性進行性小脳失調を示した症例が多く (62%)、半数で SPECT で小脳血流低下があり、SCD と類似点が認められた。その一方で、眼振が乏しく (17%)、小脳萎縮の割合が少ない (38%) という、SCD と異なる臨床的特徴を有することが分かった。さらに、全症例に対する抗 NAE 抗体の解析において、13 例中 8 例で陽性を認め、抗体価は 640 ~ 20480 倍を示した。全例で免疫治療が奏功し、特に抗 NAE 抗体陽性例は陰性例よりも免疫療法への反応性が良好である傾

向がみられた。これより、抗 NAE 抗体は本症の診断に有用であり、治療反応性を反映するマーカーとなることが示された。

(2) 病態研究

小脳の神経伝達障害

パッチクランプ法にて、6 例中 1 例で髄液添加後、刺激間隔を短くした際、興奮性シナプス電流の振幅の上昇幅 - Interval-dependent paired-pulse ratios (PPR) - がコントロールと比較して大きくなった。他の 5 例では認めなかった。

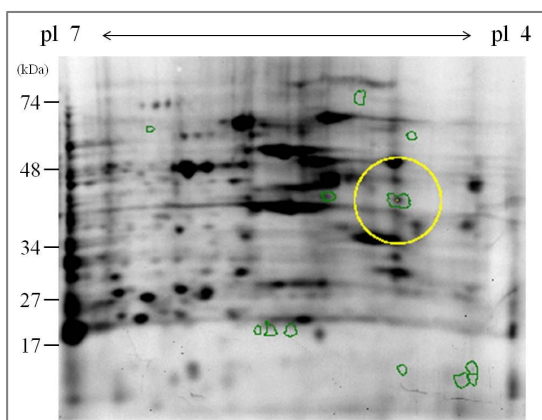


本研究から本症患者髄液により、小脳プルキンエ細胞のシナプス伝達の障害が生じることが明らかとなった。また、シナプス前でグルタミン酸の放出阻害が生じたと考えられた。

分子機構の解明

症例 1：正常コントロールと比較し、患者血清添加後、有意に増加したプロテオームのスポットを 8 ヶ所認めた。逆に有意に減少したスポットは認めなかった。症例 2：正常コントロールと比較し、患者血清添加後、有意に増加したプロテオームのスポットを 7 ヶ所認めた。逆に有意に減少したスポットは認めなかった。

症例 1 と 2 で共通して増加した蛋白スポットを 1 ヶ所(分子量約 37kDa、等電点 pH 4.9) 認めた。



本研究から本症患者血清添加により共通に変化する脳血管内皮細胞のプロテオームがあり、病態解明につながる可能性があると考えられた。

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 7 件)

Pathophysiological decrease in the regional cerebral blood flow in Hashimoto's encephalopathy: a multiple-case SPECT study. Tomoko Muramatsu T, Ikawa M, Yoneda M, Katsuya Sugimoto K, Matsunaga A, Yamamura O, Hamano T, Okazawa H, Nakamoto Y. 査読有, Eur Neurol. 2014;72:13-19

DOI:10.1159/000358220

橋本脳症～神経難病の鑑別疾患として～松永晶子, 米田誠. 難病と在宅ケア 査読無, 2014; 19(12), 40-43

Hashimoto's encephalopathy as a treatable adult-onset cerebellar ataxia mimicking spinocerebellar degeneration. Matsunaga A, Ikawa M, Fujii A, Nakamoto Y, Kuriyama M, Yoneda M. Eur Neurol. 査読有, 2013;69(1):14-20

DOI: 10.1159/000342217

Hashimoto's encephalopathy with hippocampus involvement detected on continuous arterial spin labeling. Ishitobi M, Yoneda M, Ikawa M, Matsunaga A, Ueno K, Kimura H, Wada Y. Psychiatry Clin Neurosci. 査読有, 2013 Feb;67(2):128-9

DOI: 10.1111/pcn.

Periodic synchronous discharge を呈し Creutzfeldt-Jakob 病との鑑別を要した橋本脳症の 1 例. 村松倫子, 濱野忠則, 白藤法道, 松永晶子, 井川正道, 米田誠. 臨床神経学査読有, 2013;53(9), 716-720

抗 NAE(NH₂-terminal of α -enolase)抗体と進行性小脳失調. 松永晶子, 米田誠. 神経内科 査読無, 2013;79(3), 334-340

橋本脳症のバイオマーカーと治療. 岸谷融, 松永晶子, 米田誠. 日本臨床 査読無, 2013;71(5), 893-897

[学会発表](計 8 件)

Clinical and immunological features of Hashimoto's encephalopathy presenting with limbic symptoms. Matsunaga A, Kishitani T, Muramatsu T, Kame T, Ikawa M, Yamamura O, Hamano T, Nakamoto Y, Yoneda M. 第 66 回アメリカ神経学会(ポスター) 2014.4

抗 NAE 抗体陽性辺縁系脳炎型橋本脳症の特徴. 岸谷融, 松永晶子, 村松倫子, 井川正道, 山村修, 濱野忠則, 米田誠. 日本神

経免疫学会総会 2013.11

Hashimoto's encephalopathy associated with anti-NAE autoantibodies - analysis of the factors influencing on the responsiveness to immunotherapy - Matsunaga A, Ikawa M, Kishitani T, Muramatsu T, Yoneda M. 第 54 回日本神経学会総会 (口演) 2013.5

Hashimoto's encephalopathy associated with anti-NAE autoantibodies: analysis of 101 patients. Matsunaga A, Kishitani K, Muramatsu T, Kame T, Ikawa M, Nakamoto Y, Yoneda M. 第 65 回アメリカ神経学会 (口演) 2013.3

Hashimoto's encephalopathy as a treatable adult-onset cerebellar ataxia mimicking spinocerebellar degeneration. Kishitani T, Matsunaga A, Muramatsu T, Kame T, Ikawa M, Nakamoto Y, Yoneda M. 第 65 回アメリカ神経学会 (ポスター) 2013.3

部分てんかんと健忘を主症状とした辺縁系脳炎型橋本脳症の 1 例. 岸谷融, 松永晶子, 石飛信, 浅野みずき, 井川正道, 山村修, 濱野忠則, 木村浩彦, 和田有司, 米田誠. 日本神経治療学会 (口演) 2012.11

橋本脳症における精神症状の特徴と脳血流 SPECT 所見の解析. 岸谷融, 松永晶子, 村松倫子, 井川正道, 米田誠. 第 24 回日本神経免疫学会学術集会 (口演) 2012.9

抗 NAE 抗体 1100 件の解析からみた橋本脳症の臨床免疫学的特徴. 松永晶子, 井川正道, 岸谷融, 村松倫子, 米田誠. 第 53 回日本神経学会総会 (口演) 2012.5

〔図書〕(計 1 件)

自己免疫性小脳失調. 松永晶子, 米田 誠. 中外医学社, Annual Review 神経 2013 巻 2013;278 (204-210)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松永 晶子 (MATSUNAGA, Akiko)
福井大学・医学部・助教
研究者番号 : 4 0 4 0 1 9 7 1

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :