

GBS 患者のうち抗 *C. jejuni*-IgG 抗体陽性者は 17 名、抗体は陰性であったが便培養にて *C. jejuni* が確認された例が 1 例認められた。これら 18 例中抗 C-Dps-IgG 抗体陽性者は 7 名 (38.9%) であった。抗 C-Dps-IgG 抗体の平均 O.D. 値は 0.2618 であり、*C. jejuni* 腸炎患者の 0.0696 と比較し有意に高かった ($p=0.03174$) (*C. jejuni* 腸炎患者の抗 C-Dps-IgG 抗体陽性率は 18.2%)。

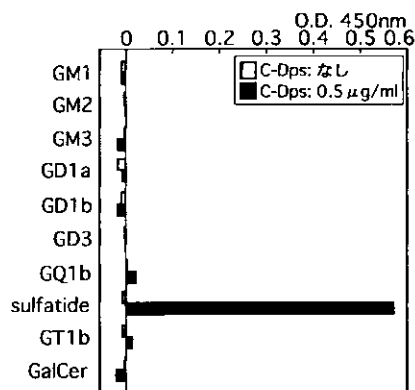


図1 C-Dps蛋白と糖脂質の結合 (ELISA)

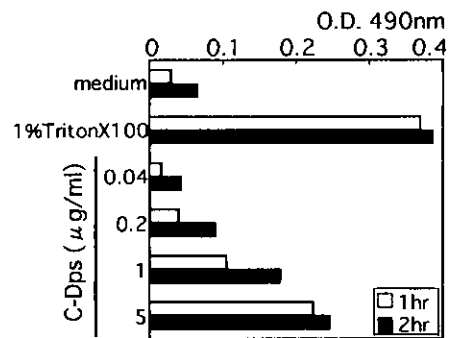


図2 C-Dps蛋白の分化PC12 に対する作用 (上清LDH)

2) ラット馬尾神経へのC-Dps 蛋白の結合

C-Dps 蛋白の髄鞘への結合が認められた。

3) C-Dps 蛋白と糖脂質との結合

ELISA 法を用いた検討では、C-Dps 蛋白と sulfatide との結合が認められた (図 1)。さらに、TLC 展開後の免疫染色にてC-Dps 蛋白と sulfatide との結合が確認された。

4) C-Dps 蛋白の分化PC12に対する作用

分化 PC12 細胞株に対して、C-Dps 蛋白は膜表面に結合することが確認された。分化 PC12 細胞株の C-Dps 蛋白による遊離 LDH は用量依存的に増加した (図 2)。この反応は C-Dps 蛋白を熱処理すること、あるいはC-Dps 蛋白と抗C-Dps 抗体を同時に作用させることにより抑制された。

考察

我々の前年の報告では、各種神経疾患における血清抗 C-Dps-IgG 抗体は、消化器感染後 GBS 患者、*C. jejuni* 腸炎患者にのみ認められた (陽性率・平均 O.D. 値はそれぞれ 38.1%・0.232、18.2%・0.070)。陽性率、O.D. 値では共に有意差は認められていなかったが、抗 *C. jejuni*-IgG 抗体陽性、あるいは便培養にて *C. jejuni* が確認された患者に絞ると、抗 C-Dps-IgG 抗体陽性者は 7/18 名 (38.9%)・平均 O.D. 値は 0.2618 と、*C. jejuni* 腸炎患者と比較し有意差が認められた ($p=0.03174$)。

今回、C-Dps 蛋白の sulfatide への特異的な結合が明らかとなった。ラット凍結切片への C-Dps 蛋白の結合は、中枢神経系においてはニューロンの胞体に結合が認められていたが、末梢神経においては髄鞘への結合が示された。Pember Z. ら

による抗 sulfatide 抗体 (Sulph I) を用いたラット神経系における sulfatide の局在の検討でも、大脳皮質のニューロン胞体と末梢神経の髄鞘が染色される。今回の C-Dps 蛋白の神経系への結合もそれに合致することから、C-Dps 蛋白が sulfatide を受容体として神経系に結合していると考えられた。

さらに、NGF によりニューロンへ分化誘導された PC12 細胞株に対しては、C-Dps 蛋白は膜表面に結合し、細胞膜を傷害し LDH の遊離を引き起こした。この反応は C-Dps 蛋白の熱処理や抗 C-Dps 抗体により阻害されたことにより、C-Dps 蛋白の直接的な作用と考えられる。これらのことは、C-Dps 蛋白が血液神経関門のない神経終末や、血液神経関門の粗な神経根に作用して、GBS におけるニューロンの傷害に寄与する可能性を示唆する。

結論

C-Dps 蛋白は、sulfatide を受容体としてニューロン胞体や髄鞘に結合することが示された。また、in vitro において分化 PC12 細胞株の膜表面に C-Dps 蛋白が結合し、直接的に傷害を引き起こすことが明らかとなった。今後、C-Dps 蛋白の神経筋伝達へ及ぼす影響を検討していきたい。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得: なし

実用新案登録: なし

ギラン・バレー症候群患者の髄液中に検出される抗ヘリコバクターピロリ空胞化毒素抗体の臨床的意義とその標的分子の検索

分担研究者 松本博之¹⁾

共同研究者 千葉 進¹⁾、米倉豊美¹⁾、田中真悟¹⁾、横田伸一²⁾、藤井暢弘²⁾

研究要旨

ギラン・バレー症候群(GBS)患者の一部髄液中に *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)の産生蛋白のひとつである空胞化毒素 (Vacuolation cytotoxin, VacA) に対する特異的 IgG 抗体が検出される。本研究では髄液中抗 VacA 抗体陽性の GBS 患者の臨床特徴を検討し、髄液中抗 VacA 抗体は脱髄型 GBS で高頻度に検出されることが明らかになった。さらに患者胃粘膜から採取した *H. pylori* の VacA gene の解析から、この抗体の標的分子がヒト (Na⁺-K⁺)ATPase α subunit、ミエリン P0 蛋白である可能性が明らかになった。

研究目的

我々は既に、一部 GBS 患者の髄液中に *H. pylori* の産生蛋白のひとつである VacA に対する特異的 IgG 抗体を検出した。本研究では髄液中抗 VacA 抗体陽性の GBS 患者の臨床、電気生理学的特徴を明らかにする。さらに抗 VacA 抗体の標的分子を明らかにするため、髄液中抗 VacA 抗体陽性患者の胃粘膜を採取し、*H. pylori* を分離培養し、VacA gene の解析を行い、VacA と分子相同性を持つ蛋白の検出を試みる。

研究方法

GBS 患者 13 名を対象とした。対象は電気生理学的に脱髄型 GBS である AIDP 8 名、軸索型 GBS である AMAN 4 名、Unexitable 1 名に分類された。血液脳関門、血液神経関門内の免

疫学的環境をより直接的に反映するであろう髄液を用い r-VacA (分子量約 90KDa) を抗原とし、SDS-PAGE で分画し、Western Blot 法により患者髄液中の r-VacA に対する特異的 IgG 抗体の有無を検討し、GBS の電気生理学的特徴との関連を検討した。さらに脱髄型 GBS 患者 2 名の胃粘膜から *H. pylori* を分離・培養し、PCR にて VacA の遺伝子配列を決定し、と対応するアミノ酸配列を同定した。

研究結果

GBS 患者 13 名中、6 名の髄液中に約 90 KDa の蛋白に対する単一の抗体が検出され、吸収試験によりこの抗体は VacA を特異的に認識する IgG 抗体であることを明らかにした。対象 13 例の臨床的、電気生理学的特徴を表に示す。抗 VacA 抗体陽性例 6 例すべてが脱髄型 GBS で

1) 札幌医大神経内科

2) 札幌医大微生物学

表(文献2より引用)

Patient no	Sex/ Age	Electrophysiological classification	FNCV	CSF anti-r-VacA ab	CSF IgG (mg/dl)	Serum anti-H.p. ab	Serum anti-r-VacA ab	Brain stem signs	Anti-ganglioside ab
1	M/78	AIDP	ND	Positive	19.7	3.9	NE	None	NE
2	M/77	AIDP	NE	Positive	8	4	NE	None	Negative
3	M/48	AIDP	↓latency	Positive	8.8	5.5	Positive	None	GM1b IgG, M, GdINAc GD1a IgG, M
4	F/54	AIDP	NE	Positive	4.8	2.9	NE	Facial palsy, Abducens palsy	NE
5	M/72	AIDP	↓latency	Positive	8.8	5.6	Positive	None	Negative
6	F/56	AIDP	Normal	Positive	27.8	NE	Positive	None	GM1 IgG
7	M/56	Inexcitable	NE	Negative	3.6	4	NE	None	NE
8	M/44	AMAN	Normal	Negative	21.7	NE	NE	None	NE
9	M/48	AMAN	NE	Negative	11.4	309 U/ml (positive)*	NE	None	NE
10	M/51	AIDP	Normal	Negative	2.6	3	NE	None	GM1 IgG
11	M/33	AMAN	Normal	Negative	30.6	Negative	NE	Facial palsy, Bulbar signs	Negative
12	M/40	AMAN	Normal	Negative	12.3	Negative	NE	None	Negative
13	F/20	AIDP	Normal	Negative	8.6	Negative	NE	None	NE

CSF, cerebrospinal fluid; ab, antibody; H.p., *Helicobacter pylori*; NE, not examined; * AMRAD Operation Pty LTD (Australia)

ある AIDP であった点が注目された。

一方、脱髄型 GBS 患者から分離・培養した *H. pylori* から検出された VacA の遺伝子配列および「対応するペプチド」の分枝相同性検索の結果、図に示すように signal sequence の下流域に、ヒト (Na⁺-K⁺)ATPase α subunit とアミノ酸 7 個の部分的相同性を認め、さらにその領域の C 末側に 3 個の連続したアミノ酸、さらに離れて 1 個、計 4 個のアミノ酸配列が、末梢神経の髄鞘の主要成分である P0 蛋白と部分的相同性をもつことも明らかになった。

考察

欧米では GBS の約 80% が脱髄型であるが、本邦では軸索型が相対的に多く、脱髄・軸索型ともに約 35%、残りは混合型あるいは分類不能とされる。発症機転として、先行感染である *Campylobacter jejuni* 感染とそれに伴う、血清中抗糖脂質抗体の検出は重要な発見であったが、

図 The Partial Molecular Homology between VacA of *H. pylori* and Peripheral Nerve Components

Candidate protein Na ⁺ -K ⁺ ATPase α subunit (human)	AFFSTINCVEGTARGIIIVYTGDRT
Isolated VacA products Case (1) Case (2)	AFFTTVIIIPAIVGGIATGTAVGT AFFTTVIIIPAIVGGIASGAA
Candidate protein P0 protein (human)	133 143 PTCDVKNPPD <u>IVG</u> KTSQVTLVVF
Isolated VacA products Case (1) Case (2)	AFFTTVIIIPAI <u>VGGI</u> ATGTAVGT AFFTTVIIIPAI <u>VGGI</u> ASGAA

日常的な GBS の血清抗体スクリーニングにより、抗糖脂質抗体は GBS の 70% 未満にしか検出せず、また検出症例の多くは軸索型 GBS であることから脱髄型の GBS の病態についてはなお不明な点が多いといわざるを得ない。

我々は、脱髄型 GBS 患者に検出される髄液中抗 VacA 抗体の標的抗原が、ヒト (Na⁺-K⁺)ATPase α subunit、ミエリン P0 蛋白である可能性を見出した。末梢神経の脱髄病変における電導障害に、イオンチャンネルの障害が関与することが推測され、また、P0 蛋白は末梢神経の主要なミエリンの構成成分で、接着因

子としてコンパクトなミエリン形成に重要な役割を果たしている。また、この蛋白の点変異により、脱髄を主体とする Charcot-Marie-Tooth 病が発症することが知られている。

以上のことから、一部 GBS 患者に検出される髄液中抗 VacA 抗体は、部分的分子相同性を持つ末梢神経のランビエ絞輪におけるイオンチャンネル、ないしは髄鞘のいずれかを障害しうる可能性が推測され、脱髄型 GBS の病態を考えるうえで、重要な知見と思われた。

結論

一部の GBS 患者の髄液中に検出される抗 VacA 抗体は、脱髄病変と関連する可能性が示唆され、その標的分子の候補として、(Na⁺-K⁺) ATPase α subunit、ミエリン P0 蛋白が推測された。

文献

1. Chiba S et al. Antibodies against *Helicobacter pylori* were detected in the cerebrospinal fluid obtained from patients with Guillain-Barre syndrome. *Ann Neurol* 1998, 44: 686-688
2. Chiba S et al. An antibody to VacA of *Helicobacter Pylori* in cerebrospinal fluid from patients with Guillain-Barre syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiat.* 2002, 73: 76-78
3. 千葉 進ほか. *Helicobacter pylori* 感染と神経疾患. *Helicobacter Research* 2003, 7: 327-331.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし、

実用新案登録：なし

Guillain-Barré 症候群のあらたな標的抗原としてのガングリオシド複合抗原

分担研究者 楠 進¹⁾

共同研究者 海田賢一²⁾, 神崎真実²⁾, 鎌倉恵子²⁾, 元吉和夫²⁾

森田大児¹⁾, 平川美菜子¹⁾

研究要旨

我々はガングリオシド GD1a、GD1b 単独に対するよりも、両方が混在した状態で生じる複合体 GD1a/GD1b に対して強い親和性を持つ抗体を Guillain-Barré 症候群(GBS)の患者血清に見出した。この抗体は、TLC 免疫染色で GD1a、GD1b 単独には殆ど反応せず、GD1a と GD1b を同じレーンに展開した場合において両者の混在した箇所に特異的に反応した。GBS100 例、疾患対照 119 例、正常対照 16 例において、IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体は GBS8 例(8%)にのみ陽性であった。同抗体陽性 GBS8 例中 3 例は抗 GD1a 抗体と抗 GD1b 抗体はいずれも陰性であった。同抗体陽性 GBS は脳神経障害の頻度が高く、重症度が高い傾向がみられた。同抗体の存在は生体膜上に存在するガングリオシド複合体が抗ガングリオシド抗体の標的抗原である可能性を示唆している。ガングリオシド複合体に対する抗体の解析は抗ガングリオシド抗体の病因的意義の解明に重要である。

研究目的

自己免疫性ニューロパチーの一つである Guillain-Barré 症候群(GBS)の約 60%にガングリオシドに対する自己抗体が見出され、発症に関与し、神経症候を規定する因子として重要であると考えられている¹⁾。我々はこれまで GQ1b²⁾、GM1b³⁾、GD1b⁴⁾、GalNAc-GD1a⁵⁻⁷⁾ など単一のガングリオシドに対する抗体を検索し、その病的意義を検討してきた。一般にガングリオシドは生体膜上では複合体を形成して存在していると考えられている。しかしながら、その複合体・複合抗原に対する自己抗体はこれまで報告されていない。今回、我々は 2 種類のガングリオシドの複合体に反応する抗体を一部の GBS 症例で見出し、その抗体の特性を解析したので報告する。

研究方法

(1) ガングリオシド複合体に対する抗体を見出すきっかけとなった患者血清における検討:

感冒症状が先行した後、急性弛緩性四肢麻痺を呈し、麻痺の遷延した GBS 例(症例 A、31 歳男性)の血清に関して ELISA、薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて抗ガングリオシド抗体の存在を検討した。ELISA にてガングリオシド GM1、GM2、GM3、GD1a、GD1b、GD3、GT1b、GQ1b、GalNAc-GD1a に対する抗体を測定した。TLC 免疫染色では、陰イオン交換樹脂にアプライした牛脳ガングリオシドを 0.1M および 0.2M 酢酸アンモニウムで抽出した分画、GD1a、GD1b、および GD1a と GD1b の混合物を抗原とした。

症例 A 血清において、GD1a と GD1b の混合比(容量比)を変えて ELISA 法における吸光度(OD 値)を検討した。

(2) GBS 連続 100 症例における IgG 抗 GD1a/

1) 近畿大学医学部神経内科

2) 防衛医科大学第三内科

GD1b 抗体の検討:

平成 14 年 2 月から同年 12 月に東大神経内科に血中抗体測定を依頼された GBS 連続 100 症例に対して、上記のように ELISA にて抗ガングリオシド抗体を測定した。さらに GD1a と GD1b を 1:1 の割合で混合した抗原(GD1a/GD1b)に対する反応を検討した。

GD1a/GD1b に対する抗体が陽性の血清のうち、抗 GD1a 抗体、抗 GD1b 抗体それぞれの OD 値より抗 GD1a/GD1b 抗体の OD 値が 0.2 以上大きい血清を抗 GD1a/ GD1b 抗体陽性と判定した。抗 GD1a/GD1b 抗体陽性血清について TLC 免疫染色で同抗体の存在を確認した。抗 GD1a/ GD1b 抗体を神経疾患対照群 119 例、正常対照群 16 例の血清について ELISA にて検討した。また IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体陽性 GBS の臨床像を解析した。

研究結果

(1) 症例 A についての検討

症例 A の血清について、それぞれのガングリオシド単独を抗原とした ELISA では抗体は陰性であった。TLC 免疫染色では牛脳ガングリオシド 0.1M 分画において GD1a 直下に染色を認め、GD1a と GD1b の混合物を展開したレーンにおいて GD1a と GD1b が重なる箇所にも反応を認めた。この TLC 免疫染色の結果を Image analyzer (Luminescent Image Analyzer, LAS-1000plus, FUJIFILM)で解析したところ、TLC プレート上において GD1a と GD1b のピークが overlap する箇所にも免疫染色のピークがみられた。ELISA にて GD1a と GD1b を混合した(1:1)抗原を用いると陽性反応が得られた。

GD1a と GD1b の混合比(容量比)と IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体力価の相関をしらべたところ、GD1a 抗原と GD1b 抗原の混合比が GD1a:

GD1b=5:5~6:4 の間で抗 GD1a/GD1b 抗体の OD 値は最大であった。

(2) GBS 連続 100 例および対照例における抗 GD1a/GD1b 抗体

GBS 連続 100 症例のうち IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体陽性例は 8 例(8%)であった。疾患対照群、正常対照群では陰性であった。IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体陽性例のうち 3 例は IgG 抗 GD1a 抗体、抗 GD1b 抗体とも陰性であった。

IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体陽性 GBS 8 例のうち情報のある 7 例において、6 例に脳神経障害を認め、うち 5 例に球麻痺を認めた。また 7 例のうち 6 例はピーク時の重症度が Hughes 分類で 4 以上、すなわち臥床状態であり、うち 3 例は人工呼吸器管理であった。

考察

(1) ガングリオシド複合体 GD1a/GD1b に対する抗体:我々は GD1a、GD1b 単独に対するよりも、両方が混在した状態で生じるガングリオシド複合体抗原 GD1a/GD1b に対して強い親和性を持つ抗体の存在を GBS 患者血清中に見出した。抗 GD1a、GD1b 抗体それぞれが陰性でも抗 GD1a/GD1b 抗体が陽性の場合があり、従来のスクリーニングでは見逃されてきた可能性がある。このような抗体の存在は、複数のガングリオシドが複合体を形成して生体膜上に存在する箇所が抗ガングリオシド抗体の標的抗原となっている可能性を示唆している。ガングリオシドを含む glycosphingolipids は細胞膜上で cluster を形成していると考えられており、今後も様々なガングリオシド複合体、複合エピトープを認識する抗体が見出される可能性がある。

(2) IgG 抗 GD1a/GD1b 抗体の GBS における意義:同抗体陽性例において脳神経障害の頻度が高く、重症度が高い傾向を認めたが、臨床的

意義を明らかにするには多数例の検討が必要である。

GBS 発症における抗ガングリオシド複合体抗体の病因的役割として、一つには神経細胞膜上のガングリオシドに結合し、補体活性化、antibody- dependent cellular cytotoxicity (ADCC) などの免疫反応を通じて神経細胞の構造破壊をきたす可能性が考えられる。一方、ガングリオシドは細胞膜上で複合体を形成して他の脂質や蛋白とともに lipid raft の一部を担い、細胞内シグナル伝達に関わっているとされるが^{8,9)}、細胞膜上の lipid raft に存在するガングリオシド複合体に抗体が結合し、連結している蛋白を通じて神経細胞の機能障害をきたす可能性も考えられる。このようなガングリオシド複合体に対する抗体の病因的意義を明らかにするには、多数例における抗 GD1a/GD1b 抗体陽性 GBS の臨床的解析、末梢神経上における GD1a/GD1b 抗原の局在および存在様式に関する研究などの詳細な検討が必要である。

結論

1. GD1a, GD1b の複合体 (GD1a/GD1b) に対する抗体を GBS 血清に見出した。GBS における頻度は 8% であった。
2. このようなガングリオシド複合体に対する抗体は単一ガングリオシド抗原を標的とした従来のスクリーニングでは見逃されてきた可能性がある。
3. 抗 GD1a/GD1b 抗体は GBS において臨床的、病因的意義をもつ可能性がある。

文献

1. Willison HJ and Yuki N. Brain 2002; 125:2591-2625.
2. Chiba A, Kusunoki S, Shimizu T, et al. Ann Neurol 1992;31:677-679.

3. Kusunoki S, Iwamori M, Chiba A, et al. Neurology 1996;47:237-242.
4. Miyazaki T, Kusunoki S, Kaida K, et al. Neurology 2001;56:1227-1229.
5. Kusunoki S, Chiba A, Kon K, et al. Ann Neurol 1994; 35:570-576.
6. Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, et al. Brain 2000;123: 116-124.
7. Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, et al. Neurology 2003;61:465-470.
8. Simons K and Ikonen E. Nature 1997; 387:569-572.
9. Hakomori S. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:225-232.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

Fisher 症候群に対する免疫グロブリン療法に関する研究

分担研究者 桑原 聡 千葉大学医学部附属病院神経内科・講師
共同研究者 森 雅裕、平賀 陽之、金坂 俊秀、 千葉大学大学院医学研究院神経病態学
三澤 園子、服部 孝道

研究要旨

Fisher 症候群連続 71 症例において、その自然回復過程を検討するとともに症状改善開始および消失までの期間についてヒト免疫グロブリン大量静注療法、血液浄化療法と保存的治療間で比較検討した。その結果、保存的治療においても平均約 1.5 ヶ月で運動失調が、3 ヶ月で複視・外眼筋麻痺が消失する予後良好な疾患であり、おそらくこのために症状消失までの期間では IVIg 群、血液浄化療法群とも保存的治療群との間に有意差がなかった。症状（外眼筋麻痺）改善開始までの期間は IVIg 群で保存的治療群に比し有意に短かいが血液浄化療法では有意差はなく、早期の職場復帰が望まれるケースなどでは IVIg 療法が治療オプションの一つになりうるということが明らかになった。

A. 研究目的

Fisher 症候群は外眼筋麻痺、運動失調、腱反射消失を三徴とする免疫性神経疾患で、Guillain-Barré 症候群(GBS) の類縁疾患と考えられている。その発症機序に関しては、主に本邦の研究者達の卓越した研究の成果として患者血清中の抗 GQ1b 抗体が大きな役割を果たしていることが明らかになってきた。類縁疾患の GBS に対する血液浄化療法およびヒト免疫グロブリン大量静注(IVIg)療法の有効性が複数の大規模比較試験により確立していることや、病因と考えられる患者血清中の抗 GQ1b 抗体を除去すれば病態を改善できるのではないかという発想から、従来 Fisher 症候群に対し血液浄化療法や IVIg 療法が施行されてきたが、Fisher 症候群の発症頻度の低さも一因し、そのエビデンスは明らかではない。今までに我々は症状改善開始までの期間と症状消失までの期間に関し、血液浄化療法群と保存的治療群間で有意差のないことを見出し報告した。今回、我々は症例数を増やすとともに IVIg 療法群、血液浄化療法群の 2 群と保存的治療群を比較することにより現段階での Fisher 症候群治療における最善の治療選択を検討した。

B. 研究方法

(1)対象：Fisher 症候群は外眼筋麻痺、運動失調、腱反射消失の三徴を有し著明な筋力低下、意識障害を伴わないものと定義し、1979 年から 2003 年に千葉大学医学部附属病院および関連病院で診療を行った Fisher 症候群連続 71 症例を対象とした。このうち IVIg 療法を受けたのが 12 名 (IVIg 群)、血液浄化療法を受けたのが 23 名 (PP 群)、保存的治療が 36 名 (Con 群)であった。重症度分類には Hughes functional grade を用いた。(2)方法：①保存的治療群の自然回復過程を検討した。また、②発症から外眼筋麻痺および運動失調の改善が始まるまでの期間、③発症から複視および運動失調が消失するまでの期間を IVIg 群、PP 群と Con 群で比較した。
倫理面への配慮：特になし

C. 研究結果

IVIg 群、PP 群と Con 群間で発症時の年齢、性比、重症度に有意差はなく、IVIg 群と PP 群間で発症から治療開始までの期間に有意差はなかった。①保存的治療群において運動失調、外眼筋麻痺、複視は各々平均 2、3、4 週で改善しはじめ、1.5、3、3 ヶ月で消失した。②発症から外眼筋麻痺の改善が始まるまでの期間（平均±標準偏差）は IVIg 群 10.6±5.3 日、PP 群 15.2±11.2 日、Con 群 18.7±11.7 日で IVIg 群では

有意に無治療群に比し短かった($p < 0.05$)。他の PP 群と Con 群に有意差は認めなかった。発症から運動失調の改善が始まるまでの期間は IVIg 群 9.7 ± 3.0 日、PP 群 11.8 ± 5.5 日、Con 群 12.8 ± 8.9 日で IVIg 群では Con 群に比しやや短いものの、IVIg 群及び PP 群と Con 群間に有意差は認めなかった。③発症から複視が消失するまでの期間は IVIg 群 89 ± 59 日、PP 群 148 ± 148 日、Con 群 82 ± 44 日であり、発症から運動失調が消失するまでの期間は IVIg 群 72 ± 69 日、PP 群 34 ± 28 日、Con 群 47 ± 50 日で両評価項目において IVIg 群及び PP 群と Con 群間に有意差を認めなかった。

D. 考察

Fisher 症候群は従来から予後良好な疾患とされてきたが、Guillain-Barré 症候群に比してもまれな疾患であり、特に欧米ではその発症率がきわめて低く、今まで多数例での自然経過および治療評価の検討はされてこなかった。今回の検討で Fisher 症候群は保存的治療群においても平均 1.5 ヶ月で運動失調が、平均 3 ヶ月で複視が消失する予後良好な疾患であることが確認された。先にも述べたように GBS では複数の大規模比較試験により血液浄化療法および IVIg 療法の有効性が確立しており、Guillain-Barré 症候群全体では血液浄化療法と IVIg 療法の効果はほぼ同等とされている。ただし、Fisher 症候群と同様に抗ガングリオシド抗体が病因である軸索型 GBS では IVIg 療法の方が血液浄化療法に比し有効であると考えられ、抗ガングリオシド抗体関連疾患では抗体を除去する方法より、中和したり、ターンオーバーを速めたりと様々な機構が働くとされる IVIg 療法の方が有効である可能性があるものと想定された。

今回、症状消失までの期間では全ての治療において無治療と有意な差は認めなかった。これに関してはもともと予後良好な疾患であるため有意な差が得られにくいものと考えられた。

E. 結論

(1)Fisher 症候群は保存的治療においても平均 1.5 ヶ月で運動失調が、3 ヶ月で複視が消失する予後良好な疾患である。(2)症状改善開始および症状消失までの期間において血液浄化療法の有効性を示唆する結果は得られなかった。(3)症状

(外眼筋麻痺) 改善開始までの期間は IVIg 群で保存的治療群に比し有意に短かったが、症状消失までの期間では有意差はなく、早期の職場復帰が望まれるケースなどでは IVIg 療法は治療オプションの一つになりうると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) 論文発表

- 1: Sung JY, Kuwabara S, Kaji R, Ogawara K, Mori M, Kanai K, Nodera H, Hattori T, Bostock H. Threshold electrotonus in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: correlation with clinical profiles. *Muscle Nerve*. 2004 Jan;29(1):28-37.
- 2: Kuwabara S, Bostock H, Ogawara K, Sung JY, Kanai K, Mori M, Hattori T, Burke D. The refractory period of transmission is impaired in axonal Guillain-Barre syndrome. *Muscle Nerve*. 2003 Dec;28(6):683-9.
- 3: Hiraga A, Mori M, Ogawara K, Hattori T, Kuwabara S. Differences in patterns of progression in demyelinating and axonal Guillain-Barre syndromes. *Neurology*. 2003 Aug 26;61(4):471-4.
- 4: Odaka M, Yuki N, Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K, Kuwabara S. Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barre syndrome. *Brain*. 2003 Oct;126(Pt 10):2279-90.
- 5: Odaka M, Yuki N, Kokubun N, Hirata K, Kuwabara S. Axonal Guillain-Barre syndrome associated with axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *J Neurol Sci*. 2003 Jul 15;211(1-2):93-7.
- 6: Koga M, Yuki N, Hirata K, Morimatsu M, Mori M, Kuwabara S. Anti-GM1 antibody IgG subclass: a clinical recovery predictor in Guillain-Barre syndrome. *Neurology*. 2003 May 13;60(9):1514-8.
- 7: Ogawara K, Kuwabara S, Koga M, Mori M, Yuki N, Hattori T. Anti-GM1b IgG antibody is associated with acute motor axonal neuropathy and *Campylobacter jejuni* infection. *J Neurol Sci*. 2003 Jun 15;210(1-2):41-5.

2) 学会発表

11 件

H. 知的所有権の出願・登録状況
特許取得・実用新案登録：なし

Bickerstaff 脳幹脳炎 62 症例の臨床像の解析

分担研究者 結城伸泰¹⁾

共同研究者 小鷹昌明¹⁾, 古賀道明¹⁾, 平田幸一¹⁾, 山田光則²⁾, 桑原 聡³⁾

研究要旨

外眼筋麻痺と運動失調を中核症状とし、意識障害や腱反射亢進、Babinski 徴候などの中枢神経障害を伴い、急性で单相性の経過を示す Bickerstaff 脳幹脳炎の疾患概念を明らかにした。Bickerstaff 脳幹脳炎の中には、左右対称性の弛緩性の四肢筋力低下を呈し、脳脊髄液所見や末梢神経伝導検査異常、抗ガングリオシド抗体から軸索型 Guillain-Barré 症候群のオーバーラップとして捉えられる症例が存在した。

研究目的

1957 年 Bickerstaff が“brainstem encephalitis”と題して、急性発症の外眼筋麻痺と運動失調に加えて、傾眠状態と病的反射、半身の感覚障害を呈した 8 例を報告した¹⁾。1 例は弛緩性の四肢筋力低下を伴っていた。以降こうした症例は、Bickerstaff 脳幹脳炎 (BBE) と呼ばれるようになった。Fisher 症候群 (FS) や Guillain-Barré 症候群 (GBS) と連続する疾患単位として認知されつつあるが、その疾患概念は明らかにされていなかった。本研究では、BBE の臨床像を多数例で検討し、疾患概念を明確化する。

対象と方法

診断基準: Bickerstaff の原著を詳細に検討し、BBE の診断基準を作成した (表 1)。急性に発症・進行し、4 週以内に極期に達する外眼筋麻

痺と運動失調に加えて、意識障害や腱反射亢進、Babinski 徴候などがみられた症例は、FS と区別して BBE と診断した。

症例: 1994 年 12 月から 2000 年 2 月までに、脳幹脳炎あるいは BBE、中枢神経障害を伴う FS、意識障害を伴う GBS という診断で抗ガングリオシド抗体測定を依頼された 98 例のうち、診断基準を満たした 62 例の臨床像を解析した。

臨床像: BBE として捉えられる症例の臨床像 (年齢、性別、先行感染症状、初発症状、神経学的所見、脳脊髄液所見、MRI 所見、神経生理学的検査所見、抗ガングリオシド抗体、治療内容、転帰) を解析した。

結果 (表 2)²⁾

92%に先行感染症状を認め、上気道炎が多かった。初発症状では、複視 (52%) と歩行障害 (35%) の頻度が高かった。神経学的徴候では、意識障害と四肢筋力低下がそれぞれ 74%と 60%

1) 獨協医科大学神経内科

2) 新潟大学脳研究所病理学分野

3) 千葉大学医学部神経内科

でみられ、腱反射低下・消失が 58%、亢進が 34%、Babinski 徴候陽性が 40%であった。脳 MRI では、30%で脳幹部を中心に異常信号域が描出され、脳波では、73%に徐波がみられた。44%の症例で運動神経伝導検査に異常を認め、うち軸索障害が 38%であった。脳脊髄液所見では細胞数増多が 37%、蛋白細胞解離が 35%であった。蛋白は経時的な採取によって上昇した。IgG 抗 GQ1b 抗体は 66%で陽性であった。免疫療法が 89%の症例で試みられていた。16%で人工呼吸器が装着されたが、66%は軽快した。他は感覚障害や筋力低下、外眼筋麻痺、運動失調を残し、3 例が死亡した。

四肢筋力低下のない BBE と四肢筋力低下を伴い BBE と GBS のオーバーラップとして捉えられる症例の間に、筋力低下以外に神経徴候の差はみられなかった。末梢神経伝導検査では 58%で異常を認めた。IgG 抗 GM1、抗 GD1a、抗 GalNAc-GD1a 抗体のいずれかが陽性であった症例が 24%でみられ、特に徒手筋力検査 3 レベル以下の症例では 50%で陽性であった。一例の剖検所見では大脳に異常はなかったが、小脳菌状核に grumose 変性を認め、脳幹には浮腫を伴う血管周囲のリンパ球浸潤とグリア小結節がみられた。脊髄前角に神経細胞質の染色質融解が、背側後根神経節にリンパ球浸潤がみられた。

考察

急性に発症・進行する外眼筋麻痺と運動失調に加えて、意識障害や腱反射亢進、Babinski 徴候などがみられた症例は BBE と診断する。本症は、見方を変えると、FS で中枢性の病変が前景

に立った病態として捉えることもできるであろう。腱反射は亢進する例も、低下する例もあり注意を要する。比較的予後は良好であったが、一部では高度の後遺症を残していた。脳脊髄液所見では、2 週目以降で髄液蛋白細胞解離が明らかになる。IgG 抗 GQ1b 抗体は、半数以上で陽性となるので補助診断として有用であろう。BBE の少なくとも一部は FS と同じ自己抗体を有する共通した免疫異常であることが示され、疾患単位としての位置づけ、病因への手がかりを得た。

BBE の中には、左右対称性の弛緩性の四肢筋力低下を呈し、脳脊髄液所見や末梢神経伝導検査異常、抗ガングリオシド抗体から軸索型 GBS のオーバーラップとして捉えられる症例が存在した。この病態には GBS で上昇する IgG 抗 GM1、抗 GD1a、抗 GalNAc-GD1a 抗体が関与している可能性が推測された。

文献

1. Bickerstaff ER. Brain-stem encephalitis: further observations on a grave syndrome with benign prognosis. *Br Med J* 1957;i:1384-7.
2. Odaka M, et al. Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2003;126:2279-90.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得:なし

実用新案登録:なし

表 1. Bickerstaff 脳幹脳炎の診断基準

A. 診断に必要な臨床所見

1. 発症から 4 週以内に極期に達する眼筋麻痺と運動失調

・眼筋麻痺

外眼筋麻痺や内眼筋麻痺のどちらか一方のみのことも、全外眼筋麻痺のこともあるが、軽症では外直筋麻痺のみでもよい。

下方注視麻痺を欠くこともある。

通常、比較的左右対称性であるが、まれに片眼のこともある。

・運動失調

小脳性運動失調のことが多いが、まれに深部感覚性運動失調のこともある。

肢節運動失調に比し体幹失調が優位のことが多い。

継ぎ足歩行や片脚立ちのみが不安定なだけの軽症例もある。

通常、肢節運動失調は比較的左右対称性である。

2. 意識障害と腱反射亢進のどちらか一方、あるいは両方

・意識障害

刺激で容易に覚醒する傾眠状態から昏睡に至るまで様々である。

・腱反射亢進

腱反射が亢進していた場合には診断し易いが、低下・消失することも多いことに留意する。

Babinski 徴候や半身の感覚障害などの長経路徴候をみることもある。

通常、錐体路徴候は左右対称性である。

B. 診断の参考となる臨床所見（重要な順に）

1. 前駆症状

頭痛や上気道炎、胃腸炎などの先行感染症状がみられる。

2. 外眼筋麻痺以外の脳神経症状

顔面筋麻痺、球麻痺が多くみられ、両側性のことが多い。

3. 筋力低下

比較的左右対称性、両側弛緩性四肢麻痺を伴った場合には、Guillain-Barré 症候群とのオーバーラップとして捉える。

4. 大脳半球症状

まれに痙攣や精神症状などをみることがある。

5. 錐体外路徴候

まれに固縮や振戦をみることがある。

C. 診断の参考となる検査所見

1. 血清 IgG 抗 GQ1b 抗体陽性

陰性例も 1/3 存在することに留意する。

2. 髄液細胞数増多あるいは蛋白細胞解離

発症第 1 週後の蛋白は上昇しているか、経時的な採取で増加する。

3. 電気生理学的所見

脳波では徐波をみることがある。

聴性脳幹反応、瞬目反射、体性感覚誘発電位より中枢神経障害を示唆する所見が得られることがある。

特に筋力低下を伴った症例では、末梢神経伝導検査において複合筋活動電位振幅や感覚神経活動電位振幅の低下、伝導ブロック、神経伝導速度の遅延、F 波潜時の延長あるいは消失、H 反射の消失をみることがある。

4. 頭部 MRI 画像所見

脳幹部から視床におよぶ範囲に、異常信号域として描出されることがある。

D. 鑑別疾患

脳血管障害、ボツリヌス中毒、Wernicke 脳症、ウイルス性脳幹脳炎（特に脳幹型ヘルペス脳炎）、破傷風、Creutzfeldt-Jacob 病、重症筋無力症、多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎、神経 Behçet 病、脳幹部腫瘍、下垂体卒中、血管炎、リンパ腫

表 2. Bickerstaff 脳幹脳炎 62 症例の臨床像

	全体			四肢筋力低下					
				なし	あり				
症例数	62			25	37				
性(男/女)	37/25			17/8	20/17				
発症年齢中央値(範囲)	39 (3-91)			48 (3-91)	37 (13-80)				
	(%)			(%)					
先行感染症状									
上気道炎	73			64	78				
下痢	11			12	1				
その他	15			20	11				
初発症状									
複視	52			52	51				
歩行障害	35			28	41				
異常感覚	19			8	27				
意識混濁	13			24	5				
構音障害	11			4	16				
四肢脱力	11			0	19				
眼瞼下垂	5			8	3				
羞明	3			4	3				
神経学的所見									
意識障害									
傾眠	45			48	43				
昏迷, 半昏睡, 昏睡	29			16	38				
眼瞼下垂	29			32	27				
外眼筋麻痺	100			100	100				
内眼筋麻痺	34			28	38				
眼振	27			44	16				
顔面筋麻痺	45			28	57				
球麻痺	34			20	43				
四肢筋力低下	60			0	*68, **32				
腱反射									
亢進	34			40	30				
正常	8			16	3				
低下・消失	58			44	67				
Babinski徴候	40			28	49				
運動失調	100			100	100				
深部感覚障害	16			8	22				
表在感覚障害	31			12	43				
画像および電気生理学的異常所見									
脳MRI	30			39	23				
脳波	73			77	70				
運動神経伝導検査	44			10	58				
軸索障害	38			10	50				
脱髄	6			0	8				
脳脊髄液所見(発症より採取までの期間)	1週	2週	3-4週	1週	2週	3-4週	1週	2週	3-4週
細胞数増多	36	43	21	40	43	33	33	43	18
蛋白上昇	38	79	64	47	86	67	33	71	73
蛋白細胞解離	19	43	57	27	57	67	15	29	55
抗ガングリオン抗体									
IgG抗GQ1b抗体	66			60			70		
IgG抗GMI, 抗GD1a, 抗GalNAc-CD1a抗体のいずれか	18			8			24, **50		

*徒手筋力検査で4レベルの筋力低下, **3以下の筋力低下

肺炎マイコプラズマ菌体脂質成分を接種した ウサギ血中抗体の反応性の検討

分担研究者 楠 進¹⁾

共同研究者 森田大児^{1,2)}、平川美菜子^{1,2)}、辻 省次¹⁾、松田和洋³⁾

研究要旨

我々はマイコプラズマ肺炎後の Guillain-Barré 症候群患者の急性期血清中に抗 Gal-C 抗体が上昇することを報告した。またそれらの抗 Gal-C 抗体活性は、肺炎マイコプラズマ菌体成分で吸収されることを明らかにし、肺炎マイコプラズマ菌体の糖脂質成分に対する免疫反応として抗 Gal-C 抗体が上昇する可能性を示した。この仮説を検証するため、今回は肺炎マイコプラズマ菌体から得られた脂質成分(M-lipid)をウサギに接種し、抗 Gal-C 抗体上昇の有無、及びその反応性を検討した。その結果、M-lipid 接種ウサギ 6 羽全てに抗 Gal-C IgM 及び IgG 抗体の上昇が認められ、1 羽は抗体が上昇した時点で横断性脊髄炎を発症し、別の 1 羽では両側前足の筋力低下がみられた。また抗 Gal-C IgG 抗体高値の血清を用いた TLC 免疫染色では、M-lipid 中の糖脂質成分と Gal-C に対して反応が認められた。これらの結果より、肺炎マイコプラズマ菌体に存在する糖脂質成分に対する免疫反応の結果、抗 Gal-C 抗体が上昇することが確認された。

研究目的

Galactocerebroside(Gal-C)は、中枢および末梢神経のミエリンの主要な糖脂質である。

Gal-C で感作したウサギは脱髄性ニューロパチーをきたし、抗 Gal-C 抗体が脱髄をきたす因子であることが報告されている (1)。われわれは、マイコプラズマ肺炎後の Guillain-Barré 症候群患者の急性期血清中に、抗 Gal-C 抗体が上昇することを報告した (2)。さらに、それらの抗 Gal-C 抗体活性は、肺炎マイコプラズマ菌体成分で

吸収されることを明らかにして、肺炎マイコプラズマ菌体の糖脂質成分に対する免疫反応として抗 Gal-C 抗体が上昇する可能性を示した (3)。

今回は、肺炎マイコプラズマ菌体から得た脂質成分をウサギに接種し、抗 Gal-C 抗体上昇の有無を検討して、上記の仮説を検証することを目的とした。

研究方法

培養肺炎マイコプラズマ(Mac strain)からクロロフォルムとメタノールにより、脂質成分(M-lipid)を抽出した。

日本白色種のウサギ 6 羽ずつに、M-lipid:3.1mg、あるいは Gal-C:0.5mg を完全フロイントアジュバントとともに、足

1) 近畿大学医学部神経内科

2) 東京大学医学部神経内科

3) 国立がんセンター研究所薬効試験部

底および足背に接種した。初回感作の3週間後に同量の抗原を背部の皮下に接種した。いずれのウサギに対しても、その後3から4週おきに M-lipid:1.3mg、あるいは Gal-C:0.1mg を背部皮下に接種し経過を追った。

また、完全フロイントアジュバントのみを2羽のウサギに接種し、対照群とした。

それぞれのウサギから経時的に得た血清中の抗 Gal-C 抗体価を、ELISA 法を用いて測定した。また IgG 抗体価がピーク時の血清を用いて、M-lipid との反応性を TLC 免疫染色により検討した。さらにガングリオシドを含む他の糖脂質(GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1b, GA1, CDH, CTH)との反応も ELISA 法により検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は個人の遺伝情報及び疾患情報に関するものではない。動物実験では適宜麻酔を使用し動物愛護には特段の配慮を行った。以上より倫理面の問題はないと判断した。

研究結果

M-lipid を接種したウサギ6羽全て、及び Gal-C を接種した6羽中4羽において、抗 Gal-C IgM 及び IgG 抗体の上昇がみられた。

M-lipid を接種した1羽が横断性脊髄炎を発症し、別の1羽では両側前肢の筋力低下がみられた。Gal-C を接種したウサギでは、明らかな神経症状は出現しなかった。

他の糖脂質抗原との反応では、GA1 に対する抗体活性は M-lipid 接種ウサギ、Gal-C 接種ウサギとも6羽中2羽において、CDH に対しては M-lipid 接種ウサギのみ2羽に、

CTH に対しては Gal-C 接種ウサギ1羽にのみ認められた。なお、GM1 や GD1b などのガングリオシドとの反応はみられなかった。

オルシノールを用いた発色により、M-lipid には複数の糖脂質成分の存在が認められた。M-lipid で感作した、抗 Gal-C IgG 抗体高値のウサギ血清を用いて TLC 免疫染色を行ったところ、M-lipid 中の複数の糖脂質成分が染色され、Gal-C に対しても反応が認められた。また、Gal-C 感作ウサギ血清も M-lipid 中の成分と、Gal-C に反応が認められた。

[M-lipid 接種ウサギのピーク時の抗 Gal-C 抗体活性]

番号	(1)	(2)	(3)
IgM	400x	200x	400x
経過週数	4	4	6
IgG	51200x	6400x	800x
経過週数	8	7	10

番号	(4)	(5)	(6)
IgM	200x	200x	400x
経過週数	7	5	7
IgG	1600x	25600x	400x
経過週数	9	7	7

[Gal-C 接種ウサギのピーク時の抗 Gal-C 抗体活性]

番号	(7)	(8)	(9)
IgM	400x	200x	—
経過週数	7	5	
IgG	6400x	12800x	—
経過週数	5	6	

(— : 抗体陰性)

番号	(10)	(11)	(12)
IgM	400x	—	400x
経過週数	3		3
IgG	1600x	—	25600x
経過週数	10		5

[対照ウサギの抗 Gal-C 抗体活性]

番号	(13)	(14)
IgM	—	—
IgG	—	—

考察

以上の結果から、肺炎マイコプラズマ菌体に対する免疫反応の結果、抗 Gal-C 抗体が上昇することが確認された。

また、抗 Gal-C 抗体高値の血清は、TLC 免疫染色において、Gal-C とは異なる M-lipid 中の糖脂質に対しても反応することがわかった。すなわち M-lipid 中に Gal-C 様の糖鎖構造をもつ糖脂質が存在することが示唆される。今後この糖脂質の糖鎖構造の解析が必要と考えられる。

結論

マイコプラズマ肺炎後の脱髄性ニューロパチーや脊髄炎においては、マイコプラズマ菌体に存在する Gal-C 様の糖鎖構造をもつ糖脂質に対する免疫反応の結果抗 Gal-C 抗体が産生され、これが脱髄の病態に関わるものと考えられる。

文献

- (1)Saida T, Saida K, Dorfman SH, et al. Experimental allergic neuritis induced by sensitization with galactocerebroside. *Science* 1979;204(8):1103-1106
- (2)Kusunoki S, Chiba A, et al. Anti-Gal-C antibody in autoimmune neuropathies subsequent to mycoplasma infection. *Muscle Nerve* 1995;18:409-413
- (3)Kusunoki S, Shiina M, et al. Anti-Gal-C antibodies in GBS subsequent to mycoplasma infection: Evidence of molecular mimicry. *Neurology* 2001;57:736-738

健康危険情報

特になし。

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

Lewis rat EAN に対する FK506 の投与効果

分担研究者 齋藤豊和 北里大学医療衛生学部
リハビリテーション科教授

研究要旨 Lewis rat に牛末梢神経髄鞘を抗原として実験的アレルギー性神経炎(EAN)を惹起し、免疫抑制剤 FK506 (5mg/Kg 体重) を 4 日間腹腔内に投与し、発症後の投与開始にても FK506 の抑制効果があるか否かを検討した。抗原感作前投与と同様に発症直後からの投与でも、運動障害の進行、尾部神経伝導速度遅延が FK506 非投与群に比して有意の改善をみた。FK 506 は臨床応用への基礎的な根拠が得られた。

A.研究目的

ギラン・バレー症候群(GBS)や慢性炎症性脱髄性ニューロパチー (CIDP) では、IVIg 療法、血漿交換療法、ステロイド療法に反応せず、重篤な神経障害をきたすことが少なくない。近年難治性 CIDP に免疫抑制剤 endoxan の少量持続療法が検討されているが、適応外の薬剤であり、また副作用等の問題で臨床的に実用化されていない。FK506 は T 細胞の Interleukin-2 の転写を阻止し T 細胞機能を抑制し、また T 細胞依存性の B 細胞機能を抑制して免疫抑制効果を呈する 薬剤である。本研究は FK506 が重症 GBS や CIDP に使用可能かを検討するために動物実験で、その可能性を探ることである。

B.研究方法

250g 前後の雄 Lewis rat を 4 群 (A,B,C,D) に分け、B,C, D 群に牛末梢神経髄鞘 5mg を完全 Freund アジュバント(CFA) と共に免疫した。A 群 (4 匹)は CFA のみ有感作し、B 群 (6 匹)は抗原感作後は無治療で経

過観察した。C 群(6 匹)は抗原感作と共に FK506 を 5mg/Kg 体重/匹を 4 日間腹腔内に連日投与した。D 群(8 匹)は神発症直後に FK506 を C 群の投与量、投与日数を同様におこなった。体重測定、運動障害の観察(6 段階で評価、表 1)、尾部での神経伝導検査を定期的に施行し末梢神経病理組織検査も施行した。

C.研究結果

①体重:A 群(コントロール群)は 8 週にわたる経過で、漸増する体重の増加がみられ B 群では感作後 8 週まで減少、C, D 群では体重減少率は B 群より緩徐、D 群でより顕著であった。②運動障害: B 群は運動障害出現後 1,3 週で運動障害度は平均 3.3,3.0 で、8 週後は 2.1 であった。C 群は 1,3 週は 2.2, 2.1, 8 週後は 1.1, D 群は 1 週後 2.5, 3 週後 1.6, 8 週後は 1.1 であった。B 群と比較して C 群よりも D 群に、より運動障害の回復(回復の促進)、軽症化が有意差をもってみられた(表 2)。③尾部神経伝導速度:成熟 rat の神経伝導速度は 21 ± 1.3 m/sec であり、運動障害出現時は各群(B,C,D)共に伝導

速度の軽度遅延(21m/sec前後)が見られた。B群は運動障害発症3週後に13.2±8m/sec, 8週後15.2±1.7m/sec, C群は週後18.8±2.5m/sec, 8週後は19.2±2.6m/sec, D群は3週後16.8m/sec, 8週後は19.5±2.5m/secであった(表3)。治療したC、D群は無治療のB群と比較して、有意の伝導速度の遅延阻止を呈した。B、C、D群、特にB群において、一部のratに活動電位の無反応、波形の変化、時間的分散が観察された(図1a,b,c)。④末梢神経病理組織像:病理組織像:B群一匹で発症極期(感作16日)に、またD群の感作21日目の一匹で坐骨神経を採取し、エボン包埋トルイジン・ブルー染色を行ない、病理像を検討した。B群では、神経束の神経内膜の著明な浮腫、有髄線維数の減少、脱髄変化などがみられた(写真1)。D群群では、神経内膜の浮腫は軽度でマクロファージの浸潤や脱髄変化もまた軽度であった(写真2)。

D. 考察

FK506は現在、難治性の重症筋無力症に対して保険適応となり、治療効果を挙げている。近年、重症のGBSや、従来より使用されてきたステロイド療法、IVIg療法、血漿交換療法などに反応しないCIDPに対する治療法に関してシクロスポリン等の免疫抑制剤の治療への導入が検討されているが、副作用、長期使用等の問題もあり、実用化されていない。

今回EANよるFK506の投与をおこない、臨床症状の改善などについて検討した。その結果、抗原感作と同時にFK506を投与した場合と、EANを発症してから投与した群共に重症化を阻止し、また神経伝導速度を含めた神経症状の回復を促進することが明らかになった。

FK506のEANに対する治療効果はAdachi et al. による唯一の報告がある。Adachi et al. はLewis ratに抗原感作する前13日間連続して、我々が用いた量と同じ量を腹腔内に投与し、完全にEANの発症を抑制したとしている。同時にT細胞サブセットの変化を検討薬剤投与群でリンパ節においてhelper/inducer機能を持つW3/25陽性細胞が低値を示し、EAN発症抑制に関与したとしている。我々の今回の結果は感作前にも投与し、発症を抑制しえなかったが、FK506の投与が短期間であった可能性が挙げられる。

今回の実験結果から、発症後のより臨床に近い投与条件でも治療効果があることから、臨床的応用への基礎的な根拠が高まったと考える。今後、CIDPのモデルとされる再発性EANによる本剤の再発抑制効果についての検討が必要である。

E. 結論

FK506は重症GBS、難治性CIDPに使用可能な薬剤として、今後選択し得る可能性がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 準備中

H. 知的財産権の出願・登録 なし



表 1 運動障害(重症度)の判定法

- Grade 0 正常
- Grade 1 後肢の軽度な運動麻痺、尾の下垂
- Grade 2 明らかな後肢の運動麻痺(paraparesis)
- Grade 3 完全な後肢の運動麻痺(paraplegia)
- Grade 4 Grade 3 + 前肢の明らかな運動麻痺
- Grade 5 四肢の完全な運動麻痺(quadruplegia)
- Grade 6 死亡

文献)Adach A.et al:Immuno suppressive effect of FK506 on experimental allergic neuritis in Lewis rats:Int. Med. 31:6-10,1992.

表 2 Lewis rats の体重と運動障害の推移

感作, FK506: C群のみ投与

↓ FK506: D群のみ投与

↓

	感作前	EAN 発症時	発症極期	1 週後	3 週後	8 週後
A 群 ①	303.0±6.2	329.0±2.0	342.0±10.5	355.5±10.1	386.2±15.2	396.2±9.6g
N=4 ②	0	0	0	0	0	0
B 群 ①	302.6±9.0	301.0±15.6	280.0±19.0	266.0±10.5	248.2±16.5	252.7±19.2
N=6 ②	0	2.3±0.5	3.0±1.2	3.3±0.9	3.0±0.5	2.1±0.4
C 群 ①	300.8±4.5	300.7±20.5	270.5±12.3	248.0±28.2	296.2±13.6	308.1±10.5
N=6 ②	0	2.2±0.4	2.4±0.5	2.2±0.3**	2.1±0.1**	1.6±0.3*
D 群 ①	294.8±7.0	303.5±12.5	280.6±17.6	274.0±8.1	318.6±15.1	352.3±12.1
N=8 ②	0	2.1±0.6	2.6±0.7	2.5±0.3*	1.6±0.2***	1.1±0.2**

N:ラット数,①:体重,②:運動障害の重症度. *p<0.05, **p<0.02, ***p<0.001(B群との有意差検定)
Mean±S.D.

表 3 尾部の神経伝導速度の推移

感作, FK506: C群のみ投与

↓ FK506: D群のみに投与

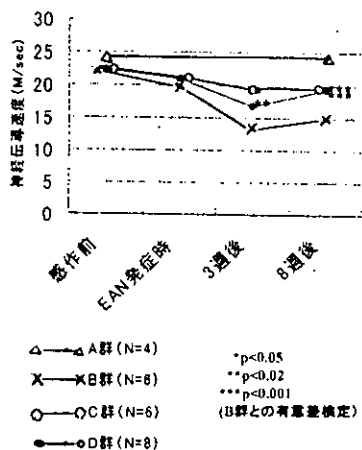
	感作前	EAN 発症時	3 週間後	8 週間後
A 群	24.0±2.2 n=4	—	—	24.5±1.3 M/sec n=4
B 群	22.7±1.7 n=6	21.5±1.1 n=6	13.2±1.8*** n=5 1匹は組織病理	15.2±1.7*** n=4 1匹はN.R.
C 群	24.3±1.4 n=6	21.0±1.3 n=6	18.8±2.5* ¹⁾ n=5 1匹は組織病理	19.2±2.6*** ¹⁾ n=5
D 群	22.5±1.9 n=8	21.1±1.1 n=8	16.8±2.1*** ¹⁾ n=7 1匹は組織病理	19.5±2.5*** ¹⁾ n=7

Mean±S.D. N.R.:not evoked response,

* p<0.02, ** p<0.01, *** p<0.001: B,C,D group compare with A group

1) p<0.01: C,D group compare with B group

尾部の神経伝導速度の推移



△—△ A群(N=4)
×—× B群(N=6)
○—○ C群(N=6)
□—□ D群(N=8)

*p<0.05
**p<0.02
***p<0.001
(B群との有意差検定)

末梢神経病理組織像

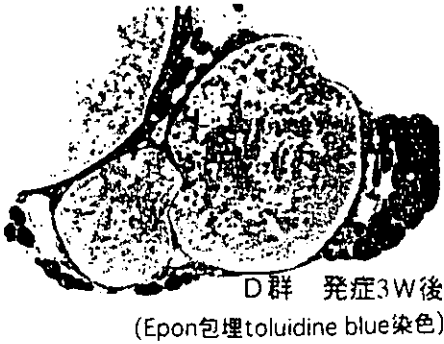
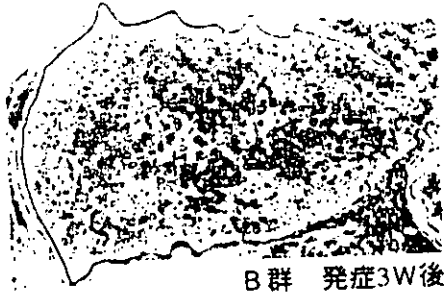


図1

Lewis ratsの体重推移

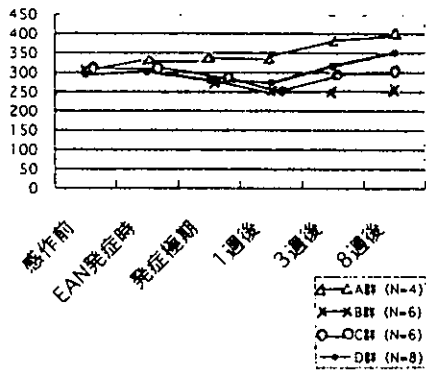
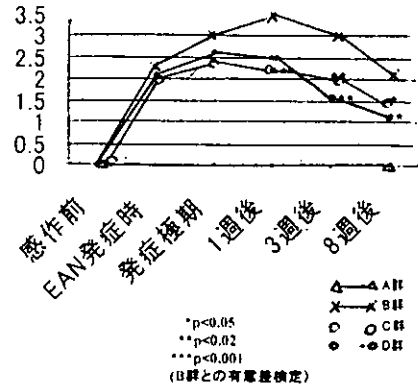
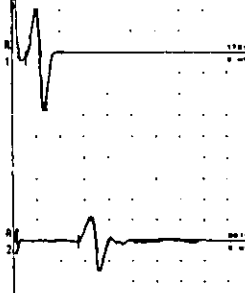


図2

Lewis ratsの運動障害の推移



Normal control (mature) A群



神経伝導速度の推移 図3

STIMULUS SITE	Latency	Conductance	Velocity
R1:	1.2	9.824	
R2:	5.4	5.129	
SEC	1.2		25
PP-WR	1.2		
WR-EL	4.2		53

