

脳脊髄根末梢神経炎(EMRN)の immunochemical pathology の解明

藤田医科大学病院脳神経内科

研究協力者 ○武藤多津郎

共同研究者 新美芳樹、植田晃広、島さゆり、水谷泰彰、渡辺宏久

研究要旨

EMRN は、中枢神経系と末梢神経系が広範に障害される特異な臨床像を呈する疾患であり、我が国でも従来考えられてきた以上に症例が存在する可能性がある。抗-lactosylceramide (LacCer) 抗体などの抗-oligoglycosylceramide (OGC) 抗体が本例患者試料中にほぼ全例に存在し、病勢とその抗体価が相関することから本症の surrogate marker として利用されてきている。しかし、その病態に関しては未だ不明な点が多く、同じ中枢神経系と末梢神経系が障害される中枢・末梢神経連合脱髄症 (CCPD) との異同についても結論が出ていない。本疾患では、抗-oligoglycosylceramide 抗体 (抗-OGC 抗体) が特異的に検出されることから innate immunity の積極的関与が想定されることから、補体活性及び患者脳脊髄液中の lipidomics 的解析を行った。

その結果、本疾患患者では予想通り innate immunity の活性化と髄液スフィンゴ脂質に異常を来している事を見出した。

研究目的

EMRN は、中枢神経系と末梢神経系が広範に障害される特異な臨床像を呈する疾患であり、我が国でも従来考えられてきた以上に症例が存在する可能性がある。抗-lactosylceramide (LacCer) 抗体などの抗 OGC 抗体が本例患者試料中の全例に存在し、病勢とその抗体価が相関することから本症の surrogate marker として利用されてきている。しかし、その病態に関しては未だ不明な点が多く、同じ中枢神経系と末梢神経系が障害される中枢・末梢神経連合脱髄症 (CCPD) との異同についても結論が出ていない。本研究では、本症の免疫学的・糖鎖生物学的病態を解明すべく種々の検索を行った。

研究方法

PCtrlk 細胞を市販の抗 GM1 抗体を種々の濃

度で 24 時間作用させた。Whole cell 及び我々の既報²⁾の細胞分画法を用いて調整した膜画分での nSMase 活性とタンパク量を調べた。また、ショ糖密度勾配超遠心法で EMRN 患者 20 例は全員自験例で中枢・末梢神経系に広範な障害を示しかつ種々の程度に自律神経症状を呈し、全例に血清あるいは髄液で抗-OGC 抗体を認めた。疾患対照として、無菌性髄膜脳炎患者 5 例 (DC-1) と再発・寛解型 MS 患者 7 例 (DC-2) および尿管結石や腎臓結石などで当院泌尿器科において腰椎麻酔による手術を受けた神経疾患及びその家族歴を有さない 43 例 (NNC) を用いた。髄液中の ceramide (Cer) 及び sphingomyelin (SM) 濃度測定を liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) を用いて高感度に測定した (EMRN 10 例、NNC 14 例、DC-2 7 例を対象)。更に、innate immunity の状態を把

握するため末梢の血清 C5a 濃度を **EMRN** 19 例、**NNC** 26 例、**DC-1** 5 例を対象に、中枢の髄液 C5a 濃度を **EMRN** 12 例、**NNC** 20 例、**DC-1** 5 例を対象に Abcam のキットを用いて duplicate で測定した。又、血清・髄液 C5a 濃度に関しては、**NNC** 症例について年齢及び性差についてその相関関係を調べた。更に、**EMRN** 症例では、急性期と回復期での C5a 濃度について統計学的な検索を行った。尚、本研究は、藤田医科大学及び北海道大学の倫理審査委員会の承認の基に実施された。

研究結果

LC-MS/MS による髄液中 Cer 及び SM 濃度測定の結果は、**EMRN** で **NNC** に比し有意に Cer が増加しており、特に C18-1 Cer については **RRMS** 症例 (**DC-2**) との間にも有意差を認めた。Cer は total でも **NNC** に比し有意に増加していた。これに対し SM はこれら 3 者には有意差を認めないという極めて興味ある結果であった。

一方、血清及び髄液中の C5a 濃度は、**EMRN** 患者でのみ **NNC** との間にも有意な増加を示した ($p=0.0029$)。 **DC-1** (無菌性髄膜脳炎)症例では、**NNC** に比し特に髄液中で **EMRN** と同程度の増加を認めたが、有意差は認めなかった。

更に、急性期・回復期の検体検索が可能であった **EMRN** 症例では、血清では **NNC** レベルまで有意な低下を認めたが、髄液では有意差を認めなかった。

考察

Cer は、神経細胞死のセカンドメッセンジャーとして機能する脂質として有名であり、又**神経炎症**を誘導する物質として、又脳血液関門を破壊する能力がある物質としても最近注目を集めている。更に、特定の脂肪酸アシル基

の鎖長が本疾患との発生に深く関与している可能性を示唆している。Cer は、生体内で厳密に制御されており、アシル基鎖長の違いはそれらの 6 ヶある合成酵素により各々が産生されていることが知られている。一方、補体に関するデータ及び抗-OGC 抗体の存在は、本症では異常な humoral innate immunity の活性化が起きていることを強く示唆していると考えられる。従って、本症の新規治療法として**抗 Cer 療法**や**抗補体療法**が有効である可能性を示唆する点で大変興味深いものとする。今後、更なる大規模なコホート研究で本結果を確かめたい。

結論

本疾患では、異常な自然免疫の活性化が生じており、中枢神経内での Cer の異常蓄積が生じている可能性が高い事が判明した。今後こうした病態を想定した本疾患の新たな治療法の開発が望まれる。

文献

1. Shima S, Kawamura N, Ishikawa T, et al. Anti-neutral glycolipid antibodies in encephalomyeloradiculoneuropathy. *Neurology* 2014; 82(2):114-118. doi: 10.1212/WNL.000000000000015.
2. Takeuchi Y, Ochiai J, Ueda M, Mabuchi C, Shima S, Mutoh T. A Case of Limbic Encephalitis with Anti-Neutral Glycosphingolipid Antibodies. *Neurol Clin Neurosci* 2016; 4; 2:70-72.
3. Nanaura, H., Kataoka, H., Shima, S, et al. A patient with

encephalomyeloradiculoneuropathy exhibiting a relapsing-remitting clinical course: correlation of serum and cerebrospinal fluid anti-neutral glycosphingolipids antibodies with clinical relapse. *Front Neurol* 2018; 9:206.

4.Saito K, Toru S, Shima S, Mutoh T: Anti-neutral glycolipids antibody-positive combined central and peripheral demyelination mimicking encephalomyeloradiculoneuropathy phenotype. *Clin Neurol Neurosurg* 2018; 172: 90-92.

5.Harada M, Miura S, Kida H, et al. Reversible conduction failure in anti-lactosylceramide-antibody positive combined central and peripheral demyelination.

Front Neurol 2019 doi:10.3389/fneur.2019.00600

6.Oji Y, Hatano T, Ueno S, Funayama M, Ishikawa K, Okuzumi A, Noda S, Sato S, Satake W, Toda T, Li Y, Hino-Takai T, Kakuta S, Tsunemi T, Yoshino H, Nishioka K, Hattori T, Mizutani Y, Mutoh T, Yokochi F, Ichinose Y, Koh K, Shindo K, Takiyama Y, Hamaguchi T, Yamada M, Farrer MJ, Uchiyama Y, Akatsu W, Wu YR, Matsuda J, Hattori N. Variants in saposin D domain of prosaposin gene linked to Parkinson's disease. *Brain* (in press)

7.Mizutani Y, Niimi Y, Mutoh T. Better neuroradiological approach for the diagnosis of early stage Parkinson's disease patients. *The neuroscience of Parkinson's disease* (in press)

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：なし