



Cytometric CBA

抗横紋筋抗体測定

抗横紋筋抗体（anti-striational antibodies）とは、骨格筋や心筋など横紋筋に発現する分子に対する自己抗体であり、重症筋無力症（myasthenia gravis, MG）に関連していると報告されています。

Cytometric CBA 法による抗横紋筋抗体測定は、抗 Titin 抗体および抗 Kv1.4 抗体を高感度に検出する方法で、特許出願中（2018年2月現在）の技術です。

胸腺腫を伴う重篤な MG の治療方針決定や予後予測因子として、MG と筋炎・心筋炎の合併の指標として、さらに免疫チェックポイント阻害剤の副作用診断のためのバイオマーカーとしての役割が期待されています。

Research use only

抗横紋筋抗体とは

抗横紋筋抗体 (anti-striational antibodies) とは、骨格筋や心筋など横紋筋に発現する分子に対する自己抗体です。いくつかの対応抗原が知られていますが、代表的な自己抗原は Titin、リアノジン受容体、電位依存性 K チャネル (voltage-gated K channel, Kv1.4) の 3 つです。抗横紋筋抗体は重症筋無力症 (myasthenia gravis, MG) に関連した自己抗体であり、抗原により臨床特徴の多少の違いはありますが、基本的には類似した臨床像を呈します。

抗横紋筋抗体の測定法

抗横紋筋抗体の測定法はこれまで多くの研究者から報告されており、間接蛍光法・ELISA・immunoblot・アイトープを用いた免疫沈降法など様々な方法があります。ただし、測定法により、陽性の判断基準が異なるため、感度や特異度に一定の評価が得られていません。確立された測定法が開発されていないこともあり、これまで実臨床で検査される機会が限られているのが現状です。

弊社では、慶應義塾大学医学部神経内科、神経免疫グループと共同し、新規の抗横紋筋抗体の測定法の開発に成功いたしました。

Cytometric cell-based assay (Cytometric CBA) と名付けたこの手法は、生細胞の膜表面に対応抗原を発現させ、血清中の自己抗体と反応させた後、抗ヒト抗体を用いて染色します。染色した細胞の解析に Flow Cytometer を用いることで、従来よりも高感度に測定することが可能になりました。

弊社の測定法では、抗横紋筋抗体の対応抗原のうち、Titin と Kv1.4 に対する自己抗体を検出します。抗リアノジン受容体抗体は、国内外の研究者によって様々な測定法が提唱



されてきました。しかし、高感度を誇る Cytometric CBA においても疾患特異性や疾患感度が担保されなかったため、採用しませんでした。

抗横紋筋抗体の測定意義

1. 重篤な MG の治療方針決定や予後予測因子

MG の治療方針決定や予後予測因子として重要です。MG は神経筋接合部におけるアセチルコリン受容体 (抗 AChR 抗体) あるいは筋特異的チロシンキナーゼ (抗 MuSK 抗体) に対する自己抗体が原因となる臓器特異的な自己免疫疾患です。一般的には、抗 AChR 抗体が陽性の患者さんで

抗横紋筋抗体が検出されますので、MGの診断には必要ありません。しかし、抗横紋筋抗体が陽性となるMGはクリーゼや球症状を伴う重篤な患者さんが多いのが特徴であり、急速に症状が進むことがあります。また何年、何十年という経過中にMGが再燃するリスクが高いことも知られています。一方、免疫抑制剤など免疫治療が奏功する場合が多く、積極的な免疫療法を選択する際の指標になります。特に、胸腺腫(thymoma)に伴う胸腺腫関連MGの患者さまで抗横紋筋抗体が陽性となる頻度が高く、測定してみる価値があります。



2. MG と筋炎・心筋炎の合併の指標

MG、特に胸腺腫関連MGでは運動症状以外にも neuromyotonia、辺縁系脳炎、赤芽球癆、円形脱毛、免疫不全、心筋炎、味覚障害など胸腺腫由来のT細胞機能異常に基づく様々な非運動症状が出現することが知られています。その中で抗横紋筋抗体が検出されるMG患者さんは、経過中に筋炎・心筋炎を高率に合併することが知られています。クリーゼの管理が確立された現在、MGの患者さんの生命予後は著しく改善しています。その中で、生命予後を左右するものとして致死的な心臓合併症の早期発見はとても重要です。欧州からの報告では、胸腺腫関連MGの死因で50例中7例は突然死であり、心筋炎との関連が推定されています。

抗Kv1.4抗体を測定したMG患者650例の中で抗Kv1.4抗体が陽性であった70例の心電図所見を解析し、報告しています。その中の42例(60%)でT波異常やQT延長などの心電図異常を認めました。この中で心エコーや冠動脈造影を

行い虚血性心疾患など他の心疾患が除外され、最終的に心筋炎と診断された症例は8例(1.2%)でした。心筋炎を発症したMG8例のうち4例は心室頻拍、torsades de pointes、突然の房室ブロック・心停止を発症してお亡くなりになっています。一方、心筋炎を早期に診断し免疫治療を施行できた症例や洞不全症候群に対してペースメーカーにより救命できた症例は救命が可能でした。

3. 免疫チェックポイント阻害剤の副作用 診断のためのバイオマーカー

オプジーボをはじめとする免疫チェックポイント阻害剤(immune checkpoint inhibitors, ICIs)は、これまで治療困難とされていたがん患者さんにも有効性が証明さ

れ、がん治療は新たな時代に突入しました。一方、予期せぬ免疫関連有害事象 (immune-related adverse events, irAE) が起こることも分かってきました。特に注意をしなければいけないのが MG です。オプジーボの市販後調査では 0.12% の頻度で MG が発症し、投与開始早期に MG が発症し、重篤な症例が多く死亡例も報告されています。

重要なことは ICIs が原因となる MG は薬と関係なく発症する MG と臨床特徴が大きく異なる点です。ICIs が原因となる MG は血清クレアチンキナーゼが高値を示し、MG、筋炎、心筋炎が同時に起る可能性があることです。これら MG、筋炎、心筋炎の病態への関与が推測されるのが、抗横紋筋抗体です。胸腺腫あるいは ICIs が原因となる T 細胞機能異常に基づいた、「MG・筋炎・心筋炎」は一連のスペクトラムにあり、抗横紋筋抗体症候群 (antistriational syndrome) として位置づけることが可能です。既報告例や自験例では ICIs が原因となる MG・筋炎・心筋炎の患者血清中には抗横紋筋抗体の存在が確認されています。抗 AChR 抗体が陰性の場合でも、抗横紋筋抗体が検出される場合があり、ICIs の副作用を早期に診断するためのバイオマーカーとしての役割が期待できます。



慶應義塾大学医学部神経内科
専任講師
鈴木重明

連絡先：慶應義塾大学医学部神経内科
〒160-8582 新宿区信濃町 35



参考文献

1. Aarli JA, Stefansson K, Marton LS, et al. Patients with myasthenia gravis and thymoma have in their sera IgG autoantibodies against titin. *Clin Exp Immunol* 1990;8:284-288.
2. Evoli A, Minisci C, Di Schino C, et al. Thymoma in patients with MG: characteristics and long-term outcome. *Neurology* 2002;59:1844-1850.
3. Suzuki S, Satoh T, Yasuoka H, et al. Novel autoantibodies to a voltage-gated potassium channel Kv1.4 in a severe form of myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 2005;170:141-149.
4. Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, et al. Classification of myasthenia gravis based on autoantibody status. *Arch Neurol* 2007;64:1121-1124.
5. Suzuki S, Utsugisawa K, Yoshikawa H, et al. Autoimmune targets of heart and skeletal muscles in myasthenia gravis. *Arch Neurol* 2009;66:1334-1338.
6. Nagane Y, Suzuki S, Suzuki N, Utsugisawa K. Factors associated with response to calcineurin inhibitors in myasthenia gravis. *Muscle Nerve* 2010;41:212-218.
7. Suzuki S, Utsugisawa K, Nagane Y, Suzuki N: Three types of striational antibodies in myasthenia gravis. *Autoimmune Dis*, 740583, 2011.
8. Suzuki S, Nishimoto T, Kohno M, et al. Clinical and immunological predictors of prognosis for Japanese patients with thymoma-associated myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 2013;258:61-66.
9. Suzuki S, Utsugisawa K, Suzuki N. Overlooked non-motor symptoms in myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84:989-994.
10. Suzuki S, Baba A, Kaida K, et al. Cardiac involvements in myasthenia gravis associated with anti-Kv1.4 antibodies. *Eur J Neurol* 2014;21:223-230.
11. Suzuki S, Ishikawa N, Konoeda F, et al. Nivolumab-related myasthenia gravis with myositis and myocarditis in Japan. *Neurology* 2017;89:1127-11.



測定原理 – Cytometric cell-based assay (CBA) –

Titin 抗原および Kv1.4 抗原を発現させた培養細胞を用いた、フローサイトメーターによる自己抗体測定となります。

血清中の自己抗体が、培養細胞膜状に発現した抗原蛋白質と結合し、抗ヒト抗体を用いて染色・検出いたします。

測定項目

項目名	動物種	検体	検体量	報告日数	価格
抗横紋筋抗体	ヒト	血清	200 μ L	10 営業日	15,000 円

抗横紋筋抗体測定結果の詳細報告（抗 Titin 抗体、抗 Kv1.4 抗体それぞれ単独での測定結果）も可能です。詳しくはお問い合わせください。

受託測定

受託に際しては、受託測定のご依頼方法および業務委受託約款をご確認ください。FACS 依頼表に必要事項をご記入いただき、弊社までご連絡ください。サンプル受付後 10 営業日での報告となります。

お問い合わせ

株式会社 TKResearch
千葉県柏市藤心 3-7-6-101
Tel : 070-1466-0512
E-mail : info@tkresearch.co.jp
<http://www.tkresearch.co.jp>