

<教育講演 6>

重症筋無力症の進歩

—シナプスの構造・機能と多様な抗体を中心として—

高守 正治

(臨床神経, 49 : 789—793, 2009)

Key words : ニコチン性およびムスカリン性アセチルコリン受容体, 電位依存性および非依存性カルシウムチャネル, シナプトタグミン, リアノジン受容体, 立体構造依存性抗体

はじめに

重症筋無力症 (MG) ではアセチルコリン受容体 (AChR) 抗体 (Fig. 1 中央, 抗体 1, 2 参照), Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS) では P/Q 型電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VGCC) 抗体が病因の主役とされるが, 近年, シナプス周辺機構やシナプス障害補償機構を標的とする抗体の発見によって, 更なる病態論が展開しつつある. また既知の抗体すべてが陰性の症例では, 立体構造依存性抗体や, 抗原蛋白とその周辺蛋白との組み合わせによってのみ検出されうる抗体があることへの配慮や, 先天性筋無力症候群との鑑別への配慮が求められる.

1. シナプス周辺機構と免疫

(1) Muscle-specific tyrosine kinase (MuSK) 抗体

神経因子 Agrin は受容体 Lrp4 と結合, MuSK (その活性化には Dok7 必須) を介して伝えられるシグナルが anchor 蛋白である Rapsyn に達し, 運動終板上に AChR を群落形成させ, ACh に対する受容効果を高める (Fig. 1 下右). 近年, AChR 抗体陰性にもかかわらずシナプス伝達疲労を示す MG 症例血中に MuSK 抗体が発見され (30~50%) (Fig. 1, 抗体 3), 基礎, 臨床にわたる研究が続けられている¹⁾.

(2) Non-IgG 抗体

AChR 抗体陰性例の中には, MuSK 抗体陽性または陰性例で AChR 脱感作を誘起する non-IgG 分画 (AChR allosteric site を標的) の存在が明らかにされ, 一部には Na^{+} チャネルを阻害する IgM 抗体もふくまれる¹⁾ (Fig. 1, 抗体 4). ヒト横紋筋肉腫 RD 細胞をもちいたパッチクランプ法電位固定下で Na^{+} 電流を測定すると, この IgM 抗体処理で可逆的に電流がブロックされ, また表面電極法で筋膜直接刺激をおこなうと通常の MG ではみられない誘発筋電図減衰がみられる.

(3) 重症筋無力症における筋収縮疲労—リアノジン受容体, 非電位依存性 Ca^{2+} チャネルと抗体

シナプス伝達, 膜脱分極に続いては, dihydropyridine 受容

体 (L 型 VGCC) をふくむ T 管膜と, 筋収縮のための Ca^{2+} 遊離を司る筋小胞体との間に介在するリアノジン受容体 (RyR1) が機能する. MG の中には RyR1 抗体陽性例 (25 例中 64%) があり (Fig. 1, 抗体 5), 胸腺腫 (上皮細胞に RyR1 の一部が発現し T 細胞感作に関与) を合併するばあいが多い (sensitivity 94%, specificity 89%)²⁾. 電気生理学的には筋張力計による測定で, 単収縮, 強縮張力の低下が観察される. 分子レベルのアプローチでは C 端寄り (Ca^{2+} 遊離ゲートおよび T 細胞感作領域) を認識する抗体の検出率が高い³⁾. RyR1 活性化 (筋小胞体 Ca^{2+} 遊離) には上述の T 管膜脱分極系とは別に, 非電位依存的に TRPC3 (Transient receptor potential canonical type 3) が TRPC1 を介して働きかける系がある (Fig. 1, 下左). われわれの症例でその抗体陽性率は 36%, 胸腺腫合併例で高率であった (sensitivity 50%, specificity 89%)²⁾ (Fig. 1, 抗体 6). TRPC3 は Orail1, STIM1 と共役して筋小胞体 Ca^{2+} 遊離後の補充機構にも関与するので⁴⁾ (Fig. 1 下左), この機構への抗体の修飾もありうる.

(4) Lambert-Eaton 筋無力症候群とシナプトタグミン抗体

LEMS は小細胞性肺癌など悪性腫瘍との合併率 (50~60%) が高い傍腫瘍性症候群のひとつである. 神経終末からの Ca^{2+} 依存性 ACh 遊離に必要な P/Q 型 VGCC (とくに分子構造上は domain III S5-S6 linker 膜外露呈領域) に対する抗体が主役を演ずる⁵⁾ (Fig. 2, 抗体 1). 一部の症例では Ca^{2+} センサーの役割を担いシナプス小胞開口中 N 端側 53 残基が膜外に露呈するシナプトタグミン-1 を標的とする抗体も病態にかかわっている (われわれの症例では抗 VGCC-positive, 抗 VGCC-negative それぞれで 20%)⁵⁾ (Fig. 2, 抗体 2). VGCC 同様肺癌組織に発現している神経終末のそれとの免疫学的交叉反応も成立しうる. われわれはその人工抗原で免疫した動物に疾患モデルを作出できた⁵⁾.

2. シナプス障害の補償機構と免疫

(1) 電位依存性 Ca^{2+} チャネルを介する補償機構

骨格筋支配の神経終末にはムスカリン性 AChRs

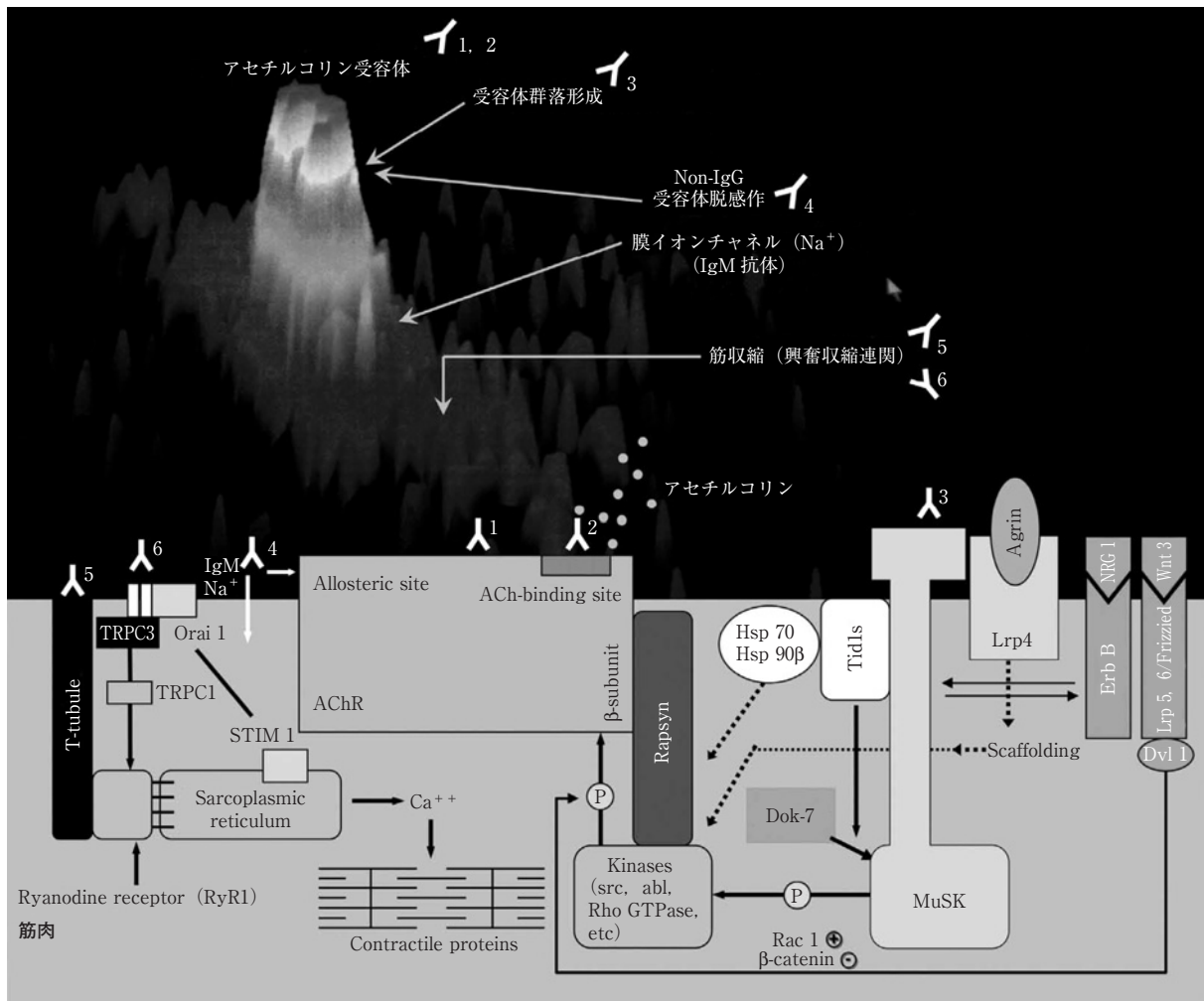


Fig. 1 Schematic presentation of the targets of myasthenogenic antibodies in the postsynaptic membrane and muscle contractile machinery. In the lower schematic drawing, central part: antibody-1 recognizes the site other than the ACh-binding site (causing accelerated AChR degradation and complement-mediated lysis) and antibody-2 recognizes the ACh-binding site (causing blockade of ACh-binding to AChR); right part: proteins contributing to the AChR clustering, one of which (MuSK) is presently confirmed to be targeted by antibodies in 30-50% of anti-AChR-negative MG patients (antibody-3); left part: concerning non-IgG (antibody-4), one targets the AChR allosteric site (leading to AChR desensitization) and the other (anti-IgM) targets the membrane Na^+ channel (leading to disturbed membrane excitability); left part: antibodies 5 and 6 cause contractile fatigue in MG. The antibody-5 (against RyR1) causes a defect in sarcoplasmic Ca^{2+} release mediated via T-tubular membrane depolarization; the antibody-6 (against TRPC3) gives rise to defects in the non-depolarization-dependent release of sarcoplasmic Ca^{2+} through intracellular TRPC1, and also in the function to make up for Ca^{2+} after the release of Ca^{2+} from sarcoplasmic reticulum in cooperation with Orail (Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} messenger) and STIM1 (Ca^{2+} sensor of sarcoplasmic reticulum).

(mAChRs)があり、一部膜外露領域を持つ M1-type はニコチン性シナプス伝達に障害がおこると PKC 活性化を介して VGCC に働きかけ ACh 遊離をうながす (本来 PKA を介し抑制的に働く M2-type も PKC 活性化に転換)⁵⁾ (Fig. 2). われわれは、P/Q 型 VGCC 抗体もシナプトタグミン抗体も陰性にもかかわらず、その血清でマウスへの疾患トランスファーが成立する症例で、M1 mAChR 抗体が陽性であることを証明し

た⁵⁾. また P/Q 型 VGCC 抗体陽性 LEMS 症例の 70% ばかりでなく、陰性例の 100% で M1 mAChR 抗体を検出⁵⁾⁶⁾ (Fig. 2, 抗体 3), LEMS では M1 mAChR を介する補償機構が十分作動していないと思われる. 一方、われわれの MG 症例での本抗体陽性率は 28% にとどまった⁶⁾. VGCC に作用するもう一つの補償機構として、神経栄養因子 (BDNF, NT4) と TrkB の結合によるシグナル系もある⁵⁾ (Fig. 2).

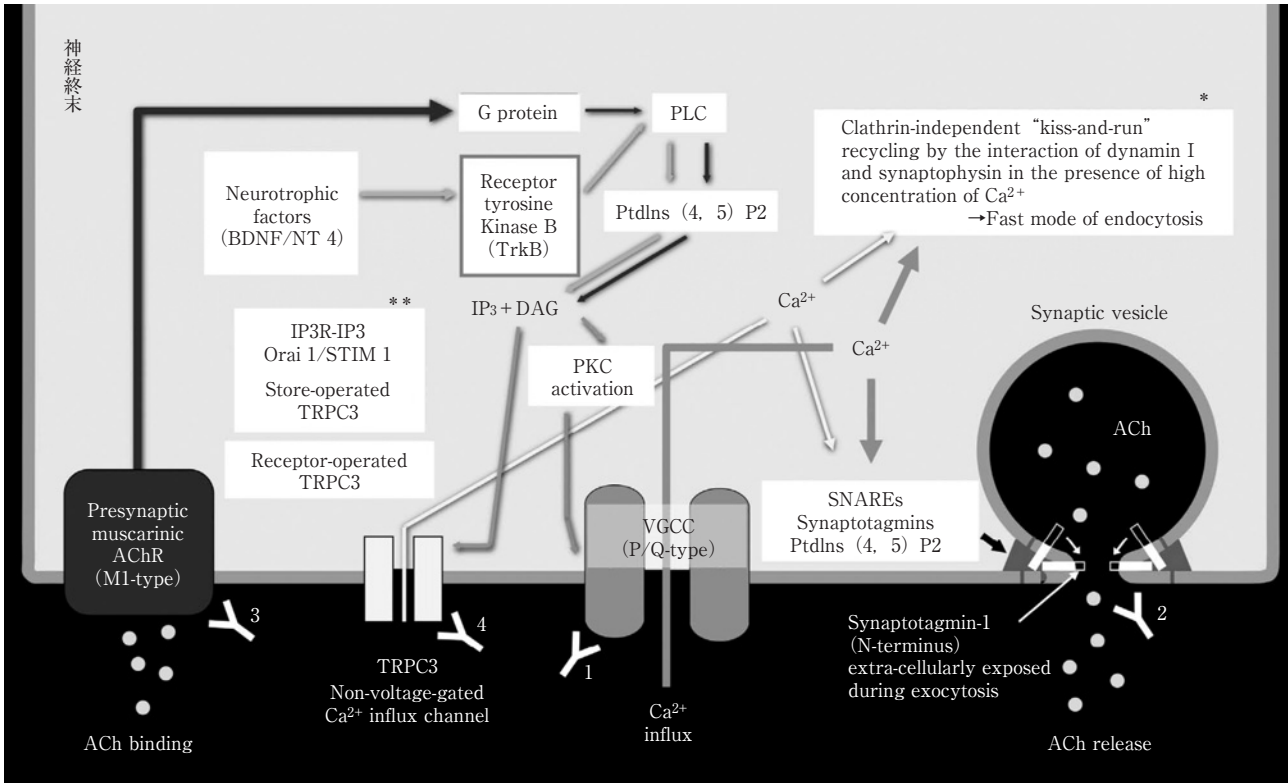


Fig. 2 Calcium homeostasis to compensate for synaptic disorders provided by voltage-gated Ca²⁺ channel (P/Q-type VGCC) and non-voltage-gated Ca²⁺ influx channel (TRPC3) via phospholipase C (PLC) signaling pathways, signals of which are triggered by the activation of M1-type muscarinic AChR and neurotrophin receptor (TrkB). The fast-mode synaptic vesicle recycling (kiss-and-run) (*) can also compensate for synaptic disorders, acting by the interaction of dynamin I and synaptophysin in the presence of high concentration of Ca²⁺ which is supplied by above-mentioned mechanisms and may also meet demand by store depletion-operated Ca²⁺ influx where the TRPC3 functions in cooperation with IP3R or Orai1/STIM1 complex (**).

(2) 非電位依存性 Ca²⁺チャネルを介する補償機構

既述した RyR1 と共役し筋小胞体 Ca²⁺遊離，補充にかかわる TRPC3 はシナプスレベルでも関与し，diacylglycerol (DAG) による活性化で Ca²⁺流入，ACh 遊離促進をもたらす⁵⁾(Fig. 2). われわれの MG の TRPC3 抗体陽性例 (36%) では (Fig. 2, 抗体 4), 筋収縮疲労ばかりでなくシナプス伝達障害についても，補償機構が十分作動していない可能性がある。一方，われわれの LEMS 症例では本抗体はすべて陰性であった。

(3) シナプス小胞回転促進機構

神経終末で ACh 遊離後のシナプス小胞は clathrin 依存性 endocytosis を経てその形を失うが，ふたたび小胞を作り ACh を取り込み，基底膜癒合，exocytosis で ACh 遊離をくりかえす。シナプス伝達障害がおこると，clathrin 非依存性の早まわり小胞回転が起動，補償機構が作動する (Fig. 2 *印)。このためには dynamin1 と synaptophysin が複合体を作るとともに Ca²⁺補給 (μM 単位) が必要である⁷⁾。この補給には電位依存性，非依存性の Ca²⁺流入チャネル (VGCC, TRPC3) の発動 (Fig. 2 *印) が，細胞内貯蔵の Ca²⁺供給 (枯渇に

より TRPC3-IP3R 結合または TRPC3・Orai1・STIM1 complex¹⁾ : Fig. 2 **印) とともに必要となろう。MG, LEMS で Ca²⁺流入チャネルが抗体の標的となって十分機能しない時，この補償機序に齟齬がおこると思われる。

3. 抗体検定用の人工抗原に対する配慮

われわれは，AChR 阻害型抗体の分子レベルの標的 α183-200 ペプチドについて，Torpedo sequence と human sequence は薬理的活性はほぼ同等であるにもかかわらず，抗原として MG 血清を検定した時の陽性率は，より rigid な構造をとる前者 (48%) が後者 (0%) より高く，立体構造依存性抗体の存在に注意を喚起した⁸⁾(Fig. 3)。近年，Oxford グループは，抗原蛋白 (AChR) と anchor 蛋白 (Rapsyn) を共発現させた抗体検定用人工抗原 (HEK 細胞) の有用性を報告している¹⁾。

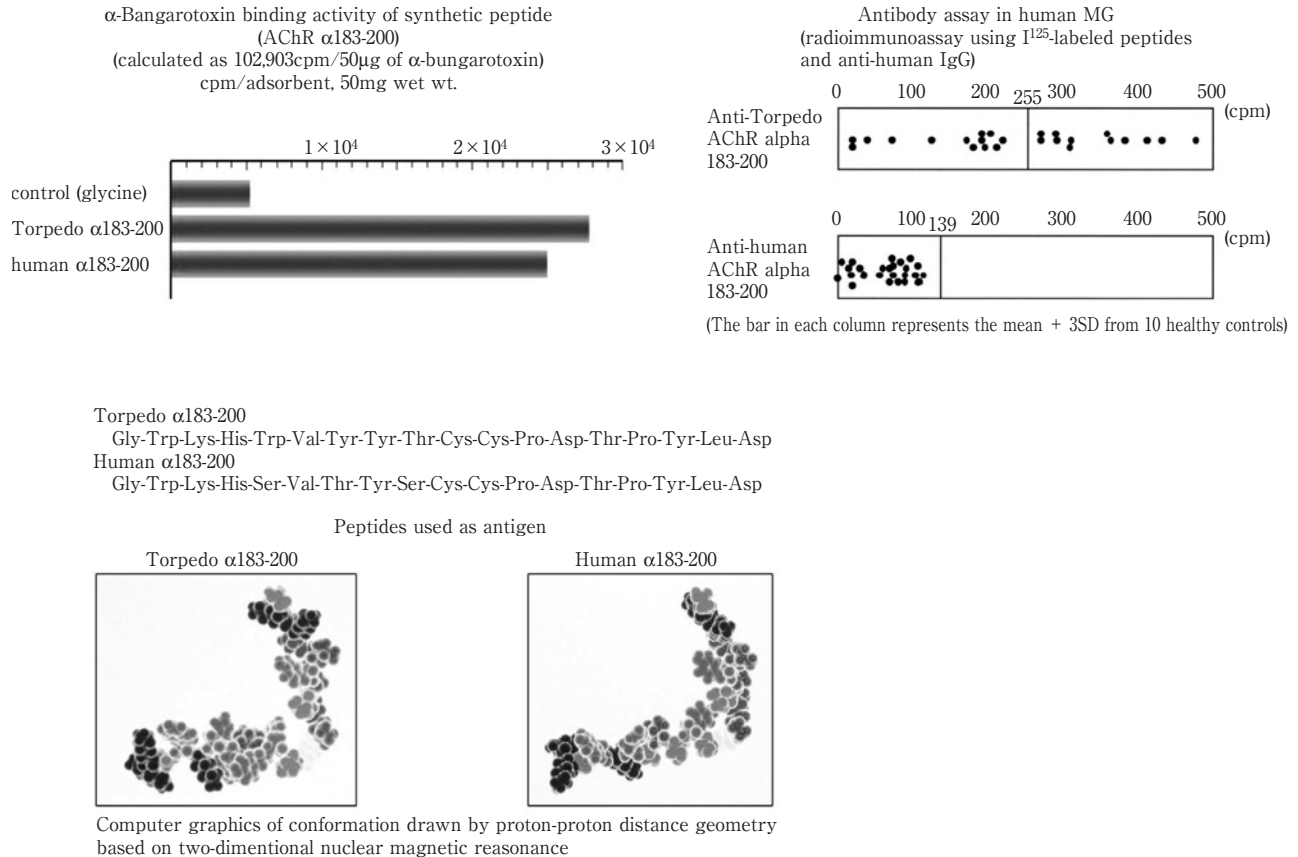


Fig. 3 Studies using synthetic peptide (AChR α 183-200) and focusing on the importance to search for conformation-specific antibodies in the antibody assay. The pharmacologic activity is almost equal between Torpedo and human sequences, but the reactivity with antibodies from MG patients are prevalent with Torpedo sequence antigen. This may reflect the difference in conformation of synthetic peptides between the two as shown by the computer graphics drawn by proton-proton distance geometry based on two-dimensional NMR, although their amino acids in sequence are different only at 3 residue sites.

4. “Seronegative” 筋無力症は自己免疫性か遺伝子異常か—アセチルコリン受容体群落形成を中心として

AChR 群落形成障害は、自己免疫性からは MuSK 抗体が注目されて久しいが、その陽性率は 30~50% である。MuSK 活性を促進、調整する Dok7 や、AChR の anchor 役である Rapsyn の遺伝子異常で、成人発症の弧発例もあることを考えれば病因の鑑別には慎重とならざるをえない。最近、Agrin の受容体として大きい膜外露呈領域を持つ Lrp4⁹⁾ や、Agrin とは独立して MuSK との共在で膜面にその 30% が露呈、heat-shock proteins を介して AChR 群落形成にかかわる Tid1s¹⁰⁾ が報告された (Fig. 1 下右)。その他、Lrp5, 6/Frizzled (Wnt3 受容体)、ErbB (Neuregulin1 受容体) も AChR 群落形成にあずかる (Fig. 1 下右)。いずれも膜外露呈領域を持ち液性免疫の標的となる可能性を秘めているが、細胞外から多様な信号を受信し、細胞内の多彩な機能蛋白に情報を発信する蛋白でもある。神経筋伝達障害の病態に関して、AChR 群落

形成だけを取り上げても、このような複雑な構造と機能に関する情報は、新たな疾患単位の特定に当たって、自己免疫と遺伝子の両面からの慎重な対応を求めている。

文 献

- 1) Vincent A, Leite MI, Farrugia ME, et al: Myasthenia gravis seronegative for acetylcholine receptor antibodies. *Ann NY Acad Sci* 2008; 1132: 84—92
- 2) Takamori M: Autoantibodies against TRPC3 and ryanodine receptor in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol* 2008; 200: 142—144
- 3) Takamori M, Motomura M, Kawaguchi N, et al: Anti-ryanodine receptor antibodies and FK506 in myasthenia gravis. *Neurology* 2004; 62: 1894—1896
- 4) Liao Y, Plummer NW, George MD, et al: A role for Orai in TRPC-mediated Ca²⁺ entry suggests that a TRPC: Orai complex may mediate store and receptor operated Ca²⁺ entry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 3202—3206

- 5) Takamori M: Lambert-Eaton myasthenic syndrome: Search for alternative autoimmune targets and possible compensatory mechanisms based on presynaptic calcium homeostasis. *J Neuroimmunol* 2008; 201-202: 145—152
- 6) Takamori M, Motomura M, Fukudome T, et al: Autoantibodies against M1 muscarinic acetylcholine receptor in myasthenic disorders. *Eur J Neurol* 2007; 14: 1230—1235
- 7) Neves G, Gomis A, Lagnado L: Calcium influx selects the fast mode of endocytosis in the synaptic terminal of retinal bipolar cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 15282—15287
- 8) Takamori M, Maruta T: Immunoabsorption in myasthenia gravis based on specific ligands mimicking the immunogenic sites of the acetylcholine receptor. *Ther Apheresis* 2001; 5: 340—350
- 9) Zhang B, Luo S, Wang Q, et al: LRP4 serves as a coreceptor of agrin. *Neuron* 2008; 60: 285—297
- 10) Linnoila J, Wang Y, Yao Y, et al: A mammalian homolog of *Drosophila* tumorous imaginal discs, Tid, mediates agrin signaling at the neuromuscular junction. *Neuron* 2008; 60: 625—641

Abstract

Recent advance in research for myasthenia gravis, in relation to various antibodies affecting synaptic structure and function

Masaharu Takamori, M.D.
Neurological Center, Kanazawa-Nishi Hospital

Autoantibodies impair acetylcholine receptor (AChR) in myasthenia gravis (MG) and P/Q-type voltage-gated calcium channel (VGCC) in Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS). (1) Some of MG and LEMS patients are “seronegative” for respective antibodies or modified by antibodies that recognize other proteins than AChR and VGCC such as MuSK, AChR allosteric site, membrane Na⁺ channel and ryanodine receptor-1 (RyR1) in MG, and synaptotagmin-1 in LEMS. (2) Autoimmune responses affect the proteins participating in the mechanisms to compensate for synaptic disorders on the basis of presynaptic Ca²⁺ homeostasis provided by VGCC and non-VGCC (receptor-operated TRPCs); they act as enhancers of Ca²⁺-mediated ACh release via phospholipase C signaling pathways including M1-type presynaptic muscarinic AChR, neurotrophin receptor (TrkB), and fast-mode of synaptic vesicle recycling. (3) The pathophysiology contributive to contractile fatigue in MG includes RyR1 and also TRPC3. The TRPC3 also forms a complex with STIM1 and Orail to make up for Ca²⁺ after sarcoplasmic Ca²⁺ release. The prevalent detection of anti-TRPC3 antibodies in MG with thymoma could affect muscle contractile machineries in addition to anti-RyR1-induced affection. (4) When one faces “seronegative” MG, one should be cautious to conformation-specific antibodies and also congenital myasthenic syndromes.

(*Clin Neurol*, 49: 789—793, 2009)

Key words: nicotinic and muscarinic acetylcholine receptors, voltage-gated and non-voltage-gated calcium channels, synaptotagmin, ryanodine receptor, conformation-specific antibodies