

201324112B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Isaacs 症候群の診断、疫学
および病態解明に関する研究

平成 23 年度～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 渡邊 修

平成 28 (2016) 年 12 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Isaacs 症候群の診断、疫学
および病態解明に関する研究

平成 23 年度～25 年度 総合研究報告書

研究代表者 渡邊 修

平成 28 (2016) 年 12 月

目次

I.総合研究報告	1
II.研究成果解説資料	7

I 総合研究報告

Isaacs 症候群の診断、疫学および病態解明に関する研究

研究代表者：鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経内科・老年病学講師 渡邊 修

1. 研究目的

抗 VGKC 複合体抗体 (VGKC-Ab) が関連する疾患は、末梢神経の過剰興奮症状による Isaacs 症候群 (IS) から、亜急性の自己免疫性辺縁系脳炎 (VGKC-LE) まで、多岐にわたる。また、末梢神経の過剰興奮症状に加え、不整脈に伴う失神や重篤な便秘など自律神経症状、不眠や失見当識などの中枢神経症状を合併する稀な疾患である Morvan 症候群 (MoS) もこれに含まれる。これらの疾患の我が国における発生頻度など疫学は明らかになっていない。抗 VGKC 複合体抗体のスクリーニングを依頼された検体・臨床情報から、頻度などを明らし、それぞれにおける自己抗体の真の標的抗原を明らかにする。IS については、臨床像、電気生理所見、血清学的診断を中心とした暫定診断基準を作成する。

2. 研究方法

平成 21 年以降、25 年 10 月までに依頼を受けた延べ 1085 件を対象とした。抗 VGKC 複合体抗体 >400pM で抽出を行った。ラット海馬初代培養神経細胞表面に反応する自己抗体を認めた場合は、質量分析を用いて、新規標的抗原を同定した。対照も含め 246 検体で、既知の LGI-1、Caspr-2 に加え、新たに同定した標的抗原のうち主要なもの (DCC および DPP10) に対して、Cell-Based を用いた免疫生化学的定性試験と Cell-Based ELISA による定量試験を行った。本研究は、鹿児島大学の倫理規定を遵守して行った。

3. 結果および考察

H21 年以降の当科にスクリーニング検査依頼があった 1085 検体中、Isaacs 症例検体は 257 で、うち 81 検体 (32.1%) のみが抗体陽性であった。IS について下記の暫定診断基準を作成した。

	抗体測定依頼件数	Isaacs 症候群検体数	抗体陽性検体数	抗体陽性率%
H21 年	255	31	10	32.3
H22 年	229	48	21	43.8
H23 年	283	47	13	27.7
H24 年	318	59	18	30.5
H25 年	439	72	19	26.4
合計	1085	257	81	32.1

陰性検体は、単回測定に止まり、陽性検体は、経過を追うために複数回測定依頼がある。

【Isaacs 症候群診断基準 (暫定案)】

主要症状・所見

1. 睡眠時にも持続する四肢・躯幹の持続性筋けいれんまたは筋硬直 (必須)
2. myokymic discharge, neuromyotonic discharge など筋電図で末梢神経の過剰興奮を示す所見
3. 抗 VGKC 複合体抗体 (抗 Kv 抗体、抗 Caspr2 抗体、抗 LGI1 抗体など) が陽性
4. ステロイド療法やその他の免疫療法、血漿交換などで症状の軽減が認められる。

支持症状・所見

1. 発汗過多
2. 四肢の痛み・異常感覚
3. 胸腺腫の存在
4. 皮膚色調の変化
5. 自己抗体の存在 (抗 AChR 抗体、抗核抗体、抗甲状腺抗体など)

診断

確実 (definite)

主要症状・所見のうちすべてを満たす。

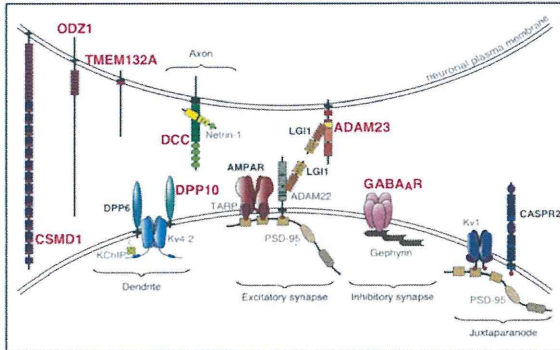
可能性が大きい (probable)

主要症状・所見のうち、1 と 2 または 1 と 3 または 1 と 4 を満たす。

疑い (possible)

主要症状・所見のうち 1 を満たし、かつ支持症状・所見の 1 つ以上が見られる。

抗 VGKC 複合体抗体関連疾患において、6 つの新規抗原 (DCC、DPP10、TMEN132A、ODZ1、CSMD1、GABA_AR、ADAM23) を同定した。



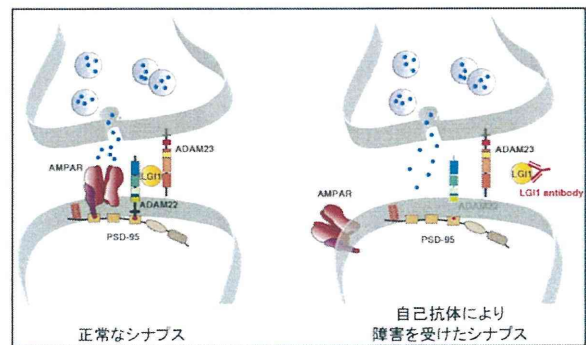
新たに開発した Cell Based ELISA による各抗体の定量により、臨床徴候の関連を明らかにした。LGI-1 抗体は、記憶障害と強くリンクし、Caspr-2 抗体は、筋けいれんと胸腺腫に関連していた。DCC 抗体は、胸腺腫と重症筋無力症の合併例に認められた。

	total		LGI-1		LGI-1 alone		CASPR-2		DCC		DPP10	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	臨床徴候											
記憶障害	77	27	0.0004	23	0.0006	4	NS	5	NS	3	NS	
嚥下	87	26	0.0106	22	0.0187	4	NS	5	NS	3	NS	
てんかん	62	22	0.0052	21	0.0021	2	NS	1	NS	1	NS	
ニューロオプトニア	47	6	NS	7	NS	11	0.0001	7	0.0404	4	0.0255	
胸腺腫	18	8	0.0372	3	NS	10	0.0001	10	0.0001	4	0.0038	
重症筋無力症	5	1	NS	0	NS	3	0.004	5	0.0001	2	0.0092	
自律神経障害	27	6	NS	4	NS	6	0.0178	5	NS	3	NS	
VGKC-Ab (+40%)	69	32	<0.0001	26	<0.0001	11	0.0016	11	0.0016	4	NS	
	診断											
辺縁系脳炎	59	29	<0.0001	26	<0.0001	3	NS	4	NS	1	NS	
NM1 Ma5	35	5	NS	2	NS	9	0.0001	7	0.0036	3	NS	
その他	51	0	NS	0	NS	0	NS	1	NS	1	NS	

さらに LGI-1 抗体の機能解析を行ったところ、この抗体により、LGI-1 とその受容体である ADAM22 との結合が阻害されることを明らかにした。その結果、AMPA 型グルタミン酸受容体の数の減少が引き起こされることを明らかにした。

IS 症例での抗 VGKC 複合体抗体陽性率は、約 3 割であるが、抗体陽性者のうち 7 割弱が、未知の抗原に対しての自己抗原を有している。また 2 割強で、中枢神経症状に関与する抗 LGI-1 抗体が陽性であった。IS においては、

感度のよい疾患マーカーなど未解明な部分も多い。VGKC-LE 群では、約 8 割で抗 LGI-1 抗体が陽性であり、この抗体が病態と強く関連している。AMPA 受容体を介したシナプス伝達の制御機構は記憶、学習の根幹を成すと考えられていることから、LGI1 抗体による AMPA 受容体機能制御の破綻は辺縁系脳炎の記憶障害やてんかん症状を引き起こすと考えられる。



4. 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

自己抗体の疾患マーカーとしての有用性のみならず、LGI-1 抗体が、間接的にシナプスでの AMPA 型受容体の機能を損なうという知見は、自己抗体による記憶障害やてんかん発症の病態を明らかにするのである。

5. 今後の展望

IS については、今回作成した診断基準をもとに疫学を進展させることが出来る。また今回の新規抗原を同定した手法を用いて、他の神経系についても新規抗原を同定することが出来る。

6. 結論

IS は少なくとも年間 300 例程度発症していると推定される。

抗 VGKC 複合体関連疾患においては、

LGI-1 や Caspr-2 以外に多彩な標的抗原が存在することが明らかになった。

LGI1 抗体による AMPA 受容体機能制御の破綻は辺縁系脳炎の記憶障害やてんかん症状を引き起こすと考えられる。

研究発表

(1) 国内

口頭発表 16 件
原著論文による発表 5 件
それ以外（レビュー等）による発表 12 件
そのうち主なもの

発表論文

1. 渡邊 修. 抗 LGI-1(leucine rich glioma inactivated 1 protein) 抗体関連脳炎. Annual Review 2012 神経. 鈴木則宏ら編. 122-129. 中外医学社（東京）
2. 渡邊 修. 抗 VGKC 複合体抗体が関連する Isaacs 症候群、Morvan 症候群、辺縁系脳炎. Annual Review 2015 神経. 鈴木則宏ら編. 93-99. 中外医学社（東京）
3. 渡邊 修. Isaacs 症候群と Morvan 症候群. 免疫性神経疾患ハンドブック. 楠進編. 2013. 南江堂（東京）
4. 渡邊 修. 免疫性神経疾患と不随意運動. パーキンソン病と運動異常. 高橋良輔編. 220-227. 中山書店（東京）. 2013
5. 渡邊 修. VGKC 関連抗体. Brain and Nerve 2013 65(4) 401-411
6. 渡邊 修. 抗 VGKC 複合体抗体と免疫性神経疾患. 日本臨牀 2013 71(5) 915-920
7. 渡邊 修. 抗 VGKC 複合体抗体を伴った辺縁系脳炎. 神経症候群（第二版）. 水澤英洋編. 723-727. 日本臨牀（東京）. 2014
8. 村田佳子、渡邊修ら（8 人中 2 番目）Faciobrachial dystonic seizures を呈し

た抗電位依存性カリウムチャンネル複合体(LGI-1)抗体関連辺縁系脳炎の 1 例. てんかん研究 2012 30 巻 1 号 Page43-50

9. 渡邊 修. 自己免疫性脳炎と認知症. Brain and Nerve 2016 68(4) 341-350.
10. 渡邊 修. VGKC 抗体関連脳症とその周辺疾患. Brain and Nerve 2016 68(9) 1011-1023.
11. 渡邊 修. 抗 VGKC 複合体抗体陽性の免疫性神経疾患の広がり. 医学のあゆみ. 255(5) 505-511. 2015

学会発表（主なもの）

1. 渡邊 修. シンポジウム受容体・イオンチャンネルに対する抗体を生じる神経疾患 VGKC 関連抗体と神経疾患. 第23回 日本神経免疫学会. 2011.9. 東京
2. 渡邊 修. シンポジウム自己免疫性脳炎とてんかん VGKC 複合体 (LGI-1,Caspr-2) 抗体関連脳炎とてんかん. 第43 回日本てんかん学会. 2012.10. 東京
3. 渡邊 修. シンポジウム神経疾患診療の進歩 自己免疫性脳炎の広がりとその進歩. 第52 回日本心身医学会学術集会. 2012. 5. 鹿児島
4. 渡邊 修. シンポジウム免疫性神経疾患の新しい展開：脳から自律神経障害まで Isaacs症候群とその周辺疾患. 第54回日本神経学会総会. 2013.5. 東京
5. 渡邊 修. シンポジウム難治性神経筋疾患におけるアフェレシス療法 VGKC 複合体抗体関連疾患におけるアフェレシス療法の有用性：up-to-date. 第34回日本アフェレシス学会学術大会. 2013.11. 軽

井沢

6. 渡邊 修. シンポジウムIII Autoimmune channelopathies-update- 抗VGKC複合体抗体に関する最近の話題～神経自己抗体によるチャンネル・受容体生涯のメカニズム～. 第26回日本神経免疫学会. 2014.9. 金沢市
7. 渡邊 修. シンポジウム：自己免疫性脳炎の最近の知見. 抗VGKC複合体抗体関連脳炎の最近の知見. 第55回日本神経学会. 2014.5.福岡市.
8. Osamu Watanabe. Neuroimmunology Cutting Edge Symposium: Immune-mediated channelopathy in neuroimmunological diseases. Neuro 2014 (第37回 日本神経科学会・国際会議). 2014.9. 横浜市
9. 渡邊 修. シンポジウムV Caspr-2抗体陽性CNS疾患：Morvan症候群の血清学的・臨床的特徴. 第48回日本てんかん学会. 2014.10. 東京都

(2) 海外

口頭発表 4 件

原著論文による発表 9 件

それ以外（レビュー等）による発表 0 件

そのうち主なもの

発表論文

1. Ohkawa T, Watanabe O, et al(9人中8番目 :co-corresponding author). Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. J Neurosci 2013 33(46): 18161-18174.

2. Ohkawa T, Watanabe O, et al(11人中9番目). Identification and Characterization of GABAA Receptor Autoantibodies in Autoimmune Encephalitis. J Neurosci 2014 34(24):8151-8163.
3. Irani SR, Watanabe O, et al (11人中8番目). Morvan syndrome: Clinical and serological observations in 29 cases. **Ann Neurol** 2012 72(2): 241-55.
4. Fujita K, Watanabe O, et al. (8人中3番目). Voltage-gated potassium channel complex antibodies in Creutzfeldt-Jakob disease. J Neurol. 2012 259:2249-50.
5. Kaneko K, Watanabe O, et al. (10人中8番目) . Anti-voltage-gated potassium channel antibody is associated with chronic autonomic and sensory neuropathy. J Neurol. 2012 260: 315-317.
6. Nozuma S, Watanabe O, et al. (7人中4番目) Familial clusters of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. PLOS ONE 2014.
7. Kanazawa K, Watanabe O, et al (10人中6番目) . Persistent frequent subclinical seizures and memory impairment after clinical remission in smoldering limbic encephalitis. Epileptic Disorder 16. 312-317. 2014.
8. Murata Y, Watanabe O, et al. (9人中2番目). A case of autoimmune epilepsy associated with anti-leucine-rich glioma inactivated subunit 1 antibodies manifesting electrical shock-like

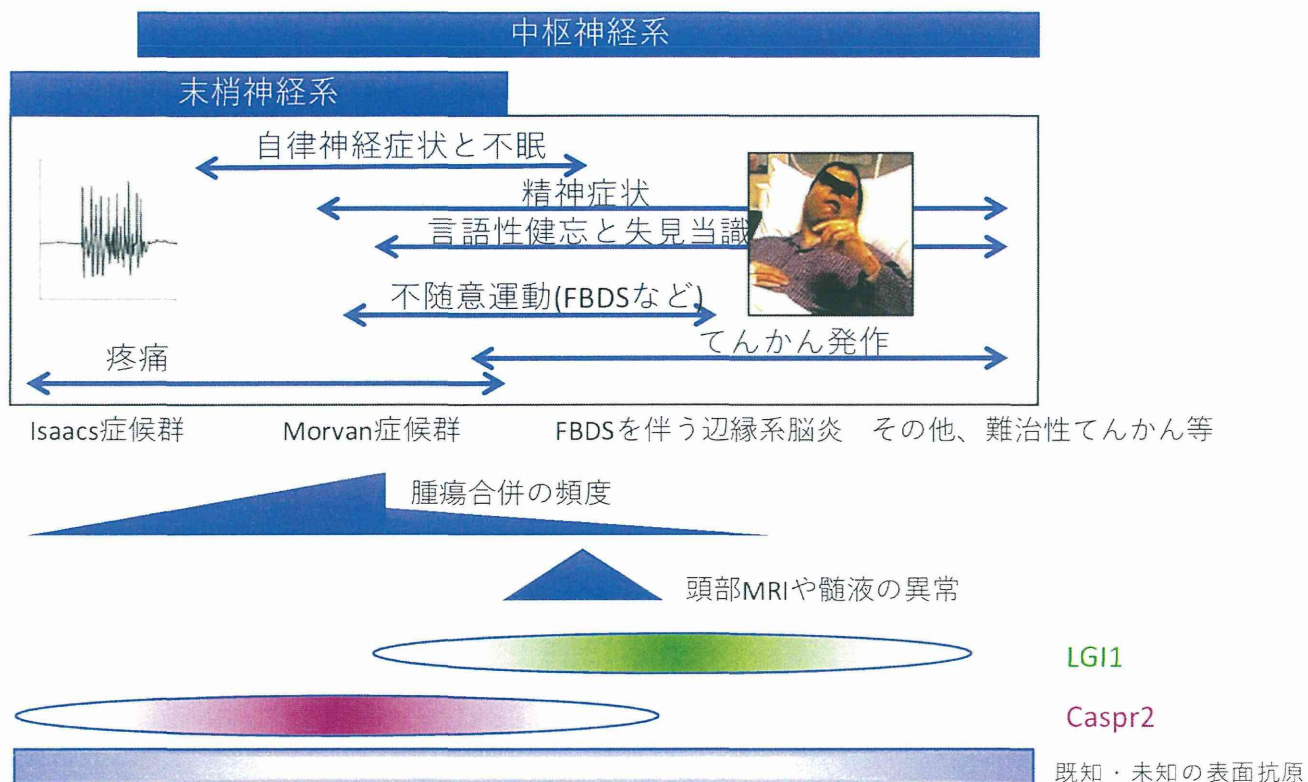
- sensations and transparent sadness. Epilepsy and Behavior Case Reports. 4. 91-93. 2015.
9. Misawa S, **Watanabe O**, et al. (24 人中 10 番目). Safety and efficacy of thalidomide in patients with POEMS syndrome: a multicentre, randomised, doubleblind, placebocontrolled trial. Lancet Neurol. 15(11). 1129-1137. 2016.
8. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
- (1) . 特許取得：なし
- (2) . 実用新案登録：なし
- (3) . その他：なし

学会発表

1. Osamu Watanabe, Masaki Fukata, et al. Target antigen analysis in anti-VGKC-complex-antibody-positive spectrum disorders. 20th World Congress of Neurology. 2011. 11. Marrakesh.
2. Osamu Watanabe, Masaki Fukata, et al. Target antigen analysis of acquired neuromyotonia (Isaacs' syndrome). 13th Asia Oceanian Congress of Neurology. 2012. 6. Melbourne.
3. Osamu Watanabe, Kimiyoshi Arimura, et al. Two cases of POEMS syndrome: initially misdiagnosed as CIDP. 20th World Congress of Neurology. 2013.9. Vienna.
4. Osamu Watanabe, Kimiyoshi Arimura, Satoshi Nozuma, Kumiko Michizono, Eiji Matsuura, Hiroshi Takashima. A proposal: Isaacs' syndrome (acquired neuromyotonia) diagnostic criteria. 22nd World Congress of Neurology. 2015.10. Santiago, Chili.

II 研究成果解説資料

抗VGKC複合体抗体が関連する疾患スペクトラム



抗VGKC複合体抗体が病態と関連する疾患には、末梢神経の過剰興奮を呈するアイザックス症候群、末梢神経系・自律神経系・中枢神経系の様々な症状を呈するモルヴァン症候群、およびFBDSが先行し、ADH分泌不全症候群（SIADH）による低ナトリウム血症を伴う特徴的な辺縁系脳炎がある。

ニューロミオトニアや疼痛はCaspr-2抗体と、FBDSやSIADHおよび健忘はLGI-1抗体と強く関連する。

多くのアイザックス症候群や難治性てんかん例では標的抗原は明らかになっていない。

アイザックス症候群（後天性ニューロミオトニア）：

A SYNDROME OF CONTINUOUS MUSCLE-FIBRE ACTIVITY (1961)

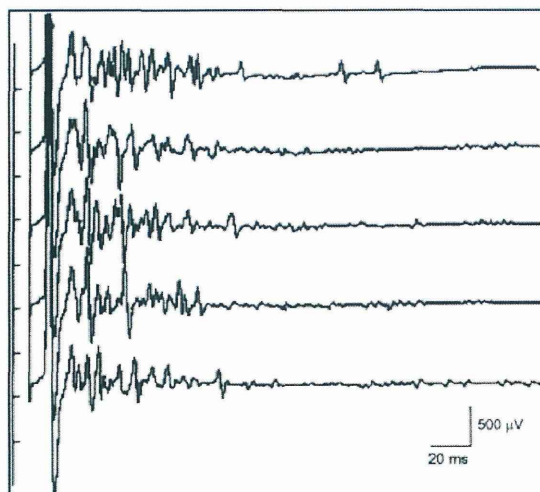
• 主要臨床徴候

- 筋硬直・筋けいれん・筋緊張の弛緩障害(neuromyotonia)
- ミオキミア、筋線維束れん縮、手指開排制限 (pseudomyotonia)
- 発汗過多、反射減弱

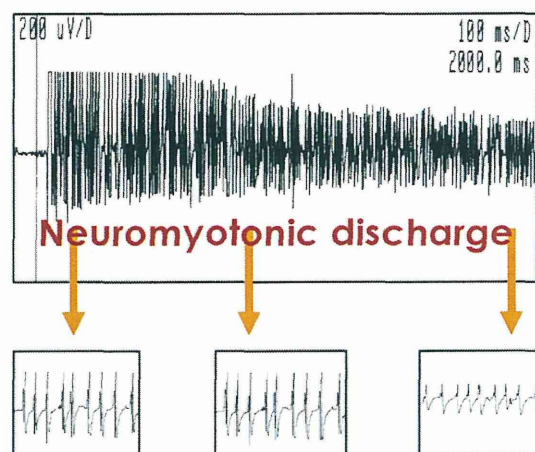
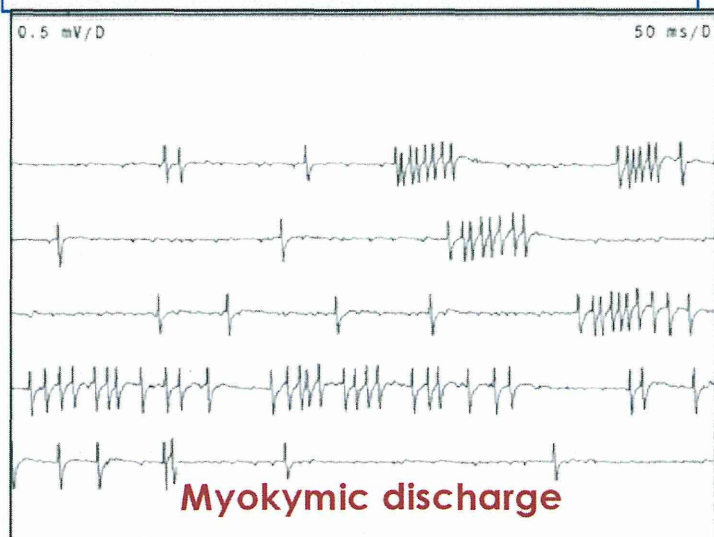
• 電気生理学的所見

- ミオキミア放電 (Myokymic discharges)
- ニューロミオトニア放電 (Neuromyotonic discharges)
- M波やF波後の反復放電

• 抗VGKC抗体陽性(<30%)



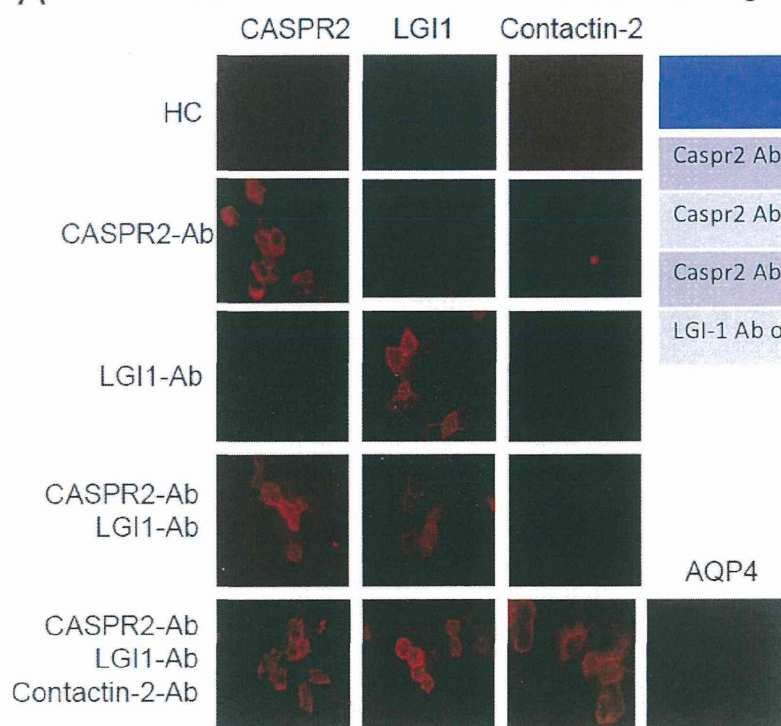
後脛骨神経記録のF波：cMAPの後に asynchronous after-discharges が観察される。



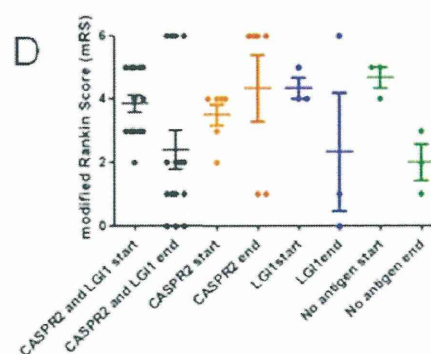
1. Isaacs症候群は、末梢神経の興奮性亢進による筋弛緩の遅延（ニューロミオトニア）、睡眠中も持続する四肢・躯幹の筋けいれんを主徴とする。
2. 抗VGKC複合体抗体の測定とともに、電気診断が非常に重要であり、ミオキミア放電やニューロミオトニア放電が重要な所見である。また神経伝導検査でF波後に観察される反復放電も重要な所見である。
3. これらの末梢神経の過剰興奮のメカニズムは、神経終末において抗VGKC複合体抗体によるカリウムチャネルの内在化が想定されている。

Morvan Syndrome: Clinical and Serological Observations in 29 Cases

A HEK cells transfected with cDNA encoding:



Pos Abs	Cases (n=27)
Caspr2 Ab + Contactin Ab + LGI-1 Ab	3
Caspr2 Ab + LGI-1 Ab	12
Caspr2 Ab only	6
LGI-1 Ab only	3

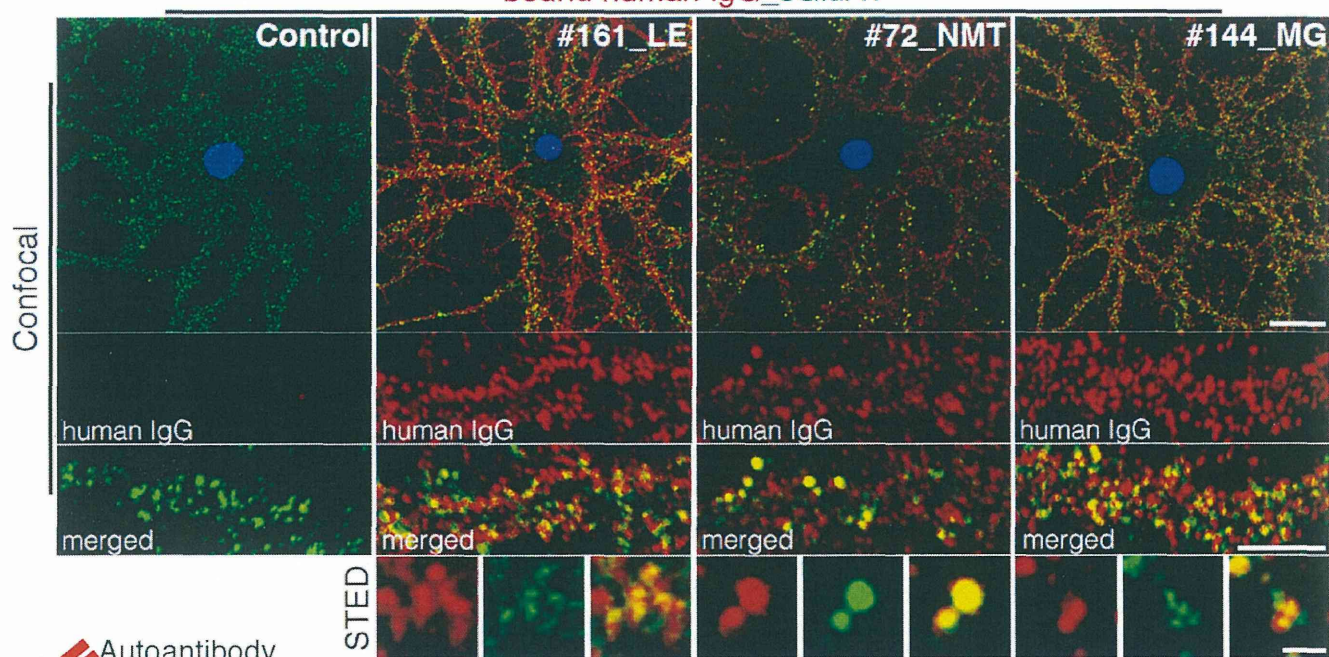


Irani, et al: ANN NEUROL 2012

- ❖ オックスフォード大学を中心とする国際共同研究に参加し、Morvan症候群の臨床像および自己抗体について明らかにした。
- ❖ 明らかに男性優位の（男女比9：1）中高年（中央値57歳、レンジ19-80歳）、かなり重篤な経過をたどる。
- ❖ 患者には昼夜逆転を伴う深刻な不眠が生じる。睡眠-覚醒のサイクルは乱れ、oneiric stupor、agrypnia excitataといわれるステレオタイプの不眠症状を呈する。自律神経障害はかなり重篤で、多臓器の機能を損なう。代表的な症状は、発汗過多、頻脈、血圧の乱高下、排尿障害である。精神神経症状としては、昏迷（65%）、記憶障害（55%）、幻覚（26%）が認められる。
- ❖ 体重減少、MG、および腫瘍合併はCASPR2抗体に関連。
- ❖ LGI-1抗体陽性18例中7例で低ナトリウム血症を合併。
- ❖ 妄想、幻覚、情動高揚などのCNS症状は、LGI-1抗体により依存していた。

Systematic identification of cell surface autoantigens targeted in neuroimmunological disorders

bound human IgG_sGluA1

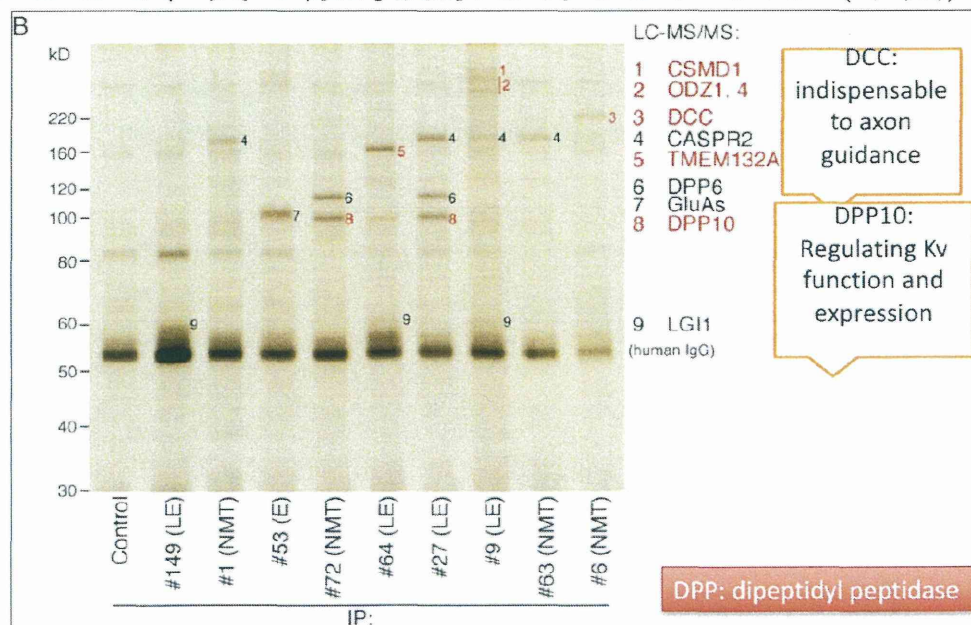


Purpose: In Japan, we clarified VGKC complex antibody positive patients having anti-LGI1 antibody/Caspr2 antibody or not and examined having new target antigen or not.

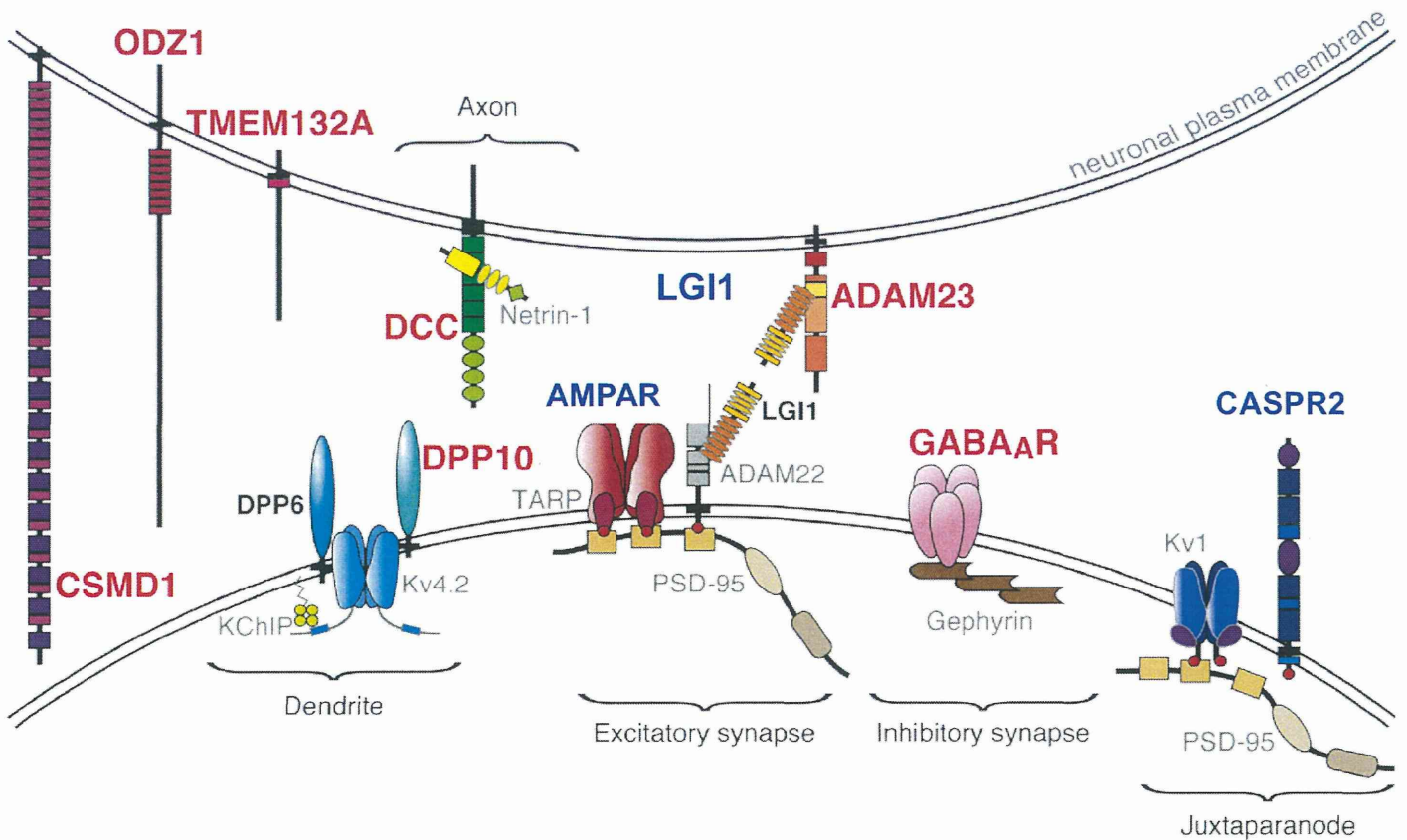
Ohkawa et al. J Neurosci 2013

まず、同じ抗VGKC複合体抗体が、患者により、ラット海馬初代培養ニューロンに対する結合パターンが異なることを発見した（上図）。

自己抗体と反応した海馬ニューロンをライブのまま免疫沈降を行い、その後、SDS-PAGEを行うとことなるバンドパターンを呈しており、疾患毎に優位に出現しているバンドに対して質量分析を行うことで、真の標的抗原を明らかにした（下図）。



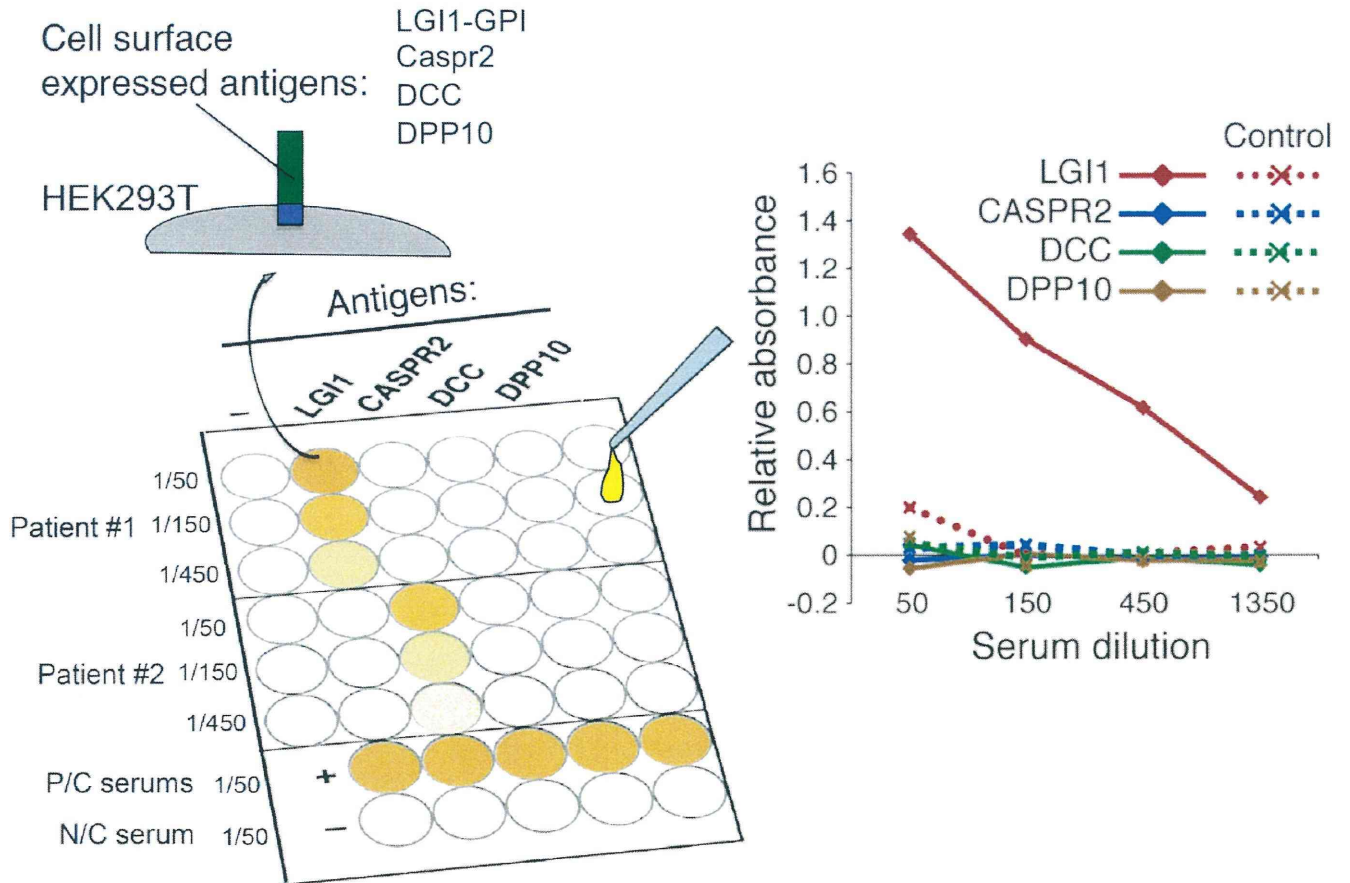
Known and newly identified autoantigens in immune-mediated CNS and PNS disorders



Ohkawa et al., J Neurosci 2013
 Ohkawa et al., J Neurosci 2014

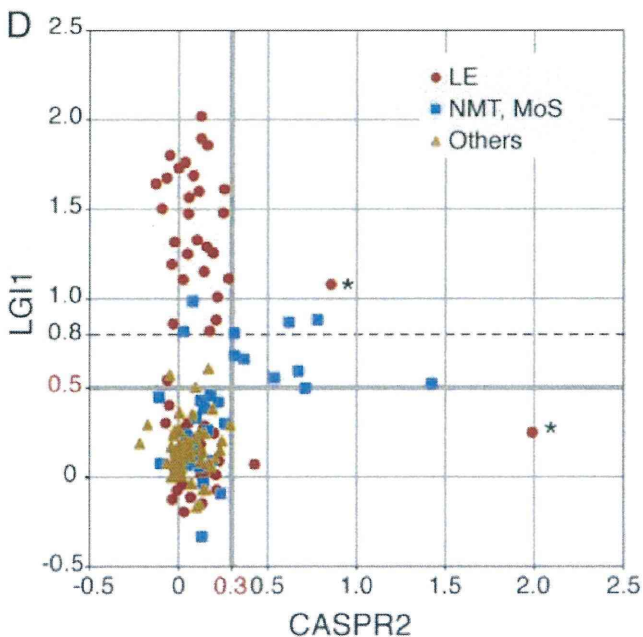
自己抗体は文字通り自己の蛋白質に対して反応し、細胞、組織、臓器に障害を引き起こします。今回、研究グループは脳神経細胞に対する既知の自己抗体（黒字の蛋白質に対する抗体）に加えて、さまざまな蛋白質に対する新規の自己抗体（赤字の蛋白質に対する抗体）を発見しました。

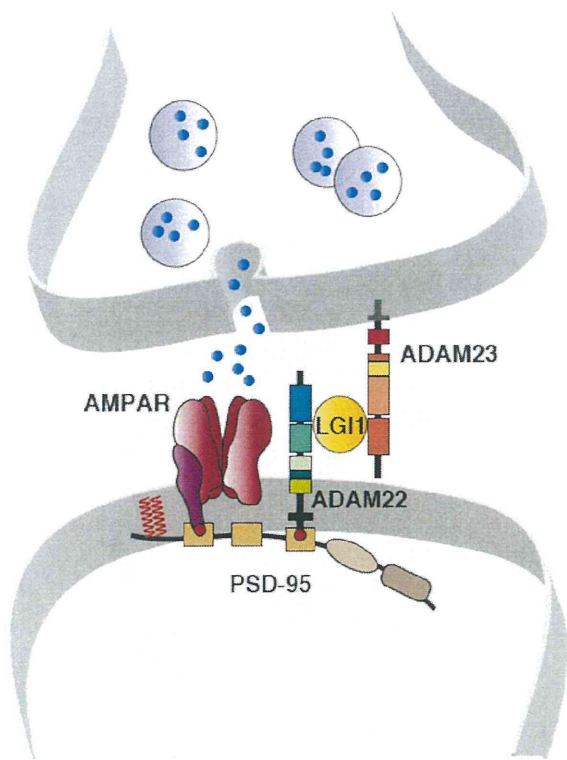
Relative contribution of individual antibodies to diseases is assessed by cell-based ELISA



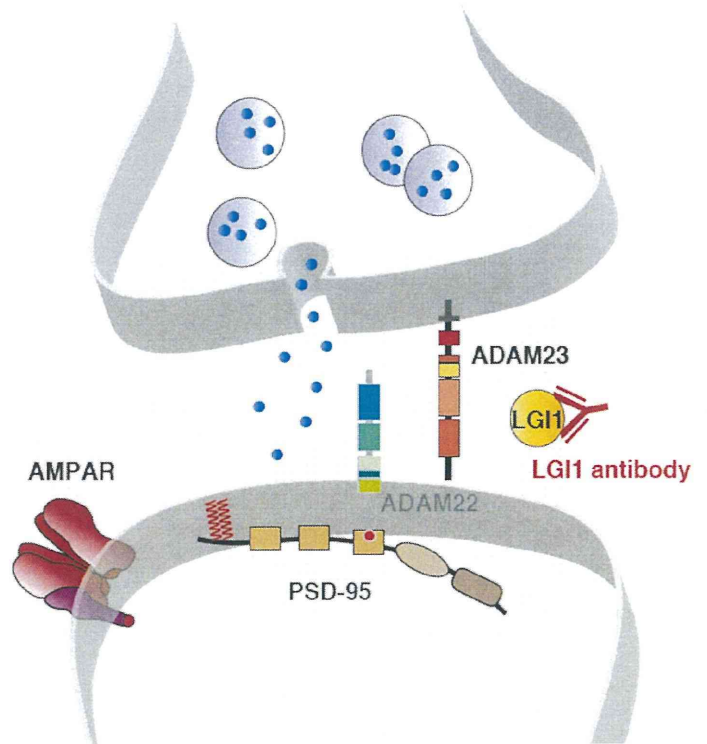
今回、多数の新規自己抗体の標的抗原を同定したことにより、一人の患者血清中にどのタイプの抗体がどの程度存在しているかを簡便、高感度、かつ特異的に測定することが可能となった。

左図は、LGI1 抗体価（縦軸）と CASPR2 抗体価（横軸）と疾患との関連性を示しています。LGI1 抗体価が0.8 以上の患者さんは殆ど例外なく辺縁系脳炎と診断されていたことが明らかになりました。一方、CASPR2 抗体価が0.3 以上の患者さんはアイザックス症候群のケースが有意に多いことが分かりました。アイザックス症候群、モルヴァン症候群では両抗体陽性が10例存在した。また両群ともに、二抗体とも陰性例が多数存在することから、未知の標的抗原の存在が示唆されます。





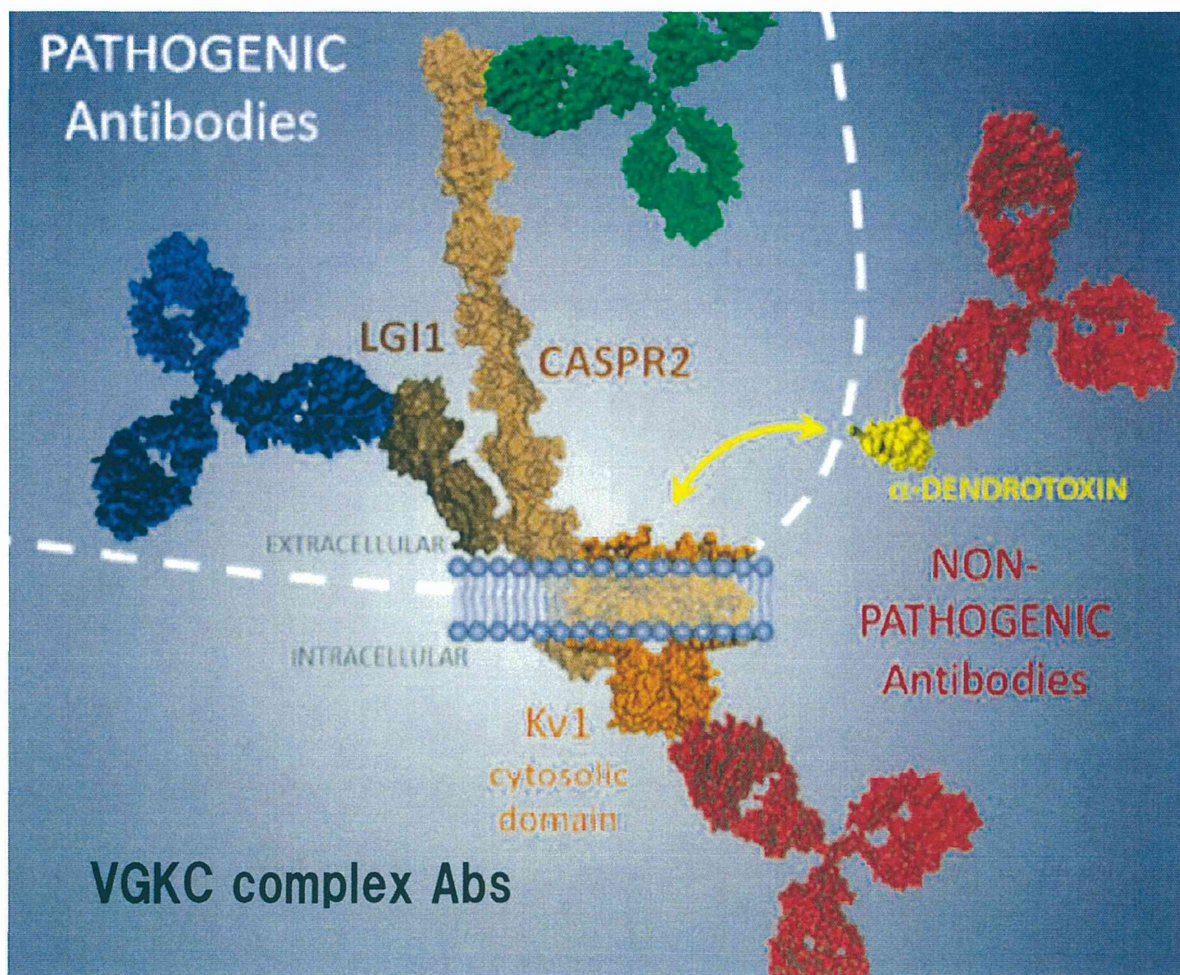
Normal Synapse



Synapse affected by autoantibody

LGI1 自己抗体はLGI1 とその受容体ADAM22 との結合を阻害し、シナプス伝達の中核を成すAMPA 受容体機能を減弱させることを生理学研究所の深田正紀教授との共同研究で明らかにした。

LGI1とADAM22の結合は私たちの脳が安定な興奮状態を維持するのに一生涯を通じて必要不可欠なシステムである。通常、LGI1 はシナプス間隙でADAM22、ADAM23 と結合し、AMPA 受容体を精緻にコントロールしている。一方、LGI1 の機能が先天的に欠損したり（家族性側頭葉てんかん）、自己抗体により後天的に阻害されると（辺縁系脳炎）、シナプスにおけるAMPA 受容体機能が低下し無秩序なシナプス伝達が生じる。その結果、痙攣発作を伴うてんかん病態や記憶障害が生じる。



最近の知見では、VGKC複合体のうち、細胞外ドメインや細胞外分子であるLGI1・CASPR2などに対する自己抗体は病原性があり、一方、細胞内ドメインや分子に対する抗体は非病原性であり、シナプスの破壊後に二次的に存在すると考えられています。

