

Cytometric CBA 法による抗横紋筋抗体測定に関する研究

分担研究者： 中原 仁

所属施設名： 慶應義塾大学医学部神経内科

研究要旨

抗横紋筋抗体の代表的な対応抗原は titin, ryanodine receptor (RyR), voltage-gated K channel (Kv1.4) であり, これらの自己抗体は重症筋無力症 (myasthenia gravis, MG) 患者に合併する筋炎・心筋炎と関連している。Cell-based assay (CBA) の判定に flow cytometry を利用した新たな測定法 (cytometric CBA 法) により, 抗横紋筋抗体測定系を樹立した。筋炎・心筋炎を合併した MG の全例で cytometric CBA による抗 titin 抗体あるいは抗 Kv1.4 抗体が陽性であった。また免疫チェックポイント阻害薬が原因となって発症するミオパチーでは抗横紋筋抗体が高頻度に検出され, 診断に有用なバイオマーカーになる可能性がある。

A. 研究目的

抗横紋筋抗体は骨格筋組織を用いた間接蛍光法により判定されるが, 偽陽性が多くその臨床応用は限られている。抗横紋筋抗体の代表的な対応抗原は titin, ryanodine receptor (RyR), voltage-gated K channel (Kv1.4) であり, これらの自己抗体は重症筋無力症 (myasthenia gravis, MG) 患者に合併する筋炎・心筋炎と関連している。Cell-based assay (CBA) は感度の高い測定法であり, その臨床応用は広がり続けている。しかし陽性, 陰性の判断は培養細胞を用いた間接蛍光法における目視で判定する点は難点であり, 改善の余地がある。

B. 研究方法

2003 年から 2016 年に当科で自己抗体測定を行った 2609 例の中で, 筋炎・心筋炎を合併した MG30 例 の保存血清を用いた。コントロール群として筋炎・心筋炎を合併して

いない MG (early-onset MG, late-onset MG, thymoma-associated MG) および他の筋疾患 (抗 SRP ミオパチー, 封入体筋炎, 筋ジストロフィー), 健常者の各 30 例, 合計 210 例の血清を用いた。既報告から自己抗体が認識する titin, Kv1.4, RyR の抗原を 293F 細胞に発現させ CBA を行い, その評価に flow cytometry を利用した。

(倫理面への配慮)

自己抗体測定に関する研究は慶應義塾大学の倫理委員会で承認され, 検体保存や患者情報の管理を徹底している。

C. 研究結果

自己抗体は 293F 細胞と抗原を発現した細胞における蛍光発現の比から, antibody index として計算した。筋炎・心筋炎を合併した MG, late-onset MG, thymoma-associated MG では抗 titin 抗体, 抗 RyR 抗体, 抗 Kv1.4 抗体が陽性であった。Early-

onset MG および他の筋疾患，健常者で抗 titin 抗体と一部の例外を除き抗 Kv1.4 抗体は陰性であったが，抗 RyR 抗体は陽性であった．筋炎・心筋炎を合併した MG30 例 (M:F=8:22, 平均年齢は 60 歳) は全例が中等症以上の全身型であり，21 例は胸腺腫を有していた．また心筋炎を合併していたのは 19 例であり，うち 8 例は複数の免疫療法にもかかわらず心不全と心室頻拍により死亡した．抗 titin 抗体は 28 例 (93%)，抗 Kv1.4 抗体は 15 例 (50%) で検出され，全例でいずれかの自己抗体が陽性であった．

D. 考察

筋炎・心筋炎を合併した MG の全例で cytometric CBA による抗 titin 抗体あるいは抗 Kv1.4 抗体が陽性であった．また免疫チェックポイント阻害薬が原因となって発症するミオパチーでは抗横紋筋抗体が高頻度に検出され，診断に有用なバイオマーカーになる可能性がある．

E. 結論

自己抗体の測定法として cytometric CBA は，今後の臨床応用が期待できる．

F. 研究発表

(1) 国内

口頭発表	2 件
原著論文による発表	0 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

学会発表

久富木原健二，鈴木重明，渡邊由里香，稲垣貴之，高松孝太郎，中根俊成，安東由喜雄，中原仁．Cytometric cell-based assay による抗横紋筋抗体測定と筋炎．心筋炎を合併した MG における臨床的意義．第 30 回日本神経免疫学会学術集会，2018(9/21)，郡山

(2) 海外発表

口頭発表	0 件
原著論文による発表	1 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

Kufukihara K, Watanabe Y, Inagaki T, Takamatsu K, Nakane S, Nakahara J, Ando Y, Suzuki S. Cytometric cell-based assays for anti-striational antibodies in myasthenia gravis with myositis and/or myocarditis. Sci Rep 9: 5284, 2019

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし