

鹿児島およびアメリカ合衆国 HAM 患者の HTLV-I プロウイルス量、
HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数についての比較検討

主任研究者 納 光弘
(鹿児島大学第三内科)

研究要旨

HAM は世界中の HTLV-I 感染地域において発生しているが、今回、我々は、人種的、地理的背景の違う HAM 患者において、ウイルス量、細胞性免疫応答に差異があるかどうかについて検討した。対象は鹿児島大学の HAM 患者 9 例、HTLV-I 感染無症候性キャリアー 10 例、および米国国立衛生研究所の HAM 患者 13 例、HTLV-I 感染無症候性キャリアー 2 例。結果、HTLV-I プロウイルス量および HTLV-I Tax11-19 ペプチド特異的 CD8 陽性細胞数は鹿児島 HAM 患者と米国 HAM 患者の両群間に有意な差異が認められなかった。HAM 患者において、HTLV-I プロウイルス量と HTLV-I Tax 特異的 CD8 陽性細胞数に有意な正の相関関係が認められた。本研究より HAM 患者の高 HTLV-I プロウイルス量と高 HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数は、人種間で強く相違のある遺伝的背景によって強く影響を受けていないであろうことが推察された。また、生体内で HTLV-I が細胞性免疫系、特に HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞を、持続的に刺激誘導していることが示唆された。

鹿児島およびアメリカ合衆国 HAM 患者の HTLV-I プロウイルス量、HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数についての比較検討

永井 将弘¹⁾、山野嘉久²⁾、Steven Jacobson²⁾、納 光弘¹⁾

目 的

HAMは世界中のHTLV-I感染地域において発生しており、その発生機序についてはウイルス、宿主免疫応答相互関係の関与が考えられている。また、遺伝的背景、ウイルスサブタイプがHAM発症頻度に関係があるとの報告もある。今回、我々は、人種的、地理的背景の違うHAM患者において、ウイルス量、細胞性免疫応答に差異があるかどうかについて検討した。

対象および方法

鹿児島大学にてフォローされている HLA-A2 を有する HAM 患者 9 例、HTLV-I 感染無症候性キャリアー 10 例、および米国国立衛生研究所にてフォローされている HLA-A2 を有する HAM 患者 13 例、HTLV-I 感染無症候性キャリアー 2 例を対象とした。末梢血単核球(PBMC)中の HTLV-I プロウイルス量を定量 PCR 法(TaqMan)にて測定した¹⁾。PBMC 中の HTLV-I Tax11-19 ペプチド(HLA-A2 を有する HTLV-I 感染者における主要免疫エピトープ)特異的 CD8 陽性細胞を HLA-A2/Tax11-19 tetramer にて染色し、フローサイトメーターを用い検出した²⁾。

結 果

- 1) 鹿児島 HAM 患者 100 細胞数あたりの HTLV-I プロウイルス量の平均値は 17.91 コピー、米国 HAM 患者の平均値は 21.97 コピーと両群間に有意な差異は認められなかった (図 1)。
- 2) 鹿児島 HTLV-I 感染無症候性キャリアーの HTLV-I プロウイルス量平均値は 2.25 コピーであり、HAM 患者と比較して有意に低かった (図 1)。
- 3) 全 CD8 陽性細胞数に占める HTLV-I Tax11-19 ペプチド特異的 CD8 陽性細胞割合の平均値は鹿児島 HAM 患者 6.15%、米国 HAM 患者 5.83%と両群間で有意な差異は認められなかった (図 2)。
- 4) 鹿児島 HTLV-I 感染無症候性キャリアーの HTLV-I Tax11-19 ペプチド特異的 CD8 陽性細胞割合平均値は

- 0.31%と HAM 患者と比較して有意に低かった (図 2)。
- 5) 両国 HAM 患者をそれぞれ合わせ一群として解析すると、HTLV-I プロウイルス量と HTLV-I Tax11-19 ペプチド特異的 CD8 陽性細胞数に有意な正の相関関係が認められた (図 3)。しかし、HTLV-I 感染無症候性キャリアーにおいては両因子間に有意な相関関係は認められなかった。

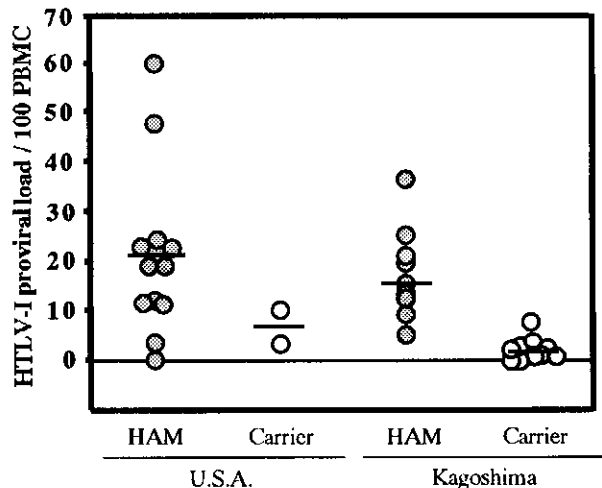


図 1. 鹿児島および米国検体プロウイルス量の比較

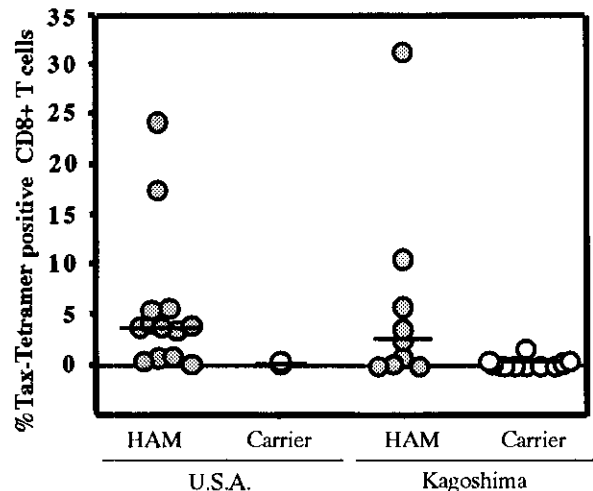


図 2. 鹿児島および米国検体Tax特異的CD8陽性細胞割合の比較

¹⁾ 鹿児島大学医学部第3内科

²⁾ 米国国立衛生研究所

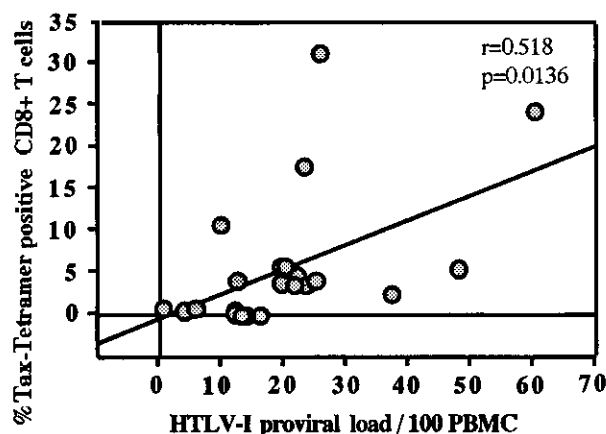


図 3. HAM 患者におけるプロウイルス量と Tax 特異的 CD8 陽性細胞数の相関関係

考 察

HAM 患者において HTLV-I プロウイルス量が上昇していることは既に世界中の研究施設から報告されており、HAM 発症において重要な普遍的な要因とみなされている¹⁾。どのような機序で HTLV-I プロウイルス量が上昇しているのかは未だ不明であるが、本研究より HAM 患者の高 HTLV-I プロウイルス量は、人種間で強く相違のある遺伝的背景によって強く影響を受けていないであろうことが推察された。また、HAM 患者中の HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数の上昇に関しても同様なことが推察される。

HAM 患者において HTLV-I プロウイルス量と HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数に有意な正の相関が認められたことは生体内で HTLV-I が細胞性免疫系、特に HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞を、持続的に刺激誘導していることが示唆された³⁾。これら高 HTLV-I プロウイルス、高 HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞の同一生体内における共存は HAM において特徴的な現象であり、これら両因子は HAM 発症に深く関与しているものと思われる。

ま と め

鹿児島およびアメリカ合衆国 HAM 患者において HTLV-I プロウイルス量、HTLV-I 特異的 CD8 陽性細胞数に差異は認められなかった。

文 献

- 1) Nagai, M. et al. HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 4:586-593, 1998.
- 2) Sakai, JA. et al. In vitro spontaneous lymphoproliferation in patients with human T-cell lymphotropic virus type I-associated neurologic disease: predominant expansion of CD8+ T cells. *Blood* 98:1506-1511, 2001.
- 3) Nagai, M. et al. Increased activated human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) Tax11-19-specific memory and effector CD8+ cells in patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: correlation with HTLV-I provirus load. *J Infect Dis* 183:197-205, 2001.

HTLV-I 感染細胞量が同程度の HAM 及び健常なキャリアー末梢血単核球での
Tax 発現、Tax 発現・非発現細胞でのサイトカイン産生の検討

主任研究者 納 光弘
(鹿児島大学第三内科)

研究要旨

HTLV-I プロウイルス量が多いにもかかわらず HAM を発症していないキャリアーと HAM との違いを調べて HAM 発症のメカニズムを検討した。HAM20 例、HTLV-I プロウイルス量が多い(PBMC の 3~10%が HTLV-I 感染細胞)キャリアー16 例について、12 時間培養後の細胞内 Tax 及びサイトカインを flowcytometry にて解析し、HTLV-I プロウイルス量との検討を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。

1. HAM とキャリアー(HC)で HTLV-I 感染細胞数が同じであった場合、感染細胞あたりの Tax 発現細胞数には差がなかった。また IFN- γ の産生は HAM で HC よりも多く、その差は主に Tax 発現細胞に由来していた。
2. HTLV-I 感染細胞が多いだけでは HAM 発症に十分ではなく、感染細胞の IFN- γ 産生能の差も HAM 発症に重要である事が示唆された。

HTLV-I 感染細胞量が同程度の HAM 及び健康なキャリアー末梢血単核球での Tax 発現、Tax 発現・非発現細胞でのサイトカイン産生の検討

古川 良尚¹、納 光弘

目 的

これまで末梢血単核球(PBMC)における HTLV-I プロウイルス量は一般的に HAM などの HTLV-I 関連症状のある人で無症候性の HTLV-I キャリアーよりも高いと報告され、HTLV-I 感染細胞が増えている事が HAM 発症に重要である事が指摘されている¹⁾。しかしながら自覚的には症状のない健康な HTLV-I キャリアーにおいても HAM と同程度ウイルス量が増加している症例が存在する²⁾。このようなプロウイルス量が増えているが健康なキャリアーと HAM との違いを検討すればより HAM 発症のメカニズムにせまれるのではないかと考えて、Tax の発現効率、サイトカイン産生の差を検討してみた。

対 象 ・ 方 法

HAM 20 人、HTLV-I プロウイルス量が HAM と同程度(PBMC の 3%以上が感染している)の無症候性キャリアー(HC) 16 人から得た PBMC を PMA などの刺激を加えずに Brefeldin A 存在下に 12 時間培養し、細胞を固定した後、permiabilize して細胞内 Tax を Tax に対する抗体(Lt-4)で染め、また細胞内 cytokine (IFN- γ , TNF- α)を染め flowcytometry にて解析し、HTLV-I プロウイルス量当たりの Tax 発現細胞の割合、IFN- γ 及び TNF- α 産生の程度を検討した³⁾。

結 果 ・ 考 察

図 1 に典型的な結果の一例を示す。横軸方向は Tax 発現で縦軸方向がサイトカイン発現を示す。上段が HAM で下段が健康なキャリアーの一例である。TNF- α は主に Tax 非発現細胞に HAM でもキャリアーでも見られている。特徴的な差は IFN- γ にみられ、Tax 非発現細胞では HAM でもキャリアーでも僅かに IFN- γ 産生細胞が見られているが、Tax 発現細胞では明らかに HAM の方に多く発現を認めている。Tax 発現細胞、Tax 発現細胞を HTLV-I プロウイルス量で割った感染細胞当たりの Tax 発現の割合や、サイトカインの全体での発現、サイトカイン陽性で Tax 発現、非発現細胞の%、Tax 発現細胞に占めるサイトカイン産生細胞の割合を表 1 にまとめた。

図 1. 細胞内 Tax およびサイトカイン染色

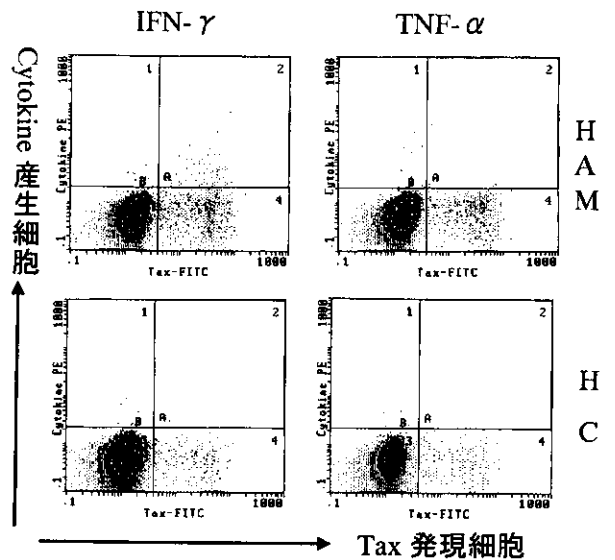


表 1. HTLV-I プロウイルス量が同程度の HAM・HC における Tax 発現およびサイトカイン産生の差の検討

	HAM (n=20)	HC (n=16)	P
Median provirus load (tax copy/10,000PBMC)	552	567	0.836
Tax expressing cell	2.25±1.74	1.87±0.78	0.387
Tax expressing cell /HTLV-I 感染細胞 (%)	32.6±13.6	32.7±16.2	0.986
IFN- γ 産生細胞 (%)	0.17±0.11	0.09±0.04	<u>0.005</u>
IFN- γ + Tax-	0.08±0.07	0.06±0.03	0.25
IFN- γ + Tax+	0.09±0.08	0.03±0.03	<u>0.004</u>
IFN- γ +Tax+	4.17±2.23	1.65±1.14	<u>0.0001</u>
TNF- α 産生細胞 (%)	0.16±0.17	0.11±0.06	0.232
TNF- α + Tax-	0.14±0.18	0.09±0.05	0.242
TNF- α + Tax+	0.02±0.02	0.02±0.01	0.81
TNF- α +Tax+	0.76±0.80	1.20±1.70	0.354

¹ 鹿児島大学医学部第 3 内科

HTLV-I ウイルス量(PBMC10,000 個中での tax コピー数)については HAM median 値 552, HC 567 ($p=0.84$, Mann-Whitney's U test)と同程度の症例を対象にしている。Tax 発現細胞%は HAM $2.25 \pm 1.74\%$, HC $1.87 \pm 0.78\%$ で差を認めず、また Tax 発現細胞を HTLV-I 感染細胞の割合で割った HTLV-I 感染細胞あたりの Tax 発現細胞の割合は、HAM で $32.6 \pm 13.6\%$, HC では $32.7 \pm 16.2\%$ で全く差を認めなかった。このことは感染細胞数が同じであれば HAM でも HC でも Tax を発現しうる細胞の割合は同じである事を示唆している。一方 TNF- α については HAM でも HC でも intra cellular の TNF- α は産生が極めて少なくまた全 PBMC, tax 発現、非発現細胞いずれでも HAM と HC の間に有意差を認めなかった。一方 IFN- γ 産生細胞は全 PBMC 中 HAM で $0.17 \pm 0.11\%$, HC で $0.09 \pm 0.04\%$ と HAM が HC よりも多かった($p=0.005$)。IFN- γ 産生細胞は Tax 非発現細胞では HAM で $0.079 \pm 0.075\%$, HC で $0.058 \pm 0.035\%$ ($p<0.2627$)と差を認めず、Tax 発現細胞での IFN- γ 産生細胞の割合は HAM で $4.2 \pm 2.3\%$, HC では $1.7 \pm 1.1\%$ ($p=0.0001$)で HAM で有意に高かった。図 2 に示すように HAM では Virus Load が増えると Tax の発現も増え、Tax の発現に比例して IFN- γ の発現も増えていた。一方図 3 に示すようにキャリアーでは HTLV-I プロウイルス量が多いにもかかわらず Load と IFN- γ の発現に相関がみられず低いレベルにとどまっていた。

図 2. HTLV-I provirus loadとTax+IFN- γ +細胞との相関 (HAM)

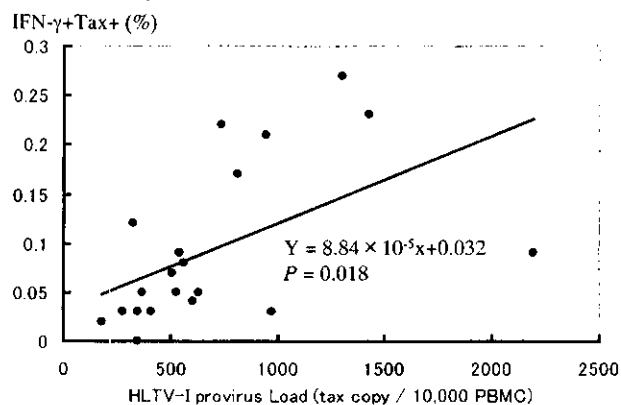
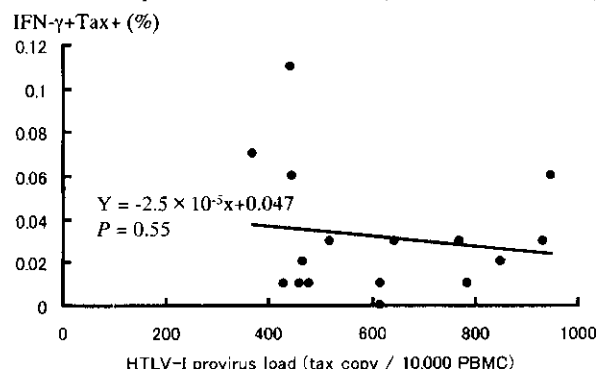


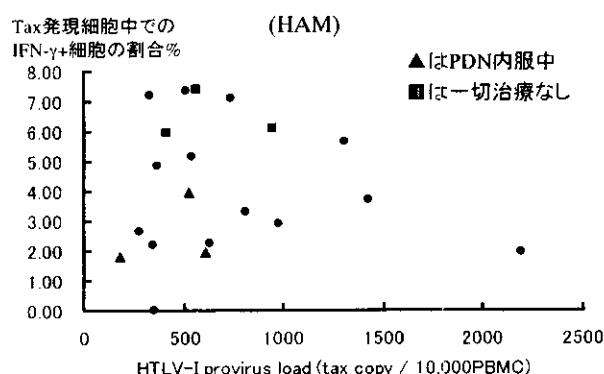
図 3. HTLV-I provirus loadとTax+IFN- γ +細胞との相関 (HC)



治療との関係では Tax+IFN- γ 陽性細胞自体の%は治療との関係はなかったが、Tax 発現細胞中で IFN- γ を産生している細胞の割合で見ると PDN 内服中ではやや低く全く治療を受けたことのない症例ではやや高い傾向があった。しかしほかの治療や PDN の治療歴なども考えないといけなのではっきりとした結論はえられなかった。(図 4) 採血時点での重症度と IFN- γ 産生細胞とは相関はみられなかった。

図 4.

HAM 治療と Tax 発現細胞中での IFN- γ +細胞 (%) との関係



今回我々はプロウイルス量が多い無症候性キャリアーと HAM での感染細胞あたりの Tax 蛋白の発現量、および Tax 発現細胞、非発現細胞でのサイトカイン産生の違いを細胞内のサイトカインを染める方法でフローサイトメトリーを用いて検討しその結果 HAM と HC では HTLV-I 感染細胞が同じであった場合感染細胞あたりの Tax の発現効率は同じであり、Tax の発現しやすさには差がないことが示唆された。サイトカインについてはこれまで末梢血の細胞では RT-PCR のレベルで IFN- γ や TNF- α が HAM やキャリアーで非感染者よりも高頻度に検出できるという報告や⁹⁾、末梢血や髄液で ELISA で IFN- γ が HAM でキャリアーや非感染者よりも高頻度に検出できるという報告があり¹⁰⁾、さらに培養後では上清中の IFN- γ , TNF- α が HAM で非感染者よりも高いという報告がある¹¹⁾。しかしこれらの報告ではサイトカインが HAM で多いのは単にウイルス量が多いからなのかは不明でサイトカインの産生が HTLV-I 感染細胞由来なのか不明であった。今回の我々の結果からはサイトカインの産生は HTLV-I プロウイルス量が同じでも IFN- γ の産生は HAM で多く、その差は Tax 発現細胞に著明であることが分かった。逆に HTLV-I プロウイルス量が多いにもかかわらず HAM を発症しない人は IFN- γ の産生が低い人である為かもしれない。

HAM 発症に対する IFN- γ の関与の機序は不明であるが、MHC-Class II 抗原の発現を促進すること¹²⁾や IFN- γ で処理した血管内皮にはリンパ球が接着しやすくなる事¹³⁾などが報告され、T 細胞による中枢神経細胞の障害を促進するという仮説もある¹⁴⁾。

まとめ

1. HAMと無症候性のキャリアー(HC)でHTLV-I感染細胞数が同じであった場合、12時間培養後の感染細胞あたりのTax発現細胞数には差がなかった。
2. IFN- γ の産生はHTLV-Iプロウイルス量が同じでもHAMでHCよりも多く、その差は主にTax発現細胞に由来していた。
3. HTLV-I感染細胞が多いだけではHAM発症に十分ではなく、感染細胞のIFN- γ 産生能の差もHAM発症に重要である事が示唆された。

文 献

- 1). Kira J et al: Increased HTLV-I proviral DNA in HTLV-I-associated myelopathy: a quantitative polymerase chain reaction study. *Ann Neurol* 29: 194-201, 1991
- 2). Nagai M et al: Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol* 4:586-93, 1998
- 3). Hanon E et al: High production of interferon gamma but not interleukin-2 by human T-lymphotropic virus type I-infected peripheral blood mononuclear cells. *Blood* 98:721-6, 2001
- 4). Watanabe H et al: Exaggerated messenger RNA expression of inflammatory cytokines in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *Arch Neurol* 52:276-80, 1995
- 5). Kuroda Y et al: Cerebrospinal fluid interferon-gamma is increased in HTLV-I-associated myelopathy. *J Neuroimmunol* 42:223-6, 1993
- 6). Nishiura Y et al: Increased production of inflammatory cytokines in cultured CD4+ cells from patients with HTLV-I-associated myelopathy. *Tohoku J Exp Med* 179:227-33, 1996
- 7). Szein MB et al: Regulation of human peripheral blood monocyte DR antigen expression in vitro by lymphokines and recombinant interferons. *J Clin Invest* 73:556-65, 1984
- 8). Hughes CC et al: Adhesion of lymphocytes to cerebral microvascular cells: effects of interferon-gamma, tumour necrosis factor and interleukin-1. *Immunology* 64:677-81, 1988
- 9). Moore GR et al: Tropical spastic paraparesis: a model of virus-induced, cytotoxic T-cell-mediated demyelination? *Ann Neurol* 26:523-30, 1989

悪性リンパ腫に合併した傍腫瘍性神経症候群における抗原検索

分担研究者 栗山 勝
(福井医科大学第二内科)

研究要旨

悪性リンパ腫患者において見いだされた抗神経抗体の抗原検索を以下の方法にて行った。①免疫プロット：ヒトの神経組織のホモジェネートを SDS-PAGE 後、患者血清に対して反応する蛋白を検出。②免疫染色：灌流固定ラット小脳の切片を患者血清に反応させ、ABC 法で検出。

③抗原解析：患者血清が反応した小脳における 60 kDa の蛋白を標的蛋白とし、ヒト小脳蛋白を二次元電気泳動、標的蛋白切り出し後、蛋白フィンガープリント法で解析。その結果、次のことが明らかとなった。①免疫プロット：60kDa の蛋白が強く反応。②免疫染色：小脳血管に沿って強く染色。③抗原検索：灰白質における 60 kDa の蛋白は、collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) の分子量分布のパターンと一致。

以上より、本悪性リンパ腫患者の血清中に存在する抗神経抗体は、CRMP-2 を標的蛋白とすると考えられた。

悪性リンパ腫に合併した傍腫瘍性神経症候群における抗原検索

栗山 勝¹⁾ 藤井明弘¹⁾ 米田 誠¹⁾ 内木宏延²⁾
鈴木 寛³⁾ 伊藤 卓⁴⁾ 金子清俊⁴⁾

目 的

傍腫瘍性神経症候群において、各種の抗神経抗体の存在が知られている。今回、我々は、悪性リンパ腫患者において見いだされた抗神経抗体の抗原検索を行った。

対 象

患者は 60 歳の女性で、小脳失調、痴呆、体重減少で入院した。頭部 MRI 上、小脳・右前頭葉に腫瘍性病変とびまん性の脳萎縮が認められた。血清・髄液中の IgG の著明な上昇を認めた。腫瘍生検にて、悪性リンパ腫 (B 細胞性) と診断された。

方 法

1) 一次元免疫プロット

ヒトの脳白質、灰白質、小脳、肝臓、骨格筋のホモジェネートを 12%ポリアクリルアミドゲル上で電気泳動し、ウエスタンブロットを行った後、本患者の血清に対して反応する蛋白を免疫学的に検出した。

2) 免疫染色

灌流固定したラット小脳のバラフィン切片を患者血清 (1600 倍希釈) に 1 時間反応させ、ビオチン化抗ヒト IgG を用いて ABC 法で検出した。

3) 二次元免疫プロット

一次元免疫プロットで患者血清と反応したヒト中枢神経組織蛋白の二次元電気泳動 (等電点電気泳動および 12%ポリアクリルアミドゲル電気泳動) を行い、ウエスタンブロットを行った後、患者血清に対して反応する蛋白のスポットを免疫学的に検出した (図 1)。

4) 蛋白フィンガープリント法

患者血清に強く反応した蛋白のスポットを標的蛋白として切り出し、複数の蛋白分解酵素で処理した後、消化

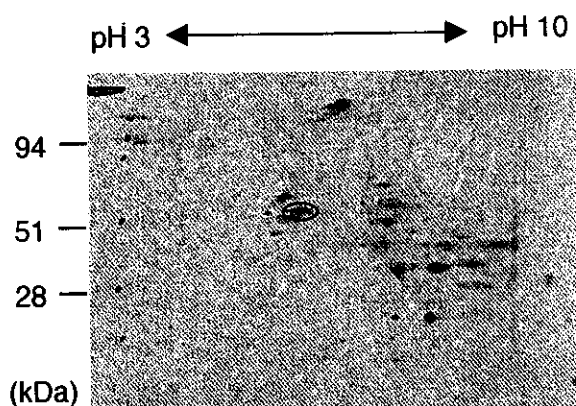


図 1. 患者血清を用いた二次元免疫プロット。

蛋白断片を TOF/MS を用いて質量分析し、分子量分布が一致する既存蛋白を検索した。

結 果

1) 一次元免疫プロット

正常コントロールと比較して、白質、灰白質、小脳の 60kDa の蛋白に特異的に反応するバンドが検出された。

2) 免疫染色：小脳の神経核や細胞質は染色されず、小脳血管に沿って強く染色された。

3) 二次元免疫プロット

一次元免疫プロットにおいて患者血清が反応した 60 kDa の蛋白に着目し、患者血清を用いてヒト灰白質蛋白の二次元免疫プロットを行った結果、患者血清に特異的に反応するスポットが検出された。

4) 蛋白フィンガープリント法

検出されたスポットの蛋白に対して、蛋白フィンガープリント法にて標的抗原蛋白を分析した。その結果、このスポットの蛋白は、collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) の分子量分布と一致した。

考 察

¹⁾ 福井医科大学第二内科, ²⁾ 同第二病理学, ³⁾ 福井県立大生物資源学部 (分子生物学), ⁴⁾ 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第七部

近年, CRMP-3 に対する抗神経抗体 (抗 CV-2 抗体) を有する傍腫瘍性神経症候群が報告されている^{1, 2)}. 本患者血清中に見いだされた抗神経抗体は, CRMP-2 に反応する抗体であり, 新しい抗神経抗体の可能性が示唆された.

ま と め

悪性リンパ腫の患者血清中に抗神経抗体を見出し, この自己抗体は, 中枢神経組織の血管を認識した. さらに, 標的抗原蛋白は collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2)と考えられた.

文 献

- 1) Honnorat J. et al: Antibodies to a subpopulation of glial cells and 66 kDa developmental protein in patients with paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 61: 270-278, 1996.
- 2) Honnorat J. et al: Ulp/CRMP proteins are recognized by autoantibodies in paraneoplastic neurological syndromes. *Eur J Neurosci* 11: 4226-4232, 1999..

傍腫瘍性小脳変性症に関連する神経抗原 pcd17 の細胞内機能の解析

分担研究者 酒井 宏一郎
(金沢医科大学神経内科)

研究要旨

乳癌、子宮癌、卵巣癌を伴う傍腫瘍性小脳変性症に出現する抗小脳 Purkinje 細胞質抗体や細胞障害性 T 細胞の標的神経抗原である pcd-17/cdr2 抗原蛋白を bait として two-hybrid 法によりヒト脳由来 cDNA ライブラリーから pcd-17/cdr2 抗原の結合蛋白を同定した。結合蛋白は、helix-loop-helix leucine zipper 構造をもつ蛋白 MRG X であることが明らかになった。pcd-17/cdr2 は、MRG X との結合によって核に移行し得、MRG X の過剰発現によって、T98G 細胞に核の形態異常を起こし、その結果、細胞は死に至ること、しかしながら、pcd17 抗原蛋白を共発現させることによってこの MRG X による細胞死の誘導を抑制し得ることを示した。pcd17 抗原は MRG X の細胞周期への作用を制御している可能性がある。

傍腫瘍性小脳変性症に関連する神経抗原 pcd17 の細胞内機能の解析

酒井 宏一郎¹⁾ 白川 知泰 北川陽子 廣瀬 源二郎

目 的

傍腫瘍性神経症候群では、担癌患者の生体内において、神経細胞と腫瘍細胞に共通して存在する蛋白が、先ず末梢において腫瘍抗原として宿主の免疫系に対して抗原性を提示し、その結果生体内に細胞性免疫と液性免疫を誘導される。この末梢での腫瘍に対する免疫反応が中枢神経系へ移行し、神経組織に存在する同様の抗原性を示す蛋白を認識して免疫交差反応を示すことによって、神経細胞に対して攻撃的に作用し、その結果として神経変性現象が起こると推定されている。このように、神経腫瘍共通抗原に対する免疫応答がこの疾患の発症の機序に重要であると考えられる。婦人科領域癌や乳癌を伴う傍腫瘍性小脳変性症では、小脳Purkinje細胞と脳幹の大型神経細胞と婦人科領域癌の双方に発現している腫瘍神経共通抗原である pcd17/cdr2抗原に対して、特異的な抗体(Yo抗体)と細胞障害性T細胞が誘導され、この腫瘍神経共通抗原が、本疾患の発症機序に重要な役割を果たしていることが推定されている。傍腫瘍性神経症候群に関連する神経抗原については、病態への関与が示唆されているが、その神経細胞における生物学的機能については不明な点が多い。この腫瘍神経共通抗原の機能を解明することは、本疾患の神経変性の機序の解明に重要な情報を得ることができると考えられる。傍腫瘍性小脳変性症に特異的に出現する抗Purkinje細胞質抗体(Yo抗体)をプローブとして expression screeningによりヒト小脳cDNAライブラリーよりクローニングした神経抗原はpcd17(cdr2)は、そのアミノ酸配列中にleucine zipperモチーフを有しており、その機能として他のleucine zipper蛋白と結合

して転写に関与している可能性がある。今回、我々は pcd-17 蛋白の腫瘍細胞や神経細胞における生物学的機能を明らかにすることを目的として、Pcd17の結合蛋白の同定を試みた。

方 法

pGBT9-pcd17 DNA は、pcd-17 cDNA を pGBT9 プラスミドベクターに組み換えて作製した。Two-hybrid 法は、この pGBT9-pcd17 DNA を bait として、pActIIベクターに組み換えられたヒト脳cDNAライブラリーを prey として、Y190 酵母細胞に形質転換して行った。結合に際しての選択培地としては、Tryptophan, Leucine, Histidine を含まない SD 寒天培地上で His3 活性を発現するコロニーを選択した。このコロニーをさらに、beta-galactosidase の発現を colony lift assay により解析し、コロニーを選択した。陽性コロニーよりプラスミド cDNA 2B9 を分離し、その塩基配列を決定した。

得られた cDNA クローン 2B9 は、さらに pGBT9 ベクターに組み換え、pGSD424 ベクターに組み換えたベクターとの結合を SF526 酵母細胞を用いて検討した。ヒト MRG X cDNA は T98G グリオプラストーマ細胞より reverse transcriptase PCR 法によって得た。pcd-17 cDNA 及び MRG X cDNA は真核細胞発現ベクター pQBI25、pQBI50、pBK-CMV、原核細胞発現ベクター pGEX-5X、pFLAG-MAC にそれぞれ組み換えて用いた。

Ligand overlay assay は、pcd-17GST 融合蛋白が GST 蛋白を 13% SDS-PAGE で電気泳動して分離した後、PVDF 膜に電氣的に転写した。この blot 膜を塩酸グアニジンで段階的に処理した後に、2B9-Flag 融合蛋

¹⁾ 金沢医科大学 神経内科

白と一晚反応させ、洗浄後に、抗 Flag 抗体で1時間反応させ、alkaline phosphatase 結合抗マウス IgG 抗体と反応させた後、NBT と BCIP により発色し、immunoblotting を行った。

Flag-pull down法は 2B9-Flag 融合蛋白を anti-Flag 抗体結合 gel と反応させ、洗浄後に pcd-17-GST 融合蛋白が GST 蛋白と 4℃ で 1 時間反応させ、洗浄した後に 13% SDS-PAGE で電気泳動して分離し、抗 GST 抗体にて上記の如く immunoblotting を行った。

免疫沈降法は、pFlag-MRG X と pQBI25-pcd-17 を COS-7 cell へ liposome 法により遺伝子導入した後に、cell lysate を調整し、抗 Flag 抗体結合 gel と 1 時間反応させ、洗浄後に 13% SDS-PAGE で電気泳動して分離し、抗 Yo 抗体にて上記の如く immunoblotting を行った。

結 果

Two-hybrid 法により約 60 万のヒト脳由来 cDNA ライブラリーを解析した結果、ライブラリーが組み換えられているベクターにおいて cDNA が in-frame に組み込まれており、その塩基配列から推定されるアミノ酸配列上、leucine zipper モチーフの存在が推定される一つのクローン 2B9 を得た。このクローン 2B9 の塩基配列をデータベース上でのホモロジー検索によって解析すると、2B9 cDNA の全体は MORF ファミリー蛋白の一つである helix-loop-helix leucine zipper 蛋白 MRG X の mRNA の 3' 末端に完全に一致することが判明した。2B9 cDNA を pGBT9 ベクターに組み換えて、pGAD424 に組み換えた pcd-17 との結合反応を two-hybrid 法によって検討すると、b-gal 活性と His3 活性が確認され、2B9 と pcd-17 の結合が確認された。

次いで、PCD17 及び 2B9 の leucine zipper 領域を除いた deletion mutant をそれぞれに作製し、pGBT9 及び pGAD424 ベクターに組み換えた後に、酵母細胞に形質転換し、Two-hybrid 法により解析すると、pcd-17 と MRG X との結合には leucine zipper 領域

が必要であることが確認された。即ち、この二つの蛋白は leucine zipper モチーフを介して結合していることが明らかになった。さらに、pcd-17 と MRG X の双方の組み換え体蛋白を精製し、それらを用いた Flag pull down 法と ligand overlay assay 法により、pcd-17 と MRG X との in vitro における結合を確認することができた。pcd-17 と Flag の tag を付けた MRG X の cDNA を真核細胞発現ベクターに組み換え、COS 細胞に遺伝子導入してから cell lysate を調整し、抗 Flag 抗体を用いて免疫沈降法を試みた結果、MRG X と pcd-17 の in vivo におけるの結合が確認された。さらに、MRG X 遺伝子を BFP の tag を有する真核細胞発現ベクターに組み換え、pcd-17 遺伝子を GFP の tag を有する真核細胞発現ベクターに組み換えて、COS 細胞に共に遺伝子導入して、蛋白の共発現を行い、その局在を観察することによって、両蛋白の細胞内内の発現局在の一致を認めた。このように、MRG X と pcd-17 の酵母における結合、in vitro での結合、in vivo での結合が確認された。

MRG X 遺伝子を GFP の tag を有する真核細胞発現ベクターに組み換え、T98G グリオブラストーマ細胞に導入し、MRG X 蛋白を過剰発現させると、過剰発現した T98G 細胞の核には、異常な形態の変化が観察され、このような細胞は、その後死に至ることが確認された。pcd-17 遺伝子単独で T98G 細胞に単独に遺伝子導入した場合には、pcd-17 蛋白は、細胞質に局在して発現し、核に移行することはない。しかしながら、MRG X 遺伝子と pcd-17 遺伝子を共に遺伝子導入を試みると、T98G 細胞において、pcd-17 は、細胞質にとどまるものの他に、pcd-17 が MRG X と結合して、核に移行し、核において pcd-17 の発現する現象がみられた。この際、MRG X と pcd-17 の共発現により、MRG X 単独の過剰発現で惹起される T98G 細胞の核の異常な形態変化とそれに続く細胞死の現象は観察されず、両者の結合によりこの現象が抑制されることが確認された。

考 察

傍腫瘍性神経症候群に関連する神経自己抗原 pcd-17の機能として、転写調節に関与していることが推定されてきたが、その詳細は不明であった。MRGXは、Pareira-Smithらのによってクローニングされ、細胞の senescence に関わる機能が明らかにされた MORF4 とそのホモログである MRG15 と共に蛋白ファミリーを構成する helix-loop-helix leucine zipper 蛋白であり、転写調節機能と細胞増殖サイクルに関与している可能性が示唆されている。今回の我々の研究では、T98G 細胞において MRGX の過剰発現により核の形態変化と細胞死を惹起されることが明らかになったが、この現象は MRGX の過剰発現により細胞増殖サイクルに作用した結果である可能性が推定された。また、Darnellらは cdr2(PCD17)が c-Myc との結合により c-Myc を細胞質にとどめ、その核への移行を阻止するとの現象を報告しているが、それとは異なり、PCD17はMRGXと結合するにより核に移行することを証明し、核内においてPCD17がMRGXの活性を直接抑制する可能性が示唆された。

我々の報告を含めてこれまでにPCD17(cdr2)は、細胞内においてNF-kappaBやc-mycの転写活性に対して抑制的に作用することが明らかになってきているが、今回の我々の結果は、神経細胞においてPCD17がMRGXとの結合を介してMRGXのもつ細胞の細胞周期に対する増殖調節活性に対して抑制的に作用し、神経細胞の分化や細胞死に関与している可能性が推定される。そしてその結果、神経細胞分化への誘導や神経細胞の代謝状態の維持に関与している可能性が示唆された。このことは、傍腫瘍性小脳変性症にみられる抗体がleucine zipper領域に結合する事実と考え併せると、抗体がMRGXとの結合を阻害することによって神経細胞の代謝に影響を与え、その結果傍腫瘍性小脳変性症の病態に関与している可能性も否定できない。

まとめ

傍腫瘍性小脳変性症に関連する神経自己抗原 pcd-17

は、MRGXと結合し、細胞内の核においてMRGXの増殖調節活性に対し抑制的に作用していることを証明した。

文 献

- 1, Sakai K et al. Isolation of a complementary DNA clone encoding an autoantigen recognized by an anti-neuronal cell antibody from a patient with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Ann Neurol*. 28:692-698,1990.
- 2, Sakai K et al. Analysis of autoantibody binding to 52-kd paraneoplastic cerebellar degeneration-associated antigen expressed in recombinant proteins *Ann Neurol* 33: 373-380, 1993.
- 3, Sakai K et al. A hippocampal protein associated with paraneoplastic neurologic syndrome and small cell lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 199:1200-1208,1994.
- 4, Albert ML et al. Tumor-specific killer cells in paraneoplastic cerebellar degeneration. *Nat Med* 4:1321-1324,1998.
- 5, Porgador A et al. Predominant role for directly transfected dendritic cells in antigen presentation to CD8+ T cells after gene gun immunization. *J Exp. Med.* 188:1075-1081, 1998.
- 6, Sakai K, Shirakawa T, Kitagawa Y, Li Y, Hirose G. Interaction of a paraneoplastic cerebellar degeneration-associated neuronal protein with a nuclear helix-loop-helix leucine zipper protein MRGX. *Mol. Cell. Neurosc.*(in press)

CD40 リガンド導入アデノウィルスを用いた傍腫瘍性神経症候群 における細胞傷害性 T 細胞活性増強法

分担研究者 田中 恵子
(新潟大学脳研究所神経内科)

研究要旨

我々は抗 Yo/ Hu 抗体陽性傍腫瘍性神経症候群の神経傷害に細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が関与する可能性を考え、多数例での解析で各群毎に共通の HLA 型があることを見出し、Yo/Hu 蛋白を構成するペプチドで各々の class I 分子に結合しうる病因候補ペプチドを合成し、同ペプチドでパルスした標的細胞に対し、患者末梢血に CTL 活性を誘導できることを報告した。CTL が神経傷害を生じる直接の証拠を得るため、CD40 リガンド導入アデノウィルスを感染させた後に抗原ペプチドを呈示させた樹状細胞を用いてマウスを免疫することで、より効率よく、免疫マウスの CD8+T 細胞にペプチド特異的 CTL 活性を誘導することができた。また CTL 誘導 T 細胞添加により、培養神経細胞が傷害されてアポトーシスに至ることを確認した。

CD40 リガンド導入アデノウィルスを用いた傍腫瘍性神経症候群における細胞傷害性 T 細胞活性増強法

田中 恵子¹⁾、丁 欣¹⁾、河内 泉¹⁾、辻 省次¹⁾、
田中 正美²⁾、菊地 利明³⁾

目 的

傍腫瘍性神経症候群では神経症状・自己抗体・腫瘍原発巣との間に比較的一定の関連を有するいくつかの症候群が知られている。抗 Voltage-gated calcium channel (VGCC) 抗体を有する Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS) など一部の症候群では抗体による疾患モデルが作成されるものの、抗 Yo/Hu 抗体を有する群では抗体が神経細胞を傷害するという確かな証拠はない。われわれは抗 Yo 抗体陽性小脳変性症 (PCD) および抗 Hu 抗体陽性感覚性ニューロパチー (SSN) の各々のグループでそれぞれに共通の HLA 型が見いだされたこと、それぞれの class I 分子に結合しうるペプチド配列を Yo/Hu 蛋白のなかから候補抗原として選択し、これらのペプチドを標的として患者末梢血に細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 活性を誘導できることを報告してきた。しかしながら、CTL が神経傷害を生じるとの直接の証拠はないため、我々はその証明を目的として、マウスに効率よく抗原特異的 CTL 活性を有する T 細胞を誘導するため、CD40 リガンド導入アデノウィルスを用いて以下の実験を行った。なお、CD40 リガンドを樹状細胞に発現させる¹⁾と、樹状細胞は自身の CD40 分子を介して自己活性化されることが示されており、より強力な抗原提示細胞となることを利用した。

方 法

1) AdCD40L は複製能力を欠く E1-E3 欠損型アデノウィルス 5 型ベクターに CMV promotor 下にマウス CD40L を組み込んで作成した。

2) balb/c マウスの長管骨から骨髓細胞を採取し、リコンビナントマウス Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) およびマウスリコンビナント IL-4 を加えた RPMI 1640 培地で樹状細胞を誘導した。一週間培養後 CD40 リガンド導入アデノウィルス (AdCD40L) を 20pfu/cell の濃度で感染させ (濃度は CD40L 非導入対照アデノウィルスの感染で CTL の誘導に影響のないレベルとして設定した)、Yo 抗原ペプチド

およびリコンビナント蛋白を添加して 24 時間後、同系マウスの鼠径部皮下に投与し、同時に百日咳トキシンおよびマウスリコンビナント IL-12 を腹腔内に投与した。一週後、所属リンパ節細胞を採取し、IL-2 存在下で一週間培養した。その後 MACS システム 2 サイクル法により CD8+T 細胞を精製した。

3) CTL 活性は ⁵¹Cr 放出試験で施行した。抗原ペプチドは、Yo 抗原に含まれ HLA A24 class I 分子に結合しうるペプチドのうち "AYRARALEL" を合成した。標的細胞は、HLA A*2402 遺伝子を挿入したトランスフェクタント (CIR*2402) あるいは同系マウス線維芽細胞を用いた。

4) balb/c マウス胎児脳から大脳・小脳を採取して神経細胞を分離培養した。培養 2 週間目に培養液にマウス interferon- γ を 100U/ml 添加して 3 日培養した後、2) で誘導した CD8+T 細胞を添加し、4・16・24 時間後の神経細胞の形態変化を観察した。

結果および考察

1) AdCD40L を用いて活性化した培養樹状細胞に Yo 抗原ペプチドを添加した後マウスに 1 回投与することで、AdCD40L を使用しない場合に比しマウス CD8+T 細胞の CTL 活性は、effector/target 比 10:1 でそれぞれ 14%、6%と AdCD40L を使用した場合に増強した。今後よりよい条件を見出すことで、さらに高い活性を誘導し、マウスに投与して疾患モデルの作製を試みる。

2) 培養神経細胞に Yo 蛋白由来ペプチド特異的に誘導された CD8+T 細胞を添加すると、神経細胞を取り囲むように T 細胞が集積し、24 時間後には神経細胞は変性消失した。この場合の培養神経細胞はマウス胎児脳由来であることから、マウス成体の中枢神経内で同様のことが生じているか否かは不明である。しかしながら、interferon- γ で本症患者の HLA A24 と同じペプチドアンカーモチーフを有する MHC class I を誘導した神経細胞に対して、MHC class I 分子 (H-2Kd) に結合しうる抗原ペプチドで誘導した CD8+T 細胞が細胞傷害活性を示し

*1 新潟大学脳研究所神経内科,*2 国立療養所西新潟中央病院神経内科,*3 東北大学加齢医学研究所呼吸器腫瘍研究分野

たことは意義深い。

まとめ

- 1) CTLの誘導に AdCD40L 導入樹状細胞を用いることにより、一回の免疫で従来より高い CTL 活性を誘導することができた。
- 2) ペプチド特異的に誘導された CD8+T 細胞は、培養マウス神経細胞に細胞傷害活性を示した。

文献

- 1) Kikuchi T., et al.: Dendritic cells modified to express CD40 ligand elicit therapeutic immunity against preexisting murine tumors. *Blood* 96: 91 99,2000
- 2) Tanaka K, Tanaka M, et al.:Cytotoxic T

lymphocyte-mediated cell death in paraneoplastic sensory neuronopathy with anti-Hu antibody. *J Neurol Sci* 163:159-162, 1999

3) Tanaka M, Tanaka K, et al.: Cytotoxic T cells against a peptide of Yo protein in patients with paraneoplastic cerebellar degeneration and anti-Yo antibody. *J Neurol Sci* 168:28-31,1999.

4) Tanaka M, Tanaka K, Tsuji S, Kawata A, Kojima S, Kurokawa T, Kira J, Takiguchi M. Cytotoxic T cell activity against the peptide, AYRARALEL, from Yo protein of patients with the HLA A24 or B27 supertype and paraneoplastic cerebellar degeneration. *J Neurol Sci* 6644: ,2001

Guillain-Barré 症候群で認められる抗 VGKC 抗体は、IgM である

分担研究者 有村 公良
(鹿児島大学医学部第三内科)

研究要旨

32 例の GBS 患者（脱髄型 32 例、軸索型 7 例、分類不能 11 例）で血清中の抗 VGKC 抗体の有無を免疫沈降法で測定し、臨床病型、抗ガングリオシド抗体の有無との関連性を検討した。その結果、IgG 抗 VGKC 抗体は、1 例でのみ陽性であったが、IgM 抗 VGKC 抗体については 8 例で陽性であった。IgM 抗 VGKC 抗体陽性 8 例中 6 例が脱髄型で、他の 2 例は分類不能であったが、抗ガングリオシド抗体との関連は認められなかった。IgM 抗 VGKC 抗体陽性例 8 例中 6 例で、強いじんじん感等の感覚障害を認め、また 8 例中 7 例で、感覚神経伝導検査で障害が認められた。一方、IgG 抗 VGKC 抗体陽性例は、軸索型で、抗ガングリオシド抗体、*Campyrobacter jejuni* 抗体陽性であった。以上の結果から、GBS の発症初期に、IgM 抗 VGKC 抗体が末梢感覚神経の興奮性亢進をもたらす可能性が示唆された。

Guillain-Barré 症候群で認められる抗 VGKC 抗体は、IgM である

有村公良¹⁾ 渡邊 修¹⁾ 有村由美子¹⁾ 大塚麗華¹⁾

富満久教¹⁾ 林 茂昭¹⁾ 結城伸泰²⁾ Angela Vincent³⁾

目 的

ギランバレー症候群、以下GBSにおいては、発症初期に、Facial Myokymiaや、四肢のじんじん感が時に認められるが、その病態生理については、未だに明らかになっていない。Nagadoらは、3例のGBS患者血清中にも、Isaacs症候群患者同様、抗電位依存性カリウムチャンネル抗体、以下、VGKC抗体をパッチクランプ法で、証明した。このことから、今回、GBS患者血清中の抗VGKC抗体の有無を、免疫沈降法で、測定し、臨床病型、抗ガングリオシド抗体の有無との関連性を明らかにし、また、抗VGKC抗体が、IgG またはIgMいずれの分画で存在するかも、検討した。

対 象

対象は、当科GBS、32例。Hoの電気生理診断基準により、うち14例が、脱髄型、7例が軸索型、11例が分類不能であった。経過中、Facial myokymiaやクランプなどを認める症例は、なかったが、18例で、臨床的に遠位部感覚障害が、認められ、また19例で、感覚神経伝導異常を呈していた。ブラインドにて測定した抗ガングリオシド抗体は、15例で陽性。また8例で、キャンピロバクター・jejuni抗体を認めた。

方 法

免疫沈降法は、Oxford Methodにならい、家兔脳ホモジネートを、ジギトニンにて可溶化し、I¹²⁵でラベルしたαデンドロトキシンを加え、10μLの血清と、4℃、終夜インキュベート後、IgGについては、ヒツジ抗ヒトIgG抗体を加え、免疫沈降をおこなった。コントロールは、age-matchした正常者11例の血清、および Isaacs症候群 11例の血清を用いた。IgMの免疫沈降については、以下に述べる方法を考案した。ProteinG-Sepharose 2mlに、ヤギ抗ヒトIgM抗体2mgを結合後、ジメチル・スベリミデートとで、架橋したのち、ProteinGを、プールした正常血清から得た、Fcフラグメントで、ブロッキングした。IgG同様、家兔脳ホモジネートを、ジギトニンにて可溶化し、I¹²⁵でラベルしたαデンドロトキシンを加え、10μLの血清と、4℃、終夜インキュベート後、作成したProteinG-抗ヒトIgM複合体を用い免疫沈降を行った。

¹⁾ 鹿児島大学医学部第三内科

²⁾ 獨協医科大学神経内科

³⁾ オックスフォード大学分子医学研究所

図1の左に示すように、今回作成した、ProteinG-抗ヒトIgM抗体複合体は、5μLが、至適量で、また、右に示すように、矛盾のない力価曲線を示していた。

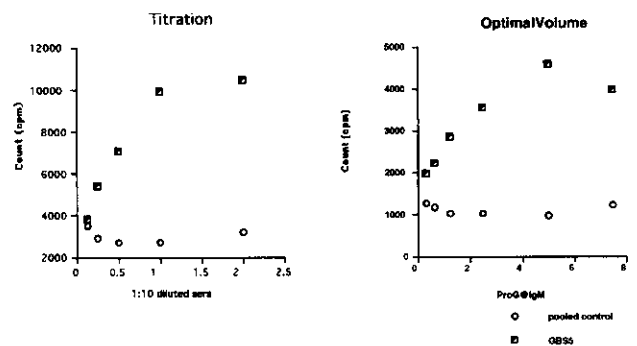


図1. ProteinG-anti IgM複合体の検定

結 果

IgG抗VGKC抗体は、群間比較では、有意な差は、認めなかったが、GBS 1例で、IgG抗VGKC抗体が陽性であった。尚、カットラインは、正常コントロールの平均プラス3SDとした(図2)。

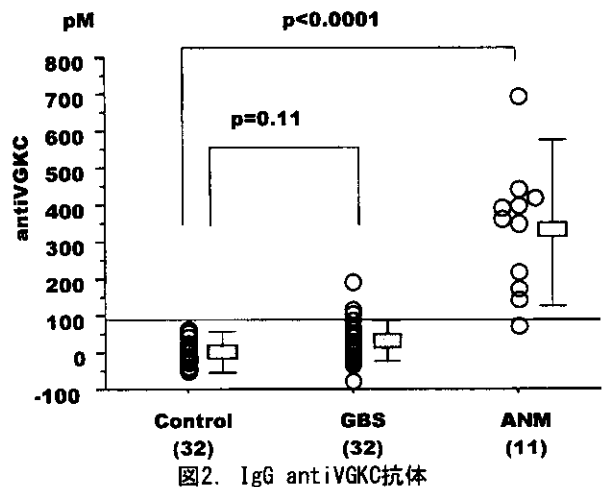


図2. IgG antiVGKC抗体

IgM抗VGKC抗体については、GBS、32例中8例で、陽性であった。IgG同様、カットラインは、正常コントロールの平均プラス3SDとした(図3)。

IgM抗VGKC抗体陽性8例中6例が、脱髄型で、のこり2例は、分類不能であった。IgM抗VGKC抗体陽性8例中6例で、強いじんじん感等の感覚障害を認め、また、8例中7

例で、感覚神経伝導検査で障害が認められた。IgG抗VGKC抗体陽性例は、軸索型で、抗ガングリオシド抗体、キャンピロバクタjejunii抗体陽性であった。

ド抗体の有無に関連なく、IgM抗VGKC抗体が存在する。

文 献

1. Nagado T, Arimura K, Sonoda Y, et. al. Potassium current suppression in patients with peripheral nerve hyperexcitability. *Brain*. 1999 Nov; 122: 2057-66.
2. Weber F, Rudel R, Aulkemeyer P, Brinkmeier H. Anti-GM1 antibodies can block neuronal voltage-gated sodium channels. *Muscle Nerve*. 2000 Sep; 23:1414-20.
3. Benatar M, Willison H, Vincent A. Immune-mediated peripheral neuropathies and voltage-gated sodium channels. *Muscle Nerve*. 1999 Jan; 22: 108-110.
4. Vincent A, Newsom-Davis J. Acetylcholine receptor antibody as a diagnostic test for myasthenia gravis: results in 153 validated cases and 2967 diagnostic assays. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1985; 48: 1246-1252

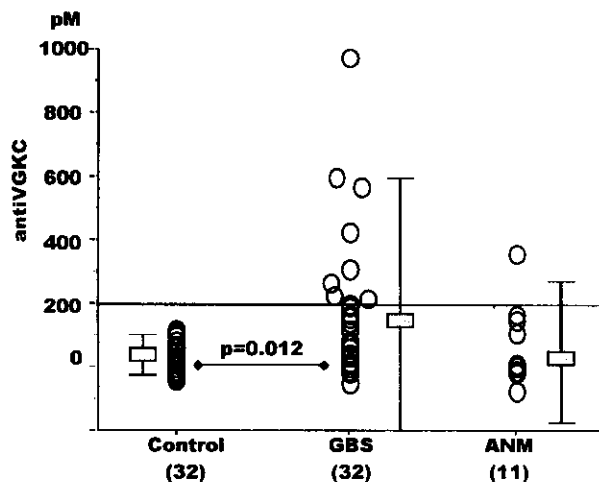


図3. IgM antiVGKC抗体

考 察

GBSにおいて、抗ガングリオシド抗体が、電位依存性Na⁺チャンネル(VGSC)を障害するか否かが、議論されているが、VGKCについては、3例のGBS患者免疫グロブリンが、K⁺電流を抑制することが、報告されているに過ぎなかった。今回の検討で、GBS患者の約20%に、IgM抗VGKC抗体が存在することが明らかになった。また、この抗体は、明らかに軸索障害と診断される患者群では、認められなかった。今回の対象患者では、顔面ミオキミア例はなかったが、IgM抗VGKC抗体陽性例の多くが、感覚障害、感覚神経伝導検査での異常を呈していた。GBSの発症初期に、IgM抗VGKC抗体が、末梢神経の興奮性亢進をもたらす可能性が示唆された。

ま と め

1. 新たに考案した ProteinG-antiIgM antibody complexを用いた免疫沈降法にてIgM抗VGKC抗体が、検出可能となった。
2. 32中8例で高力価のIgM抗VGKC抗体、1例で高力価のIgG抗体を認めた。IgMとIgG抗VGKC抗体の間には、関連性は認められなかった。
3. IgM抗VGKC抗体陽性例8例中6例は、AIDPで、他2例は、分類不能例であった。またIgM抗VGKC抗体陽性例8例中3例で、抗ガングリオシド抗体陽性であった。
4. IgM抗VGKC抗体陽性例8例中6例で、強いじんじん感等の感覚障害を認め、また、8例中7例で、感覚神経伝導検査で障害が認められた。IgG抗VGKC抗体陽性の1例は、IgG/GD1a抗体およびC. Jejunii抗体陽性の軸索障害型であった。

結 論

GBS患者血清中には、臨床病型および抗ガングリオシ