

200500969B

厚生労働科学研究研究費補助金  
こころの健康科学研究事業

免疫性末梢神経障害の病態解明と  
治療法に関する研究

平成15年度～平成17年度 総合研究報告書

主任研究者 楠 進

平成18年(2006年)4月

# 目 次

## I. 総合研究報告

1. 免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究（総括報告） ..... 1  
楠 進
2. 免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究（分担報告） ..... 7  
楠 進
3. 免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究 ..... 14  
結 城 伸 泰
4. Fisher 症候群および Guillain-Barré 症候群における外眼筋麻痺発症に ..... 20  
対する血清抗 GQ1b IgG 抗体の病因的意義に関する研究  
千 葉 厚 郎

## II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 25

## III. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 31

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)

総合研究報告書

免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究(総括報告)

主任研究者 楠 進 近畿大学医学部 教授

分担研究者

結城伸泰・独協医科大学助教授

千葉厚郎・杏林大学医学部助教授

## A. 研究目的

Guillain-Barré 症候群(GBS)、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)、多巣性運動ニューロパチー (MMN) などの免疫性末梢神経障害の病態を解明し、治療法を検討することを目的として以下の研究を行った。

### 1) 抗ガングリオシド複合体抗体の解析

GBS では抗ガングリオシド抗体が高頻度に上昇することが知られる。これまで、単独のガングリオシド分子に対する抗体の検討を行ってきたが、ガングリオシドは細胞膜上で複数の分子種がクラスターを形成して存在している。従って複数のガングリオシドが相互作用によりあらたなエピトープを形成する可能性が考えられる。そこで GBS において複数のガングリオシドからなる複合抗原に対する自己抗体の可能性に着目し検討を行った。

### 2) 抗ガングリオシド抗体の活性に及ぼすリン脂質の効果

ガングリオシドは前述のように細胞膜においてラフトといわれるクラスターを形成するが、そこにはリン脂質も共存している。われわれは GBS 患者血清中の抗ガングリオシド抗体の活性に対するリン脂質の影響を検討し、phosphatidic acid (PA) などの酸

性リン脂質を抗原に混合すると抗 GM1 IgG 抗体の反応性が増強するが、抗 GQ1b IgG 抗体にはそのような増強作用がないことを見出した。本研究ではそのような効果の違いの生じる機序につき検討した。

### 3) マイコプラズマ肺炎後の GBS における抗 Gal-C 抗体産生機序の解析

われわれは従来、マイコプラズマ肺炎後の GBS と抗 Gal-C 抗体の関連を報告していたが、本研究ではマイコプラズマ肺炎後の抗 Gal-C 抗体産生が分子相同性機序によるかどうかを検証した。

### 4) *Campylobacter jejuni* のリポオリゴ糖 (LOS) 合成酵素遺伝子の検討

*C.jejuni* 後の GBS では、*C.jejuni* の LOS のもつガングリオシド様糖鎖に対する免疫反応の結果患者血中で抗ガングリオシド抗体が産生され、GBS 発症にいたると考えられる。本研究では LOS 合成酵素遺伝子の構成パターンや遺伝子多型が、産生される抗体の特異性を決定し、GBS の発症および臨床像を規定すると考えて検討した。

### 5) 動物モデルを用いた軸索型 GBS の発症メカニズムの解析

有髄神経の刺激伝導におけるガングリオシドの生理的役割を明らかにし、また抗ガングリオシド抗体が末梢神経障害を引き起こすメカニズムを検討した。

### 6) 発症初期における抗 GQ1b IgG 抗体価の変動と臨床症状の推移の対比検討

Fisher 症候群に特異的に関連する因子である抗 GQ1b IgG 抗体の抗体価と臨床症状の経時的変化の比較を行うことにより、抗体の病態における役割を解明した

7)外眼筋支配脳神経における GQ1b 糖鎖抗原の局在の検討

外眼筋支配脳神経における GQ1b エピトープおよび他の糖鎖エピトープの局在をモノクローナル抗体を用いて解析した。

## B. 研究方法

1)GBS 急性期血清につき、ELISA にて GD1a と GD1b を 1:1 の割合で混合した抗原(GD1a/GD1b)に対する抗体活性を検討した。薄層クロマトグラム(TLC)免疫染色による検討も行った。抗 GD1a/GD1b IgG 抗体陽性 GBS の臨床像を解析した。また GD1b のみを単独に認識する抗体が、GD1b と他のガングリオシドとの混合抗原に対してどのように反応するかを ELISA 法で検討した。

2)抗 GD1b IgG 抗体陽性の GBS30 例の急性期血清について、GD1b 単独と、GD1b とリン脂質の混合抗原に対する抗体活性を ELISA 法で測定し、それらの活性を比較した。また抗 GD1b 抗体を、Gal-GalNAc 結合型とジシアロシル基を含めて認識する型に分けて比較検討した。

PA による抗体活性増強のメカニズムとして先行感染時に GM1 と PA が同時に患者の免疫システムに認識されて、GM1 と PA の混合抗原により強く反応する抗体が産生されるという仮説を検証した。抗 GM1 IgG 抗体陽性 GBS と抗 GQ1b IgG 抗体陽性のフィッシャー症候群について、先行感染の種類と抗体活性におよぼすリン脂質の影響

を比較検討した。さらに GM1 と phosphatidic acid (PA)の混合物をウサギに接種して、得られた抗体が、GM1 よりも GM1 に PA を加えた混合抗原により強く反応するか否かを検討した。

3)培養肺炎マイコプラズマ(Mac strain)より抽出した脂質成分(M-lipid)を、ウサギに完全フロイントアジュバントとともに接種し、血清中の抗 Gal-C 抗体価を測定した。また M-lipid 中の糖脂質成分につき、TLC 及び TLC 免疫染色により解析した。

4)GBS および関連疾患患者の便より分離培養された *C.jejuni* 菌株の LOS 合成関連遺伝子座 (クラス A-F) を、決定した。また *cst-II* 遺伝子多型(Asn/Thr 51)をダイレクトシーケンシングで決定した。LOS 上のガングリオシド様エピトープは、各モノクローナル抗体をプローブとして検討した。

5)GM1 などのガングリオシドを欠く GM2/GD2 合成酵素遺伝子ノックアウトマウスの坐骨神経について、電気生理学および形態学的検討を行った。軸索型 GBS のモデルとなるウサギについて、電顕を用いて絞輪部およびその周囲の変化を検討した。また免疫組織化学的に IgG や補体の沈着、イオンチャネルや Caspr の局在を検討した。

6)Fisher 症候群患者血中の抗 GQ1b 抗体価を測定し、臨床症状の推移と比較検討した。

7)ヒトの動眼神経の凍結切片を抗 GQ1b モノクローナル抗体、およびその他のガングリオシドに対するモノクローナル抗体により免疫染色し、蛍光二重染色像を観察した。

(倫理面への配慮)

各分担報告参照。

### C. 研究結果とD. 考察

1) GBS の約 7%において、GD1a/GD1b の複合体に特異性をもつ抗体が認められた。疾患対照群、正常対照群では同抗体は陰性であった。同抗体陽性例は人工呼吸器装着の頻度が有意に高く、またピーク時の重症度も有意に高かった。同抗体陽性例について他の複合体に対する抗体の有無も調べると、GM1/GD1a, GM1/GT1b, GD1b/GT1b にも抗体活性をもっており、糖鎖末端の Gal-GalNAc 基と NeuAc-Gal-GalNAc 基からなる複合体を認識していると考えられた。ガングリオシド複合体に特異的に強い反応性を持つ抗体の存在を見出したが、このような抗体は GBS 血中に限らずこれまで報告がない。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部位となり、そこに抗体が結合して連結す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。抗 GD1a/GD1b IgG 抗体は GBS 重症化のマーカーおよび重症化メカニズム解明の手がかりとして有用と考えられる。抗 GD1b 抗体単独陽性 GBS 血清について、GD1b に他のガングリオシドを混合した抗原との反応をみると、抗体活性の低下がみられ、GD1b が他のガングリオシドの糖鎖と相互作用して、新たなエピトープを形成していることが示唆された。一方、眼球運動麻痺を伴う例で GQ1b や GT1a との混合により反応性が著明に増強するものがあり、こうした例は GQ1b や GT1a と GD1b の複合体に特異性をもつと考えられた。抗 GQ1b 抗体陰性でも GQ1b と他のガングリオシドとの複合体を認識して眼球運動麻痺をきたす場合があることに、今後留意する

必要がある。

2) PA などの酸性リン脂質を GD1b 抗原に混合した場合の抗体活性の上昇については、抗 GD1b IgG 抗体のうち Gal-GalNAc 基に反応するタイプの抗体では PA など酸性リン脂質との混合抗原により強い反応性がみられ、ジシアロシル基をも認識する抗体では反応の増強はなかった。抗 GQ1b IgG 抗体に有意の増強効果がみられないことと合わせ考えると、negative charge の強いジシアロシル基が反応に関わる場合に増強効果がみられないものと考えられた。一方抗 GM1 抗体、抗 GQ1b 抗体いずれについても先行感染のちがいは PA による増強効果に影響しなかった。GM1 と PA を混合して完全フロイントアジュバントと共に接種したウサギと、GM1 のみをアジュバントと共に接種したウサギでは、どちらも抗 GM1 抗体が上昇したが、前者の抗体が GM1 単独よりも GM1 と PA の混合抗原により強く反応するということはなかった。この結果は、先行感染時に *C. jejuni* などの菌体のもつリン脂質が GM1 様糖鎖と共に患者免疫系に認識されるために、PA 共存時により強く反応する抗体が産生されるという仮説を支持するものではなかった。

3) 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た。また M-lipid についての TLC では複数の糖脂質の存在が認められ、これらは抗 Gal-C 抗体により免疫染色された。マイコプラズマ菌体の脂質分画を接種して抗 Gal-C 抗体が上昇したウサギ血清をラット坐骨神経に注入したところ、病理学的にラット坐骨神経に脱髄が認められた。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 抗体が上昇し、脱髄因子として働く可能性が示唆された。

4) GBS 株の 68% がクラス A であり、腸炎株と比べて有意に高頻度であった。クラス A の菌株の中でも GBS 株では Penner の血清型で HS:19 の割合が高く、高頻度に GM1/GD1a エピトープを発現した。 *cst-II*

(Thr51) 型は GM1 や GD1a 様リポオリゴ糖合成を促し、HS:19 型と密接に関連する。クラス A 遺伝子座に加え HS:19 型であることが、抗 GM1 や抗 GD1a 抗体を誘導し GBS のリスクを高めると考えられる。

5) 複合型ガングリオシドを欠くマウスでは、末梢神経伝導速度の遅延や複合筋活動電位の低下がみられ、傍絞輪部のイオンチャネルの局在異常および形態学的異常が認められた。軸索型 GBS モデルウサギでは、前根に伝導障害が存在することが電気生理学的に示唆され、病理学的には同部に異常に開大した Ranvier 絞輪がみられた。また免疫組織学的に IgG および補体の絞輪部への沈着がみられ、一部傍絞輪部へも拡大していた。絞輪部 Na チャネルや傍絞輪部 Caspr の染色が減衰していた。絞輪部への抗体の結合により、絞輪部および傍絞輪部の構造が傷害され、ニューロパチーをきたすと考えられた。

6) Fisher 症候群発症前の血清が得られた一例では発症前に既に抗体価が上昇していた。また発症後の経過を追った例でも一例を除き最初のサンプルで抗体価が最も高く増悪期にも抗体価は低下した。従って抗 GQ1b 抗体は二次的に産生されたものではなく、発症のプロセスに関与するということが再確認され、同時に重症度を規定する要因は

抗体価のみでないことも示唆された。

7) 抗 GQ1b モノクローナル抗体と抗 GD1b モノクローナル抗体の二重染色により、ヒト動眼神経の傍絞輪部に colocalize した染色がみられた。一方、抗 GM3 抗体によっても、同神経の傍絞輪部の染色がみられたが、それは、抗 GQ1b 抗体によるものとの colocalization は認められなかった。傍絞輪部における GM3 の局在の意義について、今後さらに詳細な検討の必要がある。

## E. 結論

1) 複数のガングリオシドの糖鎖は、相互作用により新たなエピトープを形成する。GBS ではそのようなガングリオシド複合体に特異性をもつ抗体が産生されることがあり、とくに抗 GD1a/GD1b 複合体抗体は重症化と関連する。

2) リン脂質が GBS の抗ガングリオシド抗体の活性に及ぼす効果は、抗体の認識するエピトープのもつ電荷の強さにより規定される。抗体アッセイの条件設定および抗体の病態への関わりを考える時に、この結果は有用である。

3) マイコプラズマ肺炎後の脱髄性神経障害では、菌体のもつ Gal-C 様糖鎖に対する免疫反応の結果産生された抗 Gal-C 抗体が脱髄因子として働く。

4) C.jejuni 感染後 GBS では、菌の LOS 合成酵素遺伝子の多型により、産生される抗体の特異性や臨床像が規定される。

5) GM1 などの複合型ガングリオシドは絞輪部や傍絞輪部の構造維持、イオンチャネルの適切な局在化に関わる。抗 GM1 抗体は絞輪部に結合して末梢神経伝導障害をきたす。

6)Fisher 症候群の抗 GQ1b 抗体は発症のプロセスに関与する。

7)ヒト外眼筋支配脳神経では GQ1b と GD1b の colocalization および GM3 の局在がみられる。前者は Fisher 症候群の血中抗体の標的と考えられる。

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)

総合研究報告書

免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究(分担報告)

主任研究者 楠 進 近畿大学医学部 神経内科・教授

## 研究要旨

我々は従来 Guillain-Barré 症候群(GBS)などの免疫性末梢神経障害において高頻度に認められる抗ガングリオシド抗体について検討してきた。本研究では、細胞膜上において複数のガングリオシドあるいはガングリオシドとリン脂質が共存していることに着目し、複数のガングリオシドあるいはリン脂質とガングリオシドの混合抗原に対する抗体活性について解析した。その結果、2種類のガングリオシドの糖鎖が相互作用して新たに形成するエピトープを認識する抗体が存在することをはじめて見出した。GD1b に特異的な抗体の活性は、GD1a など特定のガングリオシドの共存により低下することも、糖鎖同士の相互作用により新たなエピトープが形成されることを支持する所見である。とくに GD1a と GD1b の複合体を認識する抗体は GBS の重症化と関連することが明らかになった。また Phosphatidic acid (PA) などの酸性リン脂質が GM1 に共存することにより、抗 GM1 抗体活性は増強される。一方抗 GQ1b 抗体に対してはそのような作用はない。検討の結果、抗体がジシアロシル基などの陰性荷電の強いエピトープを認識する場合にはそうした作用はなく、そうでない場合にリン脂質の陰性荷電が抗体活性の増強をもたらすことが示唆された。肺炎マイコプラズマの菌体の脂質成分で感作されたウサギ血清には抗 Gal-C 抗体上昇が確認され、ママイコプラズマ肺炎後の脱髄性神経障害では、菌体のもつ Gal-C 様糖鎖に対する免疫反応の結果抗 Gal-C 抗体が産生されて脱髄因子として働くことが示された。

### A. 研究目的

Guillain-Barré 症候群(GBS)、慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)、多巣性運動ニューロパチー(MMN)などの免疫性末梢神経障害の病態を解明し、治療法を検討することを目的として以下の研究を行った。

#### 1) ガングリオシド複合体に対する抗体の解析

GBS では抗ガングリオシド抗体が高頻度に上昇することが知られる。これまで、単独のガングリオシド分子に対する抗体の検討を行ってきたが、ガングリオシドは細

胞膜上で複数の分子種がクラスターを形成して存在している。従って複数のガングリオシドが相互作用によりあらたなエピトープを形成する可能性が考えられる。そこで GBS において複数のガングリオシドからなる複合抗原に対する自己抗体の可能性に着目し検討を行った。その結果ガングリオシド複合抗原に対する抗体の存在をはじめて見出した。次に抗ガングリオシド複合体抗体陽性症例の臨床的特徴を解析した。さらにガングリオシドが複合体を形成して新たなエピトープを作っていることを確認す



るため、抗 GD1b 抗体単独陽性血清のガングリオシド複合体との反応性を検討した。

### 2) 抗ガングリオシド抗体の活性に及ぼすリン脂質の効果

ガングリオシドは前述のように細胞膜においてラフトといわれるクラスターを形成するが、そこにはリン脂質も共存している。われわれは GBS 患者血清中の抗 GM1 IgG 抗体の反応性が phosphatidic acid (PA) などの酸性リン脂質を抗原に混合した際に増強することを報告していたが、GBS の亜型の Miller Fisher 症候群(MFS)患者血清中の抗 GQ1b IgG 抗体についても同様の検討を行った。その結果抗 GQ1b 抗体にはそのような増強がみられないことがわかった。そこで糖鎖構造において GM1 と GQ1b の特徴を併せ持つ GD1b に対する IgG 抗体について検討した。また PA による抗体活性増強のメカニズムとして先行感染時に GM1 と PA が同時に患者の免疫システムに認識されて、GM1 と PA の混合抗原により強く反応する抗体が産生されるという仮説を検証した。

### 3) マイコプラズマ肺炎後の GBS における抗ガラクトセレブロシド抗体産生機序の解析

われわれは従来、マイコプラズマ肺炎後の GBS と抗 Gal-C 抗体の関連を報告していたが、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 抗体上昇の有無をしらべて、同抗体の上昇がマイコプラズマに対する免疫反応によるものかどうかを検討した。

## B. 研究方法

### 1) GBS 急性期血清につき、ELISA にて各種

ガングリオシド及び GD1a と GD1b を 1:1 の割合で混合した抗原(GD1a/GD1b)に対する抗体活性を検討した。薄層クロマトグラム(TLC)免疫染色による検討も行った。抗 GD1a/GD1b IgG 抗体陽性 GBS の臨床像を解析した。また GBS 急性期血清について従来から施行している ELISA 法にて 11 種類の抗糖脂質抗体を測定し、IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性の血清を選択した。GD1b と他の 10 種類の糖脂質抗原のうちの 1 種とを混合し、選択した血清におけるそれらに対する IgG 抗体活性を ELISA 法で検討した。

### 2) 抗 GD1b IgG 抗体陽性の GBS 30 例の急性期血清について、GD1b 単独を 200ng あるいは GD1b 100ng とリン脂質 100ng を装着したマイクロタイタープレートを用いて抗体活性を ELISA 法で測定し、抗体活性を比較した。また抗 GD1b 抗体を、Gal-GalNAc 結合型とジシアロシル基を含めて認識する型に分けて検討した。また抗 GM1 IgG 抗体陽性 GBS と抗 GQ1b IgG 抗体陽性のフィッシャー症候群について、先行感染の種類と抗体活性におよぼすリン脂質の影響を比較検討した。さらに GM1 と phosphatidic acid (PA) の混合物をウサギに接種して、得られた抗体が、GM1 よりも GM1 に PA を加えた混合抗原により強く反応するか否かを検討した。

### 3) 培養肺炎マイコプラズマ(Mac strain)より抽出した脂質成分(M-lipid)を、ウサギに完全フロイントアジュバントとともに接種し、血清中の抗 Gal-C 抗体価を測定した。また M-lipid 中の糖脂質成分につき、TLC 及び TLC 免疫染色により解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は近畿大学の倫理委員会において承

認を受けた。血中抗体測定については患者本人へ十分に説明を行い、文書で同意を得ている。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。動物実験については、動物愛護の観点より、近畿大学の動物実験指針の範囲内で行われた。

### C. 研究結果とD. 考察

1) GBS100 例中 8 例において、GD1a および GD1b 単独に対しては反応がみられないか弱い反応のみであるのに対し GD1a/GD1b に対しては強い反応を示す抗体が認められた。TLC 免疫染色では GD1a と GD1b の混合物を展開したレーンにおいて GD1a と GD1b が重なる箇所の特異的に強い反応を認めた。疾患対照群、正常対照群では抗 GD1a/GD1b 抗体は陰性であった。さらに症例数を増やして検討したところ、GBS 234 例中 16 例(6.8%)に抗 GD1a/GD1b 抗体が陽性であった。同抗体陽性例と、陰性でかつ十分な臨床情報が得られた 177 例について、重症度を比較すると、同抗体陽性例に人工呼吸器装着例が有意に高頻度に見られ、またピーク時 F score も有意に高かった。同抗体陽性例について他の複合体に対する抗体の有無も調べたところ、GM1/GD1a, GM1/GT1b, GD1b/GT1b にも抗体活性をもっており、糖鎖末端の Gal-GalNAc 基と NeuAc-Gal-GalNAc 基からなる複合体を認識していると考えられた。ガングリオシド複合抗原に特異的に強い反応性を持つ抗体の存在を見出したが、このような抗体は GBS 血中に限らずこれまで報告がない。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部位となり、そこに抗体が結合して連結す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。抗 GD1a/GD1b IgG 抗体は GBS 重症化のマーカーおよび重症化メカニズム解明の手がかりとして有用と考えられる。IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性 GBS20 例の血中抗体の、GD1b に他のガングリオシドを混合した抗原との反応性の解析から、その反応性には少なくとも 5 つのパターンと分類不能の群があることがわかった。5 つのパターンのうち 4 つでは、混合抗原を用いることにより抗体活性のなんらかの低下がみられ、GD1b が他のガングリオシドの糖鎖と interaction することにより、新たなエピトープを形成することが示唆された。また残りの 1 つのパターンは眼球運動麻痺を伴うもので GQ1b や GT1a との混合により反応性が著明に増強するものであり、GQ1b や GT1a と GD1b の複合体に特異性をもつものであった。抗 GQ1b 抗体陰性でも GQ1b と他のガングリオシドとの複合体を認識して眼球運動麻痺をきたす場合があることに、今後留意する必要がある。

2) PA などの酸性リン脂質を GD1b 抗原に混合した抗原による抗体活性の上昇については、抗 GD1b IgG 抗体は抗 GM1 IgG 抗体と抗 GQ1b IgG 抗体の中間的な結果であった。しかしそのうち Gal-GalNAc 基に反応するタイプの抗体(9 例)とジシアロシル基をも認識する抗体(9 例)を比較すると、前者で PA など酸性リン脂質との混合抗原に対する強い反応性がみられ、後者では反応の増強はなかった。抗 GQ1b IgG 抗体に有意の増強効果がみられないことと合わせ考えると、negative charge の強いジシアロシ

ル基が反応に関わる場合に増強効果がみられないものと考えられた。GM1 と PA を混合して完全フロイントアジュバントと共に接種したウサギと、GM1 のみをアジュバントと共に接種したウサギでは、どちらも抗 GM1 抗体が上昇したが、前者の抗体が GM1 単独よりも GM1 と PA の混合抗原により強く反応するという事はなかった。この結果は、先行感染時に *C. jejuni* などの菌体のもつリン脂質が GM1 様糖鎖と共に患者免疫系に認識されるために、PA 共存時により強く反応する抗体が産生されるという仮説を支持するものではなかった。

3) 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 羽では両側前肢の軽度の筋力低下がみられた。また M-lipid についての TLC では複数の糖脂質の存在が認められ、これらは抗 Gal-C 抗体により免疫染色された。マイコプラズマ菌体の脂質分画を接種して抗 Gal-C 抗体が上昇したウサギ血清をラット坐骨神経に注入したところ、病理学的にラット坐骨神経に脱髄が認められた。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 抗体が上昇し、脱髄因子として働く可能性が示唆された。

## E. 結論

1) 複数のガングリオシドの糖鎖は、相互作用により新たなエピトープを形成する。GBS ではそのようなガングリオシド複合体に特異性をもつ抗体が産生されることがあり、とくに抗 GD1a/GD1b 複合体抗体は重症化と関連する。今後 GBS の病態解明と

新たな治療法開発のため、ガングリオシド複合体の解析をさらに詳細に行う必要がある。

2) リン脂質が GBS の抗ガングリオシド抗体の活性に及ぼす効果は、標的抗原により異なるが、先行感染時の感作のされ方ではなく、抗体の認識するエピトープのもつ電荷の強さにより規定される。抗体アッセイの条件設定および抗体の病態への関わりを考える時に、この結果は有用である。

3) マイコプラズマ肺炎後の脱髄性神経障害では、菌体のもつ Gal-C 様糖鎖に対する免疫反応の結果産生された抗 Gal-C 抗体が脱髄因子として働く。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kusunoki S, Morita D, Ohminami S, Hitoshi S, Kanazawa I. Binding of IgG antibodies in GBS sera to a mixture of GM1 and a phospholipid: possible clinical implications. *Muscle Nerve* 27:302-306, 2003.
2. Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. GalNAc-GD1a in human peripheral nerve: target sites of anti-ganglioside antibody. *Neurology*, 61:465-470, 2003.
3. Kaida K, Kusunoki S, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. Anti-GQ1b antibody as a factor predictive of mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 62:821-824, 2004.

4. Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Ganglioside complexes: as new target antigens in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 56:567-571, 2004.
  5. Hirakawa M, Morita D, Tsuji S, Kusunoki S. Effects of phospholipids on antiganglioside antibody reactivity in GBS. *J Neuroimmunol* 159:129-132, 2005.
  6. Kamakura K, Kaida K, Kusunoki S, Miyamoto N, Masaki T, Nakamura R, Motoyoshi K, Fukuda J. Harmful effects of anti-GalNAc-GD1a antibodies and TNF- $\alpha$  on rat dorsal root ganglia. *J Periph Nerv Sys* 10:190-201, 2005
  7. Uchibori A, Sakuta M, Kusunoki S, Chiba A. Autoantibodies in post-infectious acute cerebellar ataxia. *Neurology* 65:1114-1116, 2005
  8. Kuzumoto Y, Shioyama M, Kihara M, Kusunoki S. Abnormal sudomotor axon reflex and antiganglioside antibodies. *Muscle Nerve*, in press.
  9. Kaida K, Kanzaki M, Morita D, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies in Miller Fisher syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, in press.
2. 学会発表
    - 1) 平川美菜子、楠 進、森田大児、辻省次。GBS と FS における血中抗体の反応性に及ぼすリン脂質の効果。第 44 回日本神経学会総会（2003 年 5 月 15 日～5 月 17 日横浜）*臨床神経学* 43:1034, 2003.
    - 2) 海田賢一、楠 進、森田大児、神崎真実、平川美菜子、元吉和夫、鎌倉恵子。Guillain-Barré 症候群の新たな標的抗原としてのガングリオシド複合抗原。第 45 回日本神経学会総会（2004 年 5 月 11 日～14 日、東京）*臨床神経学* 44:1029, 2004
    - 3) 森田大児、平川美菜子、辻省次、松田和洋、楠 進。肺炎マイコプラズマ菌体脂質成分によるウサギ感作:血中抗体の反応性の検討。第 45 回日本神経学会総会（2004 年 5 月 11 日～14 日、東京）*臨床神経学* 44:1093, 2004
    - 4) 平川美菜子、佐田昌美、森田大児、楠 進。ギランバレー症候群の患者血中抗 GD1b IgG 抗体の活性に及ぼすリン脂質の影響。第 17 回日本神経免疫学会学術集会(2005 年 3 月 3 日～4 日、福岡)*神経免疫学* 13:48, 2005.
    - 5) 海田賢一、森田大児、神崎真実、鎌倉恵子、元吉和夫、平川美菜子、楠 進。Ganglioside complex に対する抗体をもつ Guillain-Barré 症候群の臨床的解析。第 46 回日本神経学会総会（2005 年 5 月 25 日～5 月 27 日、鹿児島）
    - 6) 森田大児、松田和洋、清水潤、平川美菜子、辻省次、楠 進。肺炎マイコプラズマ脂質成分感作ウサギ血清は脱髄活性を有する。第 46 回日本神経学会総会（2005 年 5 月 25 日～5 月 27 日、鹿児

- 島)
- 7) 楠 進。抗ガングリオシド抗体研究の新たな展開。第16回日本末梢神経学会学術集会（2005年7月22日～7月23日、金沢）
  - 8) 海田賢一、神崎真実、平川美菜子、鎌倉恵子、元吉和夫、楠 進。抗ガングリオシド抗体のガングリオシド複合体に対する反応特異性の検討。第18回日本神経免疫学会学術集会（2006年3月2日～3月3日、名古屋）
  - 9) Hirakawa M, Kusunoki S, Morita D, Tsuji S. Phospholipids have effects on the activity of antiganglioside antibodies. Peripheral Nerve Society Meeting, July 26-30, 2003, Banff, Canada (J Periph Nerv Sys 8: 23, 2003)
  - 10) Kaida K, Kusunoki S, Arita M, Kamakura K, Tsuji S. Fine specificity of anti-GD1b and GQ1b antibodies in Guillain-Barré syndrome and its variants. Peripheral Nerve Society Meeting, July 26-30, 2003, Banff, Canada (J Periph Nerv Sys 8: 27, 2003)
  - 11) Morita D, Kusunoki S, Hirakawa M, Tsuji S. Correlation between clinical manifestations and IgG antibody activity in sera to a mixture of GQ1b and a phospholipid in Miller Fisher syndrome. Peripheral Nerve Society Meeting, July 26-30, 2003, Banff, Canada (J Periph Nerv Sys 8: 46, 2003)
  - 12) Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. GD1a-GD1b complex: new target antigen in Guillain-Barré syndrome. 129th Annual Meeting of the American Neurological Association, Toronto, Canada, October 3-6, 2004.
  - 13) Morita D, Hirakawa M, Tsuji S, Matsuda K, Kusunoki S. Inoculation with lipids from *Mycoplasma pneumoniae* induced production of antibodies against a major myelin glycolipid, galactocerebroside. 129th Annual Meeting of the American Neurological Association, Toronto, Canada, October 3-6, 2004.
  - 14) Hirakawa M, Sada M, Morita D, Tsuji S, Kusunoki S. The effects of phospholipids on the activity of antiganglioside antibodies. 2005 Meeting of the Peripheral Nerve Society, Tuscany, Italy, July 9-13, 2005. J Periph Nerv Sys 10(Suppl): 34, 2005.
  - 15) Kaida K-I, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability and mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome. 2005 Meeting of the Peripheral Nerve Society, Tuscany, Italy, July 9-13, 2005. J Periph Nerv Sys 10(Suppl): 40, 2005.

16) Kaida K-I, Morita D, Kanzaki M,  
Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa  
M, Kusunoki S. Anti-GD1a/GD1b  
complex antibody is associated with  
severe disability and mechanical  
ventilation in Guillain-Barré  
syndrome. 130th Annual Meeting of  
the American Neurological  
Association, San Diego, USA,  
September 25-28, 2005. Ann Neurol  
58 (suppl): S40, 2005.

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし

分担研究者 結城伸泰 獨協医科大学内科学(神経)助教授

免疫性末梢神経障害の病態解明と治療法に関する研究

## 研究要旨

1) 目的:ギラン・バレー症候群(GBS)の発症・臨床像を規定する *Campylobacter jejuni* 遺伝子を同定する。方法:GBS や類縁疾患患者の糞便より分離された *C. jejuni* 138 株を用いて、リポオリゴ糖(LOS)合成関連各遺伝子の有無をPCR法で決定し、遺伝子組成パターンをAからF(Gilbertら)にクラス分けした。菌シアル酸転移酵素 Cst-II の遺伝子多型と GBS の臨床像との関連を解析した。結果:GBS 株の 68% がクラス A で、腸炎株(103 株中 17%)と比べ有意に高頻度であった。クラス A 遺伝子座には GM1/GD1a 様 LOS 合成に必要な糖転移酵素遺伝子がすべて含まれ、クラス A 株の多くは GM1 様 LOS(79%)や GD1a 様 LOS(76%)を有し、患者血中には抗 GM1/GD1a 抗体が高頻度に検出された。一方、*cst-II* (Asn51)株は GQ1b 様 LOS を高頻度に発現し、患者血中 IgG 抗 GQ1b 抗体の陽性率が高く、眼筋麻痺などの脳神経麻痺や運動失調を高頻度に認めた。GBS 分離株の多くは *cst-II* (Thr51)型であったのに対し、Fisher 症候群株の多くは *cst-II* (Asn51)型であった。考察: (1) *C. jejuni* クラス A 遺伝子座は *cst-II* (Thr51)と密接に関連することにより GM1 や GD1a 様 LOS が合成され、抗 GM1/GD1a 抗体産生や GBS 発症が促される、(2) *C. jejuni* 遺伝子多型によって、患者の臨床像が規定されている。

2) 軸索型 GBS では、GM1 などのガングリオシドに対する IgG 抗体により、末梢神経障害を生じる。標的分子のガングリオシドが有髄神経伝導に果たしている役割の解明を、本研究の目的とした。GM1 などのガングリオシドを欠失している GM2/GD2 合成酵素遺伝子ノックアウトマウスで、ランビエ絞輪周辺におけるイオンチャネル局在の異常を認めた。軸索型 GBS のモデル動物では、抗 GM1 抗体による自己免疫反応が末梢神経のランビエ絞輪部に起こり、電位依存性ナトリウムチャネルの集簇が破壊されていた。ガングリオシドは、ランビエ絞輪周辺のイオンチャネルの適切な局在化に働くことにより、有髄神経伝導に重要な役割を果たしていることが示された。

## A. 研究目的

1) *Campylobacter jejuni* 腸炎患者の 3 千人に 1 人がギラン・バレー症候群(GBS)を続発するが、GBS 発症の規定因子は不明である。本邦では GBS を生じやすい細菌側因子として血清型 HS:19 が報告されているが、その意義は明らかにされていないばかりでなく、欧米諸国では同様の傾向は確認されていない。さらに、フィッシャー症候群(FS)に代表されるように、GBS の臨床像は多彩であるが、臨床像の規定因子は明らかにされていない。

*C. jejuni* 腸炎後 GBS 発症機序として、菌体リポオリゴ糖(LOS)上のガングリオシド様構造の存在することで、患者血中に抗ガングリオシド抗体が誘導され、GBS 発症に至ると想定されている。LOS 合成酵素遺伝子座はその遺伝子組成によって少なくとも 7 つ(A-G)に分類され、さらにクラス A と B に含まれる *cst-II* 遺伝子は、ガングリオシド様構造を特徴づけるシアル酸転移酵素をコードしており、その遺伝子多型 *cst-II* (Thr/Asn51)により Cst-II 蛋白の器質特異性が異なることが報告されている。本研究では、LOS 合成酵素遺伝子の構成パターンや遺伝子多型が GBS/FS の発症および臨床像を規定していると考え、多数の患者由来株を用いて、包括的な検討を行った。

2) 軸索型 GBS は、GM1 などのガングリオシドに対する自己抗体による末梢神経疾患である。ガングリオシドは、神経伝導に重要な働きを有していると考えられているが、その詳細はまだ明らかにされていない。有髄神経の隣合う髄鞘の間には、ランビエ絞輪と呼ばれる間隙があり、その周辺の軸索膜上に局在する電位依存性イオンチャネルによって、活動電位が速やかに伝導する。軸索型 GBS では、ランビエ絞輪が初期に傷害される。本研究では、有髄神経伝導におけるガングリオシドの役割を明らかにし、抗ガングリオシド抗体が末梢神経障害を引き起こす機序を解明することを目的とした。

## B. 研究方法

- 1) 対象:GBS および FS 患者の糞便より分離培養された *C. jejuni* 138 株。対照として、腸炎患者由来 *C. jejuni* 103 株を用いた。
- 2) 菌の分析:各 LOS 合成関連遺伝子座(クラス A-F)に特異的に存在する遺伝子(Gilbert et al. *J Biol Chem* 2002; 277: 327-37)を PCR 法にて増幅させることにより、LOS 遺伝子座のクラスを決定した。遺伝子多型 *cst-II* (Thr/Asn51)はダイレクトシーケンシングで、LOS 上ガングリオシド・エピトープ(GM1、

GD1a、GQ1b)の分布はモノクローナル抗体をプローブとして用いたELISA法で、Penner血清型は受身赤血球凝集反応で決定した。

3. 患者臨床像・抗ガングリオシド抗体:患者の臨床データは、各主治医より得られた入院要約などをもとに収集した。患者の急性期血清を用いて、各種ガングリオシド(GM1、GD1a、GQ1b)に対するIgG抗体をELISA法により測定した。
4. 統計解析:単変量解析はFisherの直接確率法、多変量解析はロジスティック回帰分析法で行った。
5. 倫理面への配慮:データ処理を行うにあたり、C. jejuni が分離された患者名は匿名化してデータベースを作成した。

2)

#### (1) ガングリオシドを欠失したマウスの解析

GM1などのガングリオシドを欠失するGM2/GD2合成酵素遺伝子ノックアウトマウスを用いた。坐骨神経で運動神経伝導検査を行った。坐骨神経標本で神経線維の形態を評価した。電位依存性ナトリウムチャンネル、カリウムチャンネル、Caspr(傍絞輪部で軸索と髄鞘との結合に関与する蛋白)に対する抗体を用い、坐骨神経の免疫組織化学染色を行った。電子顕微鏡で、絞輪部微細構造を観察した。

#### (2) 軸索型 GBS モデル動物の解析

ウサギにガングリオシドを感作することにより、IgG抗GM1抗体が誘導され、四肢麻痺を生じた。坐骨神経で運動神経伝導検査を行った。電子顕微鏡で、ランビエ絞輪部病変を観察した。IgG、補体、電位依存性ナトリウムチャンネル、カリウムチャンネル、Casprに対する抗体を用い、前根(運動神経)の免疫組織化学染色を行った。

#### (倫理面への配慮)

動物実験に際し、苦痛を伴う操作には適切に麻酔を使用するなど、動物愛護には特段に配慮した。

### C. 研究結果

1)

1. LOS 合成関連遺伝子座:GBS株の68%がクラスAであり、腸炎株(103株中17%)と比べ優位に高頻度であった( $P<0.001$ )。FS株は47%がクラスBであったが、腸炎株の32%もクラスBであり、有意差はなかった。
2. ガングリオシド様 LOS:クラスAの菌株は、GM1とGD1a エピトープの両者を有していることが多く、このような傾向は他のクラスではみられなかった。クラスAの菌株の多くはHS:19であり、クラスAの菌株の中でもGBS株では腸炎株と比べHS:19の割合が高く、より高頻度にGM1/GD1a様LOSを発現していた。
3. cst-II 遺伝子多型:cst-II(Asn51)株はGQ1b様LOSを、cst-II(Thr51)株はGM1やGD1a様LOSを高頻度に発現していた。cst-II(Asn51)株が分離された

症例ではIgG抗GQ1b抗体の、cst-II(Thr51)株の症例ではGM1やGD1aに対するIgG抗体の陽性率が高かった。さらに、cst-II(Asn51)株は、眼筋麻痺などの脳神経麻痺や運動失調と密接に関連している一方、cst-II(Thr51)株が分離されたほぼ全症例で四肢麻痺をきたしていた。GBS分離株の多くはcst-II(Thr51)型であったのに対し、FS株の多くはcst-II(Asn51)型であった。

4. ロジスティック回帰分析:GBSについてはHS:19型とクラスA遺伝子座が、FSについてはHS:2型とcst-II(Asn51)型が独立した危険因子として検出された。

2)

#### (1) ガングリオシドを欠失したマウスの解析

野生型に比べガングリオシド欠失マウスで、運動神経伝導速度が有意に遅延していた。複合筋活動電位振幅は、12週齢では差がなかったが、48週齢では有意に低下していた。坐骨神経の髄鞘には、伝導速度遅延をきたす形態異常はなかった。ガングリオシド欠失マウスでは、本来イオンチャンネルの存在しない傍絞輪部に、カリウムチャンネルの染色が認められ、Casprの染色は減衰していた。異常な傍絞輪部カリウムチャンネルの頻度は、高週齢になるにしたがい増加した。電子顕微鏡で、一部の髄鞘ループが軸索膜から解離しているのが確認された。

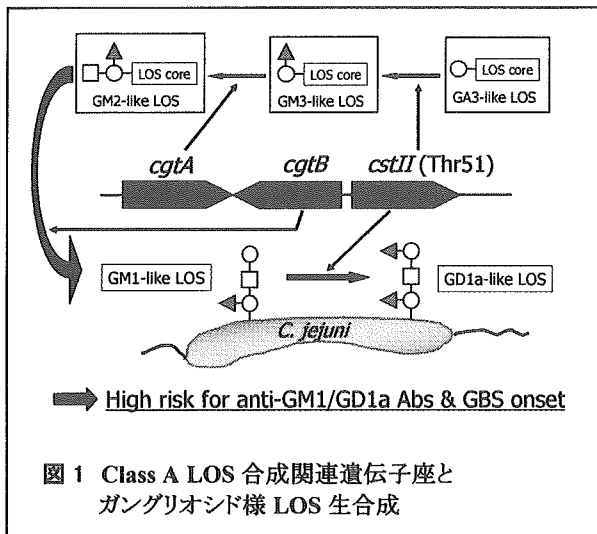
#### (2) 軸索型 GBS モデル動物の解析

四肢麻痺発症後急性期のウサギで、F波の一部消失を認め、前根に伝導障害が存在することが示唆された。電子顕微鏡により、麻痺を生じたウサギの前根において異常に開大したランビエ絞輪を認めた。IgGおよび補体が沈着しているランビエ絞輪が認められ、絞輪部ナトリウムチャンネルや傍絞輪部Casprが、減衰または消失していた。補体の沈着範囲が広範囲に拡大したものでは、傍絞輪部に隣接する部位に局在するカリウムチャンネルも消失していた。

### D. 考察

クラスAとBの遺伝子座には、ガングリオシド様LOS合成に必要な糖転移酵素(Cst-II、CgtA、CgtB)の遺伝子がすべて含まれており(図1)、GBS・FS発症の強力な危険因子であることが示された。さらにクラスA遺伝子座とHS:19、cst-II(Thr51)型とは密接に関連しており、GM1/GD1a様LOSの合成が促進される結果、患者血中に抗GM1/GD1a抗体を誘導し、GBS発症のリスクを高めると考えられる。一方、クラスAかBかに関わらず、cst-II(Asn51)株はGQ1b様LOSを発現する結果、患者血中に抗GQ1b抗体を誘導し、FSを発症すると想定される。つまり、cst-II遺伝子多型はガングリオシド様LOS構造を規定し、その結果、GBS・FS患者の抗ガングリオシド抗体の反応性および臨床像が決定されると考えられる。





ガングリオシド欠失マウスの解析から、ガングリオシドは、傍絞輪部における軸索と髄鞘との結合、そして電位依存性イオンチャネルの適正な集簇に働き、末梢神経伝導機能とその維持に重要な役割を果たしていると考えられる。

軸索型 GBS モデル動物の解析からは、IgG 抗 GM1 抗体による自己免疫反応により、ランビエ絞輪部のナトリウムチャネルが障害され、さらに傍絞輪部が破壊されて病変が進展して行くことが示唆される。ガングリオシド欠失マウスの検索で明らかになった知見を、疾患の見地から裏付ける結果である。

## E. 結論

特定の遺伝子座を有する *C. jejuni* は、菌体上にガングリオシド様 LOS を発現する結果、GBS を惹起しやすくなることがわかった。GBS の臨床像の多様性は、*cst-II* 遺伝子の多型によって規定される。

GM1 などのガングリオシドは、軸索と髄鞘との結合、そしてイオンチャネルの適切な局在化に働くことで、有髄神経伝導機能の維持に重要な役割を果たしている。GM1 に対する自己抗体と補体により、絞輪部ナトリウムチャネル集簇が破壊され、運動神経伝導障害を生じる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Tatsumoto M, Odaka M, Hirata K, Yuki N.  
 Isolated abducens nerve palsy as a regional variant of Guillain-Barré syndrome.  
*J Neurol Sci*, in press.

Koga M, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Koike S, Hirata K, Yuki N.  
 Comprehensive analysis of bacterial risk factors for developing Guillain-Barré syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis.

*J Infect Dis* 2006;42:547-555.

Kamitani T, Kuroiwa Y, Susuki K, Kishida H, Miyazaki Y, Yuki N.

Rhinolalia after diarrhea: a sole motor symptom occurring in postinfectious neuropathy associated with anti-ganglioside antibodies.

*Eur J Neurol* 2006;13:203-204.

Takahashi M, Koga M, Yokoyama K, Yuki N.

Epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barré and Fisher syndromes in Japan.

*J Clin Microbiol* 2005;43:335-339.

Goodfellow JA, Bowes T, Sheikh K, Odaka M, Halstead SK, Humphreys PD, Wagner ER, Yuki N., Furukawa K, Furukawa K, Plomp JJ, Willison HJ.

Overexpression of GD1a ganglioside sensitizes motor nerve terminals to anti-GD1a antibody-mediated injury in a model of acute motor axonal neuropathy.

*J Neurosci* 2005;25:1620-1628. (selected for the 'This Week in The Journal' section in the issue)

Kuwabara S, Yuki N.

Does *Campylobacter jejuni* infection elicit "demyelinating" Guillain-Barré syndrome?: reply.

*Neurology* 2005;64:767.

Hiraga A, Kuwabara S, Ogawara K, Misawa S, Kanesaka T, Koga M, Yuki N., Hattori T, Mori M  
 Patterns and serial changes in electrodiagnostic abnormalities of axonal Guillain-Barré syndrome.

*Neurology* 2005;64:856-860.

Koga M, Gilbert M, Li J, Koike S, Takahashi M, Furukawa K, Hirata K, Yuki N.

Antecedent infections in Fisher syndrome: a common pathogenesis of molecular mimicry.

*Neurology* 2005;64:1605-1611.

Odaka M, Tatsumoto M, Hoshiyama E, Hirata K, Yuki N.

Side effects of combined therapy of methylprednisolone and intravenous immunoglobulin in Guillain-Barré syndrome.

*Eur Neurol* 2005;53:194-196.

Odaka M, Tatsumoto M, Susuki K, Hirata K, Yuki N.

Intractable chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy treated successfully with ciclosporin.

*J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1115-1120.

Yuki N., Odaka M.

Ganglioside mimicry as a cause of Guillain-Barré syndrome.

*Curr Opin Neurol* 2005;18:557-561.

Li J, Koga M, Brochu D, Yuki N, Chan K, Gilbert M. Electrophoresis-assisted open-tubular liquid chromatography/mass spectrometry for the analysis of lipooligosaccharide expressed by *Campylobacter jejuni*. *Electrophoresis* 2005;26:3360-3368.

Yuki N. Carbohydrate mimicry: a new paradigm of autoimmune diseases. *Curr Opin Immunol* 2005;17:577-582.

Pandey JP, Koga M, Yuki N. Immunoglobulin KM allotypes are associated with the prevalence of autoantibodies to GD1a ganglioside, but not with susceptibility to the disease, in Japanese patients with Guillain-Barré syndrome. *Neurogenetics* 2005;6:225-228.

Koga M, Takahashi M, Masuda M, Hirata K, Yuki N. *Campylobacter* gene polymorphism as a determinant of clinical features of Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2005;65:1376-1381. (selected for the 'Highlights' section in the issue)  
Subject of an Editorial A way out of the maze: *Campylobacter jejuni* gene polymorphisms define Guillain-Barré syndrome. by Wokke JH, van den Berg LH. in the same issue .  
(*Neurology*2005;65:1350-1351)

Koga M, Koike S, Hirata K, Yuki N. Ambiguous value of *Haemophilus influenzae* isolation in Guillain-Barré and Fisher syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:1736-1738.

Godschalk PCR, Heikema AP, Gilbert M, Komagamine T, Ang CW, Glerum J, Brochu D, Li J, Yuki N, Jacobs BC, van Belkum A, Endtz HPH. The crucial role of *Campylobacter jejuni* genes in anti-ganglioside antibody induction in the Guillain-Barré syndrome. *J Clin Invest* 2004;114:1659-1665.

Yuki N, Susuki K, Koga M, Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, Taguchi K, Miyatake T, Furukawa K, Kobata T, Yamada M. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:11404-11409.

Susuki K, Nishimoto Y, Koga M, Nagashima T, Mori I, Hirata K, Yuki N. Various immunization protocols for an acute motor axonal neuropathy rabbit model compared. *Neurosci Lett* 2004;368:63-67.

Kuwabara S, Ogawara K, Misawa S, Koga M, Mori M, Hiraga A, Kanetsaka T, Hattori T, Yuki N.

Does *Campylobacter jejuni* infection elicit "demyelinating" Guillain-Barré syndrome? *Neurology* 2004;63:529-533.

Nishimoto Y, Koga M, Kamijo M, Hirata K, Yuki N. Immunoglobulin improves a model of acute motor axonal neuropathy by preventing axonal degeneration. *Neurology* 2004;62:1939-1944.

Nagashima T, Koga M, Odaka M, Hirata K, Yuki N. Clinical correlates of serum anti-GT1a IgG antibodies. *J Neurol Sci* 2004;219:139-45.

Susuki K, Yuki N. Effect of methylprednisolone in patients with Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2004;363:1236-1237.

Susuki K, Atsumi M, Koga M, Hirata K, Yuki N. Acute facial diplegia and hyperreflexia: a Guillain-Barré syndrome variant. *Neurology* 2004;62:825-827.

Susuki K, Odaka M, Mori M, Hirata K, Yuki N. Acute motor axonal neuropathy after *Mycoplasma* infection: evidence of molecular mimicry. *Neurology* 2004;62:949-956.

Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, Yuki N. Usefulness of anti-GQ1b IgG antibody testing in Fisher syndrome compared with cerebrospinal fluid examination. *J Neuroimmunol* 2004;148:200-205.

Galassi G, Susuki K, Quaglini D, Yuki N. Post-infectious acute ataxia and facial diplegia associated with anti-GD1a IgG antibody. *Eur J Neurol* 2004;11:790-791.

Odaka M, Koga M, Yuki N, Susuki K, Hirata K. Longitudinal changes of anti-ganglioside antibodies before and after Guillain-Barré syndrome onset subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. *Review Series Pediatrics* 2004;2:22-23.

Odaka M, Yuki N, Tatsumoto M, Tateno M, Hirata K. Ataxic Guillain-Barré syndrome associated with anti-GM1b and anti-GalNAc-GD1a antibodies *J Neurol* 2004;251:24-29.

Mori I, Koga M, Hirata K, Yuki N. Hand weakness onset Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:169-170.

Pan CL, Shun CT, Susuki K, Yuki N, Hsieh ST. Pharyngeal-brachial palsy after cytomegalovirus colitis. *Neurology* 2004;62:153-154.

Matsuo M, Odaka M, Koga M, Tsuchiya K, Hamasaki Y, Yuki N.

Bickerstaff's brainstem encephalitis associated with IgM antibodies to GM1b and GalNAc-GD1a. *J Neurol Sci* 2004;217:225-228.

Odaka M, Yuki N.

Antibodies to GM2 ganglioside in neurological disorders. *Intern Med* 2003; 42: 220-221.

Koga M, Yuki N, Hirata K, Morimatsu M, Mori M, Kuwabara S.

Anti-GM1 antibody IgG subclass: a clinical recovery predictor in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2003; 60: 1514-1518.

Odaka M, Koga M, Yuki N, Susuki K, Hirata K. Longitudinal changes of anti-ganglioside antibodies before and after Guillain-Barré syndrome onset subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. *J Neurol Sci* 2003; 210: 99-103.

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; 210: 41-45.

Odaka M, Yuki N, Kokubun N, Hirata K, Kuwabara S. Axonal Guillain-Barré syndrome associated with axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *J Neurol Sci* 2003; 211: 93-97.

Susuki K, Johkura K, Yuki N, Kuroiwa Y. Clinical deterioration in Bickerstaff's brainstem encephalitis caused by overlapping Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci* 2003; 211: 89-92.

Sekiguchi K, Susuki K, Funakawa I, Jinnai K, Yuki N. Cerebral white matter lesions in acute motor axonal neuropathy. *Neurology* 2003; 61: 272-273.

Ikuta N, Fukusako T, Yuki N, Morimatsu M, Koga M. Acute oropharyngeal palsy associated with anti-GM1b IgG antibody. *J Neurol* 2003; 250: 881-882.

Odaka M, Yuki N, Hirata K. Patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy initially diagnosed as Guillain-Barré syndrome. *J Neurol* 2003; 250: 913-916.

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-Barré

syndrome. *Brain* 2003; 126: 2279-2290.

Susuki K, Nishimoto Y, Yamada M, Baba M, Ueda S, Hirata K, Yuki N.

Acute motor axonal neuropathy rabbit model: immune attack on nerve root axons. *Ann Neurol* 2003; 54: 383-388.

Koga M, Yuki N, Tsukada Y, Hirata K, Matsumoto Y. CDR3 spectratyping analysis of the T cell receptor repertoire in Guillain-Barré and Fisher syndromes. *J Neuroimmunol* 2003; 141: 112-117.

Yuki N, Saperstein DS.

Axonal Guillain-Barré syndrome subtypes: do we need more splitting? *Neurology* 2003; 61: 598-599.

## 2. 学会発表

### 国内

Yuki N, Susuki K, Koga M, Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, Taguchi K, Miyatake T, Furukawa K, Kobata T, Yamada M.

"Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome"

Gordon Research Conferences. Glycolipid & Sphingolipid Biology. Hyogo, Japan. July 26-29, 2004.

Yuki N.

"Pathogenesis of Guillain-Barré syndrome subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis" 12<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2003. Utsunomiya, Japan. Jun 19, 2003.

### 海外

Yuki N.

Grand Rounds

"Molecular pathogenesis of acute motor axonal neuropathy subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis"

"Nosological position of Bickerstaff's brainstem encephalitis with Fisher syndrome" Department of Neurology, Wayne State University School of Medicine, Detroit, MI, USA.

January 6, 2006.

Koga M, Takahashi M, Masuda M, Hirata K, Yuki N. "*Campylobacter* gene polymorphism as a determinant of clinical features of Guillain-Barré syndrome" Gordon Research Conferences. Glycolipid & Sphingolipid Biology. Ventura, CA, USA. January 10-12, 2006.

Susuki K, Baba H, Tohyama K, Furukawa K, Hirata K, Yuki N.

“Gangliosides are important for formation and maintenance of ion channel clusters in myelinated peripheral nerve”  
Peripheral Nerve Society.  
Tuscany, Italy. July 10, 2005.

Tatsumoto M, Odaka M, Koga M, Hirata K, Kuwabara S, Yuki N.  
“The spectrum of neurological disease associated with antibodies to minor gangliosides GM1b and GalNAc-GD1a”  
Peripheral Nerve Society.  
Tuscany, Italy. July 12, 2005.

Yuki N.  
“Carbohydrate mimicry is a cause of autoimmune disease”  
Session: Glycoimmunology and Glycoimmunopathology  
XVIII International Symposium on Glycoconjugates.  
Florence, Italy. September 6, 2005.

Susuki K, Baba H, Tohyama K, Furukawa K, Furukawa K, Hirata K, Yuki N.  
“Gangliosides are important for formation and maintenance of ion channel clusters in myelinated nerve fibers”  
XVIII International Symposium on Glycoconjugates.  
Florence, Italy. September 8, 2005.

Yuki N  
“Optimal use of IVIG in GBS”  
IVIG in Neurological Disease 2<sup>st</sup> Asia Pacific Symposium  
Katoomba, Australia. November 4, 2005.

Yuki N.  
“Guillain-Barré syndrome”  
Teaching courses. Recent advance in peripheral nerve diseases.  
XIII World Congress of Neurology.  
Sydney, Australia. November 5, 2005.

Yuki N.  
“Guillain-Barré syndrome”  
Muscle and nerve. Advances in neuromuscular diseases: Immune-mediated neuromuscular disorders.  
XIII World Congress of Neurology.  
Sydney, Australia. November 5, 2005.

Yuki N.  
“Fisher syndrome and Bickerstaff’s brainstem encephalitis”  
Teaching courses. Acute and chronic demyelinating neuropathy.  
XIII World Congress of Neurology.  
Sydney, Australia. November 6, 2005.

Yuki N.

“Carbohydrate mimicry between humanganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipo-oligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome”  
Symposium on Glyco-Neurobiology-Glycolipids, Glycoproteins and other Glycoforms.  
A Satellite Meeting of the Biennial Meeting of the International and Asia-Pacific Societies for Neurochemistry.  
Taipei, Taiwan. February 11, 2004.

Yuki N.  
“Molecular mimicry and disease model of Guillain-Barré syndrome”  
Symposium on Peripheral Neuropathies and Inflammation. 7<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology.  
Venice, Italy. October 1, 2004.

Yuki N.  
“Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipo-oligosaccharide causes Guillain-Barré syndrome”  
Session: Glycobiology and Disease  
US/Japan Glyco 2004: Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research.  
Honolulu, Hawaii, USA. November 20, 2004.

Yuki N.  
Keynote lecture “Immunopathogenesis of acute motor axonal neuropathy and action mechanism of IVIG”  
IVIG in Neurological Disease 1<sup>st</sup> Asia Pacific Symposium.  
Singapore. November 25, 2004.

Yuki N.  
Plenary lecture “Recent ideas on the immunopathogenesis of axonal GBS”  
11<sup>th</sup> Asian & Oceanic Congress of Neurology .  
Singapore. November 28, 2004.

Yuki N, Koga M, Susuki K, Hirata K.  
“Ganglioside mimicry of *Campylobacter* lipooligosaccharide induces the development of Guillain-Barré syndrome model”  
Peripheral Nerve Society. Banff, Canada. Jul 28, 2003.

Yuki N, Koga M, Susuki K, Hirata K.  
“Ganglioside mimicry of *Campylobacter* lipooligosaccharide induces the development of Guillain-Barré syndrome model”  
12<sup>th</sup> International Workshop on *Campylobacter, Helicobacter* and Related Organisms. Aarhus, Denmark. Sep 7, 2003.

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
なし