

33. Engberg J, Nachamkin I, Fushing V, et al. Absence of clonality of *Campylobacter jejuni* in serotypes other than HS:19 associated with Guillain-Barré syndrome and gastroenteritis. *J Infect Dis* 2001;184:215–220.
 34. Nachamkin I, Engberg J, Gutacker M, et al. Molecular population genetic analysis of *Campylobacter jejuni* HS:19 associated with Guillain-Barré syndrome and gastroenteritis. *J Infect Dis* 2001;184:221–226.
 35. Leonard II EE, Tompkins LS, Falkow S, Nachamkin I. Comparison of *Campylobacter jejuni* isolates implicated in Guillain-Barré syndrome and strains that cause enteritis by a DNA microarray. *Infect Immun* 2004;72:1199–1203.
 36. Godschalk PCR, Heikema AP, Gilbert M, et al. The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in autoimmune antibody induction. *J Clin Invest* 2004;114:1659–1665.
 37. Mori M, Kuwabara S, Miyake M, et al. *Haemophilus influenzae* infection and Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2000;123:2171–2178.
 38. Mandrell RE, McLaughlin R, Abu Kwaik Y, et al. Lipooligosaccharides (LOS) of some *Haemophilus* species mimic human glycosphingolipids, and some LOS are sialylated. *Infect Immun* 1992;60:1322–1328.
 39. Hood DW, Cox AD, Gilbert M, et al. Identification of a lipopolysaccharide α -2,3-sialyltransferase from *Haemophilus influenzae*. *Mol Microbiol* 2001;39:341–350.
 40. Jones PA, Samuels NM, Phillips NJ, et al. *Haemophilus influenzae* type b strain A2 has multiple sialyltransferases involved in lipooligosaccharide sialylation. *J Biol Chem* 2002;277:14598–14611.
 41. Ang CW, Laman JD, Willison HJ, et al. Structure of *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides determines antiganglioside specificity and clinical features of Guillain-Barré and Miller Fisher patients. *Infect Immun* 2002;70:1202–1208.
 42. Ang CW, Noordzij PG, de Klerk MA, et al. Ganglioside mimicry of *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides determines antiganglioside specificity in rabbits. *Infect Immun* 2002;70:5081–5085.
-

SHORT REPORT

Ambiguous value of *Haemophilus influenzae* isolation in Guillain-Barré and Fisher syndromes

M Koga, S Koike, K Hirata, N Yuki

J Neural Neurosurg Psychiatry 2005;76:1736–1738. doi: 10.1136/jnnp.2005.065359

Background: *Haemophilus influenzae* is considered a causative agent of Guillain-Barré syndrome (GBS) and Fisher syndrome, but the frequency of this infection in GBS is controversial.

Objective: To determine whether isolation of *H influenzae* indicates it is a causative agent in GBS and Fisher syndrome.

Results: Four (15%) of 27 patients with GBS and Fisher syndrome in whom *H influenzae* was isolated were also seropositive for *Campylobacter jejuni*. Antiganglioside IgG antibodies in these four patients did not cross react with their *H influenzae* lipo-oligosaccharides, whereas antiganglioside antibodies in the four patients with positive serology for *H influenzae* did.

Conclusions: The findings suggest that *H influenzae* isolation is not always indicative of the causative agent in these syndromes and that tests for other infections should be made, even in cases of positive culture.

Guillain-Barré syndrome (GBS) is a heterogeneous disorder in which various infections may occur before and after neurological onset. Such preceding infections as *Campylobacter jejuni*, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and *Mycoplasma pneumoniae* are generally accepted as causes of GBS.¹ The antecedent infectious agent is usually determined by a serological test or isolation of the agent after GBS onset, sometimes making it difficult to distinguish the antecedent infection from complications of GBS itself. This is a problem, particularly in the isolation of respiratory infectious agents, because nosocomial respiratory tract infections resulting from aspiration pneumonia and intratracheal intubation are common in GBS.²

Haemophilus influenzae, a major pathogen of community acquired respiratory infection, is considered a causative agent of GBS and Fisher syndrome, but the frequency of this infection in GBS is controversial.^{1–6} It is hypothesised that ganglioside epitopes on *H influenzae* lipo-oligosaccharide (LOS) induce autoantibodies against GM1 and GQ1b, thereby resulting in neuropathy.^{3,6} Identification of antecedent *H influenzae* infection is important in clinical terms because it is an indicator of rapid recovery from GBS.⁷ *H influenzae* isolation is the standard diagnostic procedure for this infection, but it is not clear whether isolation of the organism in cases of GBS or Fisher syndrome necessarily means that it is the cause of those disorders. We investigated other possible antecedent infections in patients with *H influenzae* isolations and examined whether the isolation indicates that it is a causative agent in GBS and Fisher syndrome.

METHODS

We examined recent infections (*H influenzae*, *C jejuni*, cytomegalovirus, and *M pneumoniae*) serologically, as described elsewhere,⁶ in 27 patients with GBS (n = 11), Fisher

syndrome (n = 14), and overlapping Fisher syndrome/GBS (n = 2), from whom *H influenzae* had been isolated in sputum or swab cultures. All the strains were isolated shortly after neurological onset, and artificial ventilation was needed for five patients after culture sampling. Serotypes of the isolates were all non-typable, the biotypes predominantly II and III, like the isolates of uncomplicated respiratory infections. There was a history of antecedent respiratory infection symptoms in 21 patients (78%).

Serum IgG antibodies to GM1, GM1b, GM2, GD1a, GalNAc-GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, and GQ1b were assayed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), as reported elsewhere.⁶ An absorption study then was done to examine whether these antiganglioside antibodies cross reacted with the LOS on the isolates. Crude LOS was prepared as described previously.⁶ A 100 µl portion of diluted serum, which gave an optical density of between 1.0 and 2.0 for antiganglioside antibodies, was incubated in LOS precoated wells (LOS lysate 1 µl per well) of microtitre plates at 4°C for 48 hours. The supernatant was used as the primary antibody in the standard ELISA. Absorption rates are expressed as percentages of the optical densities obtained with and without absorption treatment.

RESULTS

Antiganglioside IgG antibodies were detected in 10 of 11 GBS patients (91%) and in all 16 Fisher syndrome patients. Frequent antibodies were anti-GM1 (73%) and anti-GM1b (55%) in the GBS patients, and anti-GQ1b and anti-GT1a (both 100%) in the Fisher syndrome patients.

Four patients (15%: three GBS; one Fisher syndrome) had positive serology for *C jejuni* and seven (26%: five Fisher syndrome; one GBS; one Fisher syndrome/GBS) had positive serology for *H influenzae*, but none for both. All the patients were negative for cytomegalovirus and *M pneumoniae*. Of the four *C jejuni* seropositive patients, one had a previous history of soft faeces, but the others had no preceding gastrointestinal symptoms (table 1). Follow up serum was available for one *C jejuni* seropositive patient (patient 3, table 1) who had a significant anti-*C jejuni* IgA titre decrease during the recovery phase of illness. IgG antibodies to GM1, GM1b, GT1a, or GQ1b were detected in all four patients. In contrast, all seven patients with positive serology for *H influenzae* infection had a previous history of respiratory infection symptoms. Anti-GQ1b and anti-GT1a IgG antibodies were detected in six of these and anti-GM1 IgG antibody in the seventh.

Cross reactivity of antiganglioside IgG antibodies to the LOSs of their *H influenzae* isolates was examined in eight patients, four with positive serology for *C jejuni* and four for *H influenzae*. Cross reactivity was absent in the four who had positive *C jejuni* serology, whereas it clearly was present in at

Abbreviations: GBS, Guillain-Barré syndrome; LOS, lipo-oligosaccharide

Table 1 Patients from whom *H influenzae* was isolated and who had positive serology for recent *C jejuni* infection

Patient	Age (years)/sex	Diagnosis	Antecedent symptoms	Artificial ventilation	IgG antibody against
1	5/F	GBS	RII and headache	Yes	GM1 and GT1a
2	33/F	GBS	Soft stools	No	GM1b
3	67/F	GBS	Fever and general fatigue	No	GM1
4	66/M	FS	RII	No	GM1b, GT1a, and GQ1b

FS, Fisher syndrome; GBS, Guillain-Barré syndrome; RII, respiratory tract infection.

least three of the four *H influenzae* seropositive patients examined (fig 1). The target ganglioside of the antibodies was not related to cross reactivity (data not shown).

DISCUSSION

We found that 15% of our patients from whom *H influenzae* was isolated had positive serology for recent *C jejuni* infection. The specificity of the *C jejuni* serological assay system used is 97%; moreover, a significant titre decrease during the recovery phase was confirmed in one patient, indicating that there were no false positive results. In GBS and Fisher syndrome after *H influenzae* and *C jejuni* infections it is hypothesised that the ganglioside mimics present on the bacterial LOSs produce antiganglioside antibody.⁹ The antibodies in our *H influenzae* seropositive patients did cross react with their isolate LOSs, whereas those in the *C jejuni* seropositive patients did not. This suggests that production of antiganglioside antibodies in the latter patients was not triggered by *H influenzae*, although *H influenzae* infection had certainly occurred, either before or after the neurological onset. It also is noteworthy that only one of four *C jejuni* seropositive patients had a history of preceding gastrointestinal symptoms, but this does not necessarily indicate false positive results in our *C jejuni* serology assay because *C jejuni*

has been isolated from some GBS/Fisher syndrome patients who experienced only upper respiratory infectious symptoms or fever.¹⁰ Our findings suggest that *H influenzae* isolation does not always indicate that this is the causative agent in GBS and Fisher syndrome. Even when *H influenzae* is isolated, we should also test for other infections—in particular *C jejuni*—irrespective of the antecedent symptoms. This also may hold true for cases in which other agents are isolated and serological evidence obtained. We believe that more careful judgment of the causal agent in GBS and Fisher syndrome will lead to a decrease in the numerous case reports of sham causal infection in these syndromes.

Positive *H influenzae* serology was found in 26% of the tested cases in whom *H influenzae* had been isolated. This low frequency may partly reflect the assay's low sensitivity, or it may indicate that *H influenzae* infection was merely a complication of GBS or Fisher syndrome in some of the patients, because most of the serum samples assayed were obtained soon after neurological onset, at a time when neither antibody response nor *H influenzae* infection may have occurred. However, anti-GQ1b and anti-GT1a antibodies were detected in most of the *H influenzae* seropositive patients, all of whom had Fisher syndrome. This supports our previous results showing that *H influenzae* infection is associated more closely with Fisher syndrome than with GBS and that production of antiganglioside antibody is mediated by a GQ1b/GT1a epitope on the bacterial LOS.^{4,6} A serological *H influenzae* test and examination of the cross reactivity of antiganglioside antibodies with the isolate LOS would help in determining the causal role of the bacterium when *H influenzae* is isolated in such cases.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Ms Maki Okazaki for her excellent support in all the assays. Supported in part by grants from the Ichiro Kanehara Foundation to MK; the Kanoe Foundation for Life & Socio-Medical Science to MK; the Japan Intractable Diseases Research Foundation to MK; a grant for Scientific Research (B) (KAKENHI 14370210 to NY) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan; a Research Grant for Neuroimmunological Diseases to NY from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan; a Health Sciences Research Grant (Research on Psychiatric and Neurological Diseases and Mental Health) to NY from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan; and a grant from the Human Frontier Science Program (RGP0038/2003-C to NY).

Authors' affiliations

M Koga, K Hirata, N Yuki, Department of Neurology, Dokkyo University School of Medicine, Tochigi, Japan
S Koike, Institute for Medical Science, Dokkyo University School of Medicine

Competing interests: none declared.

Correspondence to: Dr Michiaki Koga, Department of Neurology, Dokkyo University School of Medicine, Kitakobayashi 880, Mibu, Shimotsuga, Tochigi 321-0293, Japan; kogamrk@dokkyomed.ac.jp

Received 10 February 2005
In revised form 24 March 2005
Accepted 30 March 2005

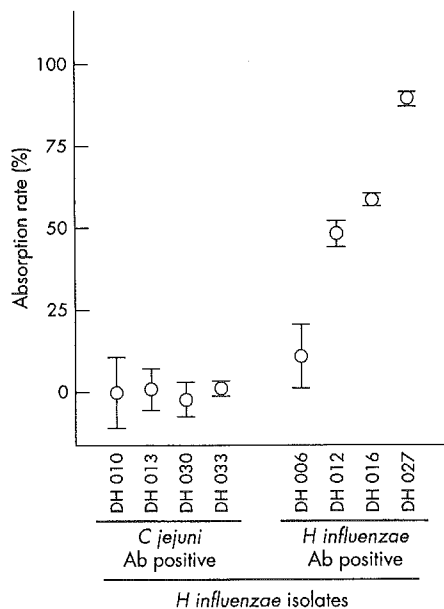


Figure 1 Cross reactivity of antiganglioside IgG antibodies in *H influenzae*-isolate patients to their isolate lipo-oligosaccharide (LOS). Absorption rates are given as percentages of optical densities obtained with and without absorption. Circles represent the mean absorption rates of five wells, error bars the standard errors. Antiganglioside IgG antibodies did not cross react with *H influenzae* LOS in patients with serological evidence of recent *C jejuni* infection, whereas the antibodies did react with the isolate LOS in those with serological evidence of recent *H influenzae* infection. Ab, antibody.

REFERENCES

- 1 Jacobs BC, Rothbarth PH, van der Meche FGA, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barre syndrome. A case-control study. *Neurology* 1998;**51**:1110-15.
- 2 Ropper AH, Wijdicks EFM, Truax BT, eds. *Guillain-Barre syndrome*. Philadelphia: FA Davis Co, 1991.
- 3 Mori M, Kuwabara S, Miyake M, et al. Haemophilus influenzae infection and Guillain-Barre syndrome. *Brain* 2000;**123**:2171-8.
- 4 Koga M, Yuki N, Tai T, et al. Miller Fisher syndrome and Haemophilus influenzae infection. *Neurology* 2001;**57**:686-91.
- 5 Ju YY, Womersley H, Pritchard J, et al. Haemophilus influenzae as a possible cause of Guillain-Barre syndrome. *J Neuroimmunol* 2004;**149**:160-6.
- 6 Koga M, Gilbert M, Li J, et al. Antecedent infections in Fisher syndrome: a common pathogenesis of molecular mimicry. *Neurology* 2005;**64**:1605-11.
- 7 Kuwabara S, Mori M, Ogawara K, et al. Indicators of rapid clinical recovery in Guillain-Barre syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;**70**:560-2.
- 8 Yuki N, Tagawa Y, Irie F, et al. Close association of Guillain-Barre syndrome with antibodies to minor monosialogangliosides GM1b and GM1a. *J Neuroimmunol* 1997;**74**:30-4.
- 9 Willison HJ, Yuki N. Peripheral neuropathies and anti-glycolipid antibodies. *Brain* 2002;**125**:2591-625.
- 10 Takahashi M, Koga M, Yokoyama K, et al. Epidemiology of Campylobacter jejuni isolated from patients with Guillain-Barre and Fisher syndromes in Japan. *J Clin Microbiol* 2005;**43**:335-49.



Autoantibodies in postinfectious acute cerebellar ataxia

Abstract—The authors found serum immunoglobulin M (IgM) autoantibody in a patient with typical acute cerebellar ataxia (ACA) and identified the antigen molecule as triosephosphate isomerase (TPI). TPI antigenicity to the patient's antibody was the highest in the cerebellar tissue. Eight of 23 patients with ACA had increased IgM anti-TPI antibody titers vs those of healthy controls. Preceding Epstein-Barr virus infection was confirmed serologically in all 8 patients. Anti-TPI antibody decreased with clinical improvement.

NEUROLOGY 2005;65:1114-1116

Ayumi Uchibori, MD; Manabu Sakuta, MD; Susumu Kusunoki, MD; and Atsuro Chiba, MD

Autoimmunity related to a preceding infection has been posited in the pathogenesis of acute cerebellar ataxia (ACA),¹ and autoantibodies have been reported: anticentrosome antibodies in postvaricella ataxia,^{2,3} anticentriole antibodies after *Mycoplasma pneumoniae* infection,⁴ and antineuronal antibodies after Epstein-Barr virus (EBV) infection.⁵ In the current study, we found serum immunoglobulin M (IgM) antibody against triosephosphate isomerase (TPI) in ACA after acute EBV infection.

Methods. We obtained sera from 23 patients with ACA. Patients with ataxia of other known causes or serum immunoglobulin G (IgG) anti-GQ1b antibody were excluded. Control sera were obtained as indicated in figure 1. Recent EBV infection was confirmed serologically by an increasing level of IgM antibodies against EBV-viral capsid antigen (VCA).

Total protein extraction. Human tissue obtained at autopsy from patients without neurologic disorders was homogenized in 62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8, and 2% sodium dodecyl sulfate (SDS). After boiling the homogenate for 3 minutes at 100°C, insoluble precipitates were removed by centrifugation for 15 minutes at 21,880g at 4°C. Protein concentrations were determined by the use of BCA reagents (Pierce, Rockford, IL).

Western blot analysis and N-terminal amino acid sequencing. SDS-PAGE, 2D-electrophoresis, and electrophoretical protein transfer to membranes were performed by the common procedures with Laemmli's sample buffer system and immobilized pH gradient gel strips according to the manufacturer's instructions attached to the strips (Bio-Rad, Hercules, CA). After incubation with 10% normal goat serum (NGS) in 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) containing 150 mM NaCl and 0.05% Tween-20 (TBST) (blocking solution) for 4 hours at room temperature, membranes were incubated overnight at 4°C with serum samples diluted with the blocking solution. After being washed, the membranes were incubated for 1 hour at room temperature with peroxidase-conjugated goat anti-human IgG or IgM antibody (ICN, Aurora, OH) diluted 1:10,000. Immunoreactions were detected with enhanced chemilumines-

cence (ECL) reagents (Amersham, Piscataway, NJ). N-terminal amino acid sequences were determined by means of a HP-G1005A Protein Sequencing System (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA).

ELISA. Each well of the microtitration plates (ICN) was coated with 200 ng TPI purified from rabbit skeletal muscle (Sigma, St. Louis, MO) in 50 μ L of 0.1 M carbonate buffer, pH 9.6, overnight at 4°C. The following procedures were performed as previously reported⁶ with modifications: NGS was used instead of bovine serum albumin, and TBST was used instead of phosphate-buffered saline. Antibody titer was assayed at the 1:50 dilution. Antibody titer was expressed as the absorbance ratio of the sample to standard serum. The cutoff level was the mean + 3 SD of the healthy controls. Differences in mean values were compared statistically by Welch's or Student's *t* test. Antibody-positive ratios were compared by the χ^2 test. A difference was considered significant when the *p* value was less than 0.05.

Adsorption study. Each well of the microtitration plates was coated with 1,600 ng of the purified TPI. After nonspecific protein-binding sites had been saturated with the blocking solution, 50 μ L of the serum sample diluted 1:200 was added to antigen-coated and noncoated wells, and the plates were incubated overnight at 4°C. Antibodies adsorbed to the wells were eluted by 1.0 M glycine-HCl, pH 2.7. After neutralization with 1.0 M Tris-HCl, pH 9.0, the solution was dialyzed against 20 mM Tris-buffered saline, pH 7.4. Residual antibodies after adsorption and eluted ones were assayed by Western blot (WB).

Results. In WB screening of a typical ACA patient's serum with the protein extract from human cerebellar cortex, two bands appeared at approximately 23 and 26 kd for IgM (see figure E-1A on the *Neurology* Web site at www.neurology.org), but no significant bands were detected for IgG. Bands with the same mobility also were detected in other nerve and nonnerve tissues, but based on the same amounts of protein, the cerebellar cortex showed the strongest antigenicity of the 26-kd band in the tissues examined (figure E-1B). Of the subcellular fractions, the cytoplasmic fraction had the strongest reaction (data not shown).

In the 2D electrophoretic separation of cerebellar cytoplasmic proteins, five spots were detected between pI 7 and 8 at 26 kd (figure E-1C). The sequence of the 11 N-terminal amino acid residues of the highest pI spot, which showed the strongest reaction, was APSRK-FFVGGN, identical to the N-terminal sequence of TPI.

Serum from the ACA patient reacted strongly with the purified TPI from rabbit skeletal muscle for IgM (figure E-2A). Mobility of the upper band in the WB screening was the same as that of the purified TPI in SDS-PAGE. In the adsorption study, the antibodies that reacted with the 23- and 26-kd bands were adsorbed by TPI-coated wells (figure E-2B).

In the ELISA, 8 of 23 patients with ACA had positive antibody titers above the cutoff level. A preceding EBV infection was proven serologically in those eight patients,

Additional material related to this article can be found on the *Neurology* Web site. Go to www.neurology.org and scroll down the Table of Contents for the October 11 issue to find the title link for this article.

From the Department of Neurology (Drs. Uchibori, Sakuta, and Chiba), School of Medicine, Kyorin University, Tokyo; and the Department of Neurology (Dr. Kusunoki), School of Medicine, Kinki University, Osaka, Japan.

Supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (16590844) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

Disclosure: The authors report no conflicts of interest.

Received December 22, 2004. Accepted in final form June 14, 2005.

Address correspondence and reprint requests to Dr. Atsuro Chiba, Department of Neurology, School of Medicine, Kyorin University, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181-8611, Japan; e-mail: achiba-ky@umin.ac.jp

1114 Copyright © 2005 by AAN Enterprises, Inc.

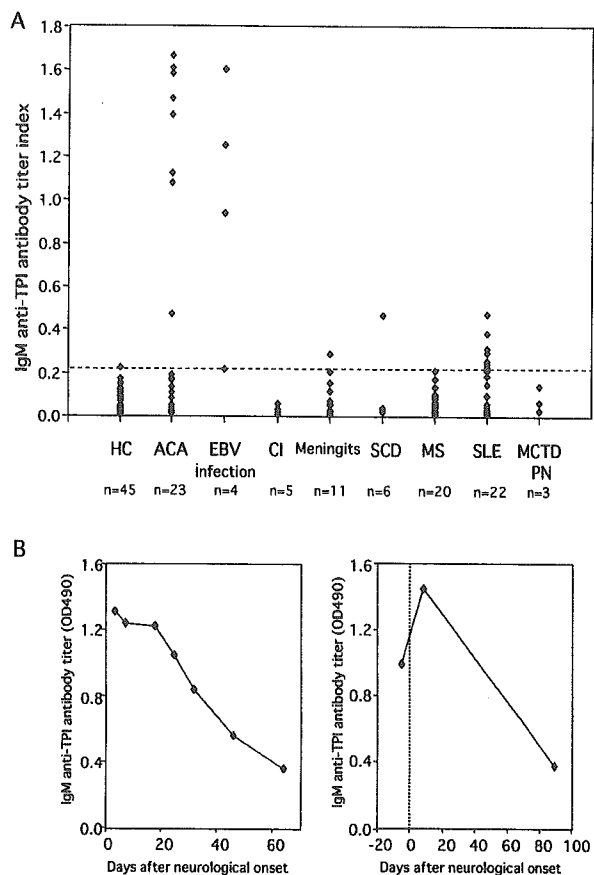


Figure. Immunoglobulin M (IgM) anti-triosephosphate isomerase (TPI) antibody titers (A) and their chronological changes in 2 patients with acute cerebellar ataxia (ACA) (B). (A) Eight of 23 patients with ACA had antibody titers above the mean + 3 SD of the healthy controls (cutoff level, dashed line). Three of 4 patients with EBV infection without ataxia had increased titers. Nine of 67 disease controls (1 meningitis, 1 spinocerebellar degeneration [SCD], 7 systemic lupus erythematosus [SLE]) also had titers above the cutoff level, but they were relatively low compared with those of the positive ACA patients. Antibody titers are expressed as a titer index: the absorbance ratio of the sample to a standard serum in ELISA. HC = healthy control; EBV infection = Epstein-Barr virus infection without ataxia; CI = cerebral infarction; MS = multiple sclerosis; MCTD = mixed connective tissue disease; PN = polyarteritis nodosa. (B) In one patient, antibody titer was highest in the first serum sample obtained 3 days after ataxia onset, after which it decreased gradually. In another patient, antibody titer was increased 5 days before ataxia occurred and was increased in the second serum sample obtained 8 days after ataxia onset, after which it decreased during the recovery phase.

but the other ACA patients had negative results. Antibody also was positive in 1 of 45 healthy controls, 3 of 4 patients who had EBV infection without ataxia, and 9 of the other 67 disease controls (1 with meningitis, 1 with spinocerebellar degeneration, and 7 with systemic lupus erythematosus) (figure, A). Differences in the positive ratios of the groups with positive subjects did not reach the significance level, but the mean titer was significantly higher in the

ACA group than in the others, except for the group with EBV infection without ataxia.

In chronological studies of antibody titer in two ACA patients (figure, B), one had the highest antibody titer in the first serum sample, obtained 3 days after ataxia onset, and it gradually decreased with clinical improvement. In the other patient, the first serum sample, obtained 5 days before the appearance of ataxia, already showed increased antibody titer, which was further increased 8 days after neurologic onset.

Discussion. This is the first study to identify a target antigen for autoantibody commonly increased in patients who have development of ACA after EBV infection. EBV is an important pathogen of preceding infection found in one-third of adult ACA patients.⁷ Anti-TPI antibody has been detected in patients with EBV infection and is reported to be related to hemolysis,⁸ but its relationship to ACA has not been uncovered. Recently, IgG anti-TPI antibody was reported to be related to neuropsychiatric lupus, indicative of a possible effect of anti-TPI antibody on the nervous system in autoimmune diseases.⁹ Our findings on chronological profiles of antibody titers and the distribution of TPI-antigenicity suggest that anti-TPI antibody is involved in the pathologic process in ACA.

Anti-TPI antibody has been shown to bind to erythrocytes and induce hemolysis *in vitro*.⁷ Our observations showed that antibody titer was increased before the appearance of cerebellar ataxia, and its level ran almost parallel to the clinical course of ataxia. This suggests that the antibody is not produced secondarily as a result of nerve tissue damage. The chronological change in anti-TPI antibody titer seems to be consistent with the possibility that antibody production is stimulated by preceding infection and it has a pathogenetic role in cerebellar dysfunction, especially in the early phase.

Triosephosphate isomerase is a ubiquitous protein, which raises the question of how this antibody is related to focal damage, such as hemolysis and ataxia. The immune response against the glycolytic pathway enzyme glucose-6-phosphate isomerase (GPI) is reported to develop arthritis alone. An immunohistochemical study showed GPI located densely along the cartilage surface on the lining of normal articular cavities, which would explain the joint specificity of the anti-GPI antibody.¹⁰ This example shows that ubiquitous proteins can become target antigens in focal diseases by taking a unique localization of antigenicity in certain tissues. As for TPI, the cerebellar tissue specimen had the strongest antigenicity to the ACA patient's serum. Further studies are necessary to clarify its localization pattern in the tissue.

References

1. Connolly AM, Dodson WE, Prensky AL, Rust RS. Course and outcome of acute cerebellar ataxia. *Ann Neurol* 1994;35:673-679.
2. Adams C, Diadori P, Schoenroth L, Fritzier M. Autoantibodies in childhood post-varicella acute cerebellar ataxia. *Can J Neurol Sci* 2000;27:316-320.
3. Fritzier MJ, Zhang M, Stinton LM, Rattner JB. Spectrum of centrosome

- autoantibodies in childhood varicella and post-varicella acute cerebellar ataxia. *BMC Pediatr* 2003;3:11.
4. Cimolai N, Mah D, Roland E. Anticentriolar autoantibodies in children with central nervous system manifestations of *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:638-639.
 5. Ito H, Sayama S, Irie S, et al. Antineuronal antibodies in acute cerebellar ataxia following Epstein-Barr virus infection. *Neurology* 1994;44:1506-1507.
 6. Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barré syndrome: clinical and immunohistochemical studies. *Neurology* 1993;43:1911-1917.
 7. Klockgether T, Doller G, Wullner U, Petersen D, Dichgans J. Cerebellar encephalitis in adults. *J Neurol* 1993;240:17-20.
 8. Ritter K, Brestrich H, Nellen B, Kratzin H, Eiffert H, Thomssen R. Autoantibodies against triosephosphate isomerase: a possible clue to pathogenesis of hemolytic anemia in infectious mononucleosis. *J Exp Med* 1990;171:565-570.
 9. Watanabe H, Seino T, Sato Y. Antibodies to triosephosphate isomerase in patients with neuropsychiatric lupus. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;321:949-953.
 10. Matsumoto I, Maccioni M, Lee DM, et al. How antibodies to a ubiquitous cytoplasmic enzyme may provoke joint-specific autoimmune disease. *Nat Immunol* 2002;3:360-365.

Guillain-Barré 症候群

Guillain-Barré syndrome

楠 進

Key words : Guillain-Barré 症候群, Fisher 症候群, ガングリオシド, プラズマフェレーシス, 免疫グロブリン大量療法 (IVIg)

1. 概 念

Guillain-Barré 症候群 (GBS) は急性の運動麻痺を主徴とする末梢神経障害である。多くの場合に呼吸器感染や消化器感染などの感染が先行するのが特徴である。先行感染後 1-2 週程度を経て発症し、2-4 週以内に症状はピークに達する。その後軽快に向かい、6-12 カ月前後で軽快することが多い。単相性の疾患であるが、まれに再発例の報告もある。

症状としては四肢の筋力低下が主体である。脳神経麻痺を伴うこともある。感覚も障害されることが多く、異常感覚はしばしばみられる。急性期には頻脈、起立性低血圧、高血圧などの自律神経症状もみられ、十分に注意する必要がある。また症状のピーク時には、呼吸筋麻痺のため人工呼吸器を必要とする例が 20-30% ある。

GBS は従来は脱髄性多発神経炎と考えられ、急性炎症性脱髄性多発神経炎 (acute inflammatory demyelinating polyneuritis: AIDP) と同義とされていたが、近年そのほかに、軸索を主たる標的とするタイプの存在が認識されるようになり、acute motor axonal neuropathy (AMAN) などと呼ばれている¹⁾。また GBS には幾つかの亜型があり、なかでも眼球運動麻痺・失調・腱反射消失を三徴とする Fisher 症候群は有名である。

2. 病因と病態

GBS は末梢神経を標的とする自己免疫によると考えられている。自己抗体を中心とする液性免疫と細胞性免疫の両面から数多くの解析が行われてきた。

a. GBS と自己抗体

GBS では治療として血漿交換が有効であることなどから、自己抗体をはじめとする液性因子の病態への関与の可能性が考えられた。その中で、特異性および陽性率の高いものとして、抗糖脂質抗体が注目されるようになっている。

糖脂質は、細胞膜の構成成分であり、糖鎖を細胞外に向ける形で存在していることから、自己抗体の標的となり得ると考えられる。糖脂質のなかでもガングリオシドは神経組織に多く含まれることが知られる。糖鎖構造に基づいて多くの分子種があり (図 1)、それぞれが神経組織内で独特の分布を示している。したがって抗糖脂質抗体は、それぞれの標的となる分子の分布する部位に特異的に結合することにより、障害分布を規定する因子となる可能性がある。

高い抗体価の抗糖脂質抗体は、GBS をはじめとする自己免疫性の末梢神経障害の患者血中にしばしばみられるが、他の自己免疫疾患や神経疾患では通常上昇はみられない²⁾。したがって抗糖脂質抗体の上昇は、GBS をはじめとする自己免疫性末梢神経障害に特徴的なことであり、後

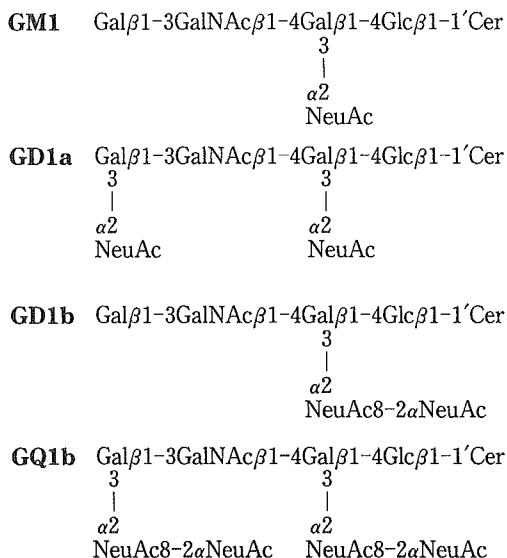


図1 代表的なガングリオシドの糖鎖構造

Gal: ガラクトース, Glc: グルコース, GalNAc: N-アセチルガラクトサミン, NeuAc: N-アセチルノイラミン酸(シアル酸), Cer: セラミド.

述するように診断マーカーとして用いることができる。特に GBS では発症直後の検体で抗体価がピークとなり、経過とともに低下・消失していく。この経過からは、抗糖脂質抗体の上昇は神経障害の結果ではなく、病態と密接に関連するものと考えられる。GBS での抗糖脂質抗体の陽性率は約 60% である。

以下に、それぞれの抗体について概説するが、まず特定の症状との関連が際立っているガングリオシド GQ1b(図1)に対する IgG 抗体について述べ、次にその他の抗体について述べることにする。

1) 抗 GQ1b IgG 抗体

抗 GQ1b IgG 抗体は、Fisher 症候群(眼球運動麻痺、失調、腱反射消失を三徴とする GBS の亜型)の急性期血清で 90% 以上の高頻度にみられる³⁾。また四肢の末梢性運動麻痺とともに眼球運動麻痺を来す‘眼球運動麻痺を伴う GBS’や、眼球運動麻痺のみあるいは失調のみを呈する‘Fisher 症候群の不全型’でも認められる。更に Fisher 症候群と同様の臨床的特徴や経過を示すが、脳幹を主とする中枢神経病変も伴うもの(Bickerstaff 型脳幹脳炎)でも陽性となる。しか

したとて眼球運動麻痺や失調があっても他のメカニズムによる場合(脳血管障害、多発性硬化症、重症筋無力症、小脳変性症など)はすべて陰性であり、他の自己免疫疾患でも同抗体が陽性となることはない。したがって、GBS 的な発症機序(Fisher 症候群もその中に含まれる)による眼球運動麻痺や失調に特異的に関連する抗体であることがわかる。

ヒト組織の免疫組織化学的検討では、GQ1b は眼球運動を支配する脳神経である動眼神経・滑車神経・外転神経の Ranvier 絞輪部周囲(傍絞輪部)ミエリンに局在する³⁾。このことから抗 GQ1b IgG 抗体の同部位への特異的結合が、眼球運動麻痺を来す可能性が強く考えられる。また GQ1b は後根神経節の一部の神経細胞にも局在する⁴⁾。後根神経節の GQ1b 陽性細胞が小脳への入力系にかかわるものであれば、抗 GQ1b IgG 抗体のそれらの神経細胞への作用が失調を引き起こす可能性がある。一方で、マウスの横隔膜を用いた *in vitro* の実験では、神経筋接合部における抗 GQ1b 抗体による伝達物質の放出阻害が示された。この実験結果は、抗 GQ1b IgG 抗体とヒトの眼球運動麻痺や失調との特異的な関連の説明に直ちに結びつくものではないが、神経筋接合部も標的となる可能性が指摘されたわけである。最近、人工呼吸器を必要とする GBS では、抗 GQ1b IgG 抗体陽性の頻度が高いことがわかった⁵⁾が、同抗体の神経筋接合部への作用が関連している可能性がある。

2) その他の抗糖脂質抗体

GBS ではそのほかにも症例ごとに様々な糖脂質に対する抗体上昇がみられる。GM1, GM2, GM1b, GD1a, GD1b, GalNAc-GD1a, LM1, ガラクトセレブロシドなどが標的抗原となる。各抗体は、特定の臨床病型と関連することが多く(表1)。その関連は標的抗原の分布によって説明できることが多い。すなわち標的抗原の分布領域に特異的に抗体が結合することにより、特徴ある臨床像を呈すると考えられる。

最近、ある種のリン脂質をガングリオシドに混合した抗原を用いることで、抗体活性が増強し、ガングリオシド単独に対しては陰性の場合

表1 GBSの抗糖脂質抗体と臨床的特徴の関連および抗原の局在

抗体	クラス	臨床的特徴	ヒト末梢神経における抗原の局在
抗GQ1b抗体	IgG	眼球運動麻痺 失調	脳神経III, IV, VIの傍紋輪部ミエリン 一部の一次感覚ニューロン
抗GD1b抗体 (GM1と交差反応のないもの)	IgG	感覚障害 脱髄型	一次感覚ニューロン(大径優位) 傍紋輪部ミエリン
抗ガラクトセレブロシド抗体	IgG, IgM	脱髄型	ミエリン
抗LM1抗体	IgG	脱髄型	ミエリン
抗GalNAc-GD1a抗体 (GM2と交差反応のないもの)	IgG, IgM	純粹運動型 軸索障害型	軸索周囲膜
抗GM1抗体	IgG	純粹運動型 軸索障害型	不明
抗GM1b抗体	IgG	純粹運動型 軸索障害型	不明
抗GM2抗体	IgG, IgM	感覚障害 脳神経障害(特にVII)	不明
抗GD1a抗体	IgG	軸索障害型	不明

でも陽性反応が得られることが報告された⁶⁾。更に、単独のガングリオシドではなく、2種類のガングリオシド(例えばGD1aとGD1b, 図1)を混合した抗原を用いることにより、初めて抗体活性が検出できる場合があることも報告された⁷⁾。ガングリオシドは細胞膜上でリン脂質と一緒に存在する。また細胞膜のラフトにおいては複数のガングリオシドがcomplexを形成していると考えられる。今後は、このような細胞膜上の存在様式をも考慮しながら抗体の意義を考えていく必要がある。

3) 抗糖脂質抗体による神経障害

抗糖脂質抗体は、すべてが神経障害に直接関与するとは限らないが、発症機序に直接かわる場合には、標的抗原の局在部位に結合して神経障害を来すと考えられる。抗体の結合につづいて、補体の活性化やantibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)などの機序が働き、神経組織が傷害される。また抗体の結合が、神経細胞(あるいはシュワン細胞)の機能異常を来すという可能性も考えられる。

動物を糖脂質で感作することによる実験的自己免疫性ニューロパチーは、ウサギで報告され

ている。ミエリンの糖脂質の主要成分であるガラクトセレブロシドの感作では脱髄性ニューロパチー⁸⁾を、また深部感覚を伝える一次感覚ニューロンに局在するガングリオシドであるGD1bの感作では感覚障害性失調性ニューロパチーを来すが⁹⁾、これらは抗原の局在部位と臨床症状がよく対応している。また、抗GM1 IgG抗体は、純粹運動型あるいは軸索障害型のGBSにみられることが多いが、GM1で感作することにより、軸索障害型の運動ニューロパチーの作成が報告されている¹⁰⁾。これらのウサギモデルでは、いずれも病変部位に炎症性リンパ球浸潤はみられず、抗体がeffectorとして重要と考えられる。

b. GBSと細胞性免疫

自己免疫による末梢神経障害の実験モデルとして知られるexperimental autoimmune neuritis (EAN)では、末梢神経ミエリンの蛋白であるP0やP2に特異的なTリンパ球が発症機序において主役を演ずる。一方GBSにおいては、疾患特異性と高い陽性率を示す特定の抗原に対する細胞性免疫反応の存在はまだ確認されていない。

GBSでもインターロイキン2(IL-2)やインターロイキン2レセプター(IL-2R)の上昇がみら

れ、T細胞の活性化が示唆される。活性化されたT細胞はインターフェロン γ (IFN- γ)や tumor necrosis factor α (TNF- α)などのサイトカインを産生し、マクロファージを介して、あるいは直接的に神経障害性に働くという可能性が考えられる。またB細胞系を刺激することにより抗体産生の亢進ももたらす。そのほかにも matrix metalloproteinases が血液神経関門の破綻にかかわっている可能性が指摘されている。

細胞性免疫と液性免疫は相互に関与しながら GBS の病態を形作ると考えられる¹¹⁾。今後細胞性免疫についても、GBS に特異的な知見が得られることが期待される。

c. GBS の病態と先行感染

GBS の発症機序には、先行感染による免疫系の刺激が重要な役割を果たすと考えられる。特に抗糖脂質抗体の産生機序について多くの報告がある。抗 GM1 IgG 抗体は、消化器感染後にも呼吸器感染後にもみられるが、消化器感染の場合は大部分が *Campylobacter jejuni* による感染であり、そのような *C. jejuni* の菌体表面には GM1 様の糖鎖構造の存在が明らかにされている¹²⁾。したがって *C. jejuni* に対して産生された抗体が GM1 に反応することが示唆される。また抗ガラクトセレブロシド抗体はマイコプラズマ肺炎後の GBS にみられるが、肺炎マイコプラズマ菌体にガラクトセレブロシド様糖鎖の存在が明らかになった¹³⁾。先行感染因子のもつ糖鎖と末梢神経の糖脂質の糖鎖にみられる分子相同性は、GBS における抗糖脂質抗体産生の主要な機序であると考えられる。

3. 検査と診断

先行感染など特徴的な病歴および臨床経過が診断に重要である。検査としては、末梢神経伝導検査において、伝導ブロック、複合筋活動電位の低下、時間的分散、神経伝導速度の遅延などがみられ、髄液では蛋白細胞解離(蛋白は上昇するが細胞数は正常)が認められる。ただ髄液所見は発症直後には異常のないことも多い。先述の抗糖脂質(ガングリオシド)抗体測定は、陽性例では発症直後に既に抗体価が上昇しており、

急性期の診断に役立つ。近年、ガングリオシド単独ではなく、リン脂質とガングリオシドや複数のガングリオシドの混合抗原に対して特異的に高い抗体価を示す症例の存在が報告されている^{6,7)}。このような新たな測定法の導入により更に陽性率が高くなることが予想される。

4. 治療と予後

GBS は急性期を過ぎれば回復に向かう单相性の疾患であるが、ピーク時には呼吸筋麻痺や重篤な自律神経障害を来す場合もあることから、急性期の全身管理が極めて重要である。更に回復期にはリハビリテーションも必要である。このような一般的な治療に加えて、軽症例を除いて、自己免疫機序のコントロールのために、急性期にプラズマフェレーシスや免疫グロブリン大量療法 (IVIg) を行う。

プラズマフェレーシスには単純血漿交換療法、二重膜濾過法、免疫吸着療法がある。単純血漿交換療法については、大規模な比較対照試験により、ピーク時の重症度の軽減、早期の回復傾向などが報告されている。一方、多数例の比較対照試験は施行されていないが、二重膜濾過法と免疫吸着療法も有効と考えられる。我が国では補充液を必要としないなどの利点を考え、免疫吸着療法が選択されることが多い。プラズマフェレーシスでは自己抗体などの液性因子の除去が効果に関与すると考えられる。副作用として血圧低下・感染症・静脈血栓症などに注意が必要である。

IVIg は体重 1kg 当たり 1日 0.4g の免疫グロブリンの静注を 5日間施行するという方法が一般的であり、単純血漿交換療法と同等に有効であることが示されている¹⁴⁾。患者への侵襲や循環動態への影響が少なく操作が簡便なことから、最近では IVIg を用いる例が増えている。IVIg の効果発現の機序については、幾つかの説があるが不明の点が多い。副作用としては頭痛、筋痛、軽度の肝酵素の上昇、好中球減少、血栓・塞栓その他が報告されているが、重篤なものは少ない。

ステロイドは経口投与、パルス療法とも有効

性は認められていない。パルス療法とIVIgを組み合わせて用いるとIVIg単独より有効との報告もあるが、より多数例の検討では有意差がみられないとの結果であった¹⁵⁾。

上述のように单相性の経過をとる疾患であり、多くの症例は軽快するが、約20%程度では何らかの後遺症を残し、死亡例も約5%存在すると報告されている。

■ 文 献

- 1) Asbury AK, McKhann GM: Changing views of Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 41: 287-288, 1997.
- 2) Kusunoki S: Antiglycolipid antibodies in Guillain-Barré syndrome and autoimmune neuropathies. *Am J Med Sci* 319: 234-239, 2000.
- 3) Chiba A, et al: Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barré syndrome: Clinical and immunohistochemical studies. *Neurology* 43: 1911-1917, 1993.
- 4) Kusunoki S, et al: Anti-GQ1b IgG antibody is associated with ataxia as well as ophthalmoplegia. *Muscle Nerve* 22: 1071-1074, 1999.
- 5) Kaida K, et al: Anti-GQ1b antibody as a factor predictive of mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 62: 821-824, 2004.
- 6) Kusunoki S, et al: Binding of immunoglobulin G antibodies in Guillain-Barré syndrome sera to a mixture of GM1 and a phospholipid: possible clinical implications. *Muscle Nerve* 27: 302-306, 2003.
- 7) Kaida K, et al: Ganglioside complexes as new target antigens in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 56: 567-571, 2004.
- 8) Saida T, et al: Experimental allergic neuritis induced by sensitization with galactocerebroside. *Science* 204: 1103-1106, 1979.
- 9) Kusunoki S, et al: Experimental sensory neuropathy induced by sensitization with ganglioside GD1b. *Ann Neurol* 39: 424-431, 1996.
- 10) Yuki N, et al: Animal model of axonal Guillain-Barré syndrome induced by sensitization with GM1 ganglioside. *Ann Neurol* 49: 712-720, 2001.
- 11) Hughes RAC, et al: Pathogenesis of Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol* 100: 74-97, 1999.
- 12) Yuki N, et al: A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like structure. *J Exp Med* 178: 1771-1775, 1993.
- 13) Kusunoki S, et al: Anti-Gal-C antibodies in GBS subsequent to mycoplasma infection: evidence of molecular mimicry. *Neurology* 57: 736-738, 2001.
- 14) Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barré Syndrome Trial Group: Randomized trial of plasma exchange, intravenous immunoglobulin, and combined treatments in Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 349: 225-230, 1997.
- 15) van Koningsveld R, et al: Effect of methylprednisolone when added to standard treatment with intravenous immunoglobulin for Guillain-Barré syndrome: randomised trial. *Lancet* 363: 192-196, 2004.

抗ガングリオシド抗体

平川美菜子* 楠 進

Key words: 抗体, ガングリオシド, Guillain-Barré 症候群, 末梢神経障害(ニューロパチー)

検査の意義と適応

ガングリオシドは糖鎖構造にシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質である。神経組織に豊富に分布し、主に細胞膜の表面に存在している。これらの糖脂質に対する抗体は、自己免疫性ニューロパチーで検出され、疾患の診断においても病因的な意義においても重要である。自己免疫性ニューロパチーには、Guillain-Barré 症候群(GBS)や GBS の亜型である Fisher 症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経炎(chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: CIPD)や、CIPD の亜型である多巣性運動ニューロパチー(multifocal motor neuropathy: MMN)などがある。なかでも、GBS 発症直後の約 60% の患者血清中に、抗ガングリオシド抗体の上昇が認められ、症状の改善とともに低下し消失する。抗ガングリオシド抗体は、GBS の診断にたいへん有用なマーカーであるとともに、血漿交換治療の有用性からも、GBS の発症機序、病態に深く関与すると考えられる。

抗ガングリオシド抗体の種類

ガングリオシドは糖鎖構造に基づいて、GM1, GD1a, GD1b, GQ1b などと命名されており、それぞれの分子種が神経組織の中で特有の部位に局在している。このため、さまざまな種類の抗ガングリオシド抗体は、特定の脳神経の障害、髄鞘の

障害、軸索の障害、運動障害優位、感覚障害優位などの病態を規定する因子として働くと考えられる。近年、抗ガングリオシド抗体と臨床像の対応がかなり詳細に判明してきており、どの抗体が検出されたかによって、その患者の臨床経過、電気生理学的所見、予後を推測することが可能になってきている。ガングリオシド以外の糖脂質に対する抗体を含めて表に示す。主な抗体について、以下に述べる。

1) 抗 GQ1b 抗体

抗 GQ1b IgG 抗体は Fisher 症候群の急性期血清中に高頻度に検出され、GBS や Fisher 症候群の病態機序によって生じる外眼筋麻痺と失調に特異的に関連して上昇する。GQ1b 抗原は、眼球運動を支配する脳神経である動眼神経、滑車神経、外転神経の Ranvier 絞輪周囲(傍絞輪部)のミエリンに高濃度に局在する。よって、抗 GQ1b 抗体がこれらの脳神経の傍絞輪部ミエリンに結合して神経伝導を阻害し、外眼筋麻痺をきたすというメカニズムが考えられている(図 1)。

2) 抗 GD1b 抗体

GD1b は、感覚を伝える 1 次感覚ニューロンである後根神経節の大型神経細胞などに局在する。GD1b のジシアロシル基(シアル酸が 2 つ連続する)を認識する IgM 抗体は、深部感覚障害による失調性ニューロパチーに認められることが知られており、その抗体が後根神経節の神経細胞の GD1b を標的として結合することによって失調性感覚障害性ニューロパチーをひき起こすと考えられる。この仮説は動物モデルにおいて証明された。すなわち、GD1b でウサギを感作することにより

HIRAKAWA Minako, KUSUNOKI Susumu

近畿大学医学部神経内科

[〒589-8511 大阪狭山市大野東 377-2]

TEL 072-366-0221 FAX 072-368-4846

* 東京大学大学院医学系研究科神経内科

表 抗糖脂質抗体と臨床的特徴

GBS でみられる抗体の種類			
抗体	抗体クラス	先行感染	臨床的特徴
抗 GM2 抗体	IgM, IgG	Cytomegalovirus	脳神経障害・感覚障害
抗 GM1 抗体	IgG	<i>C. jejuni</i> , <i>H. influenzae</i> など	純粋運動型, 軸索障害型
抗 GD1a 抗体	IgG	<i>C. jejuni</i>	純粋運動型, 軸索障害型
抗 GalNAc-GD1a 抗体	IgG > IgM	<i>C. jejuni</i>	純粋運動型, 軸索障害型
抗 GD1b 抗体	IgG	呼吸器感染 > 消化器感染	感覚障害性失調, もしくは脱髄型
抗 GQ1b 抗体	IgG	呼吸器感染 > 消化器感染	Fisher 症候群, 外眼筋麻痺を伴う GBS Bickerstaff 型脳幹脳炎
抗 Galactocerebroside 抗体	IgM, IgG	<i>M. pneumoniae</i>	脱髄型
抗 GT1a 抗体	IgG	呼吸器感染 > 消化器感染	Fisher 症候群, 咽頭-頸部-上腕型
抗 LM1 抗体	IgG > IgM	呼吸器感染 > 消化器感染	脱髄型

慢性のニューロパチーでみられる抗体		
抗体	抗体クラス	疾患と臨床的特徴
抗 GM1 抗体	IgM	MMN など
GD1b, GT1b, GQ1b など disialosyl 基に対する抗体	IgM	感覚障害性失調, M 蛋白血症を伴うことが多い
抗 SGPG 抗体	IgM	深部感覚障害優位, M 蛋白血症を伴うことが多い

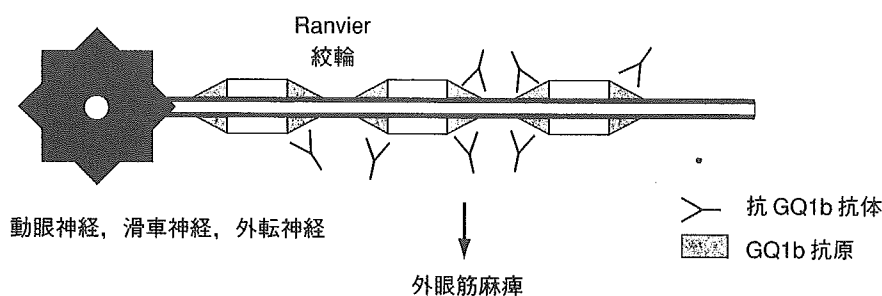


図1 抗 GQ1b 抗体による外眼筋麻痺の発症機序

感覚障害性失調性ニューロパチーが惹起され、病理学的には後索に突起を伸ばす後根神経節の一次感覚ニューロンの変性が確認された。

3) 抗 GM1 抗体

抗 GM1 IgG 抗体は GBS 患者の 20~30% でみられ、とくに *C. jejuni* 感染後に多く、純粋運動型であり、脱髄型より軸索障害型でみられることが比較的多いとされている。GM1 でウサギを感作することにより軸索障害型の運動ニューロパチーを生じることが報告されている。GM1 は広く神経組織に分布するが、ヒトの神経組織における局在の詳細ははっきりしない。これまで抗 GM1 抗体や、軸索障害型が予後不良因子かどうか議論されてきたが、必ずしも抗 GM1 IgG 抗体の陽性例が重症と

なるわけではない。また、軸索型と電気生理学的に診断されたなかでも早期に回復する例もある。

慢性型ニューロパチーでは、抗ガングリオシド抗体はあまり検出されないが、CIDP の亜型とされる MMN では約半数の症例に抗 GM1 IgM 抗体がみられ、MMN の特徴の一つにあげられる。

検査法の原理

一般に、ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法で抗体測定を行っている。マイクロタイタープレート上に抗原(ガングリオシド)を固相化し、そこに患者血清を加え反応させた後、洗浄してその後 2 次抗体として酵素標識した抗ヒト IgM 抗体あるいは抗ヒト IgG 抗体を加える。洗浄

後、基質を加えて酵素反応による基質の色の変化(吸光度)を分光光度計で測定する。

検体採取、輸送、保存の注意点

患者血液を採取し遠心後の血清で検査を行う。GBSであれば検体は治療前の発症時のものが最も抗体価が高く検査に適している。保存方法は冷凍保存(可能なら -80°C が望ましい)で、輸送の際には密封し凍結のまま(発泡スチロールの箱などに入れてドライアイスや保冷剤とともに)輸送する。(当研究室に抗体測定を依頼する場合は、近畿大学医学部神経内科宛に平日到着で凍結血清を送る。ホームページ(<http://www.med.kindai.ac.jp/neuro/>)参照)

なお、GBSであればIVIg、血液浄化療法などの治療後、また自然経過とともに抗体価が低下消失するため、抗体価の比較検討することは治療の目安や診断の確認になる。

基準値

施設ごとに測定条件(抗原量や血清の希釈倍率など)が異なるため、それぞれの施設によって基準を設けている。当研究室ではELISA法による吸光度に基づいて抗体の有無や強弱の判定(−~4+)

をしている。年齢による違いや生理的変動などはない。一般に、正常では抗ガングリオシド抗体は検出されない。

検査のアーチファクト

1回だけの測定ではfalse-positiveの可能性を否定できないため、当研究室では複数回行って結果を判定している。

異常値がみられたときの考え方、考えられる疾患、その後の検索の進め方

急性発症でGBSが疑われ、IgGタイプの抗ガングリオシド抗体が陽性であった場合、GBSと考えて間違いはないであろう。検査として先行感染の病原体の同定(疑わしいウイルスなど病原体の抗体測定、便や咽頭培養)、髄液検査(髄液の蛋白細胞解離)、末梢神経伝導検査(F波を含めて行う)を行い、GBSの診断および病態把握を行う。また、GBSと診断した場合には早期に免疫グロブリン大量静注療法(IVIg)、血液浄化療法などの治療を開始する。

慢性発症でCIDPが疑われ、抗ガングリオシド抗体が検出された場合には、その診断のために各種検査が必要であるが、M蛋白血症の有無をみる

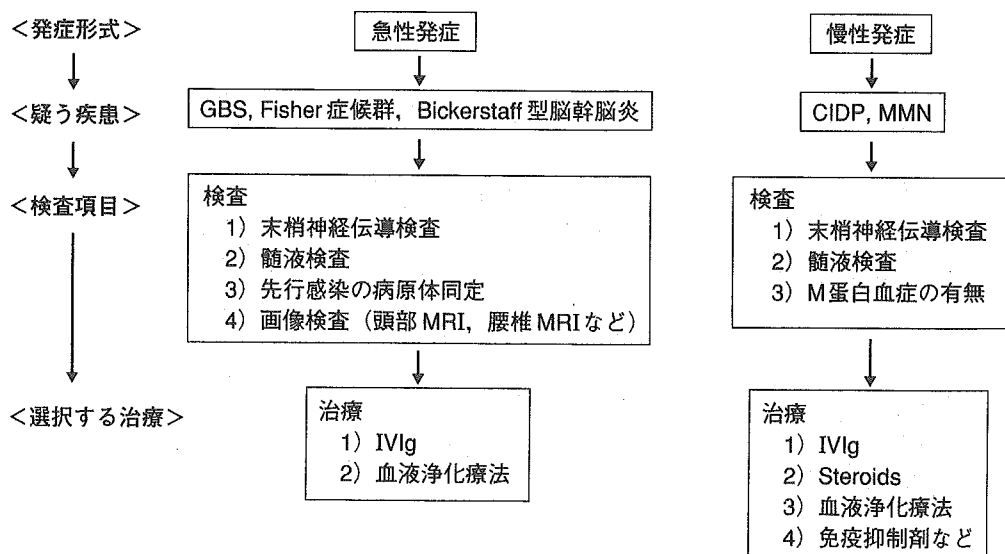


図2 抗ガングリオシド抗体陽性の場合の検索の手順

XII. 自己抗体検査

必要がある。M 蛋白血症がある場合には悪性リンパ腫, 腫瘍性骨髄疾患などの基礎疾患を検索する。CIDP の治療としては, IVIg, ステロイド治療, 血液浄化療法などを行う。また, CIDP の垂型である MMN は感覚障害がなく運動障害のみであり, 抗 GM1 IgM 抗体が陽性に出ることが多い(図 2)。

保険適用

外注検査機関でもいくつかの抗体は測定は可能であるが種類は限られており, 保険適用外の検査となる。国内では抗ガングリオシド抗体を測定できる研究室はいくつかあり, 抗体の種類, 検査にかかる日数, 費用を考えると研究室に依頼するのが良いと思われる。