

図7. 抗MuSK抗体によるMuSKの機能抑制モデル。

- A. 抗MuSK抗体がMuSKに結合して機能を直接阻害する。
- B. 抗MuSK抗体がMuSKに結合してMuSK蛋白の発現減少 (antigenic modulation) を誘導する結果、量的にMuSK機能を抑制する。機能解析から存在が想定されるが未同定の分子：MASC (myotube-associated specificity component)、RATL (rapsyn と MuSK をつなぐ分子 rapsyn-associated transmembrane linking molecule)。

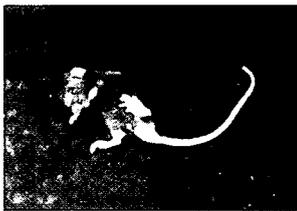


図8. MuSK蛋白で筋無力症を発症したマウス。

## E. 結論

(1) 抗MuSK抗体で重症筋無力症を発症する動物モデルの作成に成功した。筋電図および筋組織像は重症筋無力症患者の病態と矛盾しない。従って抗MuSK抗体と筋無力症の因果関係を証明することができた。

(2) 発症したウサギの神経筋シナプスAChR凝集は正常と比べ有意に減少していた。発症したウサギの血清には抗MuSK抗体IgGが存在していた。

(3) 抗MuSK抗体は agrin と同様に MuSK のタイロシンリン酸化を活性化するが、C2C12細胞の spontaneous, agrin, laminin-1, およ

びVVA-B4によるAChR凝集誘導を抑制した。その機序として2つの機序を提唱した。(a) MuSKの機能を直接阻害する、(b) MuSK蛋白の発現減少 (antigenic modulation) の結果MuSKの機能を抑制する。

## F. 文献

- Hoch W, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, Vincent A. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 2001;7(3):365-8.
- Ohta K, Shigemoto K, Fujinami A, Maruyama N, Konishi T, Ohta M. Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan. *Eur J Neurol* 2007;14(9):1029-34.
- Ohta K, Shigemoto K, Kubo S, et al. MuSK Ab described in seropositive MG sera found to be Ab to alkaline phosphatase. *Neurology* 2005;65(12):1988.
- Ohta K, Shigemoto K, Kubo S, et al. MuSK antibodies in AChR Ab-seropositive MG vs AChR Ab-seronegative MG. *Neurology* 2004;62(11):2132-3.
- Lindstrom J. Is "seronegative" MG explained by autoantibodies to MuSK? *Neurology* 2004;62(11):1920-1.
- Selcen D, Fukuda T, Shen XM, Engel AG. Are MuSK antibodies the primary cause of myasthenic symptoms? *Neurology* 2004;62(11):1945-50.
- Shigemoto K, Kubo S, Maruyama N, et al. Induction of myasthenia by immunization against muscle-specific kinase. *J Clin Invest*

- 2006;116(4):1016-24.
8. Shigemoto K. Myasthenia gravis induced by autoantibodies against MuSK. *Acta Myologica* 2008. in press.
  9. Shigemoto K, Kubo S, Chen J, et al. Experimentally induced myasthenia gravis with muscle-specific kinase. *Ann NY Acad Sci* 2008. In press.
  10. Patrick J, Lindstrom J. Autoimmune response to acetylcholine receptor. *Science* 1973;180(88):871-2.
  11. Shiraishi H, Motomura M, Yoshimura T, et al. Acetylcholine receptors loss and postsynaptic damage in MuSK antibody-positive myasthenia gravis. *Ann Neurol* 2005;57(2):289-93.
  12. Hopf C, Hoch W. Dimerization of the muscle-specific kinase induces tyrosine phosphorylation of acetylcholine receptors and their aggregation on the surface of myotubes. *J Biol Chem* 1998;273(11):6467-73.
  13. Montanaro F, Gee SH, Jacobson C, Lindenbaum MH, Froehner SC, Carbonetto S. Laminin and alpha-dystroglycan mediate acetylcholine receptor aggregation via a MuSK-independent pathway. *J Neurosci* 1998;18(4):1250-60.
  14. McDearmon EL, Combs AC, Ervasti JM. Differential Vicia villosa agglutinin reactivity identifies three distinct dystroglycan complexes in skeletal muscle. *J Biol Chem* 2001;276(37):35078-86.
  15. Lin W, Burgess RW, Dominguez B, Pfaff SL, Sanes JR, Lee KF. Distinct roles of nerve and muscle in postsynaptic differentiation of the neuromuscular synapse. *Nature* 2001;410(6832):1057-64.
  16. Yang X, Arber S, William C, et al. Patterning of muscle acetylcholine receptor gene expression in the absence of motor innervation. *Neuron* 2001;30(2):399-410.
  17. Akaaboune M, Grady RM, Turney S, Sanes JR, Lichtman JW. Neurotransmitter receptor dynamics studied in vivo by reversible photo-unbinding of fluorescent ligands. *Neuron* 2002;34(6):865-76.
  18. Jha S, Xu K, Maruta T, et al. Myasthenia gravis induced in mice by immunization with the recombinant extracellular domain of rat muscle-specific kinase (MuSK). *J Neuroimmunol* 2006;175(1-2):107-17.
- G. 研究発表**
- 1. 論文発表**
    - 1) Shigemoto K, Kubo S, Maruyama N, Hato N, Yamada T, Jie C, Kobayashi N, Mominoki K, Abe Y, Ueda N, & Matsuda S. Induction of myasthenia by immunization against muscle-specific kinase. *J Clin Invest* 116(4): 1016-1024, 2006.
    - 2) Ohta K, Shigemoto K, Fujinami A, Maruyama N, Konishi T, Shimoda Y, & Ohta M. Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan. *Eur J Neurol* 2007 ; 14(9): 1029-1034.
    - 3) Konishi T, Ohta K, Shigemoto K & Ohta M. Anti-alkaline phosphatase antibody positive myasthenia gravis. *J Neurol Sci* 2007; 263(1-2): 89-93.
    - 4) Shigemoto K, Kubo S et al. Myasthenia gravis experimentally induced with muscle-specific kinase. *Annals of the New York Academy of*

Science. 2008 in press.

- 5) Shigemoto K. Myasthenia gravis induced by autoantibodies against MuSK. *Acta Myologica* 2008. In press.
- 6) 丸山直記, 重本和宏. 神経筋接合部疾患における抗 MuSK 抗体と病態機序. *臨床神経*, 47:842-844, 2007.
- 7) 重本和宏. 免疫性神経筋疾患の動物モデル: 重症筋無力症. *アニテックス*, 19(6):17-23, 2007

## 2. 学会発表

- 1) (招待講演) Shigemoto, K. Experimentally induced myasthenia gravis with muscle-specific kinase. N.Y. *Acad. Symposium, 11<sup>th</sup> International Conference on Myasthenia Gravis and related disorders*. Chicago May 2007.
- 2) (招待講演) Shigemoto, K. Myasthenia gravis induced by autoantibodies against MusK. 7<sup>th</sup> *Japanese-French Workshop on "Development of Molecular Therapy toward Muscular Dystrophy"* in Japan 2007.
- 3) 重本和宏, 久保幸穂, 松田正司, 丸山直記. 抗 MuSK 抗体で重症筋無力症が発症するか? 第 77 回日本衛生学会総会, 2007
- 4) 丸山直記, 重本和宏. 神経筋接合部疾患における抗 MuSK 抗体と病態機序. (N.Y. Acad. Symposium と同日で丸山直記が代理発表) 第 48 回日本神経学会総会のシンポジウム, 2007
- 5) 小西哲郎, 太田潔江, 重本和宏, 太田光熙. 抗 AP 抗体陽性重症筋無力症の臨床的特徴 第 48 回日本神経学会 2007.5.13 名古屋
- 6) 下駄祐子, 太田潔江, 藤波 綾, 重本和宏, 太田光熙. 抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症

厚生労働科学研究費補助金 (こころの健康科学研究事業)

分担研究報告書

重症筋無力症の病態解明と診断法および治療法の開発  
—重症筋無力症における抗 MuSK 抗体陽性患者の臨床的特徴  
および抗 MuSK 抗体の特性について—

分担研究者 太田光熙

神戸薬科大学 病態生化学 教授

抗体陰性重症筋無力症 (SNMG) において 2001 年に発見された新規自己抗体 (抗 MuSK 抗体)<sup>1)</sup> は、抗 AChR 抗体が検出されない MG 症例における特異的血清診断学マーカーとして極めて有用である。そこで分担研究者は、抗 MuSK 抗体の測定系を確立し、日本人 MG における抗 MuSK 抗体陽性を調査した結果、SNMG 患者の約 27% において特異的に検出されることを明らかにした<sup>2)</sup>。また、抗 MuSK 抗体の性質について調べた結果、抗体が結合する epitope は、MuSK Ig1-2 domain がドミナント部位であり<sup>2)</sup>、IgG subclass 分析からは、極めて珍しい IgG 4 が優位であることが示された<sup>2)</sup>。この結果から抗 MuSK 抗体は、抗 AChR 抗体とは異なり補体介在性後シナプス膜破壊の関与が少ないことが推察できたことから、agrin に関連した AChR のクラスタリングを阻害することにより MG 症状を引き起こす可能性が強く示唆された。抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者における臨床的特徴としては、眼症状および球症状が著明で、呼吸筋麻痺も多くみられ、SPMG にみられる四肢筋力低下や胸腺異常は比較的少なかった<sup>2)</sup>。また治療面では、ステロイド療法および血漿交換療法は著効を示し、胸腺摘出術は無効であった<sup>2)</sup>。したがって、本抗体の測定は MG の臨床的予後や治療方針を立てる上での指標として有用であることが明らかとなった。

## A. 研究目的

分担研究者らは、他に先駆けて独自に抗 MuSK 抗体測定系を確立し、MG 多数症例について抗 MuSK 抗体の測定を行ってきた。今回はさらに詳しく病態解明に寄与するため、抗 MuSK 抗体のエピトープ解析や IgG subclass の検討を行なうことにより自己抗体としての特性の解明を目的とした。また、本抗体の測定が、抗 MuSK 抗体陽性 MG の確定診断のみならず、治療経過中のモニタリングに有用であるかどうかを検討するために、治療経過を追う事が出来た 9 症例の抗 MuSK 抗体陽性患者について、臨床

経過と抗体価の推移を追跡するとともに、抗 MuSK 抗体陽性患者の臨床的特徴を調べた。

## B. 対象と方法

### 1. 対象

MG と確定診断され、抗 AChR 抗体を測定した全身型 MG 患者 319 例 (SNMG ; 48 例, SPMG ; 271 例) および独立行政法人国立病院機構宇多野病院において抗 MuSK 抗体測定依頼を受けた院外の SNMG 患者 59 例を対象とした。さらに MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者 (Other diseases) 91 例 (Lambert-Eaton 筋無力症候群 ; 5 例, 多発性筋炎 ; 6 例, 筋ジストロフィ

一; 10例, 関節リウマチ; 5例, 多発性硬化症; 10例, 脊髄進行性筋萎縮症; 5例, 筋萎縮性側索硬化症; 10例, 慢性炎症性脱髄性多発神経障害; 5例, てんかん; 10例, 甲状腺炎; 15例, 1型糖尿病; 10例) およびコントロールとして健常者 (Healthy control) 70例を対象とした。

## 2. 抗 MuSK 抗体の測定法<sup>2)</sup>

抗原溶液 (<sup>125</sup>I-his-rMuSK: <sup>125</sup>I 標識は Hunter らのクロラミン T 法<sup>3)</sup>に従った) 50  $\mu$ L (約 50,000 cpm) と被検血清 5  $\mu$ L を室温で 2 hr 反応させた後, 抗ヒト IgG 抗血清 50  $\mu$ L を添加し, さらに室温で 2 hr 反応させた。生じた沈殿を生理食塩水 1 mL で 2 回遠心 (3,000 rpm 10 min) 洗浄後, 沈殿中の放射活性をガンマカウンターで測定した。抗 MuSK 抗体陽性被検血清については, さらに 10-500 倍に希釈し定量した。

基準値: 抗 MuSK 抗体価は, 健常者血清 70 例の放射活性を基準にして, 検体 1 L についての MuSK 結合量 (nM) に換算して求め, 抗体価 0.01 nM (健常者の平均値+3SD) 以上を陽性とした。

## 3. 抗 MuSK 抗体の epitope 分析<sup>2)</sup>

放射標識した Recombinant human MuSK Ig1-2 domain および recombinant human MuSK Ig2 domain を用いて, 抗 MuSK 抗体と同様の方法で測定した。

## 4. 抗 MuSK 抗体の IgG subclass 解析<sup>2)</sup>

96 穴セパレート型マイクロタイタープレートに, 固相化溶液を 100  $\mu$ L/well 添加し, 室温で 1 hr コーティングした。標準用 buffer 200  $\mu$ L/well で 2 回洗浄した後, 標準用 buffer を 200  $\mu$ L/well 添加し, 室温で 2 hr 振とうさせ, 非特異的結合部位をブロッキングした。標準用 buffer を捨て, 5 倍希釈被検血清溶液を 100

$\mu$ L/well 添加し, 室温で 2 hr 反応させた。Well を Washig buffer 200  $\mu$ L/well で 4 回洗浄後, <sup>125</sup>I-rMuSK 100  $\mu$ L (約 30,000 cpm) を添加し, 室温で 2 hr 反応させた。Well を Washig buffer 200  $\mu$ L/well で 4 回洗浄後, 各 well を分離し, その放射活性をガンマカウンターで測定した。

## C. 結果

### 1. SNMG および SPMG における血清中抗 MuSK 抗体価 (図 1)

Recombinant human MuSK Ig1-4 domain を用いて測定した。なお, 図中の抗 MuSK 抗体価 (nM, 縦軸) は対数目盛で表した。抗 MuSK 抗体は SNMG 107 例中 29 例 (27%) で検出された。陽性例の抗 MuSK 抗体価は 8.4-239 nM (平均 56 nM) であった。一方, SPMG では陽性例はみられなかった<sup>2)</sup>。

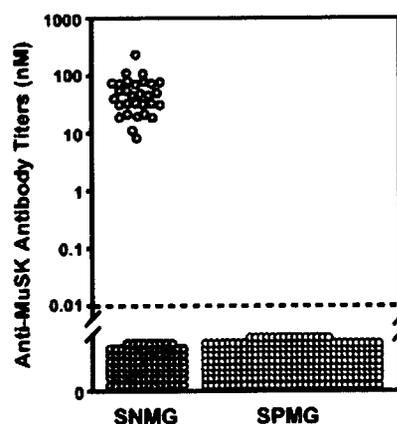


図1 SNMGおよびSPMGにおける抗MuSK抗体価  
図中の破線(⋯)は基準値(0.01 nM)を示す。

### 2. 健常者および MG 以外の神経筋疾患・

### 自己免疫疾患患者における抗 MuSK 抗体

MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者 (Other diseases) および健常者 (Healthy control) における血清中抗 MuSK 抗体価を図 2 に示した。MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常者全例で抗 MuSK 抗体は陰性であった<sup>2)</sup>。

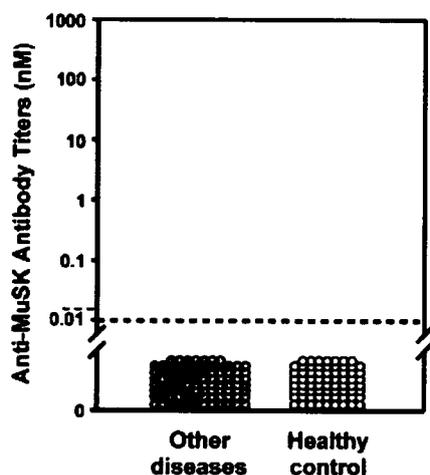


図2 MG以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常者における抗 MuSK 抗体価  
図中の破線(---)は基準値(0.01 nM)を示す。

### 3. MuSK 細胞外 domain の epitope 分析

抗 MuSK 抗体陽性検体 18 例を用いて MuSK 細胞外 domain の MuSK Ig1-2 domain を epitope にもつ抗 MuSK 抗体 (MuSK Ig1-2 domain Ab) および MuSK Ig3-4 domain を epitope にもつ抗体 (MuSK Ig3-4 domain Ab) の抗体価を分析した結果を図 3 に示した。抗 MuSK 抗体陽性検体全例で、MuSK 細胞外 domain の epitope は MuSK Ig1-2 domain が主であり、その割合は、全抗 MuSK 抗体価中の 68-97 % を示した。このうち 4 例 (Case 1, 3, 6 および 16) については MuSK Ig3-4 domain にも 20-30 % の活性を示した<sup>2)</sup>。

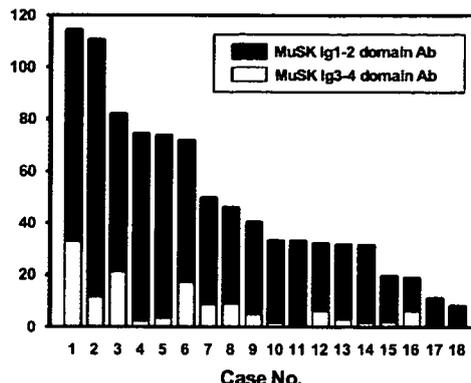


図3 抗MuSK抗体のMuSK細胞外Ig-domain epitope分析

### 4. 抗 MuSK 抗体の IgG subclass 解析

抗 MuSK 抗体陽性検体 18 例の抗 MuSK 抗体 IgG subclass を図 4 に示した。抗 MuSK 抗体陽性検体全例で、抗 MuSK 抗体の IgG subclass は IgG 4 が主であり、その割合は 45-100 % を示した。

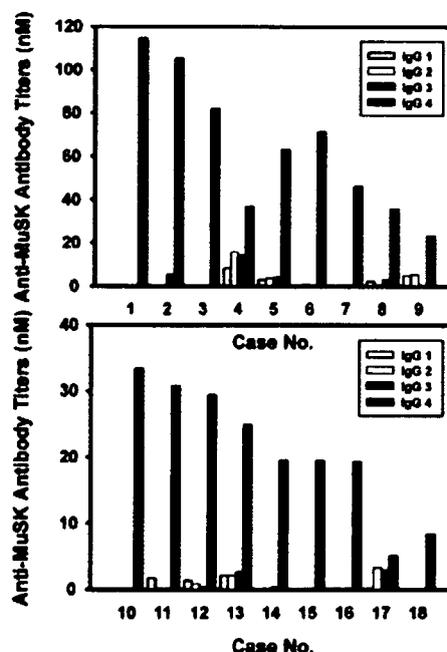


図4 抗MuSK抗体のIgG subclass

このうち、3例 (Case4, 9 および 17) のみ、IgG 4 の割合が 70 %以下であり、IgG 1, 2 および 3 の活性の割合が 11-30 %みられた<sup>2)</sup>。

### 5. 抗 MuSK 抗体陽性患者の臨床的特徴

抗 MuSK 抗体陽性患者 23 例の臨床的特徴を表 1 に示した。

抗 MuSK 抗体陽性患者 23 例は、女性優位 (女性:男性, 18:5) であった。発症年齢は、18-72 歳 (平均 45 歳) であった。MG 患者に特徴的な症状である筋力低下については、眼症状 (眼瞼下垂: 57%, 複視: 78%), 球麻痺 (嚥下困難: 100%, 構音障害: 83%), および呼吸筋麻痺 (35%) が SPMG と比較して多くみられ、症状も重症傾向にあった。一方、四肢筋力低下 (52%) は、SPMG と比較して軽症であった。また、胸腺腫を合併している患者はおらず、胸腺過形成 (26%) も比較的少なかった<sup>2)</sup>。

### 6. MG 治療経過中の抗 MuSK 抗体価と臨床的重症度

抗 MuSK 抗体陽性の 29 例中、ステロイド療法を行った患者 6 例、血漿交換療法を行った患者 3 例、胸腺摘出術を行った患者 3 例を対象とした。治療経過中の抗 MuSK 抗体価の変動を図 5, 6, 7 に示した。

ステロイド療法を行った患者 (P-1~P-6) では、抗 MuSK 抗体価の減少およびそれに関連した臨床的症状の改善がみられた (図 5)。抗 MuSK 抗体価は、患者 P-1 では 39.3 から 21.0 nM, P-2 では 113.0 から 16.0 nM, P-3 では 80.0 から 4.2 nM, P-4 では 36.8 から 10.0 nM, P-5 では 240.0 から 3.0 nM, P-6 では 33.0 から 0.2 nM へと全例減少傾向にあった。臨床的重症度も患者 P-1 では class IIIb から PR, P-2 では class

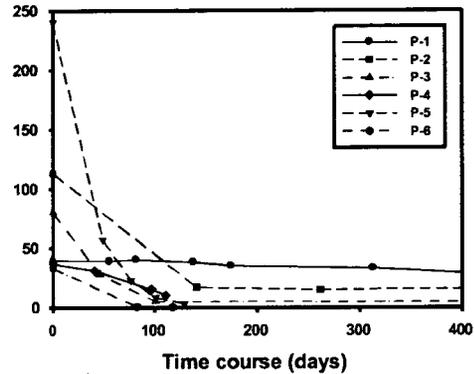


図5 ステロイド療法を行った患者の抗MuSK抗体価の経時変化

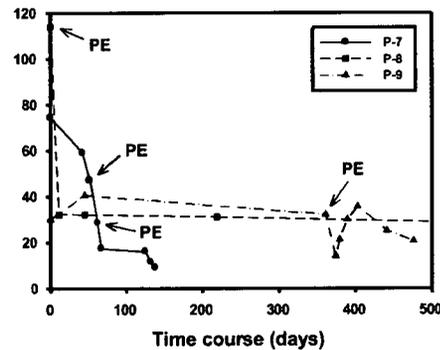


図6 血漿交換療法 (PE) を行った患者の抗MuSK抗体価の経時変化

IVb から IIb, P-3 では class IVb から PR, P-4 では class IIIb から IIb, P-5 では class V から IIb, P-6 では class IIb から PR へと改善した<sup>2)</sup>。

血漿交換療法を行った患者 (P-7~P-9) では、血漿交換を行った後、劇的な抗 MuSK 抗体価の減少および臨床的症状の改善がみられた (図 6)。抗 MuSK 抗体価は、患者 P-7 では 74.4 から 9.0 nM, P-8 では 113.9 から 28.0 nM, P-9 では 30.0 から 20.5 nM へと全例減少した。臨床的重症度も患者 P-7 では class V から IIb, P-8 では class IVb から IIb, P-9 では class IIIb から IIb へと改善した。また、血漿交換により劇的に減少した抗 MuSK 抗体価は、その後のステロイ

ト投与により維持された(患者P-7 およびP-8). 患者P-9 は, 血漿交換により抗 MuSK 抗体価が減少したものの, その後抗体価および臨床的重症度は治療前のレベルに戻り, プレドニゾンおよびシクロスポリンの投与で改善された.

胸腺摘出術を行った患者(P-10~P-12)では, 胸腺摘出術後, 抗 MuSK 抗体価の減少および臨床的改善がみられなかった(図7). 患者P-1では胸腺摘出術後, 抗 MuSK 抗体価は26.0から47.2 nMへと増加し, 臨床的重症度もclass II bからIIIbへと悪化し, なかでも特に嚥下困難の悪化傾向がみられた. その他2名の患者(P-11 およびP-12)でも, 胸腺摘出術後, 抗 MuSK 抗体の減少および臨床的症状の改善がみられなかった.

#### D. 考察

本研究では, 抗 MuSK 抗体測定系を確立することを目的として生理活性のある human MuSK 細胞外 domain 抗原 (Recombinant his-tag human MuSK : his-rMuSK) を作製した. そこで抗 MuSK 抗体測定に用いる recombinant human MuSK Igl-4 domain, epitope 分析に用いる recombinant human MuSK Igl-2 domain および recombinant human MuSK Ig3-4 domain を得ることに成功した. 次に, これらの抗原を<sup>125</sup>I 標識し, RIA 法を用いた極めて高感度かつ簡便な抗 MuSK 抗体測定系を確立した<sup>2)</sup>. 本法を用いて, 抗 MuSK 抗体を測定したところ, SNMG の 27% が陽性であり, しかもすべて極めて高い力価を示したが, SPMG や MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常者では検出されなかったことより, 抗 MuSK 抗体測定は SNMG と診断された患者を診断する上で極めて有用な血清診断学的マーカーとなることが示された. 現在

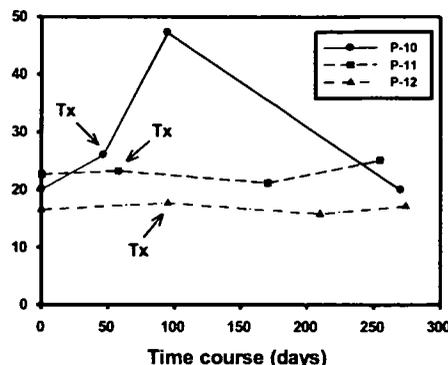


図7 胸腺摘出術(Tx)を行った患者の抗MuSK抗体価の経時変化

まで報告されているSNMGにおける抗MuSK抗体陽性率は, 欧米では抗 MuSK 抗体の存在を初めて報告した Hoch らの 70.8%<sup>1)</sup> が最も高く, その後抗体陽性率は低下する傾向にあるが, 全体としては 40~50%程度である. 一方, 日本においては 28.9~33.3%<sup>2) 45)</sup>, 韓国においては 26.7%<sup>6)</sup> と欧米に比べて低く, 中国では 3.8%<sup>7)</sup> とさらに低い. 今回の 27%という結果は日本や韓国からの報告と一致し, 抗 MuSK 抗体陽性率に人種差がみられる可能性が示唆された.

抗 MuSK 抗体が SNMG でのみ検出されることが明らかとなり, 抗 MuSK 抗体陽性 MG が SPMG と異なる病態機序によって MG の症状をきたしている可能性が示唆されるため, 抗 MuSK 抗体の性質を検討することは抗 MuSK 抗体陽性 MG の病態機序の解明につながる可能性がある. そこで, 抗 MuSK 抗体の MuSK 細胞外 domain の epitope 分析を行った結果, 18 例全例で MuSK 細胞外 domain の epitope は MuSK Igl-2 domain が主体であることが明らかとなった. MuSK は神経終末から分泌される agrin とともに AChR の凝集 (クラスタリング) を制御しており, 特に MuSK Ig-1 domain は MASC (myotube-associated

specificity component)と agrin による MuSK の活性化に必要であり, MuSK Ig-4 domain は rapsyn (receptor-associated protein at synapse) と MuSK をつなぐ RATL (rapsyn-associated transmembrane linking molecule) の結合領域であると考えられている. 今回の結果より, 抗 MuSK 抗体は rapsyn よりむしろ agrin に関連した AChR のクラスターリングの障害に関与している可能性が示唆された. これは, C2C12 筋管細胞への抗 MuSK 抗体陽性患者血清の添加により agrin の AChR クラスターリングが阻害されたという報告<sup>1),8)</sup>を強く支持している.

次に, 抗 MuSK 抗体の IgG subclass 分析を行った結果, 18 例全例で抗 MuSK 抗体の IgG subclass は IgG 4 が主体であることが明らかとなった. これは以前の報告<sup>9)</sup>と一致していた. 抗 AChR 抗体は IgG 1 および 3 である<sup>10)</sup>ことから SPMG と抗 MuSK 抗体陽性 MG では病態機序がかなり異なる可能性が高い. IgG 1 および 3 は補体を活性化するのに対して, IgG 4 に補体活性化作用はない. 神経筋接合部生検において, SPMG では AChR 量の減少や補体などの免疫複合体の沈着が認められるが, 抗 MuSK 抗体陽性 MG ではこれらが認められない<sup>11)</sup>ことはこの抗体の性質によるかもしれない. つまり, 抗 MuSK 抗体陽性 MG の病態機序は SPMG とは異なり, 補体介在性後シナプス膜破壊の関与は少ないと示唆できる. 抗 MuSK 抗体のような IgG 4 が誘導される機序の解明が待たれる.

抗 MuSK 抗体陽性患者の臨床的特徴を検討した結果, 抗 MuSK 抗体陽性患者 23 例は, 女性優位 (女性:男性, 18:5) であり, 発症年齢は, 18-72 歳 (平均 45 歳) であった. これは女性優位であるという他国からの現在までの報告

と一致している. MG 患者に特徴的な症状である筋力低下については, 眼症状, 球麻痺, および呼吸筋麻痺が SPMG と比較して多くみられ, 症状も重症であった. 一方, 四肢筋力低下は, SPMG と比較して少なかった. 抗 MuSK 抗体陽性 MG では SPMG と比較して眼症状および球症状が著明でクレーゼになりやすく, また SPMG の主症状である四肢の筋力低下や易疲労性の症状は少ない傾向が認められた. 抗 MuSK 抗体陽性 MG では SPMG と比較して顔面筋より四肢筋の電気生理学的異常が少ない<sup>12)</sup>ことから抗 MuSK 抗体が顔面筋により選択的に作用し, 障害を引き起こしていると考えられる.

また, 抗 MuSK 抗体陽性 MG では胸腺腫を合併している患者はおらず, 胸腺過形成 (26%) も比較的少なかった. 一般的に抗 MuSK 抗体陽性 MG では胸腺腫を合併しない. 抗 AChR 抗体と胸腺腫との関連は明らかであるが, 今回の結果からも抗 MuSK 抗体と胸腺腫との関連は薄く, 病態の特徴が SPMG とは違うことが明らかとなった. これは全身型 MG において通常胸腺摘出術が行われ著効を示すが, 抗 MuSK 抗体陽性 MG においては胸腺摘出術が無効であるというエビデンスを強く支持している.

抗 MuSK 抗体陽性患者の MG 治療の有効性を検討するため, ステロイド療法, 血漿交換療法および胸腺摘出術を行った患者の抗 MuSK 抗体価と MGFA 分類を用いた臨床的重症度の変動を調べた. ステロイド療法を行った患者では, 全例で抗 MuSK 抗体価の減少およびそれに関連した臨床的症状の改善がみられた. ステロイド療法は MG の治療法の第一選択肢であるが, 抗 MuSK 抗体陽性 MG でも治療効果があることが明らかとなった. 血漿交換療法を行った患者では, 血漿交換を行った後, 劇的な抗 MuSK 抗体価の減

少および臨床的症状の改善がみられた。血漿交換療法も有効性が認められており、本結果も同様であった。一方、胸腺摘出術を行った患者では、胸腺摘出後、抗 MuSK 抗体価の減少および臨床的症状の改善はみられなかった。1例では胸腺摘出後、抗 MuSK 抗体価の増加がみられ、臨床的症状が悪化した。これは胸腺摘出術後、抗 MuSK 抗体価の減少がみられないという報告<sup>13)</sup>と一致する。SPMG では胸腺摘出術後、抗 AChR 抗体価の減少に伴い臨床的症状の改善を認める<sup>14)</sup>ことから、発症早期の胸腺摘出術が推奨されているが、抗 MuSK 抗体陽性 MG での胸腺摘出術の効果は本結果からも期待できないと言える。したがって、抗 MuSK 抗体の測定は、MG の治療方針を立てる上での指標として極めて有用である。また、全ての治療法において臨床的症狀と抗 MuSK 抗体価の変動が一致することから、抗 MuSK 抗体測定が患者の予後の推定に有用であることが示唆された。

## E. 結論

本抗体の測定は MG の臨床的予後や治療方針を立てる上での指標として有用であることが明らかとなった。

## F. 文献

- 1) Hoch W, McConville J, et al. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 2001; 7:365-368.
- 2) Ohta K, Shigemoto K, Fujinami A, Maruyama N, Konishi T, Shimoda Y, & Ohta M : Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan. *Eur*

(1) 抗 MuSK 抗体は、抗 AChR 抗体陰性患者の約 27 %で特異的に検出された。したがって、本抗体の測定は抗 AChR 抗体陰性 MG 患者を診断する上で極めて有用な血清診断学的マーカーとなることが明らかとなった。

(2) 抗 MuSK 抗体の epitope は MuSK Ig1-2 domain が、IgG subclass は IgG 4 が優位であった。したがって、抗 MuSK 抗体は抗 AChR 抗体とは異なり、補体介在性後シナプス膜破壊の関与は少なく、agrin に関連した AChR のクラスタリングを阻害することにより MG 症状を引き起こす可能性が示唆された。

(3) 抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者は、眼症状および球症状が著明で、呼吸筋麻痺も多くみられたが、四肢筋力低下や胸腺異常は少なかった。また、ステロイド療法および血漿交換療法は著効を示し、胸腺摘出術は無効であった。

*J Neurol* 2007; 14(9): 102934.

- 3) Hunter WM, Greenwood FC. Preparation of iodine-131 labeled human growth hormone of high specific activity. *Nature* 1962; 194: 495-496.
- 4) Nemoto Y, Kuwabara S, et al. Patterns and severity of neuromuscular transmission failure in seronegative myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 714-718.
- 5) Ohta K, Shigemoto K, et al. MuSK Ab described in seropositive MG sera found to be Ab to alkaline phosphatase. *Neurology* 2005; 65: 1998.

- 6) Lee J-Y, Sung JJ, et al. MuSK antibody-positive, seronegative myasthenia gravis in Korea. *J Clin Neurosci* 2006; 13: 353-355.
- 7) Yeh JH, Chen WH, et al. Low frequency of MuSK antibody in generalized seronegative myasthenia gravis among Chinese. *Neurology* 2004; 62: 2131-2132.
- 8) Farrugia ME, Robson MD, et al. Effect of sera from AChR-antibody negative myasthenia gravis patients on AChR and MuSK in cell cultures. *J Neuroimmunol* 2007; 185: 136-144.
- 9) McConville J, Farrugia ME, et al. Detection and characterization of MuSK antibodies in seronegative myasthenia gravis. *Ann Neurol* 2004; 55: 580-584.
- 10) Rodgaard A, Nielsen FC, et al. Acetylcholine receptor antibody in myasthenia gravis: predominance of IgG subclasses 1 and 3. *Clin Exp Immunol* 1987; 67: 82-88.
- 11) Shiraishi H, Motomura M, et al. Acetylcholine receptors loss and postsynaptic damage in MuSK antibody-positive myasthenia gravis. *Ann Neurol* 2005; 57: 289-293.
- 12) Stickler DE, Massey JM, et al. MuSK-antibody positive myasthenia gravis: Clinical and electrodiagnostic patterns. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 2065-2008.
- 13) Bartoccioni E, Schuderi F, et al. Anti-MuSK antibodies: correlation with myasthenia gravis severity. *Neurology* 2006; 67: 505-507.
- 14) Millan JL, Fishman WH. Biology of human alkaline phosphatases with special reference to cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 1-39.
- G. 研究発表**
- 1. 論文発表**
- 1) Kiyoe Ohta, Kazuhiro Shigemoto, Aya Fujinami, Naoki Maruyama, Tetsuro Konishi, Yuko Shimoda, & Mitsuhiro Ohta : Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan. *Eur J Neurol.* 2007 14(9) : 1029-1034.
- 2) Tetsuro Konishi, Kiyoe Ohta, Kazuhiro Shigemoto & Mitsuhiro Ohta : Anti-alkaline phosphatase antibody positive myasthenia gravis. *J Neurol Sci.* 2007; 263(1-2) : 89-93.
- 3) Akio Hayashi, Hiroyuki Shiono, Mitsuhiro Ohta, Kiyoe Ohta, Yoshiki Sawa : Heterogeneity of immunopathological features of AchR/MuSK autoantibody-negative myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 2007 ; 189 (1-2) : 163-168.
- 4) 中澤 大, 川尻真和, 越智雅之, 小原克彦, 太田潔江, 三木哲郎. 抗体価が重症度を反映した抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の1例 *臨床神経学* 第47巻 第6号 2007.6.1
- 2. 学会発表**
- 1) 岸 雅彦, 太田潔江, 太田光熙, 齊田和子, 塩屋啓一, 比嘉利信, 中里雅光 : B6マウスを用いた抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の受

動免疫実験 第 19 回日本神経免疫学会  
2007. 4. 12

- 2) 小西哲郎、太田潔江、重本和宏、太田光熙：  
抗 AP 抗体陽性重症筋無力症の臨床的特徴  
第 48 回日本神経学会 2007. 5. 13 名古屋
- 3) 岸 雅彦、太田潔江、塩屋敬一、斉田和子、  
比嘉利信、中里雅光：抗 MuSK-IgG を用いた  
B6 マウスによる重症筋無力症受動免疫モデル  
作成の試み 第 48 回日本神経学会  
2007. 5. 13 名古屋
- 4) 下駄祐子、太田潔江、藤波 綾、重本和宏、  
太田光熙：抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症  
の特徴第 47 回日本臨床化学学会 2007. 11. 22  
大阪
- 5) 岸 雅彦、太田潔江、太田光熙、杉本精一郎：  
抗 MuSK 抗体に関する電気生理学的検討  
第 37 回日本臨床神経生理学会 2007. 11. 19  
宇都宮

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

分担研究報告書

重症筋無力症の病態解明と診断法および治療法の開発

—重症筋無力症に特異的に検出された抗アルカリフォスファターゼ（AP）抗体と  
陽性患者の臨床的特徴—

分担研究者 小西哲郎

独立行政法人 国立病院機構 宇多野病院 院長

分担研究者は、日本人 MG 患者での抗 MuSK 抗体保有率を検討するため、MuSK とアルカリフォスファターゼ(AP)との融合リコンビナント蛋白を作製し、これを抗体測定のための抗原として抗 MuSK 抗体測定系を確立し、MG 多数症例について測定した結果、SNMG の約 40%のみならず、SPMG の約 9%で抗 MuSK 抗体が検出されることが判明した<sup>1)</sup>。しかし、これまで SPMG 群では抗 MuSK 抗体陽性症例の報告がないことより、AP-rMuSK 抗原により SPMG 群で検出された抗体は抗 MuSK 抗体ではなく、抗 AP 抗体である可能性が考えられた。このことを確かめるため、ヒト胎盤由来アルカリホスファターゼ（AP）を用いた簡便な抗 AP 抗体測定系を確立し、SPMG 群で検出される抗体が抗 AP 抗体であることを吸収試験や抗体の特異性面から同定した。次に今回明らかになった抗 AP 抗体陽性 MG 患者 10 例についての臨床的特徴を明らかにした。

## A. 研究目的

MuSK とアルカリフォスファターゼ(AP)との融合リコンビナント蛋白を抗原として用いたとき、抗 MuSK 抗体が SNMG の約 40%のみならず、SPMG の約 10%で抗 MuSK 抗体が検出されることが判明した<sup>1)</sup>。SPMG での抗 MuSK 抗体陽性症例の報告がないことより、抗 AP 抗体である可能性が考えられた。そのことを確かめる目的で、抗原による吸収試験などを行なった。さらに多数の健常者やその他の自己免疫疾患、関連神経疾患における抗 AP 抗体の測定を行い、MG における抗体特異性を検討するとともに、抗 AP 抗体陽性患者についての臨床的特徴を検討した。

## B. 対象と方法

### 1. 対象

MG と確定診断され、抗 AChR 抗体を測定した MG 患者 319 例 (SNMG; 70 例, SPMG; 249 例) を対象とした。次に MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者 (Other diseases) 91 例 (Lambert-Eaton 筋無力症候群; 5 例, 多発性筋炎; 6 例, 筋ジストロフィー; 10 例, 関節リウマチ; 5 例, 多発性硬化症; 10 例, 脊髄進行性筋萎縮症; 5 例, 筋萎縮性側索硬化症; 10 例, 慢性炎症性脱髄性多発神経障害; 5 例, てんかん; 10 例, 甲状腺炎; 15 例, 1 型糖尿病; 10 例) およびコントロールとして健常者 (Healthy control) 70 例を測定対象とした。

また、臨床的指標が解析可能な SPMG 99 例 (抗 AP 抗体陽性 SPMG; 10 例, 抗 AP 抗体陰性 SPMG; 89 例) を対象に臨床像の解析を

した。

### 2-1. RIA 法による抗 AP 抗体測定系

抗原溶液 ( $^{125}\text{I}$ -AP, AP は Calzyme Laboratories 社製) 50  $\mu\text{L}$  (約 50,000 cpm) と被検血清 5  $\mu\text{L}$  を室温で 2 hr 反応させた後, 抗ヒト IgG 抗血清 50  $\mu\text{L}$  を添加し, さらに室温で 2 hr 反応させた。生じた沈殿を 0.9 % NaCl 水溶液 1 mL で 2 回遠心 (3,000 rpm, 10 min) 洗浄後, 沈殿中の放射活性をガンマカウンターで測定した。

基準値: 抗 AP 抗体価は, 健常者血清 70 例の放射活性を基準にして, 血清検体 1 L についての AP 結合量 (nM) に換算して求めた。抗体価 0.01 nM (健常者の平均値+3SD) 以上を陽性とした。

### 2-2. $^{125}\text{I}$ -AP-rMuSK で検出される抗体の AP による吸収実験

AP-rMuSK を用いて抗体陽性を示した SPMG 4 例および SNMG 4 例を対象とした。

AP と被検血清 5  $\mu\text{L}$  を室温で 2 hr 前処理した後, 抗原溶液 ( $^{125}\text{I}$ -AP-rMuSK) 50  $\mu\text{L}$  (約 50,000 cpm) を添加し, さらに室温で 2 hr 反応させた。その後抗ヒト IgG 抗血清 50  $\mu\text{L}$  を添加し, さらに室温で 2 hr 反応させた。生じた沈殿を整理食塩水 1 mL で 2 回遠心 (3,000 rpm, 10 min) 洗浄後, 沈殿中の放射活性をガンマカウンターで測定した。AP 添加群を AP (+), AP 非添加群を AP (-) とした。

### 2-3. $^{125}\text{I}$ -AP で検出される抗体の AP 前処理による吸収実験

AP-rMuSK を用いて抗体陽性を示した SPMG 4 例および SNMG 4 例を対象とした。抗原溶液として  $^{125}\text{I}$ -AP を用いて, 先と同様の方法で行った。

## C. 研究結果

### 1. MG および各種疾患患者, 健常人における血清中抗 AP 抗体価

SNMG および SPMG における血清中抗 AP 抗体価を図 1 に示した。なお, 図中の抗 AP 抗体価 (nM, 縦軸) は対数目盛で表した。抗 AP 抗体は SPMG 249 例中 22 例 (9%) で検出された。一方, SNMG では陽性例はみられなかった。

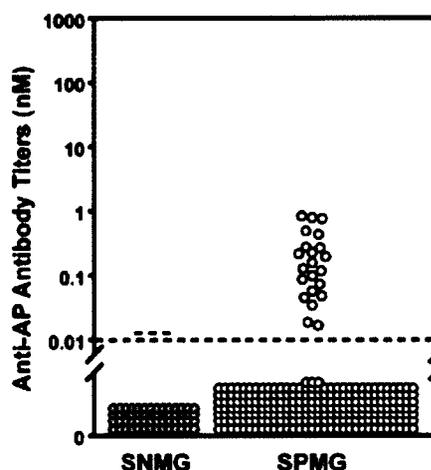


図1 SNMGおよびSPMGにおける抗AP抗体価  
図中の破線 ( ) は基準値 (0.01 nM) を示す。

MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者 (Other diseases) および健常人 (Healthy control) における血清中抗 AP 抗体価を図 2 に示した。MG 以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常人全例で抗 AP 抗体は陰性であった (図 2)。

### 2. 吸収試験による抗体の特異性の検討

抗 AP 抗体が SPMG に極めて特異的に検出されることが明らかとなった。しかし, Recombinant AP-human MuSK (AP-rMuSK) を用いた抗体測定系において

はSPMGのみならずSNMGでも抗体が陽性となる例があったことよ

り AP-rMuSK を用いた抗体測定系において

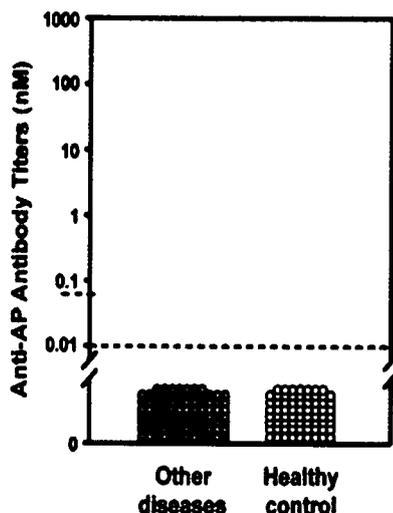


図2 MG以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健康者における抗AP抗体価  
図中の破線 ( ) は基準値 (0.01 nM) を示す。

SPMG では抗 AP 抗体を, SNMG では抗 MuSK 抗体を検出している可能性が示唆された。そこで, AP-rMuSK を用いた抗体測定系において抗体陽性となった SPMG および SNMG 被検血清を用いて,  $^{125}\text{I}$ -AP-rMuSK,  $^{125}\text{I}$ -AP および  $^{125}\text{I}$ -His-rMuSK のそれぞれの測定系における AP による吸収試験を試みた。 $^{125}\text{I}$ -AP-rMuSK で検出される抗体の AP 前処理による影響を図3に示した。

$^{125}\text{I}$ -AP-rMuSK を抗原として用いた場合, 抗体は SPMG, SNMG 両群で検出された。SPMG の陽性検体では抗体は AP 前処理により吸収された。一方, SNMG の陽性検体では AP 前処理による影響はみられなかった。

次に, AP-rMuSK を用いて抗体陽性を示した SPMG 4 例および SNMG 4 例を対象として,

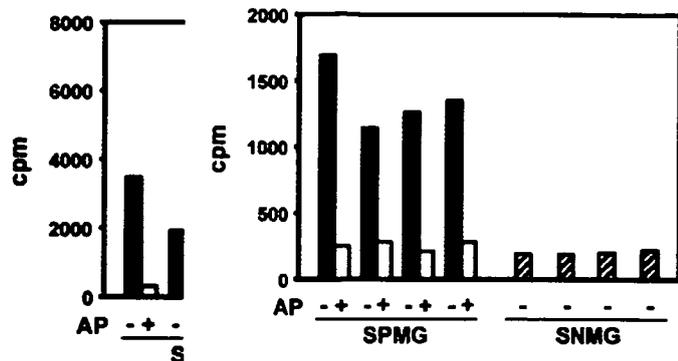


図3  $^{125}\text{I}$ -AP.  
AP前処理による影響

$^{125}\text{I}$ -AP

で検出される抗体の AP 前処理による影響を図4に示した。 $^{125}\text{I}$ -AP を抗原として用いた場合, 抗体は SPMG 群のみで検出され, 陽性検体は AP 前処理により吸収された。

さらに同様に, 同じ SPMG 4 例および SNMG 4 例を対象として  $^{125}\text{I}$ -his-rMuSK で検出される抗体の AP 前処理による影響を図5に示した。 $^{125}\text{I}$ -his-rMuSK を抗原として用いた場合, 抗体は SNMG 群のみで検出され, 陽性検体は AP 前処理による影響はみられなかった。

### 3. 抗 AP 抗体陽性患者の臨床的特徴

抗 AP 抗体は SPMG において極めて特異的に検出されることが明らかとなった。これまで MG

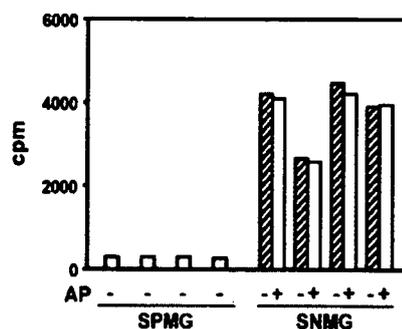


図4  $^{125}\text{I}$ -his-rMuSK で検出される抗体の AP 前処理による影響

において抗AP抗体が検出されたという報告はなく、新規の自己抗体と考えられ、抗AP抗体の検出はMGの新たな病態解明につながる可能性がある。そこで、抗AP抗体陽性患者の臨床的特徴からMGにおける抗AP抗体の存在意義を検討した。

臨床的指標が解析可能なSPMG 99例を抗AP抗体陽性10例および抗AP抗体陰性89例の2群に分類し、それぞれの臨床的特徴を表1に示した。AP抗体陽性患者は、女性のみのみられ(女性:男性, 10:0)、抗AP抗体陰性患者(女性70%)よりその割合は高かった。最重症時のMGFA分類による臨床的重症度は、抗AP抗体陽性患者において重症例が多く、また眼筋型MG(class I)はみられなかった。

表1 抗AP抗体陽性および陰性SPMGの臨床的特徴

	抗AP抗体陽性患者	抗AP抗体陰性患者
症例数	10例	89例
女性:男性	10:0	62:27
発症年齢	24-67歳(平均49歳)	1-85歳(平均38歳)
罹病期間	3-35年(平均22年)	1-51年(平均18年)
最重症時 MGFA分類		
class I	0	15
class II	0	20
class III	4	29
class IV	1	7
class V	5	18
胸腺腫例数	2(20%)	27(30%)
胸腺摘出例数	10	79
免疫抑制剤使用例数	9	74
抗AChR抗体価	0.4-1750 nM(平均209 nM)	0.2-400 nM(平均25.3 nM)

特に、抗AP抗体陽性患者の半数(5/10)は呼吸器装着が必要(class V)な患者群であった。

#### D. 考察

以前、確立した recombinant AP-human MuSK (AP-rMuSK) を用いた抗体測定法においてSPMGの約10%が抗体陽性を示した<sup>1)</sup>。しかし、これまでSPMGにおいて抗MuSK抗体陽性症例の報告がないことより、

AP-rMuSK 抗原により SPMG において検出された抗体は抗 MuSK 抗体ではなく、抗 AP 抗体である可能性が高いと推察した。そこで<sup>125</sup>I 標識したヒト胎盤由来アルカリホスファターゼ (AP) を用いた簡便な抗 AP 抗体測定系を確立し、MG 多数症例について抗 AP 抗体の測定を行い、さらに吸収試験により抗体の特異性についても検討を加えた。さらに抗 AP 抗体陽性患者については臨床的特徴を検討した。

#### 1. MG における抗 AP 抗体

今回著者らが確立した抗AP抗体測定法を用いて、多数のMG症例を測定したところ、SPMG 249例中22例(9%)が陽性を示した。一方、SNMG 70例では全例陰性であった。また、MG以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常者においては、全例が陰性であった<sup>2,3)</sup>。また、<sup>125</sup>I-AP を用いる放射性免疫沈降法によって SPMG のみで検出される抗体は非標識 AP の前処理で吸収されたことから、AP に特異的な抗体であることが明らかとなった<sup>3)</sup>。

ホスファターゼは生体内で種々のリン酸エステル化合物に作用して加水分解を行う酵素の総称で、アルカリ側 (pH 9.8) に至適 pH をもつものをアルカリホスファターゼと呼ぶ。アルカリホスファターゼは肝、腎、骨芽細胞、小腸、胎盤をはじめ全身に広く分布しており、組織特異的アルカリホスファターゼである胎盤由来アルカリホスファターゼ、生殖細胞由来アルカリホスファターゼおよび腸管由来アルカリホスファターゼと組織非特異的アルカリホスファターゼの4つのアイソザイムがある<sup>4)</sup>。今回確立した抗AP抗体測定法は、ヒト胎盤由来アルカリホスファターゼを抗原として用いたが、組織特異的アルカリホスファターゼのアイソザイムとの相同性は90-98%、組織非特異

的アルカリホスファターゼとの相同性は50%を示す<sup>56)</sup>。したがって、検出された抗AP抗体が胎盤由来アルカリホスファターゼのみを認識する抗体かどうかは明らかではなく、今後詳細な検討が必要である。また、抗AP抗体がSPMGのみに検出されたことから、シナプス膜に関連してAChRなどの分子の脱リン酸化過程に関連している可能性も考えられた。抗AP抗体はどのようにMGの発症や病態に関与するかは今後検討が必要である。

## 2. 抗体の特異性

<sup>125</sup>I-AP-rMuSK, <sup>125</sup>I-AP および <sup>125</sup>I-his-rMuSK を用いてAP前処理による吸収試験を行い、AP-rMuSKを用いた抗体測定法にて検出される抗体の特異性の詳細な検討を行った。<sup>125</sup>I-APによってSPMGのみで検出される抗体はAPで吸収され、<sup>125</sup>I-his-rMuSKによってSNMGでのみ検出される抗体はAPで吸収されなかった。このことから、前者は抗AP抗体、後者は抗MuSK抗体であることが明らかとなった。さらに、<sup>125</sup>I-APで抗体陽性となるSPMG、および<sup>125</sup>I-his-rMuSKで抗体陽性となるSNMGは、<sup>125</sup>I-AP-rMuSKを用いた抗体測定系においても抗体陽性となり、AP前処理によってSPMGでは吸収され、SNMGでは吸収されなかった。このことから、<sup>125</sup>I-AP-rMuSKを用いた抗体測定系においてSPMGでは抗AP抗体、SNMGでは抗MuSK抗体を検出していることが明らかとなった<sup>3)</sup>。

## 3. 抗AP抗体陽性患者の臨床的特徴

抗AP抗体陽性患者の臨床的特徴を検討したところ、女性優位(女性:男性, 10:0)であり、その割合は抗AP抗体陰性患者より高かった。最重症時のMGFA分類による臨床的重症度は重症例が多く、眼筋型(class I)はみ

られなかった。特に抗AP抗体陽性患者の半数(5/10)で呼吸器装着が必要(class V)であったことは呼吸筋障害への強い関与が想定された。抗AP抗体のMGにおける病態関与は不明であるが、SPMGにおいて抗AP抗体が共存する場合は、臨床的症候の重症化に留意する必要があるかもしれない<sup>3)</sup>。このように、抗AP抗体がMGの新たな指標となる可能性もあり、今後、神経筋伝達障害に関連した抗AP抗体の作用を明らかにするとともに、SPMGと抗AP抗体の関連も明らかになることが期待される。

## E. 結論

(1)抗AP抗体は、抗AChR抗体陽性MG患者の約9%で検出されたが、抗AChR抗体陰性MG患者、MG以外の神経筋疾患・自己免疫疾患患者および健常者では検出されなかった。本抗体は抗AChR抗体陽性MG患者においてのみ特異的に検出される抗体であることが明らかとなった。

(2)Recombinant AP-human MuSKを用いた抗体測定系では、抗AChR抗体陽性MGでは抗AP抗体を、抗AChR抗体陰性MGでは抗MuSK抗体を検出できることが明らかとなった。

(3)抗AP抗体陽性MG患者の臨床的特徴としては、重症の全身型MG症例が多く、中でも呼吸筋障害例が多くみられたことから、本抗体の測定は、臨床的重症化の指標となる可能性が示唆された。

## F. 文献

1) Ohta K, Shigemoto K, Kubo S. et al. MuSK antibodies in AChR Ab-seropositive MG vs AChR Ab-seronegative MG. *Neurology* 2004;

62: 2132.

- 2) Konishi T, Ohta K, Shigemoto K & Ohta M. Anti-alkaline phosphatase antibody positive myasthenia gravis. *J Neurol Sci* 2007; 263(1-2): 89-93.
- 3) Ohta K, Shigemoto K, Kubo S. et al. MuSK Ab described in seropositive MG sera found to be Ab to alkaline phosphatase. *Neurology* 2005; 65: 1988.
- 4) Millan JL, Fishman WH. Biology of human alkaline phosphatases with special reference to cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 1-39.
- 5) Millan JL. Oncodevelopmental expression and structure of alkaline phosphatase gene. *Anticancer Res* 1988; 8: 995-1004.
- 6) Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1990; 186: 133-150.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ohta K, Shigemoto K, Fujinami A, Maruyama N, Konishi T, Shimoda Y, & Ohta M. Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan. *Eur J Neurol* 2007; 14(9): 1029-1034.
- 2) Konishi T, Ohta K, Shigemoto K & Ohta M. Anti-alkaline phosphatase antibody positive myasthenia gravis. *J Neurol Sci* 2007; 263(1-2): 89-93.
- 3) Hayashi A, Shiono H, Ohta M, Ohta K, Sawa Y. Heterogeneity of immunopathological features of AchR/MuSK autoantibody-negative myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 2007; 189 (1-2): 163-168.
- 4) 中澤 大, 川尻真和, 越智雅之, 小原克彦, 太田潔江, 三木哲郎. 抗体価が重症度を反映した抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の1例 *臨床神経学* 第47巻 第6号 2007.6.1

### 2. 学会発表

- 1) 岸 雅彦, 太田潔江, 太田光熙, 斉田和子, 塩屋啓一, 比嘉利信, 中里雅光 B6 マウスを用いた抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の受動免疫実験 第19回日本神経免疫学会 2007.4.12
- 2) 小西哲郎 太田潔江 重本和宏 太田光熙 抗 AP 抗体陽性重症筋無力症の臨床的特徴 第48回日本神経学会 2007.5.13 名古屋
- 3) 岸 雅彦, 太田潔江, 塩屋敬一, 斉田和子, 比嘉利信, 中里雅光 抗 MuSK-IgG を用いた B6 マウスによる重症筋無力症受動免疫モデル作成の試み 第48回日本神経学会 2007.5.13 名古屋
- 4) 下駄祐子, 太田潔江, 藤波 綾 重本和宏, 太田光熙 抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の特徴 第47回日本臨床化学会 2007.11.22 大阪
- 5) 岸 雅彦, 太田潔江, 太田光熙, 杉本精一郎 抗 MuSK 抗体に関する電気生理学的検討 第37回日本臨床神経生理学会 2007.11.19 宇都宮

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shigemoto K., Kubo S Maruyama N., Yamada H., Jie C., Kobayashi N., Mominoki K., Abe Y. Ueda N., Matsuda S.	Induction of myasthenia by immunization against muscle-specific kinase.	The Journal of Clinical Investigation	116巻4号	1016-1024	2006
Ohta K., Shigemoto K Fujinami A., Maruyama N., Konishi T., Ohta M.	Clinical and experimental features of MuSK antibody positive MG in Japan.	European Journal of Neurology	14巻	1029-1034	2007
Konishi T., Ohta K. Shigemoto K., Ohta M	Anti-alkaline phosphatase antibody positive myasth enia gravis.	Journal of neurological science	263巻1-2号	89-93	2007
Hayashi A., Shiono H Ohta M., Ohta K., Okumura M., Sawa Y.	Heterogeneity of immunopathological features of AChR/MuSK autoantibody-negative myasthenia gravis.	Journal of neuroimmunology	189巻	163-168	2007
重本和宏	重症筋無力症	アニテックス	19巻6号	17-23	2007
丸山直記, 重本和宏	神経筋接合部疾患における 抗MuSK抗体と病態機序	臨床神経	47巻	842-844	2007
中濱大, 川尻真和, 越 智雅之, 小原克彦, 太 田潔江, 三木哲郎	抗体価が重症度を反映した 抗MuSK抗体陽性重症筋無力 症の1例	臨床神経	47巻6号	356-358	2007

インターネット

サイト名	論文タイトル名	URL	巻号	ページ	出版年
New York Academy of Science	11th International Conference on Myasthenia Gravis and Related Disorders	<a href="http://www.nyas.org/ebriefreps/splash.asp?intEbriefID=674">http://www.nyas.org/ebriefreps/splash.asp?intEbriefID=674</a>			2007