

免疫性末梢神経疾患における ジヒドロリポアミド S-アセチルトランスフェラーゼ(DLAT) に対する自己抗体

～抗 DLAT 抗体は感覚神経障害のバイオマーカーとなりうる～

【ポイント】

- ・慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)は慢性の経過で四肢の筋力低下や感覚障害を引き起こす免疫介在性の末梢神経疾患(ニューロパチー)ですが、病態と関連するバイオマーカー^{*1}を見出すことが喫緊の課題です。
- ・免疫沈降法と質量分析という方法を組み合わせた解析により、CIDP 患者さんの血液の中にジヒドロリポアミド S-アセチルトランスフェラーゼ(DLAT)^{*2}に対する自己抗体が存在することを見出しました。
- ・CIDP 患者の 18%、感覚性ニューロパチー患者の 10%がDLATに対する自己抗体を有していましたが、他のニューロパチー(ギラン・バレー症候群や遺伝性ニューロパチー)および健常人では抗体を認めませんでした。
- ・DLAT は感覚神経細胞の集まりである後根神経節に高発現しており、抗 DLAT 抗体は感覚優位の神経障害のバイオマーカーとして有用な可能性があります。

【要旨】

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科学講座の深見祐樹 医員(筆頭著者)、勝野雅央 教授らの研究グループは、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)患者血清とマウスの神経組織を反応させ、免疫沈降法と質量分析を組み合わせた手法により、ジヒドロリポアミド S-アセチルトランスフェラーゼ(DLAT)に対する自己抗体を同定しました。

CIDP は慢性の経過で末梢神経に炎症が起こり、四肢の筋力低下や感覚障害を引き起こす免疫介在性の末梢神経疾患(ニューロパチー)ですが、その病態は未だ不明です。CIDPには手足の運動障害と感覚障害をおこす典型的なタイプに加え、運動障害が主体なタイプや感覚障害が主体のタイプ、左右で症状が異なるタイプなど様々なタイプ(病型)があります。こうしたタイプの背景には、同じCIDPといえども、異なる病態があると考えられていますが、実臨床において病態を反映した有用なバイオマーカーがなく、それらを探索することが喫緊の課題です。バイオマーカーが同定されれば、臨床的特徴、発症機序、治療反応性が類似している患者の層別化とそれに応じた治療法開発に役立つことが期待されます。

今回、研究グループは CIDP 患者血清中の疾患に関連する自己抗体を検証し、その臨床的特徴を調べました。その結果、DLAT に対する自己抗体を同定し、CIDP 患者血清の 18%に DLAT に対する抗体を認め、そうした患者の多くが感覚性運動失調^{*3}を有していました。DLAT に対する抗体は、CIDP以外の感覚障害主体の末梢神経障害の患者さんの一部でもみられました。また、DLAT は感覚神経細胞の集まりである後根神経節細胞に高発現していることもわかりました。

本研究の結果から、抗 DLAT 抗体は感覚優位の免疫介在性末梢神経障害のバイオマーカーとして有用な可能性が示唆されました。本研究成果は国際科学雑誌「Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation」(2024 年 1 月 5 日付オンライン版)に掲載されました。

1. 背景

慢性炎症性脱髄性多発神経炎(CIDP)は、緩徐進行性あるいは再発性の経過で四肢の筋力低下や感覚障害を引き起こす免疫介在性の末梢神経障害です。その病因や病態は未だ不明ですが、末梢神経成分への自己免疫異常による脱髄^{*4}によって引き起こされると考えられています。CIDP の診断には、神経伝導検査^{*5}で複数の部位における脱髄を示す電気生理学的証拠が必要です。しかしながら、CIDP の診断は難しく、非典型的な変異型^{*6}が存在するため誤診が多く、病態を反映した有用なバイオマーカーを探索することが喫緊の課題です。バイオマーカーが同定されれば、臨床的特徴、発症機序、治療反応性が類似している患者の層別化に役立つ可能性があります。

私たちはこれまで有用なバイオマーカーとして血清中のニューロフィラメント軽鎖^{*7}が CIDP の疾患活動性と関連し、電気生理学的および病理学的に神経軸索変性^{*8}と関連することを明らかにしてきました。

本研究ではさらなるバイオマーカーの探索として CIDP 患者血清中の疾患に関連する自己抗体を検証し、その臨床的特徴を調べました。

2. 研究成果

本研究ではまず、CIDP 患者 78 名と健常人 5 名の血清サンプルを用いて、非還元条件下でマウス脳組織抽出液とのウェスタンブロット法^{*9}での反応性を確認しました。その結果、60-70 kDa のタンパク質バンドが CIDP サンプルの 10%(8 人)に検出されました。さらに、糖蛋白かどうかを確認するためグリコシダーゼ処理^{*10}を行い、この抗原蛋白はグリコシル化されていないことが示されました。このバンドのタンパク質を同定するために、患者血清とマウス脳抽出液の免疫沈降を行い、質量分析で解析したところ、ジヒドロリポアミド S-アセチルトランスフェラーゼ(DLAT)であることが同定され、さらにモノクローナル抗 DLAT 抗体で確認したところ、60-70 kDa の抗原バンド領域に反応性が確認されました(図 1)。

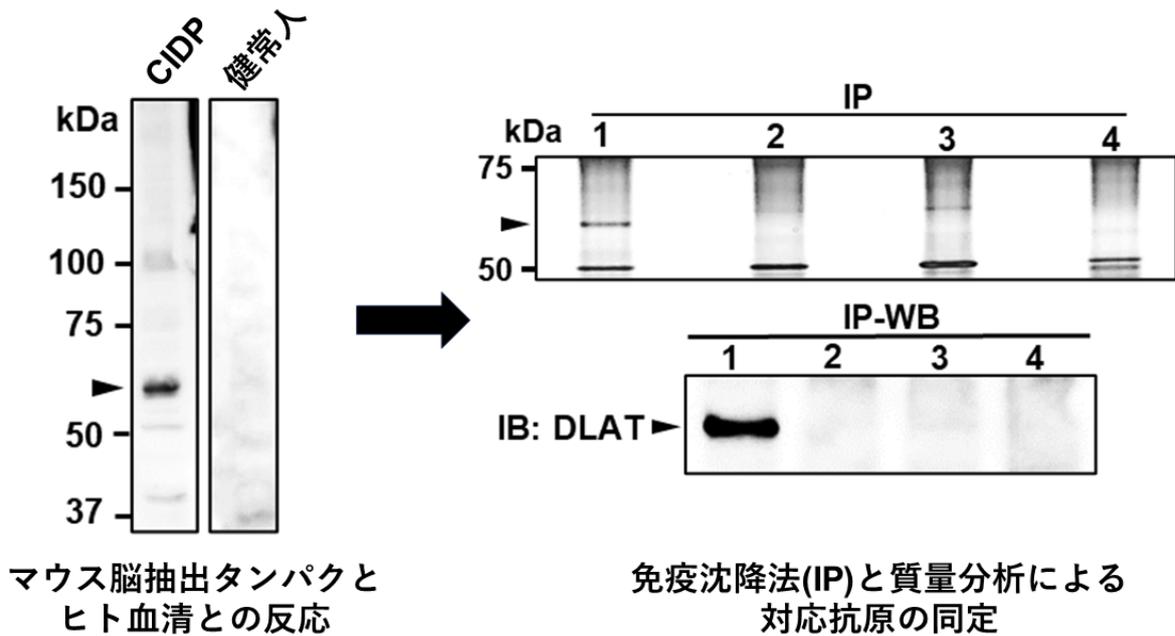
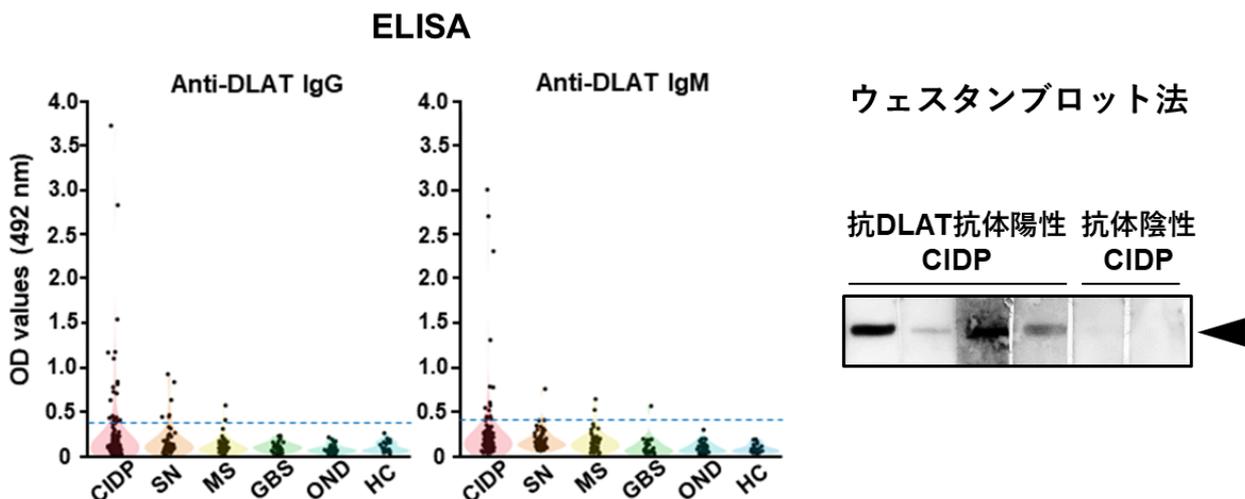


図 1 . DLATに対する自己抗体を同定

次に、多数の検体を用いて DLAT への反応性を検証するためリコンビナント蛋白^{*11}を用いた ELISA 法^{*12}を確立し、さらにウェスタンブロット法でも確認をしました。大規模スクリーニングでは、CIDP 患者 160 例中 29 例(18%)、免疫介在性感覚性ニューロパチー患者 58 例中 6 例(10%)で抗体の存在が確認されました。一方、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、その他の神経疾患および健康人血清を含む対照群で検出されたのは 140 例中 2 例のみ(1%)でした(図 2)。



抗DLAT抗体はCIDPの18%、感覚性ニューロパチーの10%で検出される

図 2 . 抗DLAT抗体はCIDPで検出される

さらにヒト剖検後根神経節細胞において DLAT の高発現が観察され、患者血清とマウス後根神経節細胞との反応性が確認されました。また、DLAT を過剰発現させた HEK293細胞とマウス後根神経節を用いた免疫染色での検討においても患者血清との反応性が確認されました(図3)。しかしながら、初代培養マウス後根神経節細胞を用いた実験では明らかな細胞障害を示さず、T 細胞介在性の機序または他の要因が背景にある可能性が考えられました。

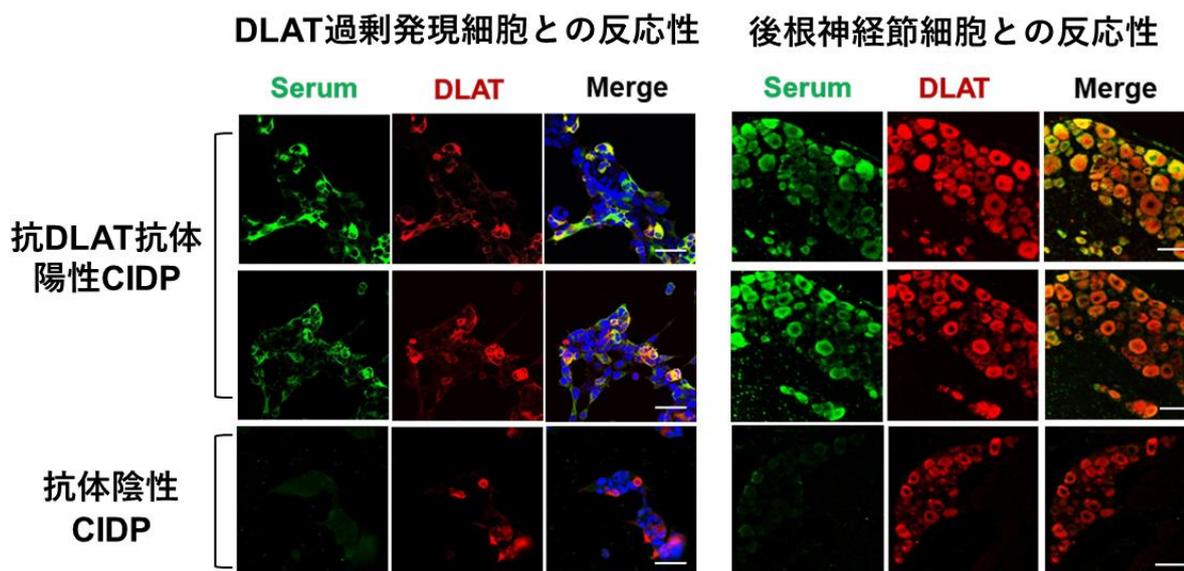


図3. 抗DLAT抗体は後根神経節細胞と反応性がある

抗 DLAT 抗体陽性 CIDP29 例の臨床的特徴として、抗体陰性 CIDP131 例と比較したところ、感覚性運動失調(69%対 37%)、脳神経障害(24%対 9%)、悪性腫瘍(20%対 5%)を合併する患者の割合が高いことがわかりました。

以上の本研究の結果をまとめると

- ・CIDP の中でも感覚障害が主体のタイプの患者血清中に抗 DLAT 抗体が検出されました。
- ・CIDP以外の感覚障害主体のニューロパチーの患者でもこの抗体がしばしばみられることがわかりました。
- ・DLAT は感覚神経細胞の集まりである後根神経節細胞に高発現していることから、感覚優位の免疫介在性末梢神経障害のバイオマーカーとして有用な可能性が示唆されました(図4)。

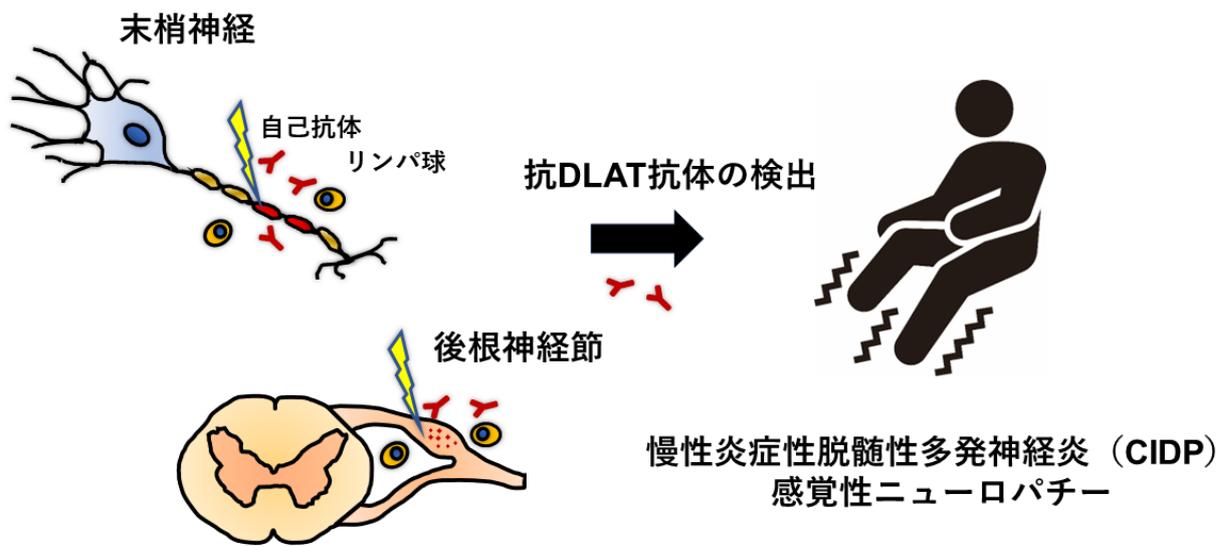


図4. 抗DLAT抗体は感覚障害に関連するバイオマーカー

3. 今後の展開

本研究により抗 DLAT 抗体が感覚優位の免疫性末梢神経障害の診断バイオマーカーとして有用である可能性が示されました。抗 DLAT 抗体を有する患者の臨床的特徴に焦点を当てたさらなる研究が、この疾患の定義をより明確にするのに役立つと考えられます。また、自己抗体の細胞毒性が示されなかったことから、病態への直接的関与は T 細胞介在性など他の要因が背景にある可能性が考えられ、さらなる検証が必要であると考えられます。

4. 用語説明

- ※1 バイオマーカー:ある疾患の病状の変化、治療効果などの指標となる生体内の物質のこと。血液や尿に含まれる物質が用いられることが多い。
- ※2 ジヒドロリポアミド S-アセチルトランスフェラーゼ(DLAT):ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体(PDC)の中心的な触媒作用を持ち、ミトコンドリア内膜に存在し重要な役割を担う。ヒトでは、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体 E2 (PDC-E2) とも呼ばれる。抗ミトコンドリア抗体の対応抗原の一つとして知られている。
- ※3 感覚性運動失調:感覚入力 of 欠落に起因する協調運動障害。
- ※4 脱髄:神経線維を覆っている髄鞘(ミエリン)が何らかの原因で変性・脱落すること。
- ※5 神経伝導検査:筋肉や神経に異常がないかについて、筋肉が収縮する時や神経を電気で刺激するなどの筋肉や神経の信号の伝わり方を記録する検査。
- ※6 変異型:CIDP variants と呼ばれ、多巣型 CIDP(Multifocal CIDP)、遠位型 CIDP(Distal CIDP)、感覚型 CIDP(Sensory CIDP)、運動型 CIDP(Motor CIDP)、限局型 CIDP(Focal CIDP)に分類される。

※7 ニューロフィラメント軽鎖:神経細胞の軸索突起に豊富に含まれる細胞骨格の成分。神経細胞に特有のタンパク質であり、様々な神経疾患の神経細胞の障害を反映して髄液中で上昇し、その一部は血液中に漏出して血液中でも上昇がみられる。

※8 神経軸索変性:神経細胞(ニューロン)の軸索部分が障害により変性を起こすことで、両手足先の感覚障害や遠位優位の筋萎縮を呈する。

※9 ウェスタンブロット法:電気泳動によって分離したタンパク質を膜に転写し、任意のタンパク質に対する抗体でそのタンパク質の存在を検出する手法。

※10 グリコシダーゼ処理:糖鎖を特異的に切断する糖切断酵素により、糖タンパクなどから糖鎖を分解処理すること。

※11 リコンビナント蛋白:特定のタンパク質を大量に産生するために組換え DNA を使って天然タンパク質に操作を加えたもの。

※12 ELISA 法:試料溶液中に含まれる目的の抗原あるいは抗体を、特異抗体あるいは抗原で捕捉するとともに、酵素反応を利用して検出・定量する方法。

5. 支援・謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業(神経免疫疾患)(20FC1030)および日本学術振興会科研費(20K07882、23K14751)の助成を受け行われました。

【論文情報】

雑誌名:Neurology: Neuroimmunology and Neuroinflammation

論文タイトル:Autoantibodies against dihydrolipoamide S-acetyltransferase in immune-mediated neuropathies

著者名・所属名:Yuki Fukami¹, Masahiro Iijima^{1,2}, Haruki Koike¹, Satoru Yagi¹, Soma Furukawa¹, Naohiro Mouri¹, Jun Ouchida³, Ayuka Murakami¹, Madoka Iida¹, Satoshi Yokoi¹, Atsushi Hashizume^{1,4}, Yohei Iguchi¹, Shiro Imagama³, Masahisa Katsuno^{1,4}

1. Department of Neurology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan.

2. Department of Advanced Medicine, Nagoya University Hospital, Japan.

3. Department of Orthopedic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan.

4. Department of Clinical Research Education, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan.

DOI: 10.1212/NXI.0000000000200199

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Neu_240110en.pdf