

小児発症重症筋無力症の病態に関する研究

研究協力者 野村芳子

共同研究者 八森 啓、長尾 ゆり、木村 一恵、瀬川 昌也

研究要旨

小児発症重症筋無力症 (MG) の全身型につき、その臨床的特徴を検討した。全身症状発現までの期間は全体では 70% が 3 ヶ月以内であったが、発症年齢別にみると、3 歳未満発症例でやや長く、年長発症例で短かった。抗アセチルコリン受容体抗体は成人発症例に比し低かったが、他臨床型に比し、陽性率が高かった。また年長発症例にてより高値を呈する例が多かった。誘発筋電図所見は臨床症状と関連した。胸腺摘除術後、M 波回復曲線、連続刺激の改善、post tetanic exhaustion の改善をみた。治療は他臨床型に比し、ステロイド剤の有効・著効例が少なく、無効例、胸腺摘除術が多かった。特に年長発症例では胸腺摘除術を要する例が多かった。本邦小児発症 MG に特徴的な HLA 抗原 DR9,13/DQ6,9 を有する例の割合は少なかった。

小児発症 MG 全身型は成人発症例に近い臨床的特徴を有し、免疫学的背景は本邦に特徴的な年少発症例とは異なる例が多いことが示唆された。

研究目的

小児発症重症筋無力症 (MG) の臨床型は純粋眼筋型 (O)、潜在性全身型 (LG)、全身型 (球症状を含む) (G) に分けられる。これまで我々は各臨床型の特徴を検討してきており、臨床型は LG が多く、G は年長発症例の割合が多いことを示してきた。また、固有の HLA class II 抗原に規定されることを示し、それぞれの臨床型には固有の病態が関与することを示してきた。今回は全身型への移行について臨床的、抗アセチルコリン受容体抗体 (抗 ACh R-Ab) の推移、誘発筋電図学的特徴を検索した。更に、その免疫学的背景 (HLA) との関連を検討した。

研究方法

当院を受診した全身型の患者 61 例 (女 42、男 19) につき臨床像、抗 ACh R-Ab、誘発筋電図所見 (M 波回復曲線、連続刺激、post tetanic cycle study)、治療効果につき検討した。治療は抗コリンエステラーゼ剤 (抗コ剤)、ステロイド剤 (ス剤)、タクロリムス、胸腺摘除術であった。

(倫理面への配慮)

本研究は瀬川小児神経学クリニックの倫理規定を遵守して行った。患者本人、患者本人が未成年の場合は保護者に説明し、同意を得られた場合のみ研究を行った。個人の情報、プライバシーの保護に十分配慮した。

瀬川小児神経学クリニック

研究結果

61 例の発症年齢別症例数は 3 歳未満 33 (54%)、3-6 歳未満 7 (11%)、6-11 歳未満 11 (18%)、11-15 歳未満 6 (10%)、15-18 歳未満 4 (7%) であった。男女比は 3-6 歳未満発症例でほぼ男女同数であったが、他の発症年齢群では女が優位であった。

本邦小児発症 MG は HLA DR9,13/DQ6,9 に規定されることが知られているが、今回の全身型の対象例の内、HLA の検査を行った 25 例では DR9,13/DQ6,9 を有した例 12、他 13 例でその他のタイプの割合が多かった。

MG の初発症状は眼症状で発症することが多いが、初発から全身症状出現までの期間は全体ではその 70% が 3 ヶ月以内であったが、発症年齢別にみると 50 ヶ月以上経過して全身型を発症した 4 例を除くと、初発から全身症状出現までの期間の平均は、3 歳未満 5.3 ヶ月、3-6 歳未満 1.6 ヶ月、6-11 歳未満 2.5 ヶ月、11-15 歳未満 0.8 ヶ月、15-18 歳未満 3.5 ヶ月であり、年長発症例では全身症状の発現が早かった (図 1)。

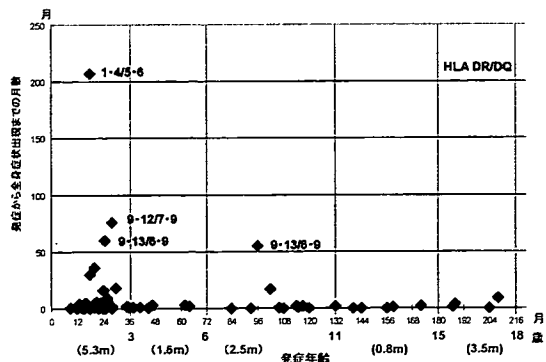


図 1 MG 発症から全身症状出現までの月数

小児発症 MG の抗 ACh R-Ab は seronegative

が多いことが知られている。我々はこれまで、経過中陰性を呈した例は約 40% で、他は軽度 - 中等度上昇する例が多いこと、各臨床型により特徴を有し、成人例に比し低値であるが、O、LG、G 型と陽性例の割合が増え、また 20 歳前後に急に上昇する例の存在を示した。今回検討した全身型症例では発症年齢別に見ると年長発症例において、より高値を呈する例が多かった。

誘発筋電図所見は臨床症状と関連し、全身症状の改善と減衰現象の改善は並行する傾向があった。治療により全身症状が改善すると減衰現象は 10Hz 以下の低頻度刺激ではみられなくなり、10-30Hz での減衰現象と変化した。胸腺摘除術後では M 波回復曲線、連続刺激の改善をみとめ、post tetanic cycle study にて post tetanic exhaustion の明らかな改善がみられた (図 2)。

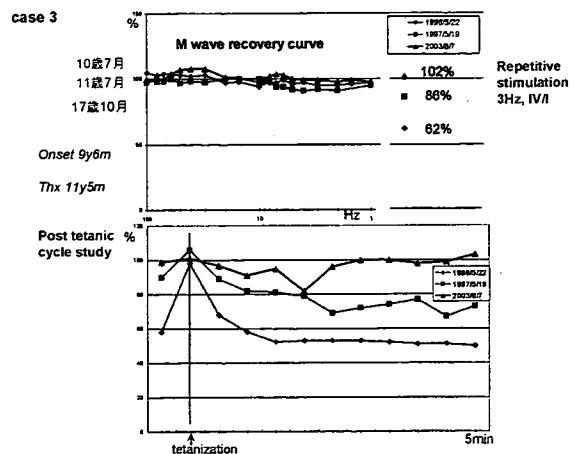


図 2 誘発筋電図 (胸腺摘除術前後の変化)

治療結果の最終判定が可能と考えられた 36 例では、ス剤著効・有効 17/36 (47.2%)、ス剤抵抗 7/36 (19.4%)、胸腺摘除術 12/36 (33.3%) であった。即ち、他の臨床型、O、

LGに比し、ス剤著効・有効例が少なく、ス剤抵抗、胸腺摘除術が多かった。特に年長発症例では胸腺摘除術を要する例が多かった。また、胸腺摘除術を要した症例の HLA は DR9,13/DQ6,9 以外の抗原を有した症例がやや多かった。

考察・結論

小児発症 MG 全身型では発症から全身症状発現までの期間は年長発症例ほど短かった。

抗 ACh R-Ab は全身症状と必ずしも一致しなかった。3 歳以前発症例で遅れて上昇した例があった。年長発症例では全身症状の発現と共に抗体価の上昇をみた。

誘発筋電図では post tetanic cycle study が全身症状の発現をよく反映した。

以上、年長発症例（10 歳以後）は成人発症例に近い特徴を有するが、成人発症例に比し軽症例が多い。

3 歳未満発症で本邦小児発症 MG に見られる特有の HLA を有した症例にも全身型を発症する症例があった。

これらの背景に免疫学的素因（HLA 抗原）の存在および免疫系の年齢による変化の関与が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

高齢(75歳以上)発症重症筋無力症の臨床的検討

分担研究者 菊地誠志¹⁾

共同研究者 南尚哉¹⁾、奥水修一¹⁾、藤木直人¹⁾、土井静樹¹⁾、島功二¹⁾、
佐々木秀直²⁾

研究要旨

75歳以上の高齢発症のMG15例(高齢群)について61-70歳と比較的高齢発症のMG24例(対照群)を対照とし、性別、症状、重症度、治療法、合併症について比較検討した。75歳以上の高齢発症のMGは女性の比率が86.7%、球症状を呈する86.7%と頻度が高かった。また最重症時の重症度は高齢群ではMGFA分類class IVb~Vが7名46.7%と約半数を占め、呼吸器管理を要したのが4名26.7%と極めて重症の症例が多かった。重症例が多いため、ステロイドの使用93.3%、免疫吸着療法26.7%と高率に行われていた。治療により症状の改善は得られたが糖尿病などの副作用の合併率も高く、いかに合併症を軽減を図るかが今後の課題である。

研究目的・方法

高齢発症の重症筋無力症(以下MG)の報告は散見されるが高齢発症を何歳以上とするかについては報告によりばらつきが大きい。今回75歳以上の晩期高齢者のMGについて臨床的検討を行ない、その特徴を明らかにし、今後の診療に役立てることを目的とする。

全患者161例のうち75歳以上の晩期高齢で発症したMGは15例(高齢群)で、61-70歳と比較的高齢発症のMG24例(対照群)を対照として、性別、症状、重症度、治療法、合併症について比較検討した。

(倫理面での配慮)

本研究では日常診療で収集された診療情報を用いたが、個人情報保護の観点からデータの匿名化を行い解析した。

研究結果

性別では対照群は男性13名、女性11名とほぼ同数であるのに対し、75歳以上の高齢群では男性2名、女性13名で女性の比率が86.7%と極めて高かった(図1)。病型分類では対照群は眼筋型3名、全身型21名、高齢群は15名全例、全身型であった。経過中に球症状を呈した症例は対照群では11名45.8%に対し高齢群では13名86.7%と頻度が高かった。最重症時の重症度はMGFA分類では対照群ではclassIVb~Vは2名、呼吸器管理は1名のみであるのに対し、高齢群ではclassIVb~Vが7名46.7%と約半数を占め、さらに呼吸器管理を要したのが4名26.7%と極めて重症の症例が多かった(図2)。治療はステロイド剤投与が対照群19名79.1%に対し、14名93.3%、免疫吸着療法が対照群では1名4.2%に対し、高齢群は4名26.7%と高率であった。

1) 国立病院機構札幌南病院神経内科

2) 北海道大学医学研究科神経内科学分野

免疫抑制剤の投与は対照群 5 名 20.8%に対し、高齢群は 2 名 13.3%と投与頻度は低かった。胸腺摘出術の施行は対照群 20 名 83.3%に達し、全身型では手術を拒否した 1 名を除き全例施行された(表 1)。摘出した胸腺は胸腺腫が 20 名中 16 名と 80%を占めた。高齢群では胸部 CT 検査で 5 名が胸腺腫と考えられたが、実際手術が行われたのは胸腺腫非合併の 1 名 6.7%のみであった。いずれの治療法も全例有効であり、呼吸器を装着した 4 例全例、呼吸器から離脱した。入院中に突然死した 1 名を除く 14 名は MGFA 分類で I～IIa まで回復した。しかし、ステロイド剤の副作用と思われる糖尿病の発症や増悪が 40.0%と非常に高率に認め、インスリンの導入、経口血糖降下剤の開始を余儀なくされた。椎体圧迫骨折や大腿骨頭壊死などの骨合併症も 20%に見られた。また高齢群では呼吸器管理中の挿管チューブ自己抜去が 3 名見られ、再挿管を要した。更に対照群では 1 例も認めなかった幻覚、解離障害などの精神症状も高齢群では 4 名見られ向精神薬による治療を要した。

考察

75 歳以上の高齢者での MG 発症は 15 例も見られ、決してまれではなく、女性の比率が高く、症状は球症状の頻度が極めて高く、重症化しやすいことが明らかになった。

治療は重症例が多いため、1 例を除き 14 例でステロイド剤投与が行われ、また血液浄化療法を行なうケースも多かった。免疫抑制剤の併用が行なわれていたのは DM などの合併症を有する症例であったが、使用頻度は低目

であった。いずれの治療法も十分な効果を認めたが、ステロイドの投与から DM の発症・悪化を 40.0%と高率に見られた。また長期投与になると椎体圧迫骨折や骨粗鬆症など骨の合併症を高率に認めた。また人工呼吸器使用時に自己抜管の頻度が高く、管理には十分注意を払う必要があった。拡大胸腺摘出術は 1 例のみ行われ、胸腺腫を疑われる症例でも見合わせている症例が多かった。

本邦の報告では 65 歳以上の高齢発症の MG では①胸腺摘出術は有効、②クリーゼが多い、③胸腺腫合併が多い、④術後の増悪をきたしやすい、⑤ステロイドの合併症が出やすい、とされている。¹⁾ 今回の 75 歳以上とより高齢発症の検討では②、⑤の 2 点でさらに際立った結果が示された。今後合併症を減らすため、タクロリムス、シクロスポリンなどの免疫抑制剤の併用を積極的に進めていくべきか、また、高齢群でも胸腺腫の合併を 3 分の 1 に認め、全例手術は未施行であったが胸腺腫合併 MG の治療については保存的で良いのか内視鏡下胸腺摘出術を含め胸腺摘出術の適否については今後とも検討が必要と思われる。

文献

1) 川口直樹 胸腺摘除術の適応その術前術後対策に関する現在と将来への展望 臨床神経 2007;47(11):872-874

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

図1.性別

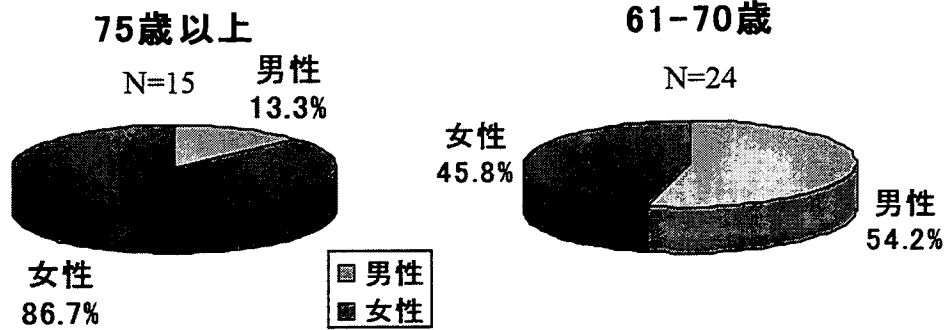


図2.球症状・重症度

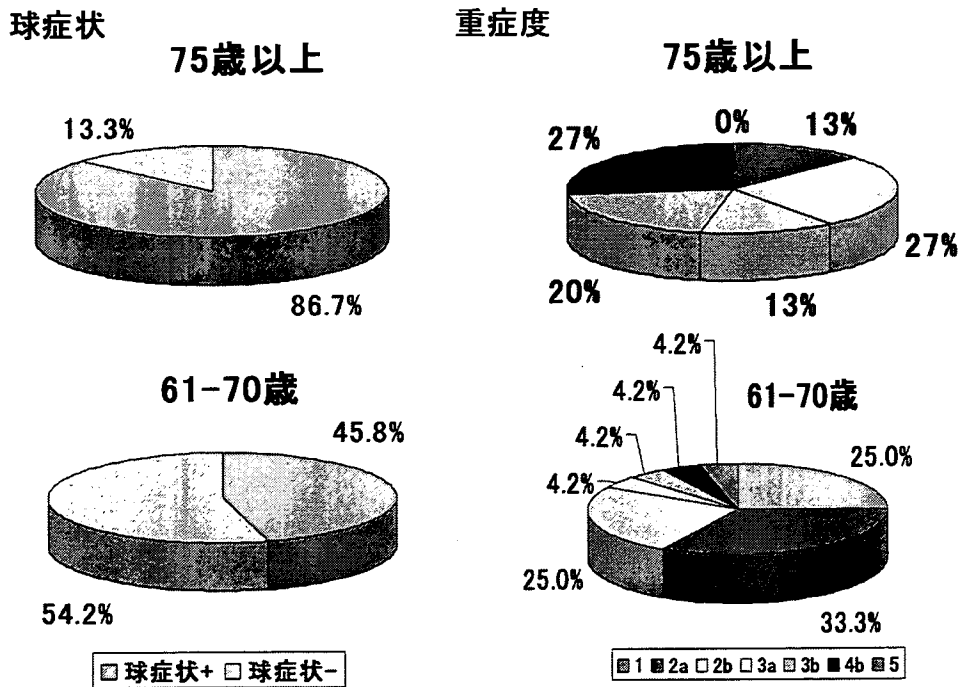


表 1.治療

	75歳以上 (N=15)	61-70歳 (N=24)
ステロイド剤	14名 93.3%	19名 79.1%
最大投与量	25.4mg/d	18.9mg/d
パルス療法	6名 40.0%	2名 8.3%
免疫吸着法	4名 26.7%	1名 4.2%
免疫抑制剤	2名 13.3%	5名 20.8%
胸腺摘出術	1名 6.7%	20名 83.3%

(ステロイド投与量は prednisolone 換算量)

重症筋無力症の嚥下機能評価に関する検討

分担研究者 本村政勝¹⁾

共同研究者 ○石飛進吾²⁾、徳田昌紘¹⁾、立石洋平¹⁾、福田 卓¹⁾、佐藤克也¹⁾、

西浦義博¹⁾、辻野 彰¹⁾、江口勝美¹⁾、吉村俊朗³⁾

研究要旨

摂食・嚥下障害は重症筋無力症(myasthenia gravis: MG)の好発症状の一つである。その症状や重症度は様々であり、視診や問診により摂食・嚥下機能を把握することは困難である。そこで、MGにおける摂食・嚥下機能の評価法に関する検討を目的として、摂食・嚥下障害を有するMG患者10症例について特徴を分析した。その結果、MGの摂食・嚥下障害には舌骨の運動不良、喉頭挙上不良、咽頭収縮力低下、食道入口部開大不良などが特徴的に認められた。また、10例中8例に誤嚥が認められそのうち5例が水分誤嚥であった。MGにおける摂食・嚥下障害は、舌骨上筋群や咽頭収縮筋等の嚥下関連筋群の筋力低下に由来する場合が多いものと考えられ、誤嚥や咽頭残留の原因となる事も少なくない。また、誤嚥時に咳反射を伴わないsilent aspirationも多いものと考えられる。摂食・嚥下障害の病態や重症度の把握には嚥下造影検査や嚥下内視鏡検査を用いて嚥下機能や動態を評価する必要がある。

研究目的

摂食・嚥下障害はMGの6-24%に出現すると報告されており¹⁾、日常臨床において摂食・嚥下障害への対応が必要となるケースも少なくない。しかし、摂食・嚥下障害の症状や重症度は様々であり、視診や問診により摂食・嚥下機能を把握することは困難である。特にクリーゼを来した場合や、抗MuSK抗体陽性患者の場合では、摂食・嚥下機能の低下に伴う誤嚥性肺炎や栄養摂取法の選択が問題になる場合も多い。そこで、MGにおける摂食・嚥下障害の特徴を分析し、摂食・嚥下機能の評価法について検討した。

研究方法

摂食・嚥下障害を有したMG患者10症例の摂食・嚥下機能を嚥下造影検査

1) 1杯、3%ペースト3cc、液体3ccの摂取状態を評価した。評価項目は、日本摂食・嚥下リハビリテーション学会の嚥下造影検査ガイドライン²⁾を必要に応じて改変した。嚥下障害の重症度は才藤の臨床的重症度分類³⁾を用いて評価した。なお、対象とした10例は男性6名、女性4名であり、MGFA重症度分類

- 1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・展開医療科学講座(第一内科・神経内科)
- 2) 長崎大学医学部・歯学部附属病院 特殊歯科総合治療部
- 3) 長崎大学保健学科

ではV6名、IVb1名、IIb3名であった。また、10例中9例は抗AChR抗体陽性患者であり、抗MuSK抗体陽性患者が1例であった。2) MGの嚥下障害を①著明な球症状を伴う抗MuSK抗体陽性症例、②クリーゼ後に摂食・嚥下機能低下を認める症例、そして、③クリーゼを伴わない重症嚥下障害症例の3種類に分類し、それぞれの症例について臨床症状等を検討した。摂食・嚥下機能の評価は嚥下造影検査(VF)および嚥下内視鏡検査(Videofluoroscopic Examination of Swallowing, VE)を用いて行なった。

3) 本研究は、長崎大学の倫理規定を遵守して行った。研究については患者本人へ十分に説明を行い、文書で同意を得ている。個人情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究結果

- 1) 摂食・嚥下障害を合併した10症例の機能による評価に関しては、舌骨の運動不良10例、喉頭挙上不良8例、咽頭収縮力低下6例、食道入口部開大不良4例、舌根部運動不良4例であった。
- 2) 摂食・嚥下障害を合併した10症例中、誤嚥あり8例、誤嚥なし2例であり、重症度別では、食物誤嚥1例、水分誤嚥5例、機会誤嚥2例、軽度問題2例であった(表1)。
- 3) 誤嚥・侵入を認めた8例のうち5例は咳

反射を伴わなかった。

4) 10 例中 5 例に咽頭残留が認められ、そのうち 4 例に、喉頭蓋谷の残留および梨状窩の残留の両方が認められた。

5) 1 例の抗 MuSK 抗体陽性症例では、嚥下反射惹起遅延が著明に認められた。

考察

MG における摂食・嚥下障害は、舌骨上筋群や咽頭収縮筋等の嚥下関連筋群の筋力低下に由来する場合は多いものと考えられ、誤嚥や咽頭残留の原因となっている。また、誤嚥時に咳反射を伴わない silent aspiration も多いものと考えられる。また、抗 MuSK 抗体陽性症例では咀嚼・咬合機能の低下に加え著明な嚥下反射惹起遅延が認められたことも特徴的であり、今後、抗 MuSK 抗体陽性患者における摂食・嚥下障害の病態等の研究が期待される。治療効果を判定するうえでも重要であり、咀嚼、舌運動、嚥下反射惹起、喉頭挙上、咽頭収縮、食道通過などに関する詳細な評価を行うことが望ましい。

結論

MG における摂食・嚥下障害は、頸部の筋力低下に関連して生じるが、病態や重症度の把握には嚥下造影検査や嚥下内視鏡検査を用いて機能や動態を評価する必要がある。

文献

- 1) Angela Colton-Hudson, et al. A Prospective Assessment of the Characteristics of Dysphagia in Myasthenia Gravis. *Dysphagia* 17:147-151, 2002.
- 2) 嚥下造影の標準的検査法、日本摂食・嚥下リハ会誌、8(1):71-86, 2004
- 3) 才藤栄一：平成 11 年度厚生科学研究費補助金報告書、1-18, 1999

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

表1 MG 患者のプロファイルと嚥下障害の特徴 +は異常あり

症例	年齢	性別	MGFA 分類	自己抗体	嚥下重症度	鼻咽腔閉鎖	舌骨運動不良	喉頭挙上不良	咽頭収縮力不良	食道開大
1	39	F	V	AChR抗体	機会誤嚥	+	+	+	+	
2	81	M	II b	AChR抗体	軽度問題		+	+		
3	34	M	V	AChR抗体	食物誤嚥	+	+	+	+	
4	63	F	V	AChR抗体	水分誤嚥		+	+		
5	64	M	V	AChR抗体	機会誤嚥		+			
6	73	M	IV b	AChR抗体	水分誤嚥		+	+	+	+
7	44	M	II b	AChR抗体	軽度問題		+			
8	75	F	V	AChR抗体	水分誤嚥		+	+	+	+
9	28	F	V	AChR抗体	水分誤嚥		+	+	+	+
10	20	M	II b	MuSK抗体	水分誤嚥	+	+	+	+	+

Sandwich ELISA による重症筋無力症患者血清中の idiotype 抗体の測定

協力研究者 荒賀 茂¹⁾

研究要旨

重症筋無力症 (MG) は、骨格筋の acetylcholine receptor α -subunit (AChR α) に対する自己抗体により発症する。この自己抗体を認識する抗イデオタイプを導入は MG 治療の理想的な方法といえる。我々はこの抗イデオタイプ抗体の導入方法としてコンプリメンタリーペプチドの方法を用いてきた。今回ウサギにコンプリメンタリーペプチドを感作することによりウサギ抗イデオタイプポリクローナル抗体を作製した。さらにアフィニティー精製したポリクローナル抗体と既に作製したヒト型抗イデオタイプモノクローナル抗体 (KM02, IgG1) を使い、sandwich ELISA による測定法を検討した。モノクローナル抗体とポリクローナル抗体の認識するエピトープはわずか 16 アミノ酸ではあるが、競合することなく認識された。今後は MG エピトープ部を認識するヒト型モノクローナル抗体を標準抗体とした、完全な測定系を確立する予定である。

研究目的

重症筋無力症 (MG) は、ヒト骨格筋 acetylcholine receptor (AChR) に対する自己抗体により発症する。抗 AChR 抗体の主たるエピトープは、 α -AChR 鎖の main immunogenic region (MIR) であることが知られている。我々はコンプリメンタリーペプチドにより、この自己抗体を認識する抗 idiotype 抗体の作製が可能であることを示した。さらにヒト抗体産生マウス (KM マウス) で作製したモノクローナル抗体を使い、MG 患者血清中の idiotype 抗体の認識が可能であることを報告した。今回は、新たにウサギポリクローナル抗体を作製し、既に作製したヒト型モノクローナル抗体との sandwich ELISA の測定系を検討したので報告する。

研究方法

1. コンプリメンタリーペプチド抗体の合成：ヒトの α -AChR のアミノ酸配列 61-76 に対するコンプリメンタリーペプチドの N 末に Cysteine 残基を加えたペプチドを合成した。そのアミノ酸配列 (HiRhCA61-76) は、Cys-His-Ile-Val-Val-Lys-Gln-Pro-Ile-Try-Ile-Val-Ile-Ala-Thr-His-Tyr である。これに NHS-Esters-Maleimide crosslinker を用いて、KLH および bovine Albumin (Alb) のカップリングを行った。

1) 藤井政雄記念病院

KLH coupling peptide は感作用に、Alb

coupling peptide は最終ブーストと抗体測定用に用いた。

2. HiRhCA61-76 ペプチド感作：初回の感作には、Freunds complete adjuvant (FCA) を、2 回目以降の感作については、Freunds incomplete adjuvant (FIA) を使用した。FCA, FIA と KLH coupling RhCA61-76 の emulsion を作成した。得られた emulsion で 4 ヶ月齢の Japanese white rabbit 2 羽に感作を行った。感作量は初回 200 μ g / ウサギで、皮下に投与した。2 回目以降は 100~200 μ g / ウサギの感作を 2 週間隔で行った。抗体価の推移を見ながら、合計 9 回の感作を行った。十分な抗体価が得られた時点で、全血採血を行った。全血は硫酸処理を行い保存した。
3. アフィニティーカラムの作成：HiRhCA67-16 ペプチド 5mg を 1g の AF-トレスルトヨパール 650 に 0.1M 炭酸バッファー+0.5mM NaCl, pH8.5 で固相化した。
4. ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体の精製：HiRhCA67-16 coupling カラムを使い、ウサギ血清の精製を行った。0.29mg/ml、0.13mg/ml の精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体を作製した。
5. mAb の biotin 標識：2mg の mAb (KM02,

IgG1, κ) EZ-Link™Biotin-LC-Hydrazide (Pierce)で結合させた。

6. Alb coupled peptide に対する親和性の検討: alb-coupling peptide を 1.0μg/ml で 96well ELISA plate に coating を行い、Superblock (Pierce) で blocking を行った後、1000 倍希釈列のウサギ感作血清で incubation を行った。その後 1000 倍希釈の peroxidase 標識抗ウサギ IgG (g) 血清を加え incubation 後、TMB 試薬での発色を行い、450nm の吸光度で測定を行った。
7. 精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体によるヒト血清の idiotype 抗体の認識: 精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体 を 1.0μg/ml で 96well ELISA plate に coating し、Superblock (Pierce) で blocking を行った後、AChR61-76 関連抗体を持つ患者血清を incubate した。その後 1000 倍希釈の、peroxidase 標識抗ヒト IgG (γ) 血清を加え incubation 後、TMB 試薬での発色を行い、450nm の吸光度で測定を行った
8. Sandwich ELISA: 精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体を 1.0μg/ml で 96well ELISA plate に coating し、Superblock (Pierce) で blocking を行った後、AChR61-76 関連抗体を持つ患者血清を incubate した。さらに 1000 倍希釈の biotin 標識 KM02mAb と反応後、1000 倍希釈の peroxidase 標識 streptavidin を incubation 後、TMB 試薬での発色を行い、450nm の吸光度で測定を行った。

結果

1. コンプリメンタリーペプチド HiRhCA67-16 を認識するウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体を作製した。さらに HiRhCA67-16 coupling カラムを使用し、ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体の精製を行った。
2. 精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体で患者血清中の idiotype 抗体の認識が可能であった(図1)。
3. 一次抗体に精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体、2次抗体に biotin 標識 KM02 mAb とする sandwich ELISA により、MG 患者血清中の idiotype 抗体の認識が可能であった(図2)。

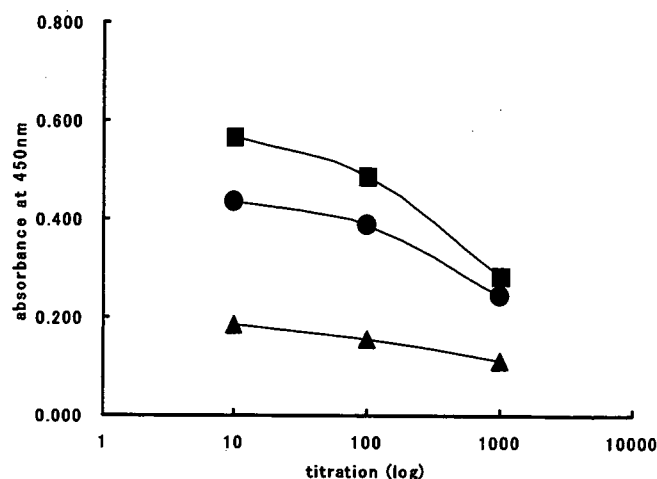


図1. ウサギポリクローナル抗体による患者血清中の idiotype 抗体の認識 (●)34 歳女性、(■) 28 歳女性、(▲) 46 歳女性

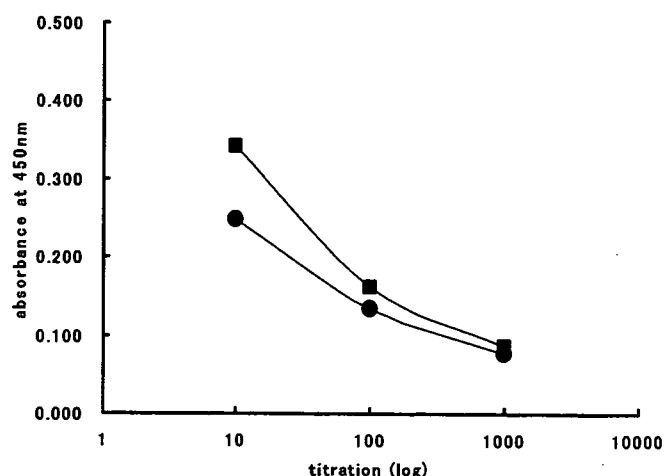


図2. ウサギポリクローナル抗体とヒト型モノクローナル抗体による患者血清中の idiotype 抗体の認識

結論

すでに作製した4つのモノクローナル抗体 (KM01, KM02, KM15, KM34) と今回作製した精製ウサギ抗 HiRhCA67-16 抗体を用い、MG 患者の自己抗体の測定系を確立する予定である。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得: なし

実用新案登録: なし

重症筋無力症の興奮収縮連関における自己抗体の検討； 抗 RyR 抗体、抗 DHPR 抗体の IgG Subclass 解析

分担研究者 吉川弘明^{1), 2)}

共同研究者 丸田高広^{1), 2), 3)}、梅下 翔¹⁾、高瀬文超¹⁾、吉川弘毅¹⁾、角 弘諭¹⁾、
枝廣茂樹¹⁾、本崎裕子²⁾、古川裕²⁾、岩佐和夫²⁾、山田正仁²⁾

研究要旨

重症筋無力症(MG)において、リアノジン受容体 (RyR) とジヒドロピリジン受容体 (DHPR) に対する抗体 (RyR-Ab, DHPR-Ab) の機能を調べるため、その IgG subclass について検討した。RyR-Ab については同抗体陽性 MG 23 名、正常対照 21 名を、DHPR-Ab については同抗体陽性 MG 11 名、正常対照 20 名を対象とした。各抗体の subclass は RyR あるいは DHPR に対するモノクローナル抗体を用いた sandwich ELISA にて検出し、正常対照の平均+3x 標準偏差を超えた検体を同 subclass 陽性と定義した。両抗体とも IgG subclass 1 が多く検出され、同 subclass が主体であることが解った。この結果は、両抗体が共益して補体介在性障害を助長することを示唆するものである。

研究目的

リアノジン受容体 (RyR) とジヒドロピリジン受容体 (DHPR) は両者ともカルシウムチャンネルであり、お互いに共益して骨格筋の興奮収縮連関に関わる。この RyR および DHPR に対する抗体 (RyR-Ab, DHPR-Ab) は、特に胸腺腫を合併した重症筋無力症 (MG) 患者血清中に共存する。しかし、この両抗体が MG 病態に関わる機序については未だ解明されていない。そこで、今回、RyR-Ab と DHPR-Ab の機能を調べるため、その IgG subclass について検討した。

研究方法

まず、RyR-Ab 陽性 MG 患者 23 名、正常対照 21 名について RyR-Ab の IgG subclass 解析を行った。抗原としてウサギ骨格筋から抽出した RyR を含む蛋白分画溶解液を用い、抗 RyR モノクローナル抗体と抗ヒト IgG subclass 抗体を

用いた sandwich ELISA により、抗 RyR IgG subclass の定量を行った。次に、DHPR-Ab 陽性 11 名を含む MG 患者 22 名、正常対照 20 名について DHPR-Ab の IgG subclass 解析を行った。抗原としてウサギ骨格筋から抽出した DHPR を含む蛋白分画溶解液を用い、抗 DHPR モノクローナル抗体と抗ヒト IgG subclass 抗体を用いた Sandwich ELISA により、抗 DHPR IgG subclass の定量を行った。

それぞれの抗体において正常対象の平均+3 標準偏差を超えた検体を同 subclass 陽性と定義した。

研究結果

- 1) 抗 RyR IgG subclass 1 は MG 20 名から検出されたが、正常対照はすべて陰性であった。特に胸腺腫合併例では全例から抗 RyR IgG subclass 1 が検出され、しかも、高抗体価症例が多かった。(表 1)
- 2) 抗 RyR IgG subclass 2 および subclass 3 は検出されなかった。(表 1)
- 3) 抗 RyR IgG subclass 4 は MG 3 名から検出

¹⁾ 金沢大学保健管理センター

²⁾ 金沢大学大学院医科学系専攻
脳老化・神経病態学 (神経内科)

³⁾ 恵寿総合病院神経内科

されたが、正常対照1名でも陽性を呈した。

(表1)

- 4) 抗 DHPR IgG subclass 1 は抗 DHPR 抗体陽性 MG 11 名中 10 名から検出された。抗 DHPR 抗体陰性 MG 1 名が IgG subclass 1 弱陽性を呈したが、正常対照はすべて陰性であった。

(表2)

- 5) 抗 DHPR IgG subclass 2 および subclass 3, subclass 4 は MG, 正常対照ともに検出されなかった。(表2)

考察

MG 病態には、神経筋接合部障害に加え、興奮収縮連関障害も関与する。特に胸腺腫合併 MG では、興奮収縮連関に重要な役割を果たす RyR および DHPR に対する自己抗体が併存している。しかし、RyR が細胞質内タンパクでもあり、これら自己抗体が興奮収縮連関障害にはたす役割は未解明である。今回 MG における RyR-Ab および DHPR-Ab の IgG subclass 解析を行った結果、両者とも補体活性が強い IgG subclass 1 が主体であった。以上の結果により、DHPR に DHPR-Ab (IgG subclass 1) が結合した際、補体介在性膜破壊が起き、破壊された膜孔を通し RyR (DHPR と複合体形成) が露出すれば、RyR-Ab (IgG subclass 1) も到達可能になり、補体介在性障害が相乗的に促進することが予想される。

結論

MG における DHPR-Ab と RyR-Ab はともに IgG subclass 1 が主体であった。この結果は、両抗体が共益して補体介在性障害を助長することを示唆するものである。

文献

なし

表1. RyR-Ab の IgG subclass 陽性率

IgG subclass 1	87%
IgG subclass 2	0%
IgG subclass 3	0%
IgG subclass 4	13%

表2. DHPR-Ab の IgG subclass 陽性率

IgG subclass 1	91%
IgG subclass 2	0%
IgG subclass 3	0%
IgG subclass 4	0%

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許出願 (2007-264623号) ;

吉川弘明、丸田高広：ジヒドロピリジン受容体抗体レベルに基づく胸腺腫合併重症筋無力症の診断

実用新案登録：なし

一過性新生児重症筋無力症が疑われた抗MuSK抗体陽性母児例

分担研究者 本村政勝¹⁾

共同研究者 神崎昭浩²⁾、田中義人²⁾、好永順二²⁾、徳田昌紘¹⁾、立石洋平¹⁾、
福田 卓¹⁾、辻野 彰¹⁾、江口勝美¹⁾、吉村俊朗³⁾

研究要旨

30歳女性。生来健康。妊娠2ヶ月時発症。構音・嚥下障害のため妊娠5カ月時に当科初診。極軽度の眼瞼下垂、眼球外転障害あり。顔面筋・舌筋・頸筋脱力。構音・嚥下障害。テンシロンテスト陽性。抗AChR抗体陰性。抗MuSK抗体陽性。臭化ピリドスチグミン、PSL10mg/日、安静、食事の工夫で一旦退院。妊娠8ヶ月に特に誘因なく球症状・四肢脱力が増悪。妊娠38週第1日に帝王切開を予定し、37週第1日から単純血漿交換を連日3回行い、初日より舌筋が改善、4日目には筋力は正常。終了4日目に帝王切開で女兒を無事出産。産後2日目にタクロリムス開始。血漿交換終了14日目より構音・嚥下障害が出現。ステロイドパルスを追加したが回復は不十分で、2ヶ月経過し追加のステロイドパルスを必要とした。出生児は血清・臍帯血の抗MuSK抗体陽性で、呼吸、四肢の動きはよいが、ほ乳力が弱く2週間経管栄養を行った。出生3ヵ月後の血清抗MuSK抗体は陰性で、抗MuSK抗体による一過性新生児重症筋無力症と考えられた。

はじめに

抗アセチルコリン受容体陽性・重症筋無力症患者の出生児においては、一過性新生児重症筋無力症(transient neonatal myasthenia gravis, TNMG)と先天性多発性関節拘縮症が、その特有の合併症である^{a)}。今回、我々は、妊娠2ヶ月目に発症した抗MuSK抗体陽性のMG症例を妊娠・出産・産後を通じて治療し、そして、TNMGが疑われた出生児を経験した。

症例

30歳女性。生来健康。妊娠2ヶ月時に夕方の倦怠感・喉の違和感が出現。妊娠3カ月目に同僚に呂律が回っていないことを指摘された。その後、食事をしていないと噛めなくなり飲み込むのが難しく、唇の力が弱く水がこぼれてしまうため妊娠5カ月時に当科初診。

極軽度の眼瞼下垂あり。両側の軽度の外転障害があり側方で複視。両側眼輪筋4口輪筋3/5。笑い顔がつかれない。舌筋3-4/5。食事はのどをこすのがむづかしい。構音障害あり。頸筋4-3/5。テンシロンテスト陽性。抗AChR抗体陰性。抗MuSK抗体陽性3.25nmol/L(0.05以下)。反復誘発筋電図は正常範囲。胸MRIでは胸腺腫なし。その後も球症状は増悪し食事の全量摂取が困難となったため

臭化ピリドスチグミン、プレドニゾロン開始。易疲労性が目立ちしゃべり始めると1分以内に呂律困難となった。安静にし食事工夫すれば食べられるようになったため一旦退院とした。

妊娠8ヶ月に入って特に誘因はなく球症状が増悪し四肢の脱力が目立つ時間が増えてきた。顔面筋・舌筋・四肢近位筋障害のため入院。両側の外転障害、易疲労性、鼻声、嚥下障害は続いた。産婦人科と綿密に相談し、妊娠38週第1日に帝王切開を予定し、37週第1日から単純血漿交換2Lを連日3回行った(5%アルブミン置換)。血漿交換初日より舌筋が改善した。翌日にはさらに筋力が改善した。開始4日目には側方の複視以外は、MG症状は無くなった。血漿交換終了4日目に帝王切開で女兒を無事出産した。症状はなかった。(抗MuSK抗体陽性1.38nmol/L)。

産後2日目にタクロリムス開始。血漿交換終了14日目(産後10日目)よりのどのつかえる感じと構音障害が出現した。産後13日目にステロイドパルス(ソルメドロール1000mg、3日間)を行ない、経口PSL15mgへ増量。軽度の初期増悪あり。産後20日目(血漿交換終了24日目)に2クール目のステロイドパルスを行ったが回復は不十分であった。産後の増悪と、血漿交換の効果の切れが重なったと考えられた。退院時、眼球運動障害、構音障害、四肢脱力あり噛む力が弱い状態であった。

症状の回復は不十分でパルス終了2ヶ月経

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科(第一内科)

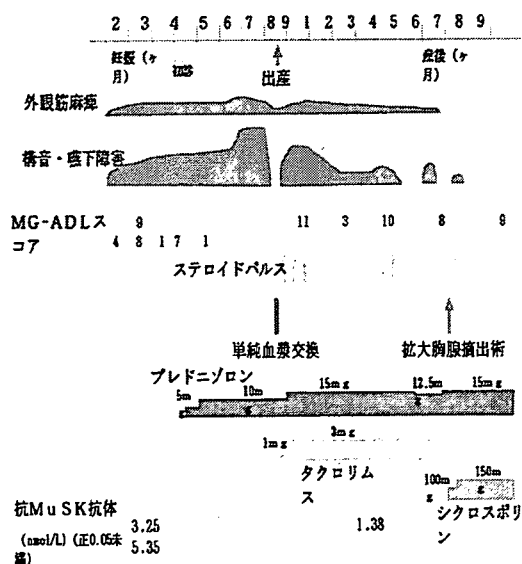
2) 広島市立広島市民病院神経内科

3) 長崎大保健学科

過し球症状は軽度増悪（産後3ヶ月、血清の抗MuSK抗体 5.35）。前回パルス終了より104日目に追加のステロイドパルスを行った。初期増悪なし。PSLを12.5mgに減量したところ球症状や四肢脱力が増悪。プログラフをネオオーラルに変更しPSLを増量し追加のステロイドパルスを行った。パルス終了2週間後に拡大胸腺摘出術をおこなった。術直後に眼球運動が改善。複視も消失。球症状も改善し術後2週間ですべてのMG症状が消失した（MG発症後初めて）。術後16日目（前回パルス終了より30日目）よりMG症状が増悪しステロイドパルスの追加投与2クールを行い症状は軽減した。退院時現在、当科外来に通院中である（図1）。

出生児（血清の抗MuSK抗体0.88nmol/L、臍帯血0.60nmol/L）：2482g、身長47cmの女児。出産時APS9/9。生後呼吸障害なく酸素は不要で無呼吸なし。生下時血糖38mg/dl。日齢1までに3回嘔吐あるも病的意味はなし。呼吸、四肢の動きはよいが、ほ乳力が弱く日齢1日から14日までレビン栄養を行った（図2）。日齢1-7日は哺乳力が特に弱く以後増強してきた。出産時の

図1



低血糖はlight for dayのためと考えられた。以後発達には問題ない。出生3ヵ月後の血清の抗MuSK抗体は陰性となった。

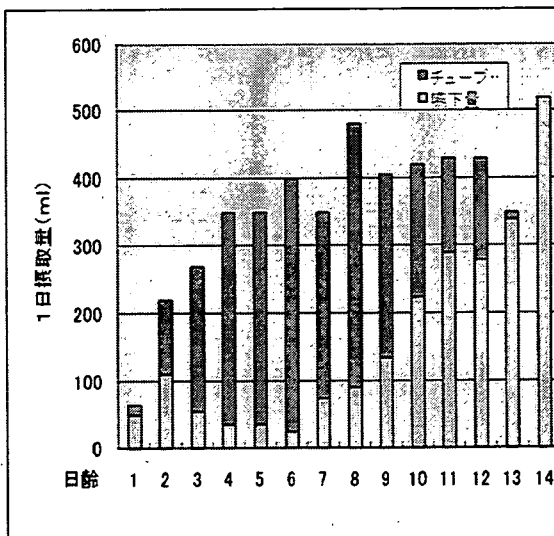
考察

出生児は一過性に抗MuSK抗体を認め約2週間哺乳力の低下を認めた。MG症状がはっきりしなかったが、抗MuSK抗体の胎盤通過性が証明されている^{b)}。本例は、新生児MGが強く疑われた初めての報告である。

文献

- a) Vincent A, McConville J, Farrugia ME: Antibodies in myasthenia gravis and related disorders. Ann N Y Acad Sci. 998:324-335, 2003.
- b) 日比喜子, 安野哲也, 岡野創造: 抗MuSK抗体陽性重症筋無力症母体より出生した児の1例. 日本周産期・新生児医学会誌 43: 127-130, 2007.

図2



ヒト MuSK 自己抗体がラット運動終板再生に及ぼす影響

分担研究者 ○本村政勝¹⁾

共同研究者 徳田昌紘¹⁾、立石洋平¹⁾、福田 卓¹⁾、佐藤克也¹⁾、

西浦義博¹⁾、辻野 彰¹⁾、江口勝美¹⁾、吉村俊朗²⁾

研究要旨

[目的]筋特異的チロシンキナーゼ (MuSK) 自己抗体を有する重症筋無力症患者の運動終板では、アセチルコリン受容体の密度や運動終板後膜のシナプス密度は保たれ、終板面積が狭小化している。ヒト抗 MuSK 抗体がラットの運動終板形成に及ぼす影響に関して、ヒトと類似しているかを検討する。[対象・方法] ルイスラットのひらめ筋に塩酸ピバカイン 0.5ml を投与し、壊死、再生を生じさせた。その後、抗 MuSK 抗体を有する患者 IgG をラットに静脈投与した。コントロールとして、健常者ヒト IgG を使用した。4 週目にひらめ筋を剔出し、運動終板を観察した。[結果] 抗 MuSK 抗体陽性 IgG では、運動終板の受容体の減少は観察されず、補体の沈着もなかった。微細構造の変化では終板面積は減少し、postsynaptic membrane 密度は保たれていた。[結論] ヒト抗 MuSK 自己抗体は、ラットにおいてもヒト運動終板と類似の変化をもたらした。

研究目的

重症筋無力症 (MG) は幾つかの自己抗体が関与する自己免疫疾患であり、約 80% の患者でニコチンアセチルコリンレセプター

(AChR) 抗体が検出される。しかし、全身型の MG の 20% で AChR 抗体の検出がなされない。この 33% で抗 MuSK 自己抗体陽性の患者が存在する。MuSK 自己抗体を有する患者の運動終板では、運動終板後膜のシナプス密度は保たれ、終板面積が狭小化していることを報告した。MuSK 抗体陽性患者の運動終板の病理では、補体介在性破壊はないものの、その発症機序は不明である。その機序を探求するために、ヒト抗 MuSK 抗体がラットの運動終板形成に及ぼす影響を検討した。

研究方法

1) ラット体内におけるヒト IgG の動態：ルイスラットに抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者、抗 AChR 抗体陽性 MG 患者、そして、健常者のヒト IgG (50-100mg、0.25-0.5 g/kg でヒトの大量 IVIg 治療に相当) を静注し、48 時間後・1 週間後・2 週間後の IgG 血中濃度測定を行った。

2) 運動終板破壊・再生実験：上記の検討で、

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・展開医療科学講座 (第一内科・神経内科)

2) 長崎大学保健学科

ヒト IgG 静脈投与は 2 週に 1 回で十分であると判断した。今回は、ヒト抗 MuSK 抗体を有する 2 名の患者 (抗体価 10.5nmol/L と 15.4nmol/L) の IgG を抽出し、ラットに尾静脈から投与した (濃度 70mg/ml と 71mg/ml) を、以下のプロトコルに従い、8 週齢のオスルイスラット (200g) を用いて行った。1) エーテルで麻酔したラットのひらめ筋に塩酸ピバカイン 0.8ml を投与し、壊死、再生を生じさせた。2) マーカイン投与後、3 日目に第一回、17 日目に第 2 回目の IgG を静脈投与した。コントロールとして、健常者ヒト IgG (濃度 70mg/ml) を使用した。3) 4 週目にひらめ筋を剔出し、一部を凍結切片に、一部を 3% グルタルに固定した。

3) 運動終板病理：1) ペルオキシダーゼでラベルした α -バンガロトキシンを使用し、運動終板の AChR を定量評価した。また、抗 C3 抗体 (Dako 社) を用いて、運動終板に免疫複合体の有無を検討した。2) 電子顕微鏡による微細構造の評価は、エポキシに包埋後、3000 倍、10000 倍で写真撮影後、NIH イメージを使用し、従来の運動終板の計測を行った (図 1)。

4) 免疫動物実験プロトコル：今回の実験は長崎大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

研究結果

- 1) ラット体内におけるヒト IgG の動態：ヒト IgG 血中濃度・ヒト抗 MuSK 抗体 (IgG) とともに投与から時間の経過により血中濃度が低下し、半減期は約 2 週間であった。
- 2) 運動終板破壊・再生実験：1) 抗 MuSK 抗体陽性 IgG では、運動終板の AChR 受容体の減少は観察されず、補体の沈着もなかった。2) 微細構造の変化では終板面積は減少し、postsynaptic membrane 密度は保たれていた (図 2)。

考察

まずは、予備実験をしてラットに大量のヒト IgG を静脈投与し、経時的にその動態を検討

した。その結果、今回の実験には、ヒト IgG 静脈投与は 2 週に 1 回で十分であると判断した。そのプロトコールに従って、ラットの運動終板を破壊・再生させ、抗 MuSK 抗体を十分量投与し、その影響を電子顕微鏡を用いて観察した。その結果、抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者で認められる微細構造とほぼ同じ変化が認められ、その病原性の証拠が得られた。

結論

ヒト抗 MuSK 自己抗体は、ラットの再生筋の運動終板においてもヒト MG 患者の運動終板と類似の変化をもたらした。抗 MuSK 自己抗体は Postsynaptic area の形成に影響を及ぼす。

図1 神経筋接合部の微細構造の解析

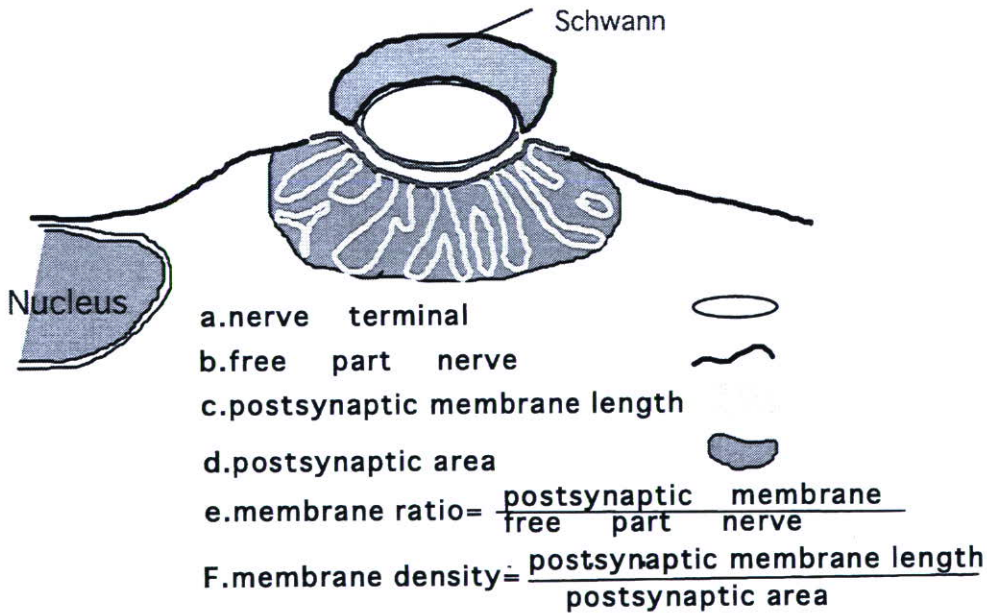
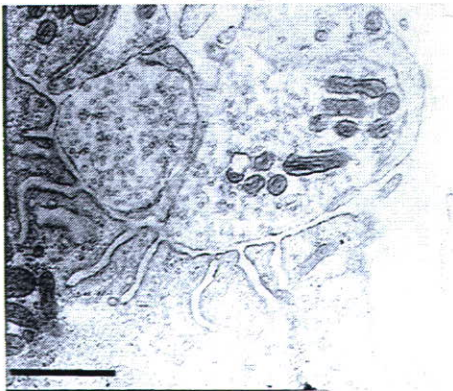
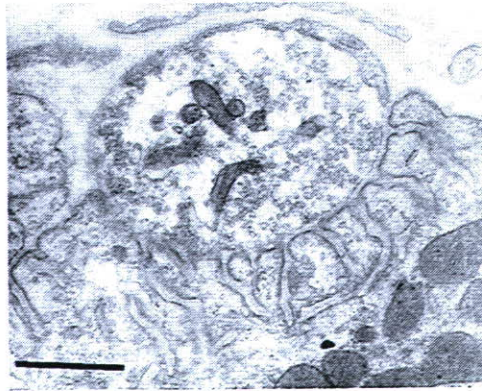


図2 MuSK-IgG



Control-IgG

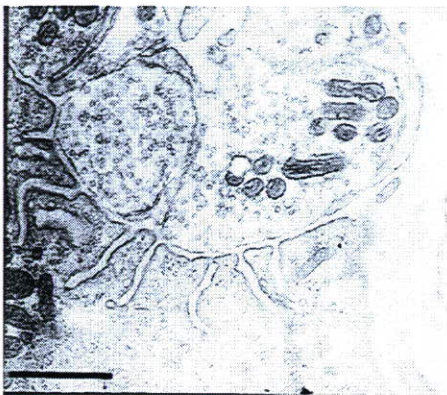


Bar=1 μm

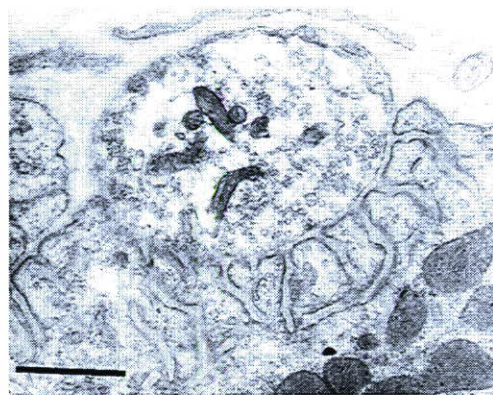
ヒトMuSK自己抗体がラット 運動終板再生に及ぼす影響

ラットの神経筋接合部：電子顕微鏡による微細構造

MuSK-IgG



Control-IgG



Bar=1 μ m

解 説

- 1) ラット体内におけるヒトIgGの動態：ヒトIgG血中濃度・ヒト抗MuSK抗体 (IgG) とともに投与から時間の経過により血中濃度が低下し、半減期は約2週間であった。
- 2) 運動終板破壊・再生実験：1) 抗MuSK抗体陽性IgGでは、運動終板のAChR受容体の減少は観察されず、補体の沈着もなかった。2) 微細構造の変化では終板面積は減少し、postsynaptic membrane 密度は保たれていた (上図)。

抗MuSK抗体陽性MG患者IgGの作用の検討

—AChE との関連性について—

分担研究者 松尾秀徳¹⁾

共同研究者 福留隆泰¹⁾、本村政勝²⁾

研究要旨

全身型重症筋無力症 (MG) の病因となる抗体として、抗アセチルコリンレセプター (AChR) 抗体や抗 muscle-specific receptor tyrosine kinase (MuSK) 抗体が知られている。われわれは、抗 MuSK 抗体陽性 MG 患者の IgG をマウスにパッシブトランスファーすることで抗 AChR 抗体陽性 MG 患者と同様の神経筋伝達阻害を呈することを報告している。MuSK の作用として神経筋接合部における AChE の集積に関与しているという報告があることから、抗 MuSK 抗体がアセチルコリンエステラーゼ (AChE) に及ぼす作用について微小電極法を用いて検討した。抗 MuSK 抗体は AChE の作用を阻害して AChR の開口時間を延長する可能性が示唆された。これは抗 AChR 抗体では認められず抗 MuSK 抗体に特徴的な作用と考えられ、抗 MuSK 抗体陽性の MG 患者の発症機序の一つである可能性がある。

研究目的

神経筋接合部におけ AChE の集積に関与している分子として、collagen Q (ColQ) や perlecan 及び MuSK が報告されている。AChE の集積が阻害されると終板領域での acetylcholine (ACh) 量が増加し AChR チャネルの開口時間が延長する。ColQ の遺伝子変異 (終板 AChE 欠損症) では患者生検筋で、perlecan の遺伝子変異 (Schwartz-Jampel 症候群) ではモデルマウスで AChR チャネルの開口時間が延長していることが微小電極法により示されている。本研究では抗 MuSK 抗体が AChR チャネルの開口時間に及ぼす作用について微小電極法で検討した。

研究方法

1. 正常コントロール3名と抗 AChR 抗体陽性重症筋無力症 (AChR-MG) 患者3名および抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症 (MuSK-MG) 患者4名の血清から IgG を精製し、8~10 週齢の BKTO マウスへ静注した。36~48 時間後に横隔膜神経筋標本を用いて微小電極法で MEPP と EPP を記録し、減衰時間定数 (τ) を測定した。

2. MuSK 蛋白と完全フロイントアジュバントで3匹の Lewis ラットを免疫する。抗 MuSK 抗体が陽性となった後に横隔膜神経筋標本を作製し微小電極法を用いて MEPP と EPP を記録し、同様に τ を測定した。

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、動物愛護の観点より当施設の実験動物取り扱い規定を遵守して行われた。

研究結果

1. 正常コントロール IgG を静注した場合、MEPP 振=1.35±0.06、EPP quantal content (m)=35.5±2.9 で MEPP (τ)=1.63±0.05、EPP (τ)=1.80±0.06 であった。AChR-MG 患者 IgG を静注した場合、MEPP 振幅が低下したが m は不変であった。MEPP (τ) と EPP (τ) はコントロールと比べて差がなかった。MuSK-MG 患者 IgG を静注した場合、全例で MEPP 振幅が低下した。 m は1例を除き差がなかった。MEPP (τ) と EPP (τ) は全例で有意に延長していた (表1)。

2. MuSK 蛋白で免疫したラットでは抗 MuSK 抗体は陽性となったが、MEPP 振幅や m はコントロールと比べて変化を認めなかった。MEPP (τ) と EPP (τ) もコントロールと比べて明らかな変化を認めなかった。

	MEPP振幅 (mV)	MEPP (τ)	EPP (m)	EPP (τ)
Control (n=3)	1.35 ± 0.06	1.63 ± 0.05	35.5 ± 2.9	1.80 ± 0.06
AChR-MG (n=3)	0.73 ± 0.04*	1.78 ± 0.05	39.9 ± 2.5	1.76 ± 0.07
MuSK-MG1	0.97 ± 0.06*	3.11 ± 0.14*	35.4 ± 1.7	2.58 ± 0.11*
MuSK-MG2	0.92 ± 0.06*	1.93 ± 0.14*	24.7 ± 2.3*	2.14 ± 0.07*
MuSK-MG3	0.88 ± 0.04*	2.00 ± 0.05*	40.6 ± 1.7	2.15 ± 0.05*
MuSK-MG4	0.74 ± 0.08*	2.59 ± 0.06*	39.9 ± 3.4	2.61 ± 0.13*

m : quantal content

*P<0.001

表1. MuSK-MG 患者 IgG の受動免疫実験結果

¹⁾NHO 長崎神経医療センター神経内科

²⁾長崎大学第一内科

	MEPP振幅 (mV)	MEPP (τ)	EPP (m)	EPP (τ)
Control-1	0.52 ± 0.04	2.57 ± 0.25	n.d.	n.d.
Control-2	0.49 ± 0.02	2.00 ± 0.19	43.0 ± 4.0	1.92 ± 0.15
MuSK-1	0.49 ± 0.01	1.66 ± 0.20	n.d.	n.d.
MuSK-2	0.56 ± 0.02	1.76 ± 0.25	42.0 ± 3.9	2.36 ± 0.11
MuSK-3	0.50 ± 0.02	2.85 ± 0.16	n.d.	n.d.

表 2. MuSK 免疫ラットの実験結果

考察

MEPP (τ) や EPP (τ) は AChR チャンネルの開口時間と相関があり、 τ の延長は開口時間の延長を示している。 τ が延長する機序としては、運動終板で AChE が減少して ACh が過量になることで AChR チャンネルが開口を繰り返すことが考えられている。開口時間の延長は脱分極性ブロックを生じて筋力低下の原因となり得る。また、ACh がシナプス間隙で過量になると AChR チャンネルは脱感作を生じて開口しなくなり筋力低下の原因となり得る。

抗 MuSK 抗体を静注すると MEPP 振幅が低下し、AChR-MG と類似した神経筋伝達阻害を示すが、AChE の作用も阻害する可能性が示された。

MuSK 蛋白で免疫したラットでは抗 MuSK 抗体が陽性になったが、 τ の延長は示さなかった。例数を増やすと共にネオスチグミンに対する反応性をみる必要がある。このラットでは MEPP 振幅も低下していなかったことから、抗 MuSK 抗体量が不十分であった可能性も考えられる。

結論

抗 MuSK 抗体が陽性の重症筋無力症の発症機序として AChE の作用を阻害する可能性が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症患者胸腺における制御性 T 細胞と Th17 細胞の解析

班員 梶 龍兒¹⁾

共同研究者 松井尚子¹⁾, 中根俊成¹⁾, 三ツ井貴夫¹⁾, 近藤和也²⁾, 高浜洋介³⁾

研究要旨

重症筋無力症(Myasthenia Gravis, MG)は神経筋接合部を標的とする自己免疫疾患である。胸腺は T リンパ球の分化成熟をつかさどる器官であり、MG の発症や臨床経過に深く関与していると言われている。今回我々は、自己免疫疾患の発症と関連する制御性 T 細胞 (Treg) と、IL17 を産生し自己免疫疾患の病態に関与する Th17 細胞 (Th17) に着目して、ヒト胸腺を解析し MG の病態への関与を検討した。当院で胸腺摘出術を施行された胸腺凍結標本を用い、免疫組織染色を行ったのち、共焦点レーザー顕微鏡による多重蛍光解析を用いて Foxp3 ならびに IL17 の発現を確認した。その結果、MG 合併の正常胸腺や過形成では Treg は減少していることを確認した。また MG 胸腺においては、組織型にかかわらず、Th17 の発現が増加していた。MG 胸腺においては Treg/Th17 バランスが変化している可能性が示唆された。

研究目的

これまで我々は、重症筋無力症 (MG) 患者に対し、胸腺摘出術を中心とした治療を精力的に行ってきた。平成 17 年度「免疫性神経疾患に関する調査研究班」班会議においては、当院における MG 患者 91 例の疫学的動向や臨床学的特徴について報告を行った。また MG 患者では胸腺腫や胸腺過形成などの胸腺異常を高率に合併し、一部の患者においては胸腺摘出術により、症状の著明な改善を認めることより、MG の病態に胸腺が何らかの関わりを持っていると認識されている。近年、自己反応性 T 細胞を制御し免疫寛容に大きな役割

を果たす制御性 T 細胞 (Treg) や、IL17 を産生し、自己免疫疾患の病態に関与する Th17 細胞 (Th17) のなど存在が知られるようになってきた。MG の発症において T 細胞が重要な役割を担っていると考えられているが、患者胸腺における Treg や Th17 についてはこれまで一定の傾向は報告されていない。今回我々は、MG 患者胸腺における Treg と Th17 の発現を解析することにより、胸腺における Treg や Th17 が MG の病態にどのように関与しているか検討を行った。

研究方法

対象として 1986 年から 2007 年の間、当施設にて胸腺摘出術を施行された 30 例の胸腺凍結標本を用いた。内訳は MG 非合併 9 例 (①新生児の正常胸腺 5 例, ②胸腺腫 4 例) と MG

1) 徳島大学神経内科

2) 徳島大学医学部保健学科成人高齢者看護学

3) 徳島大学ゲノム機能研究センター遺伝子実験施設