

CIDP の病態解明、治療法開発に向けた前向きコホート研究：
臨床・ゲノム情報、生体試料リソース構築

研究分担者 祖父江 元¹
共同研究者 飯島正博^{1,2}、小池春樹¹、桑原 聡³、吉良潤一⁴、池田修一⁵、
荻野美恵子⁶、海田賢一⁷、梶 龍兒⁸、神田 隆⁹、園生雅弘¹⁰、
高嶋 博¹¹、千葉厚郎¹²、野村恭一¹³、武藤多津郎¹⁴、横田隆徳¹⁵、
松井 真¹⁶、楠 進¹⁷

研究要旨

CIDP の臨床的多様性は従来より指摘される所であり、近年の診断基準（EFNS/PNS 基準）でもそれを念頭に典型例、非典型例の概念も導入されている。ただし本邦はもちろん、海外でもどのような臨床像がどれだけの割合で存在しているのか、またそれぞれの亜型の治療反応性や予後に関する調査を多数例で前向きに試みた研究はいまのところない。そこで今回 CIDP の臨床像と治療内容、治療反応性と予後の情報を前向きに収集するとともに、画像、DNA・RNA によるゲノム情報、リンパ球表面マーカー、血清（ガングリオシドや NF155 など末梢神経構成分子における自己抗体）による生体試料をあわせて集積する研究コンソーシアムの構築を試みた。システム構築は完了しつつあり、今後各施設における倫理委員会の承認が得られ次第、研究が開始される。

研究目的

CIDP の臨床的多様性は 1990 年後半より多々指摘されており、その後の診断基準作成に大きな影響を与えてきた。とくに国内外の標準的診断

基準である EFNS/PNS 診断基準（2005 年、2010 年改訂）には、四肢対称性、びまん性の運動感覚障害を特徴とする典型的 CIDP 以外に、非典型的 CIDP として 5 種類の亜型（遠位優位型、多巣性感覚運動型、局在型、純粹感覚型、純粹運動型）が記載されている。ただしこれらの分類は臨床所見に依存するものであり、非典型的 CIDP はもちろん典型的 CIDP に特異的な病態は明らかにされていない。また CIDP 全体に共通するバイオマーカーもいまだ確立されていないのが現状である。本研究は、多施設共同による CIDP の臨床情報（臨床所見、電気生理初見、画像所見）とリンクした血清・リンパ球・DNA・RNA による生体試料リソースを構築し、病態解明ならびに新規の治療法開発に向けた前向きコホートを構築する。

¹名古屋大学 神経内科

²名古屋大学難治性神経疾患治療学

³千葉大学神経内科

⁴九州大学神経内科

⁵信州大学神経内科

⁶北里大学神経内科

⁷防衛医科大学神経内科

⁸徳島大学神経内科

⁹山口大学神経内科

¹⁰帝京大学神経内科

¹¹鹿児島大学神経内科

¹²杏林大学神経内科

¹³埼玉医科大学神経内科

¹⁴藤田保健衛生大学神経内科

¹⁵東京医科歯科大学神経内科

¹⁶金沢医科大学神経内科

¹⁷近畿大学神経内科

研究方法

本研究で対象とするCIDP患者の対象は、改訂版EFNS/PNS診断基準（2010年）により診断された新規診断例と、すでに診断もしくは治療が完了しており各施設に通院中のCIDP患者である。患者ごとに匿名符号を付与した臨床情報シートと専用スピッツを用い、各施設に連結台帳を保管することで連結可能匿名化を担保した後に各種試料を収集する。匿名化された臨床情報シートと各生体試料は事務局と試料保管センターを兼ねる名古屋大学神経内科へ送付される。チューブの管理には二次元バーコードを付与し、-150℃で保管する。

内16施設による本研究のコンソーシアムが構築された。今後は漸次各施設内における倫理委員会による審査と承認が完了した施設から患者登録を開始する。

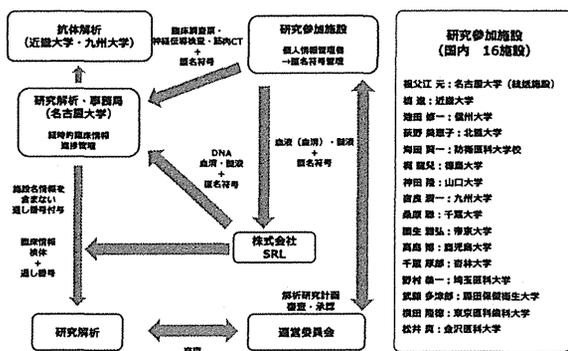
考察

CIDPのような慢性経過、再発をきたし得る疾患を前向きコホート研究の対象とする際に留意する点として、情報の効率的な収集方法の確立が挙げられる。本研究は開始後もより適切な研究デザイン構築を継続する。

結論

国内外初の前向きコホートによるCIDPの系統的な臨床・生体試料収集システムが構築された。今後の集積数に応じ、末梢神経に分布する分子を標的とする自己抗体の探索による病態解明、治療反応性・予後に関連する遺伝子多型解析によるオーダーメイド治療の可能性や新規治療法開発を試みる予定である。

CIDP-J 研究体制



生体試料と継続的な検査項目

血清	糖脂質抗体 NF155抗体
髄液（オプション）	髄液蛋白
リンパ球	表面マーカー
DNA	SNPs解析
RNA	miRNA解析
神経伝導検査 筋肉CT	前向きコホートによる治療反応性・予後解析

連結可能匿名化による、臨床情報とリンクした前向きコホートを構築

研究結果

2014年11月の時点で統括施設（名古屋大学神経内科）における倫理委員会の審査・承認が完了した。さらに同月開催のキックオフにより国

今年度の進捗状況と今後の展開

- 臨床情報テンプレートの完成
 - CIDP-J事務局立ち上げと専用メールアドレス取得
 - 研究参加施設によるキックオフミーティング実施（2014年11月）
 - 統括施設の倫理委員会審査・承認
 - 試料移動システム（SRL）の構築
 - 試料保管システム（二次元バーコードシステム）の構築
- ↓
- 各研究参加施設における倫理委員会審査・承認
 - 臨床情報テンプレートの改訂
 - 各研究参加施設における個別キックオフ開催
- ↓
- 研究参加施設による臨床情報・生体試料収集開始
 - 試料を利用した各種解析の実施
 - 生体試料リソースのバンク化

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

CIDP の治療反応性と予後不良因子の探索

・ モデルマウスを用いた試み ・

研究分担者 祖父江 元¹

共同研究者 飯島正博^{1,2}、高橋美江¹、大山 健¹、川頭祐一¹、小池春樹¹

研究要旨

B7-2 (CD86) ノックアウト non obese diabetes (NOD) マウスにおける、炎症性末梢神経障害に関する臨床病理学的所見を解析した。Cage activity 等による運動機能評価から、生後 20～30 週の間には亜急性に進行する障害を発症し、30 週以降に運動障害がプラトーに至ることが示された。電気生理学的検査では発症後に時間的分散による脱髄所見を示すとともに、さらに経過後は軸索障害を反映する振幅低下が確認された。坐骨神経の病理所見からは初期には炎症細胞の浸潤と節性脱髄を呈するが、経過につれて二次性の軸索変性所見が認められた。炎症細胞の浸潤を伴う脱髄所見、さらには軸索変性をきたす特徴はヒト CIDP の臨床病理所見に類似しており、本モデルを利用した疾患の病態や新規治療法開発への寄与が期待される。

研究目的

Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) は、緩徐進行性もしくは再発性の慢性経過を特徴とする炎症性ニューロパチーである。確立された治療法として、副腎皮質ステロイド、経静脈的免疫グロブリン (IVIg)、血漿浄化療法が挙げられるが、治療抵抗性を示す症例を一定数認めている。また病態には液性免疫と細胞性免疫の両者の関与が推定されるが詳細は不明であり、難治例における治療法開発に向けた病態解明、そのためのモデル動物の必要性が指摘されている。

今回我々は、慢性経過の炎症性脱髄をきたす B7-2 (CD86) ノックアウト (KO) NOD マウスの臨床病理学的特徴について解析を行い、本マウスの有用性を検討した。

研究方法

対象は、メス B7-2-KO NOD マウス 20 匹。生後 8 週以後より cage activity とビデオ撮影による評価を継続した。また運動障害発現後の電気生理所見を評価した。さらに坐骨神経の病理所見 (トルイジンブルー染色、HE 染色、ときほぐし) を評価した。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験は委員会の承認 (承認番号 25026 号) を経て実施し、可能な限り動物に苦痛を与えない方法によって行うために、動物の生理、生態、習性等に配慮した。

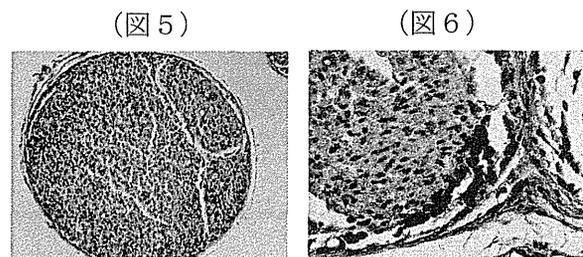
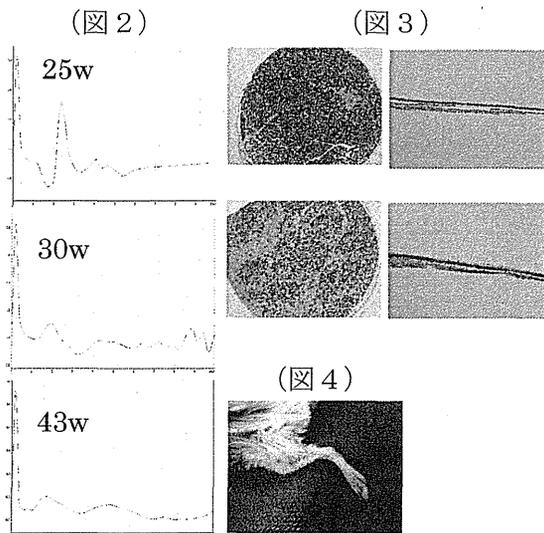
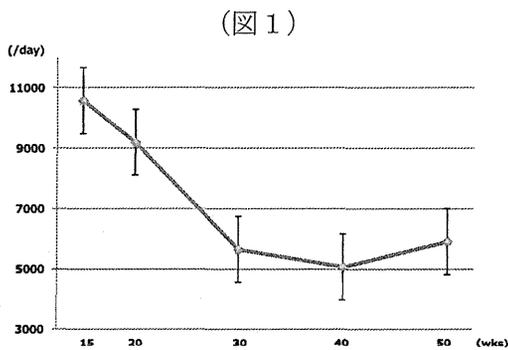
研究結果

B7-2-KO NOD マウスは生後 20-30 週をピークに亜急性に進行する運動障害をきたした (図 1)。坐骨神経の電気生理所見では 20 週を経過した頃より時間的分散を認める (図 2 上) とともに、と

¹名古屋大学 神経内科

²名古屋大学 難治性神経疾患治療学

きほぐしによる節性脱髄所見と patchy な神経線維脱落を認めた (図3上)。さらにその後は時間的分散の顕在化 (図2中) と高度の炎症細胞浸潤と軸索変性所見を呈した (図3下)。同時期の活動電位低下所見は顕在化 (図2下) し、40週以降では高度の活動電位低下と下肢優位の筋萎縮が顕著 (図4) となった。HE染色では神経内鞘に広範に分布する炎症細胞浸潤を認め (図5)、免疫組織染色で CD68 陽性細胞の集簇 (図6) が示された。



考察

NOD マウスは自然発症の1型糖尿病モデルとして知られる。抗原提示細胞上に分布する MHC の共刺激因子である B7-2 を欠損させることで、糖尿病を合併せず炎症性ニューロパチーのみ発症することが知られている。末梢神経における標的は P0 と推測されているが、我々の検討からも発症初期は脱髄が主体であり、髄鞘構成成分が標的であることが示唆された。

B7-2-KO NOD マウスの病変部神経には高度の炎症細胞浸潤が確認され、マクロファージ (CD68) の存在は今回の検討で裏付けられた。今後は浸潤細胞の多くを占めるリンパ球サブセットの同定を予定している。

結論

B7-2-KO NOD マウスは慢性経過の炎症性脱髄を自然発症することが確認された。また二次性の軸索障害をきたすことも電気生理・病理学的に示され、ヒトにおける CIDP の病態解明ならびに治療法開発に有用と考えられた。

文献

1. Salomon B, Rhee L, Bour-Jordan H, et al. Development of spontaneous autoimmune peripheral polyneuropathy in B7-2-deficient NOD mice. *J Exp Med*. 2001;194:677-84. Erratum in: *J Exp Med* 2001;194:1393.
2. Soliven B. Immune mechanisms in spontaneously occurring CIDP in NOD mice. *J Peripher Nerv Syst*. 2011;16 Suppl 1:56-9.

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

慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における髄液中 miRNA の網羅的発現解析

研究分担者 横田隆徳¹⁾
共同研究者 大久保卓哉¹⁾, 八木洋輔¹⁾, 町田明¹⁾, 市野瀬慶子¹⁾,
西田陽一郎¹⁾, 叶内匡²⁾

研究要旨

マイクロ RNA (miRNA) は 21-25 塩基長の small non-coding RNA であり、転写後発現調節に関与する。体液中に含まれる miRNA は多くの疾患において、病態や疾患の伝搬や進行に関与していることが報告されている。神経疾患においても病態に関与していることが示唆されており、その解析は疾患バイオマーカーの発見や、病態生理の解明に有用であると考えられる。今回、我々は CIDP 患者髄液の miRNA プロファイルを網羅的に解析し、正常群と比較して発現の変化している miRNA を同定した。末梢神経領域においても、少数ではあるが miRNA の病態への関与を示唆する報告がなされており、今回の検討で候補に挙げられた 5 種類の miRNA は、CIDP のバイオマーカーであると同時に、機能解析により CIDP の病態生理の解明に寄与することが期待される miRNA である。今後は、より多数例での検討が重要であると考えられる。

研究目的

体液エクソソームに含まれるマイクロ RNA (miRNA) は、主になんがや炎症性疾患領域において病態やその疾患の伝搬や進行に関与していることがこれまで数多く報告されており、疾患バイオマーカーとしての役割が示唆されている。各種の神経疾患においても miRNA は病態に関与している可能性があり、その解析は疾患バイオマーカーの発見や、病態生理の解明に有

用であると考えられる。今回、我々は慢性炎症性脱髄性多発根神経炎 (CIDP) 患者の髄液中 miRNA の発現を網羅的に解析し、疾患バイオマーカーの候補となる miRNA の検索を行った。

研究方法

対象患者は CIDP 5 例とし、正常対照群 10 例との比較検討を行った。腰椎穿刺で髄液を採取後、遠心分離を行って細胞成分を取り除いた後、RNA 抽出を行った。miRNA の網羅的解析には miRNA アレイ (3D-Gene®, 東

1) 東京医科歯科大学大学院

脳神経病態学分野 (神経内科)

2) 東京医科歯科大学医学部附属病院 検査部

レ)を用いた。アレイシグナル値は標準化を行った後、Welch 検定で群間比較した。

本研究は本学医学部倫理審査委員会の承認のもとに行われた。

研究結果

miRNA アレイ解析により髄液中に約 1,500 種類の miRNA を検出した。有意水準を $p < 0.00001$ とした場合、正常対照群と CIDP 群で発現に差がある miRNA は 5 種類であった。これら 5 種類の miRNA は、ROC 曲線で 1.0 の曲線下面積 (AUC) を有していた。

考察

我々は今回と同様の miRNA アレイ解析を用いた手法により、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と多巣性運動ニューロパチー (MMN) の鑑別に有用な miRNA を同定している。

末梢神経領域においても、少数ながら miRNA の病態への関与を示唆する報告があり、miR-206 が神経再支配の際の fiber type の決定に関与していること、miR-29 が PMP22 の発現調整に関与していること、絞扼性ニューロパチーや糖尿病性ニューロパチーにおける miRNA の解析に関する報告などがある。免疫性ニューロパチーに関しての報告は乏しく、多数例での検討により、CIDP や MMN の鑑別に有用

なバイオマーカーの発見につながることを期待される。

結論

今回の検討で候補に挙げられた 5 種類の miRNA は、CIDP のバイオマーカーであると同時に、機能解析により CIDP の病態生理の解明に寄与することが期待される miRNA である。今後は、より多数例での検討が重要であると考えられる。

文献

Kosik. Nat Rev Neurosci 2006

Baraniskin et al. Blood 2011

Jeng et al. J Neurotrauma 2009

Verrier et al. Glia 2009

Rau et al. BMC Musculoskeletal Disord 2010

Wang et al. Neuroscience 2014

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

・特許出願

1. 特許出願日 2013 年 5 月 30 日 (特許出願番号 2013-113912)。横田隆徳、町田明、大久保卓哉、水澤英洋。運動神経の障害を呈する疾患の鑑別に用いるマイクロRNA の検出方法。東京医科歯科大学

QT 延長がある急性期 Guillain-Barré 症候群では、球麻痺により気管挿管を来しやすい

班 員 野村 恭一

共同研究者 鈴木 理人、王子 聡、三井 隆男、齋藤 あかね、成川 真也、
原 渉、久保田 昭洋、田島 孝士、伊崎 祥子、小島 美紀、
吉田 典史、深浦 彦彰

研究要旨

Guillain-Barré syndrome (GBS)における生命予後は、呼吸障害の合併、循環障害を含む自律神経障害の合併の有無により大きく異なる。呼吸障害の合併や自律神経障害の合併を予測する因子やその病態は、必ずしも明らかにはされていない。今回我々は、GBS 急性期における呼吸障害・循環障害を含めた自律神経障害の合併と入院時の心電図 QT 間隔(QT)との関連性について検討した。結果：入院時に心電図 QTc 時間が 440msec 以上に延長する症例では、急性期に血圧・心拍数の変動が大きく、発症から 9 日目までに全例で球麻痺による気管挿管を必要とした。心電図 QTc 延長は、球麻痺が顕在化する以前から舌咽・迷走神経の有髄性求心線維の脱髄性障害を早期に反映し、経過中の球麻痺に伴う気管挿管の予測因子となりうる可能性が考えられた。

研究目的

Guillain-Barré 症候群(GBS)における呼吸障害の合併や自律神経障害の合併を予測する因子に関する検討は少ない。我々は GBS 症例において入院時の心電図 QT 延長があり、急性期に血圧・心拍数の大きな変動を認め、発症後早期に球麻痺に伴う著明な唾液貯留による気管挿管を要した 2 症例において、慢性期には QT が正常化していることに着目し、GBS 急性期における循環・呼吸障害の合併と QT との関連性について検討した。QT 延長の有無が GBS 急性期における球麻痺に伴う気管挿管の予測因子になりうる可能性について検討した。

研究方法

2007 年 4 月から当科入院の GBS 17 例(中央値 46 歳、範囲 33-82 歳、男性 9 例、女性 8 例)、Fisher 症候群(FS) 3 例(中央値 67 歳、範囲 41-74 歳、男性 1 例、女性 2 例)を対象とした。心電図 QT 時間は、II 誘導 QT 間隔と RR 間隔の実測値について、Bazett 補正式を用い 440 msec 以上を延長とした。入院時 QT 間隔から QT 延長群と非延長群とに分け、各々における呼吸障害・循環障害の合併、他の自律神経障害の合併、末梢神経伝導検査所見(nerve conduction study : NCS)について後ろ向きに検討した。呼吸障害の合併は、経過中の気管挿管の有無とし、気管挿管の適応は、球麻痺による著明な唾液貯留に起因するもの、あるいは

は呼吸筋麻痺によるものとした。神経症状を自覚した時点を発症日とし、発症日から気管挿管までの日数について検討した。循環障害は、収縮期血圧と心拍数について入院後 30 日間の最高値と最低値の差について検討した。他の自律神経障害の合併は、不整脈などの合併の有無とした。その他に経過中の顔面神経麻痺、球麻痺の出現、および抗ガングリオシド複合体抗体(GD1a/GD1b, GD1b/GT1b)について検討した。なお、NCS は Hadden の基準を用いて分類した。また、本研究は、当大学の倫理委員会の承諾を得て検討をした。

研究結果

GBS・FS 20 例のうち、GBS は 17 例で、QT 延長が 7 例、QT 非延長が 10 例であった。FS は 3 例で、QT 延長はなかった。呼吸障害の合併の検討では、QT 延長 GBS において全例が入院後早期に球麻痺に伴う著明な唾液貯留に起因して気管挿管を要した。一

方、QT 非延長 GBS では挿管例はなかった。気管挿管までの日数の検討では、発症から 3~ 9 日目(中央値 5 日)までに全例で球麻痺に伴う著明な唾液貯留に起因して気管挿管を要した。循環障害の検討では、収縮期血圧、心拍数の変動は、ともに QT 延長 GBS おいて、QT 非延長 GBS と比較して有意に変動が大きかった。また、NCS の検討では、QT 延長 GBS では全例が脱髄型であり、QT 非延長 GBS では、脱髄型 8 例、軸索型 2 例であった。顔面神経麻痺・球麻痺の出現頻度は、QT 延長 GBS でそれぞれ 100%、QT 非延長 GBS でそれぞれ 10%であった。抗ガングリオシド複合体抗体(GD1a/GD1b, GD1b/GT1b)は、QT 延長 GBS で 14%、QT 非延長 GBS で 10%であった。他の自律神経障害の合併の検討では、QT 延長 GBS において、QT 非延長 GBS と比較して、頻脈、高血圧、心室性期外収縮、心房細動などの心血管系の自律神経障害の合併を多く認めた。

	GBS / FS (n=20)		
	GBS (n=17)	FS (n=3)	
	QT prolonged (n=7)	QT non-prolonged (n=10)	QT non-prolonged (n=3)
QTc (msec)	457 (440-534)	397.5 (372-430)	384 (357-402)
Days until the intubation	5 (3-9)	(-)	(-)
ΔBP (mmHg)	95 (44-118)	50 (36-100)	58 (47-94)
ΔP (mm)	62 (48-90)	42.5 (22-58)	40 (36-102)
NCS	demyelination 7	demyelination 8, axonal 2	(-)
Bulbar palsy (%)	100	10	0
Facial palsy (%)	100	10	0
FG	5	3.5	(-)
抗GSC抗体 (GD1a/GD1b, GD1b/GT1b) (%)	14	10	0
Dysautonomia (%)	HT(28), AH(14), PVC(28), Tachycardia(57), Urinary retention(28)	Urinary retention(10), Diarrhea(10), Constipation(20)	(-)

Median (range)

考察

心電図 QT 時間は遺伝性、薬剤性、電解質異常、自律神経系の関与を受けて変動することが知られている。自律神経系としては、交感神経および副交感神経それぞれの影響をうける。今回の検討では、急性期 GBS において入院時に QT 延長を認めた 7 例は、発症から 3~9 日目までに球麻痺に伴う著明な唾液貯留により気管挿管を要した。また経過中の血圧・脈拍の変動も大きく、QT 延長 GBS では自律神経系への障害の頻度が高かった。GBS の一部の症例において、入院時心電図 QT 延長は、球麻痺が顕在化する以前から IX・X の求心性有髄性線維の脱髄性障害を早期に反映し、経過中の球麻痺に伴う気管挿管の予測因子となりうる可能性が考えられた。

結論

急性期 GBS で、入院時の心電図 QTc 時間が 440msec 以上に延長する症例は、発症から 3~9 日目までに、球麻痺による気管挿管を必要とした。

引用文献

- 1) Vucic S, Kiernan MC, Cornblath DR.: Guillain-Barré syndrome: an update. J Clin Neurosci. 2009 Jun;16(6):733-41. Epub 2009 Apr 7. Review
- 2) 桑原聡. Guillain-Barre 症候群. 自律神経の障害とその検査 update, *Clinical Neuroscience* 2008 ; 26 : 1224-1225.
- 3) 岡 尚省. 心電図 QT 間隔, 自律神経機能検査 第 3 版, 日本自律神経学会編, 文

光堂, 東京, 2000, 157-160.

- 4) Fourrier F, Robriquet L, Hurtevent JF, Spagnolo S. : A simple functional marker to predict the need for prolonged mechanical ventilation in patients with Guillain-Barré syndrome. Crit Care. 2011;15(1):R65. Epub 2011 Feb 21.
 - 5) Flachenecker P. : Autonomic dysfunction in Guillain-Barré syndrome and multiple sclerosis. J Neurol. 2007 May;254 Suppl 2:II96-101. Review. Erratum in: J Neurol. 2008 Feb;255(2):309-10.
 - 6) Kanda T, Hayashi H, Tanabe H, Tsubaki T, Oda M. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1989 Jul;52(7):857-64. A fulminant case of Guillain-Barré syndrome: topographic and fibre size related analysis of demyelinating changes.
 - 7) Low PA, Vernino S, Suarez G.: Autonomic dysfunction in peripheral nerve disease. Muscle Nerve. 2003 Jun;27(6):646-61. Review
 - 8) Kaida K, Kusunoki S. : Antibodies to gangliosides and ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: mini-review. J Neuroimmunol. 2010 Jun;223(1-2):5-12. Epub 2010 Feb 20. Review
- 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

抗 neurofascin 155 抗体の慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー(CIDP)における意義と役割

研究分担者 吉良潤一

共同研究者 緒方英紀, 山崎亮, 松瀬大, 河村信利, 米川智, 松下拓也, 村井弘之

研究要旨

私たちは最近 neurofascin (NF)のアイソタイプの一つである抗 NF 155 抗体が中枢末梢連合脱髄症(CCPD)症例で陽性になることを報告したが, その後末梢性脱髄のみを来す慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー (CIDP)症例の一部でも陽性になることを確認した. 今回はヒト NF155 抗原を用いたフローサイトメーターを使用した測定系を開発し, 電気生理学に確実な CIDP 連続 50 例での陽性率を確認したところ, 18.0%で陽性であった. 他施設の 3 症例を加えて 12 例の臨床的特徴を評価したところ, 発症年齢が若い, 振戦を伴いやすい, 萎縮を伴う遠位筋優位の脱力を認める, NCS で明らかな運動感覚神経脱髄を呈する, MRI では顕著な神経根の肥厚を伴う, ときに中枢神経病変を合併するなどの特徴を見出した. 抗 NF155 抗体を測定することにより, CIDP という不均一な疾患群の中から, 特徴的なサブグループを抽出すること可能になると考える. (413 字)

研究目的

Neurofascin (NF) はランビエ絞輪部およびその周辺に存在する細胞結合膜蛋白であり, 跳躍伝導に関連している. 私たちは最近 NF のアイソタイプの一つである NF 155 に対する抗体が中枢末梢連合脱髄症(CCPD)症例で陽性になることを報告した. (1)その後末梢性脱髄のみを来す慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー (CIDP)症例の一部でも陽性になることを確認した. 陽性症例はいずれも電気生理学的に明らかな脱髄を呈していた. 本研究ではヒト NF155 を抗原としたフローサイトメーターを用いた検査系を開発し, 電気生理学的に「definite」な CIDP

における抗 NF155 抗体の陽性頻度を明らかにした上で, 抗 NF155 抗体陽性症例の臨床, 電気生理学的, 画像的特徴を解明する.

研究方法

2004 年～2014 年に九州大学病院を受診および入院した EFNS/PNS ガイドラインの電気生理学的診断基準を「definite」で満たす CIDP 50 例において cell-based assay 法で抗 NF155 抗体を測定した. 多発性硬化症(MS) 17 例, Guillain-Barré 症候群(GBS) 16 例, 健常者 (HCs)10 例でも同様の検査を行った. Cell-based assay 法はヒトリコンビナント NF155 蛋白を強制発現させた HEK293 細胞株を用

い、フローサイトメーターで蛍光強度を測定した。他施設症例 3 例を含む合計 12 例の抗 NF155 抗体陽性症例で臨床的特徴を解析した。

倫理面への配慮

本研究は九州大学倫理委員会の承認を受けて実施した。

研究結果

抗 NF155 抗体の陽性率は、CIDP 18.0% (9/50), MS 0% (0/17), GBS 3.8% (1/26) HCs 0% (0/10)であった。抗 NF155 抗体は CIDP では全例 IgG4 サブクラス優位である一方 GBS では IgG1 優位であった。抗 NF155 抗体陽性例は NF186 には反応しないことから、両者で異なる NF155 のアミノ酸配列 835 から 942, およびその周辺がエピトープであることが推定された。抗 NF155 抗体陽性の 12 例の発症年齢は 25.5 ± 11.1 歳だった。約半数の症例が臨床的に遠位優位型に分類され、遠位筋の萎縮を 9 例に認めた。また運動時振戦が 6 例にみられた。神経伝導検査(NCS)では運動感覚神経ともにびまん性の著明な脱髄所見を呈し、一部軸索障害パターンを認めた。脳脊髄液中の蛋白は 327 ± 143 mg/dl と著増しており、MRI では確認し得た 7 例全例において神経根の顕著な肥厚を認めた。MRI および誘発電位で中枢神経症状を示唆する所見を 4 例に認めた。

考察

CIDP は複数の病態が存在する不均一な疾患概念である。その中で、抗 NF155 抗体陽性症例は比較的均一な特徴を有すること

が今回の研究で明らかとなった。最近では抗 NF155 抗体の他にもランビエ絞輪部周囲の蛋白に対する自己抗体が脱髄性疾患の原因として注目されている。(2)

末梢神経脱髄が均一な所見を呈する一方で、中枢神経脱髄は当初想定していたよりも頻度が少なく、症状も多彩であった。中枢神経脱髄との関連については更に症例を蓄積した上で評価する必要がある。

今後は抗 NF155 抗体陽性症例に対する免疫治療の効果判定を行い、治療に関するエビデンスを構築していきたい。またより簡便で安価で再現性の高い抗体測定系を構築する必要がある。エピトープを同定することで、ペプチドを使用した ELISA を開発したい。

結論

抗 NF155 抗体を測定することにより、CIDP という疾患群の中から、発症年齢が若く、萎縮を伴う遠位筋優位の脱力を認め、振戦を伴いやすく、NCS で明らかな運動感覚神経脱髄を呈し、MRI では顕著な神経根の肥厚を伴い、ときに中枢神経病変を合併する特徴的なサブグループを抽出することができた。今後は抗 NF155 抗体の認識するエピトープを用いた ELISA 法の開発と生物学的作用の解析を進めていく予定である。

文献

- 1) Kawamura N, et al. Neurology 2013;81:714-22.
- 2) Stathopoulos P, et al. Nat Rev Neurol. 2015.

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

中枢病変を伴う末梢神経障害患者 (EMRN) に見られる抗中性糖脂質抗体の抗原特異性

研究分担者 武藤 多津郎

共同研究者 島さゆり、植田晃広、村手健一郎、朝倉邦彦

研究要旨

我々の EMRN に関する発表以降、¹当科に同様な症例と思われる患者の抗中性糖脂質抗体検索の依頼があった患者試料につき Far-Eastern blot 法により解析を行った。その内、臨床記載が十分に確認できた症例 9 例及び自験報告例 4 例について抗体の有無及び抗原特異性について検討を行い、またそれら臨床像の特徴を抽出した。13 例中 12 例の血清で抗中性糖脂質抗体が陽性で 1 例のみ陰性であったが、その例では髄液中では陽性を示した。全例で、末梢神経障害に何らかの中枢神経障害を示した。EMRN の多くは急性・亜急性に中枢神経、末梢神経、神経根の障害が相前後して出現したが、末梢神経障害発現から半年後に中枢神経症状が出現した症例もあり、heterogeneity を認めた。抗原特異性については、自験報告例では GlcCer に対しての抗体活性も認める例はなかったが、LacCer 及び GlcCer の両者に対しての抗体活性を示す症例を認めた。しかし、GalCer 及び GlcCer 両者に同時に陽性を示す患者はなかった。中性糖脂質は何れも細胞膜脂質ラフトに局布する事、CCPD で問題となる neurofascin もまたこの脂質ラフトに分布し同様な臨床像を呈する事から、これら両疾患が脂質ラフト病である可能性が想定された。

研究目的

近年、中枢神経系と共に末梢神経系が侵されてくる病態の存在が認知され、脳脊髄末梢神経炎(EMRN)や combined central and peripheral demyelination (CCPD)として報告されている。現在、これら両疾患の異同は不明であるが、何れも特異的な自己抗体が見られるなど何らかの免疫学的機序の関与が想定されている。

我々は、当院症例以外に国内外(米国など)の医療機関より検査依頼を受けた患者試料中に見出された抗中性糖脂質抗体の抗原特異性の heterogeneity を明らかにすると共に、臨床像・検査所見を review して EMRN の実態を明らかにする事を目的とした。

研究方法

2015年2月から2015年10月の間で当科に抗中性糖脂質抗体の測定依頼があった症例のうち、臨床像、検査所見が揃っていた症例の血清・髄液中の抗中性糖脂質抗体を Far-Eastern blot 法でその存否を検索した。又、その臨床像、電気生理学的所見、画像所見を詳しく調べた。症例は、中枢病変を伴う末梢神経障害患者(EMRN) 13例 健常ボランティア 52名(age-matched and sex-matched control)。

(倫理面への配慮)

本件に関する研究は、当大学臨床研究・倫理審査委員会の審査を受け、承認されている。

研究結果

藤田保健衛生大学医学部脳神経内科学

13例のEMRNと思われる患者血清のうち12例の血清で、治療前は12例でLacCerに対する抗体活性を認め(抗LacCer抗体陽性)、2例にGalCerに、又6例にGlcCerに対する弱い抗体活性を重複して認めた。一方、GalCerとGlcCerに対する抗体活性を同時に認めた例は見られなかった。当初の検索では、見出されなかった抗GlcCer抗体も本症では出現し得る事が明らかとなった²。また、これらの抗体活性は何れも治療後には消失あるいは明らかに減弱していた。また、検索できたEMRN患者急性期髄液にも同様の抗体活性を検出したが、一例では髄液に於いてのみ(血清では陰性)抗LacCer抗体活性を認めた例も存在したのは興味深い。一方、健常ボランティアからは、抗中性糖脂質抗体は検出されなかった。

考察

今回検討できた症例では、全例四肢筋力低下、意識障害など何らかの中樞神経障害を疑う所見を認めた。症状の出現順序については、脳炎・脳症症状が同時又は先行するものが多かったが、一方で末梢神経障害の症状が先行し、半年後に脳炎・脳症を来す症例も存在した。この事実は、combined central and peripheral demyelination (CCPD)として報告されている例とは臨床的には必ずしも鑑別できない事を示唆している。画像所見では6名に脳・脊髄のMRI異常所見、10名に脳MRI異常所見を認め、電気生理学的にも全例で中枢及び末梢神経の障害を認めており、米国からの一例を

除いて何れの症例も免疫療法に反応を示した。

結論

中性糖脂質は gangliosides 合成の中間産物としてだけでなく、生理活性物質としての機能が種々報告されてきた。

さらに、中性糖脂質は膜ラフトを構成する重要な脂質で、一方 neurofascin も膜ラフトに局在する事により正常な paranode が形成されることが最近明らかとなった。

従って、これら両疾患は共に膜ラフト構成物質を標的とする膜ラフト病の可能性が想定される³。しかし、CCPDでは、脱髄がメインであり、EMRNでは軸索障害が多いなどの相違が見られる理由は現在不明であり、今後の症例の蓄積と両抗体の細胞生物学的作用を詳細に研究していく必要があると思われる。

文献

1. Shima S, Kawamura N, Ishikawa T, Masuda H, Iwahara C, Nimi Y, Ueda A, Iwabuchi K, Mutoh T. Anti-neutral glycolipid antibodies in encephalo- myeloradiculoneuropathy. *Neurology*, 82:114-8, 2014.
2. Nakamura K, Sugaya K, Nakata Y, Shima S, Mutoh T, Nakano I. Hypertrophic pachymeningitis and encephalitis in a patient with relapsing polychondritis. *Neurol Clin Neurosci* 3 : 42-43, 2015
3. Asakura A, Ueda A, Mutoh T. Lipid rafts and their possible involvements in neuro-immunological disorders: new research arena. *Frontiers In Bioscience Landmark Edition*. 20:303-13, 2015.

健康危険情報

特になし

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

Ⅲ. 学会等発表実績

学 会 等 発 表 実 績

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Electrophysiological subtypes of GBS with anti-Gal-C antibodies and other anti-glycolipid antibodies. (口頭およびポスター)	<u>Kusunoki S.</u> , Samukawa M, Hamada, Y, Kuwahara M, Takada K, Hirano M, Mitsui Y.	Inflammatory Neuropathy Consortium, Dusseldorf, Germany	July 12-16, 2014	国外
Electrophysiological features of Guillain-Barré syndrome associated with anti-galactocerebroside antibodies as well as anti-ganglioside antibodies. (ポスター)	<u>Kusunoki S.</u> , Samukawa M, Hamada, Y, Kuwahara M, Takada K, Hirano M, Mitsui Y.	XII International Congress of Neuroimmunology, Mainz, Germany	November 9-13, 2014	国外
Antibodies to gangliosides and ganglioside complexes in autoimmune neuropathies. (口頭)	<u>Kusunoki S.</u>	13th Surugadai International Symposium & Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute International Symposium, Tokyo	November 28, 2014	国外
免疫性ニューロパチー診療アップデート (口頭)	楠 進	第32回日本神経治療学会総会、東京	2014年11月20日～22日	国内
病原微生物とギラン・バレー症候群 (口頭)	楠 進	第19回日本神経感染症学会総会学術集会・第26回日本神経免疫学会学術集会、金沢	2014年9月4日～6日	国内
炎症性ニューロパチーの画像診断：神経痛性筋萎縮症の臨床像とMRI所見を中心に	福島和広	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月22日	国内
子宮頸がんワクチン接種後の副反応としての神経症状の検討・ポスター	阿部隆太、木下朋実、日根野晃代、池田修二	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日	国内
子宮頸がんワクチン接種後の女性における自律神経障害の検討・ポスター	木下朋実、阿部隆太、日根野晃代、池田修二	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日	国内
神経生検連続70例の組織像と、臨床診断および電気生理検査との対応の検討・ポスター	加藤修明、木下通亨、木下朋実、福島加奈、池田修二	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日	国内

血管炎に伴う神経障害・口頭	石井亘、上野賢一、岸田大、下島恭弘、池田修二	第26回日本リウマチ学会中部支部学術集会 中部リウマチ学会	2014年8月29日	国内
子宮頸がんワクチン接種後、四肢の疼痛を訴える患者の皮内神経の病理組織学的検討・ポスター	木下朋実、阿部隆太、日根野晃代、池田修二	第25回日本末梢神経学会学術集会	2014年8月29日	国内
末梢神経障害と四肢の浮腫で発症した血管免疫芽腫性T細胞リンパ腫の一例～POEMS症候群との比較～・ポスター	日根野晃代、木下朋実、東城加奈、関島良樹、池田修二	第25回日本末梢神経学会学術集会	2014年8月29日	国内
子宮頸がんワクチンの副反応と自律神経障害：POTSを含む・口頭	池田修二	日本線維筋痛症学会第6回学術集会	2014年9月14日	国内
子宮頸がんワクチン副反応の実態・口頭	池田修二	第20回日本薬剤疫学会学術総会	2014年10月12日	国内
子宮頸がんワクチン接種後の女兒における自立神経障害の検討・ポスター	木下朋実、池田淳司、阿部隆太、日根野晃代、池田修二	第20回日本薬剤疫学会学術総会	2014年10月12日	国内
子宮頸がんワクチン副反応とその治療・口頭	池田修二	第128回関東連合産科婦人科学会学術集会	2014年10月26日	国内
子宮頸がんワクチン接種後の女兒にみられる脳神経症状・口頭	池田修二	日本医師会・日本医学会合同シンポジウム	2014年12月10日	国内
ギラン・バレー症候群以外の抗GalNAc-GD1a抗体陽性神経疾患の臨床的特徴（ポスター発表）	尾上 祐行, 富樫 尚彦, 森口 幸太, 桑田 健一, 池脇克則, 海田 賢二	第111回日本内科学会総会、東京	2014年4月11日 ～13日	国内
高力価抗gAChR抗体陽性自己免疫性自律神経ニューロパチーにおけるIVIgの効果（口頭）	和田大司、角谷真人、尾上祐行、池脇克則、海田賢二	第55回日本神経学会学術大会、福岡	2014年5月21日 ～24日	国内
抗糖脂質抗体陰性Guillain-Barré syndromeにおける抗neurofascin抗体の検索（口頭）	森口幸太、高崎寛、桑原基、楠 進、尾上祐行、池脇克則、海田賢二	第55回日本神経学会学術大会、福岡	2014年5月21日 ～24日	国内
自律神経障害を呈するGuillain-Barré症候群の臨床的特徴と抗糖脂質抗体の解析（ポスター発表）	高崎 寛、海田賢二、森口幸太、桑原基、楠 進、尾上祐行、池脇克則	第55回日本神経学会学術大会、福岡	2014年5月21日 ～24日	国内

神経内膜にアミロイド様のIgM沈着を認め、Rituximab投与が奏功した原発性マクログロブリン血症に伴うニューロパチーの一例（ポスター発表）	角谷真人, 尾上祐行, 汐崎祐, 池脇克則, 廣井禎之, 東原真奈, 村山繁雄, 清水潤, 海田賢一	第55回日本神経病理学会総会、東京	2014年6月5日 ～7日	国内
臨床病理学的に軸索型ギラン・バレー症候群と診断した42歳男性剖検例（ポスター発表）	中野雄太, 海田賢二, 村山繁雄	第55回日本神経病理学会総会、東京	2014年6月5日 ～7日	国内
CLINICAL FEATURES AND ANTI-GANGLIOSIDE ANTIBODIES IN GUILLAIN-BARRÉ SYNDROME WITH DYSAUTONOMIA.	Hiroshi Takasaki, <u>Kenichi Kaida</u> , Kota Moriguchi, Motoi Kuwahara, Susumu Kusunoki, Hiroyuki Onoue, Katsunori Ikewaki.	2014 inflammatory neuropathy consortium, Peripheral Nerve Society Meeting, Germany	2014年7月13日 ～16日	国内
シンポジウム4 (S4-1) 「GBS：予後改善のための治療戦略～現状と展望」（口頭）	海田賢一	第25回日本末梢神経学会学術集会、京都	2014年8月30日	国内
ランチョンセミナー3「免疫介在性ニューロパチーの自己抗体と免疫グロブリン静注療法」（口頭）	海田賢一	第25回日本末梢神経学会学術集会、京都	2014年8月30日	国内
ギラン・バレー症候群に対するIVIg前後の血清IgG値の変動と治療効果(ポスター)	宮崎由道	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日	国内
ギラン・バレー症候群に対するIVIg前後の血清IgG値の変動と治療効果(ポスター)	松井尚子	第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会学術集会合同開催	2014年9月5日	国内
ALSとMMNのサイトカイン・ケモカインプロファイル	古川貴大	第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会学術集会合同開催	2014年9月6日	国内
What the Nerve Biopsy Specimen Tell Us(口演)	<u>Takashi Kanda</u>	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日	国内
血管炎性ニューロパチーの新しい分類と診断。治療(口演)	神田 隆	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月22日	国内
血液神経関門の破綻と末梢神経障害(口演)	神田 隆	第25回日本末梢神経学会学術集会	2014年8月29日	国内

Immune-mediated disruption of neuro-vascular units in neuroimmunological diseases(口演)	<u>Takashi Kanda</u>	第37回日本神経科学大会	2014年9月13日	国内
CIDPのアフェレシス(口演)	神田 隆	第35回日本アフェレシス学会	2014年9月28日	国内
炎症性脱髄性疾患における特異度の高い抗neurofascin抗体測定法の開発(口頭)	緒方英紀、松瀬大、河村信利、松下拓也、山崎亮、吉良潤一	第55回 日本神経学会学術大会	2014年5月22日	国内
Anti-Neurofascin Antibodies in the Inflammatory Demyelinating Diseases (Oral)	H Ogata, MD, R Yamasaki, MD, PhD, D Matsuse, MD, PhD, N Kawamura, MD, PhD, T Matsushita, MD, PhD, <u>JI Kira, MD, PhD</u>	第1回 MS サマーカレッジ	2014年8月2日	国内
CLINICAL COURSE OF FISHER SYNDROME AND FISHER/GUILLAIN-BARRÉ OVERLAP SYNDROME.(口頭)	Sekiguchi Y, Misawa S, Shibuya K, Mitsuma S, Iwai Y, Watanabe K, Beppu M, <u>Kuwabara S.</u>	2014 PNS/INC Conference	2014年7月13日 ～16日	Germany
Pathophysiology of the nodal region in axonal Guillain(口頭)	<u>Kuwabara S.</u>	30th International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN)	2014年3月20日 ～24日	Berlin, Germany
Conduction block: Schwann cell or axon pathology?(口頭)	<u>Kuwabara S.</u>	13th International Congress on Neuromuscular disease.	2014年7月5日 ～10日	Nice, France
Axonal Guillain-Barre and Foshier syndromes: current concepts.(口頭)	<u>Kuwabara S.</u>	15th Korean Clinical Neurophysiology Congress.	2014年10月17日	Seoul, Korea.
CIDP: Electrophysiology, immunology, and treatment.(口頭)	<u>Kuwabara S.</u>	Korea University Neuroscience Seminar.	2014年10月16日	Seoul, Korea.

Fingolimodは末梢神経軸索興奮性を増大させる。(ポスター)	澁谷和幹, 三澤園子, 森雅裕, 関口縁, 三津間さつき, 別府美奈子, 岩井雄太, 渡辺慶介, 桑原 聡.	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日 ~24日	福岡
Fisher症候群の臨床経過 : Guillain-Barre症候群・Bickerstaff型脳幹脳炎への移行。(口頭)	関口 縁, 三澤園子, 澁谷和幹, 那須彩子, 三津間さつき, 岩井雄太, 磯瀬沙希里, 桑原 聡.	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日 ~24日	福岡
POEMS症候群におけるサリドマイド・デキサメタゾン療法の長期予後。(口頭)	三澤園子, 三津間さつき, 別府美奈子, 澁谷和幹, 関口 縁, 岩井雄太, 渡辺慶介, 桑原 聡.	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日 ~24日	福岡
CIDPの電気診断における遠位CMAP持続時間 : 低周波フィルターの影響 Cut-off value of the distal compound muscle action potential duration for diagnosis of CIDP.(ポスター)	三津間さつき, 三澤園子, 磯瀬沙希里, 澁谷和幹, 関口縁, 岩井雄太, 別府美奈子, 大森茂樹, 稲葉 彰, 横田隆徳, 国分則人, 小森哲夫, 園生雅弘, 清水俊夫, 平島富美子, 田村暁子, Peter Van den Bergh, Yusuf Rajabally, 桑原 聡.	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日 ~24日	福岡
Fisher症候群における自律神経機能。(口頭)	山中義崇, 朝比奈正人, 荒木信之, 藤沼好克, 片桐明, 澤井 摂, 三澤園子, 森雅裕, 桑原 聡.	第55回日本神経学会学術大会	2014年5月21日 ~24日	福岡