

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

糖鎖の関連するニューロパチーの 分子病態の解析

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 楠 進

平成19年(2007年)4月

目 次

I. 総括研究報告

- 糖鎖の関連するニューロパチーの分子病態の解析 1
楠 進

II. 分担研究報告

1. GD1b 感作による感覚障害性失調性ニューロパチー動物モデルの病態 4
に関する研究
楠 進
2. Guillain-Barré 症候群における抗 GD1b 抗体の特異性と失調の病態に 7
関する研究
楠 進
3. Fisher 症候群動物モデルの作製 11
結 城 伸 泰
4. レプトスピラ感染に伴う神経障害における抗ガングリオシド抗体の 14
役割に関する研究
清水 潤

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 17

IV. 研究成果の刊行物・別刷 23

研究要旨

免疫性ニューロパチーにみられる抗 GD1b 抗体は失調に伴うことが多い。そのようなニューロパチーのモデルである GD1b 感作ウサギ感覚障害性失調性ニューロパチーにおいて、急性期の後根神経節細胞の apoptosis が認められ、病態メカニズムが一次感覚ニューロンの apoptosis であることが示された。GD1b の糖鎖がある種のガングリオシドの糖鎖と相互作用して立体構造を変化させることがわかった。また失調を伴う GBS における抗 GD1b 抗体は、他のガングリオシドと相互作用して立体構造の変化した GD1b に対して反応性が低下する「GD1b 自体に特異性の高い」抗体であることが明らかになった。フィッシャー症候群患者から分離された *Campylobacter jejuni*、および GQ1b ガングリオシドによる感作で、一部のウサギに抗 GQ1b 抗体上昇がみられたが、疾患モデル作成には至らなかった。抗ガングリオシド抗体上昇を伴うヒト神経障害の先行感染として、レプトスピラ感染の可能性をはじめて指摘した。

分担研究者

結城伸泰・独協医科大学助教授

清水潤・東京大学医学部助手

引き続き apoptosis をきたすという仮説の検証を行った。新たな病態が明らかになれば、新たな治療法開発につながり、テーラーメイド医療の実現および医療費削減につながると考えられる。

A. 研究目的

ニューロパチーの病態にかかわる分子として、糖タンパクや糖脂質などの複合糖質に着目して解析した。とくに糖鎖を標的とする免疫反応を伴う免疫性ニューロパチー、および糖鎖合成酵素遺伝子の異常に伴うニューロパチーの病態を解析することを目的するが、本年度は主として免疫性ニューロパチーに関する研究について報告する。

楠班員は、抗ガングリオシド抗体は Guillain-Barré 症候群(GBS)や IgM パラプロテイン血症を伴うニューロパチーにみられ、感覚障害性失調との関連が報告されている、GD1b に対する抗体の作用について検討した。抗 GD1b 抗体を伴うニューロパチーの動物モデルである「GD1b 感作ウサギ感覚障害性失調性ニューロパチーにおいて、病理学的には炎症所見に乏しいことから、抗 GD1b 抗体の深部感覚を伝える一次感覚ニューロンへの結合に

また同班員は、抗 GD1b 抗体陽性の GBS においてかならずしも失調を伴わないことから、抗 GD1b 抗体の反応特異性が多様である可能性を考え、GD1b に他のガングリオシドを加えた混合抗原(ガングリオシド複合体)に対する抗体活性を検討して、失調例と非失調例における抗体の反応性の違いについて解析した。

結城班員は、フィッシャー症候群において抗 GQ1b 抗体が特異的にみられ、病態に関わると考えられることから、GQ1b をウサギに免疫して同症候群のモデル作成を試みた。

清水班員は、レプトスピラ感染に伴うニューロパチーにおける抗ガングリオシド抗体の役割について検討した。

抗ガングリオシド抗体に伴う免疫性ニューロパチーの詳細な病態が明らかになれば、効率的な治療法開発につながり、医療経済的にも有用と考えられる。

B. 研究方法

6羽のウサギを、既報(Kusunoki et al. Ann Neurol 1996;39:424-431)に従い GD1b で感作し、経時的に抗 GD1b 抗体を測定した。神経症状を発症したウサギから、組織を採取し、病理学的検討および TUNEL 法による apoptosis の有無の検討を行った。

スクリーニング検査にて、抗 GD1b 抗体単独陽性の血清について、GD1b に他のガングリオシドを混合した抗原に対する抗体活性を測定し、GD1b 単独に対する抗体活性と比較した。また失調をきたした例とそうでない例に分けて、他のガングリオシドを混合した影響に差があるかどうか比べた。

ウサギ後根神経節における GQ1b の発現を、抗 GQ1b モノクローナル抗体を用いて検討した。さらにウサギを *C. jejuni* 菌体あるいは GQ1b で感作し、経過を観察した。

レプトスピラ感染に伴い、神経症状の出現とともに、血中抗ガングリオシド抗体の上昇をみた一例について検討した。

(倫理面への配慮)

研究は各施設の倫理委員会の承認をうけて行われた。動物実験は、動物愛護の観点より、各施設の動物実験指針の範囲内で行われた。血中抗体測定については、文書で同意を得て、プライバシーの保護に十分配慮して行った。

C. 研究結果と D. 考察

GD1b で感作した6羽のウサギでは、抗 GD1b 抗体の上昇がみられ、そのうち3羽に感覚障害性失調性ニューロパチーの発症をみた。発症したウサギでは、3羽全てに、脊髄後索に既報と同様の病理所見がみられた。また一切片に0.5-1個のTUNEL法にて核の染色される細胞がみられた。アジュバントのみの接種および何も接種しなかったウサギでは、神経症状は出現しなかった。GD1bを接種したが発症しなかったウサギ、アジュバントのみ接種および何も接種しなかったウサギでは、TUNEL法での陽性所見はみられなかった。GD1b感作に

よる感覚障害性失調性ニューロパチーは、一次感覚ニューロンの apoptosis によることがわかった。今後抗 GD1b 抗体の後根神経節への結合が apoptosis を引き起こす機序について、以前報告した trkC の発現抑制の関与を含めて検討する必要がある。ヒトの抗 GD1b 抗体陽性の失調性ニューロパチーにおいても、一次感覚ニューロンの apoptosis の関与が強く示唆された。

IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性 GBS は15例では、GD1a, GT1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a と GD1b との混合抗原 (GSCs) に対して、GD1b 単独に対するものと比べて 50% 以上の低下を示した。失調例9例と、非失調例6例を比較すると、GD1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a との複合体に対する抗体活性の減少の程度が、失調群において有意により大きかった。GD1b 単独に反応する抗体の活性が、GD1b にある種のガングリオシドを加えた混合抗原に対しては著明に減弱することがわかった。GD1b はある種のガングリオシドとの混合により GSCs を形成し、その三次元構造を変化させると考えられる。失調群の抗 GD1b 抗体はこのような GSCs に対する活性の減弱が非失調群のものに比べてより著明であることから、糖鎖の三次元構造の変化に影響を受けやすく GD1b 自体への特異性がきわめて高いものと考えられた。

GQ1b が一部の大型ニューロンに発現していることが確認された。*C. jejuni* の感作では1羽で IgG 抗 GQ1b、抗 GD1c 抗体価が上昇し、体重減少、四肢麻痺を呈したが、前根、後根では軸索変性はみられなかった。GQ1b の感作では3回感作後に3羽で IgG 抗 GQ1b 抗体の上昇があり、うち1羽では4回感作後に体重減少、四肢麻痺を呈した。*C. jejuni* 菌体や、GQ1b の感作では一部のウサギで抗ガングリオシド抗体が上昇し、神経症状がみられたものの、動物モデル樹立には至らず抗体産生誘導は不十分と考えられた。

レプトスピラ感染後に下肢筋力低下と感覚障害を呈した一例を経験した。血中には GD1b、

GM1, GalNAc-GD1aなどに対する抗体上昇がみられた。レプトスピラ感染に伴う免疫反応の結果、抗ガングリオシド抗体が出現したと考えられ、その病態の詳細を今後検討する必要がある。

E. 結論

抗 GD1b 抗体による感覚障害性失調性ニューロパチーの病態は、一次感覚ニューロンの apoptosis である。

GD1b はある種のガングリオシドとの混合で、その三次元構造を変化させた複合体を形成する。GD1b 自体に対する特異性が高い抗 GD1b 抗体は ataxia の発症に関連する。

フィッシャー症候群動物モデル樹立に向け、今後抗体産生誘導を高める方法の検討が必要である。

抗ガングリオシド抗体上昇を伴うヒト神経障害の先行感染として、レプトスピラ感染の可能性をはじめて指摘した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

各分担報告参照

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

研究要旨

免疫性ニューロパチーにみられる抗 GD1b 抗体は失調に伴うことが多い。深部感覚を伝える一次感覚ニューロンが、抗 GD1b モノクローナル抗体で特異的に免疫染色されること、GD1b によりウサギを感作すると、感覚障害性失調性ニューロパチーの動物モデルが作成され、血清の受け身移入により同様の病理所見を得ることができることなどから、抗 GD1b 抗体が発症に関与すると考えられる。しかし、病理学的には炎症所見に乏しい。本研究では、抗 GD1b 抗体による失調は、深部感覚を伝える一次感覚ニューロンの apoptosis によるという仮説を検証した。GD1b を既報の方法で感作したウサギでは、6羽中3羽に失調性ニューロパチーが発症した。TUNEL 法による検討で、これらの3羽の全てにおいて、後根神経節の apoptosis が認められた。GD1b 感作したが発症しなかったウサギ、アジュバントのみ接種あるいは何も接種しなかったウサギでは、陽性所見は得られなかった。以上より、抗 GD1b 抗体による感覚障害性失調性ニューロパチーの病態は、一次感覚ニューロンの apoptosis であることが示された。

A. 研究目的

抗ガングリオシド抗体は Guillain-Barré 症候群 (GBS) や IgM パラプロテイン血症を伴うニューロパチーで高率に上昇し、抗原となるガングリオシドの局在部位に特異的に結合して臨床病型を規定する因子と考えられている。その中で、GD1b に対する抗体は、失調に伴ってみられることが多い。深部感覚を伝える後根神経節の大径の一次感覚ニューロンが、抗 GD1b モノクローナル抗体で特異的に免疫染色されることから、抗 GD1b 抗体はそのようなニューロンに特異的に結合して、深部感覚障害による失調をきたす可能性が考えられる。

GD1b によりウサギを感作すると、高力価の抗 GD1b 抗体上昇を伴った感覚障害性失調性ニューロパチーの動物モデルが作成される。この動物モデルでは、血清の受け身移入により同様の病理所見を得ることができ、GD1b に特異的な抗体が発症に関与することが示されている。しかし、病理学的には炎症所見に乏しい。したがって抗体結合に引き続く病態メカニズム

として、炎症性以外の可能性も考慮する必要がある。本研究では、抗 GD1b 抗体が深部感覚を伝える一次感覚ニューロンに結合した後、細胞が apoptosis をきたしているという可能性に焦点を当てて検討した。

抗ガングリオシド抗体に伴う免疫性ニューロパチーについて、新たな病態が明らかになれば、新たな治療法開発につながり、テーラーメイド医療の実現および医療費削減につながると考えられる。

B. 研究方法

6羽のウサギを、既報 (Kusunoki et al. Ann Neurol 1996;39:424-431) と同様に GD1b で感作した。その他に、2羽はアジュバントのみを接種し、2羽は何も接種せずに同じ動物舎で飼育した。血清を経時的に採取して、抗 GD1b 抗体を測定した。

神経症状を発症したウサギは、その2-3日後に殺処分し、腰髄と腰部の後根神経節を採取し、ホルマリンあるいは Karnovsky 液で固

定した。後者はエポソ包埋 toluidine blue 染色にて病理学的検討を行った。前者はパラフィン包埋し、10 μm 厚の切片を作成して、TUNEL 法にて apoptosis の有無を検討した。GD1b で感作したが発症しなかったウサギは、3 ヶ月経過観察後殺処分して同様の検討を行った。アジュバントのみを接種したもの、および何も接種しなかったウサギは、上記の神経症状発症したウサギのうち最初の 2 羽を殺処分するときに処分して同様の検討を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験は、動物愛護の観点より、近畿大学医学部の動物実験指針の範囲内で行われた。

C. 研究結果

GD1b で感作した 6 羽のウサギでは、抗 GD1b IgM および IgG 抗体の上昇がみられ、そのうち 3 羽に感覚障害性失調性ニューロパチーの発症をみた。発症したウサギでは、脊髄後索に既報と同様の病理所見がみられた。アジュバントのみの接種および何も接種しなかったウサギでは、神経症状は出現しなかった。

失調性ニューロパチーを発症したウサギでは、3 羽全てに、一切片に 0.5-1 個の TUNEL 法にて核の染色される細胞が認められた。GD1b を接種したが発症しなかったウサギ、アジュバントのみ接種および何も接種しなかったウサギでは、TUNEL 法での陽性所見はみられなかった。

D. 考察

GD1b 感作による感覚障害性失調性ニューロパチーは、一次感覚ニューロンの apoptosis によることがわかった。

今回みられた TUNEL 陽性細胞の数は多くはないが、apoptosis をきたした細胞は早期に消失することを考えると、1 羽のウサギ全体としてはかなりの数の細胞が障害されたと推定される。

われわれは以前、この動物モデルの後根神

経節神経細胞における trkC の発現抑制を報告した。trkC は深部感覚を伝える大径の一次感覚ニューロンの栄養因子である NT3 のレセプターであることが知られる。本研究で明らかになった apoptosis に、trkC の発現抑制が関与しているかどうかについて、今後検討が必要である。

本動物モデルで apoptosis がみられたことにより、ヒトの GD1b などのジシアロシル基をもつ ganglioside に反応する IgM タンパクを伴うニューロパチーや、抗 GD1b 抗体陽性の GBS にみられる、深部感覚障害による失調の病態に apoptosis が関わっていることが強く示唆される。

E. 結論

抗 GD1b 抗体による感覚障害性失調性ニューロパチーの病態は、一次感覚ニューロンの apoptosis である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kuzumoto Y, Shioyama M, Kihara M, Kusunoki S. Abnormal sudomotor axon reflex and antiganglioside antibodies. *Muscle Nerve*, 33:828-829, 2006
2. 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* 77: 1043-1046, 2006.
3. Miyamoto K, Miyake S, Mizuno M, Oka N, Kusunoki S, Yamamura T. Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune

- encephalomyelitis through COX-2 independent pathway. *Brain* 129: 1984-1992, 2006.
4. Jin K, Takeda A, Shiga Y, Sato S, Ohnuma A, Nomura H, Arai H, Kusunoki S, Ikeda M, Itoyama Y. CSF tau protein: a new prognostic marker for Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 67:1470-1472, 2006.
 5. Nodera H, Bostock H, Izumi Y, Nakamura K, Urushihara R, Sakamoto T, Murase N, Shimazu H, Kusunoki S, Kaji R. Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy: Magnetic fatigue test. *Neurology* 67: 280-287, 2006.
 6. Tokuda N, Zhang Q, Yoshida S, Kusunoki S, Urano T, Furukawa K, Furukawa K. Genetic mechanisms for the synthesis of fucosyl GM1 in small cell lung cancer cell lines. *Glycobiology* 16: 916-925, 2006.
 7. Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability in GBS. *J Neuroimmunol* 182:212-8, 2007.
 8. Kuzumoto Y, Kusunoki S, Kato N, Kihara M, Low PA. Effect of the aldose reductase inhibitor fidarestat on experimental diabetic neuropathy in the rat. *Diabetologia* 49: 3085-3093, 2006.
2. 学会発表
 1. 楠 進。GBSにおける自律神経障害。第47回日本神経学会総会(2006年5月11日～13日、東京)
 2. Kusunoki S, Kaida K. Anti-GD1a/GD1b complex antibody is associated with severe Guillain-Barré syndrome. 131st Annual Meeting of the American Neurological Association, Chicago, USA, October 8-11, 2006. *Ann Neurol* 60 (suppl): S20, 2006.
 3. Kusunoki S. Going solo or in need of a friend: Ganglioside and lipid clusters form novel antigenic determinations in GBS. Eighth International Conference of Neuroimmunology, Nagoya, Japan, October 15-19, 2006. *J Neuroimmunol* 178(Suppl 1): 30, 2006.
 4. Kusunoki S. Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome; New aspects of research. *Glycobiology and Sphingobiology 2007 - Hakomori Commemorative Forum*, Tokushima, Japan, February 27-March 1, 2007.
- 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

研究要旨

抗 GD1b 抗体は Guillain-Barré 症候群(GBS)において失調の出現と関連するとの報告が多いが、失調を示さない症例も少なくない。抗 GD1b 抗体の抗原認識の多様性が失調の有無に関与する可能性を考え以下の検討を行った。スクリーニング検査で、抗 GD1b 抗体単独陽性であった GBS17 例(失調群 9 例、非失調群 8 例)の血清について、GD1b に様々な他のガングリオシドを加えた抗原に対する抗体活性を測定して GD1b 単独に対する活性と比較した。またその結果と失調の有無との相関を検討した。全例の平均では、GD1a, GT1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a との混合抗原に対して GD1b 単独に比し 50%以上の低下がみられた。失調群では GD1b に GD1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a をそれぞれ加えた場合に抗体活性が著明に減弱し、非失調群と有意の差がみられた。最近の抗ガングリオシド複合体抗体についての研究は、GD1b の糖鎖がある種のガングリオシドの糖鎖と相互作用して立体構造を変化させることを示している。今回検討した失調を伴う GBS における抗 GD1b 抗体は、他のガングリオシドと相互作用して立体構造の変化した GD1b に対して反応しにくくなる「GD1b 自体に特異性の高い」抗体であることが明らかになった。

A. 研究目的

抗ガングリオシド抗体は Guillain-Barré 症候群(GBS)の約 60%にみられ、GBS 発症に関与し、その反応特異性の違いが神経症候を規定すると考えられている。従来 GBS において抗 GD1b 抗体は失調に関連するとの報告が散見されるが、一方で IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性 GBS の 9 例の検討では、4 例に失調を認めたのみであった。GD1b は深部感覚を伝える一次感覚ニューロンに局在する。GD1b で家兔を感作すると感覚障害性失調性ニューロパチーの動物モデルが得られ GD1b 特異的抗体が発症因子と考えられる。これらの知見より、GD1b を標的とする自己抗体が感覚障害性失調を生じると推測されるが、上記のように神経症候が均一でないのは、抗体の反応特異性が異なり、標的抗原への accessibility および affinity が多様なためである可能性がある。

最近われわれのグループでは、単独のガングリオシド(例えば GD1a と GD1b)に対する抗体活性はないかきわめて弱いにも関わらず、

異なるガングリオシドを混合した抗原(例えば GD1a/GD1b)には強い反応を示す抗体の存在を報告し、抗ガングリオシド複合体(GSC)抗体と呼んでいる。このタイプの抗体は、異なるガングリオシドの糖鎖が相互作用して立体構造の変化を伴うあらたなエピトープを形成し、それに対して特異性をもつと考えられる。

一方で、もし GD1b が他のガングリオシドと相互作用して構造変化するとすれば、きわめて特異性の高い抗 GD1b 抗体は逆に反応しにくくなると考えられる。本研究では、抗 GD1b 抗体の各種 GSCs に対する反応性の変化をしらべ、その特異性と失調との相関を検討した。

抗ガングリオシド抗体に伴う免疫性ニューロパチーについて、病態が詳細に明らかになれば、効率的な治療法開発につながり、医療経済的にも有用と考えられる。

B. 研究方法

(1) 対象:1997年11月から2005年11月の間に採取された GBS 急性期血清を用いて、11

種の糖脂質抗原(GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a, GA1;各 200ng)に対する IgG 抗体を測定した。その中から IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性の血清を選び対象とした。

(2) GD1b を含む GSC に対する抗体活性の解析:GD1b とその他の 10 種の糖脂質抗原のうち 1 種を 1:1 の比率で混合して作成した GSC 抗原に対する IgG 抗体活性を測定した。GD1b 単独に対する抗体活性の補正 OD 値を基準として各 GSCs に対する抗体活性の変化を%OD で表した。

(3) IgG 抗 GD1b 抗体陽性 GBS を、失調群と非失調群に分け、各 GSCs に対する抗 GD1b 抗体活性の変化を群間で比較した。また両群の臨床症状についても比較検討した。

(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に十分に説明を行い、文書で同意を得た。プライバシーの保護には十分に配慮した。

C. 研究結果

(1) 対象:IgG 抗 GD1b 抗体単独陽性 GBS は 17例あり、そのうち失調例9例、非失調例8例であった。

(2) GD1b を含む GSC に対する反応性の検討:非失調群のうち2例は抗 GD1b 抗体活性が弱く、GQ1b を含む GSC に対する抗体活性が著明に高いため検討から除外した。全症例の平均では、GD1a, GT1a, GT1b, GQ1b,

GalNAc-GD1a と GD1b との混合抗原(GSCs) に対して、GD1b 単独に対するものと比べて 50%以上の低下を示した。失調例9例と、前述の2例を除いた非失調例6例を比較すると、GD1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a との複合体に対する抗体活性の減少の程度が、失調群において有意により大きかった。GM1 または GA1 との混合では両群とも抗体活性は減弱しなかった。

(3) 臨床症状の比較:失調群9例のうち6例に

深部感覚障害が明らかであり、残り3例中2例に小脳症状がみられた。非失調群6例に深部感覚障害、小脳症状はみられなかった。外眼筋麻痺を伴わない眼瞼下垂は失調群(6例)、非失調群(4例)とも高頻度であった。

D. 考察

GD1b 単独に反応する抗体の活性が、GD1b にある種のガングリオシドを加えた混合抗原に対しては著明に減弱することがわかった。このことから GD1b は gangliotetraose 骨格の 4 位にシアル酸をもつガングリオシドとの混合により GSC を形成し、その三次元構造を変化させると考えられる。さらに失調群の抗 GD1b 抗体はこのような GSCs に対する活性の減弱が非失調群のものに比べてより著明であることがわかった。失調と関連する抗 GD1b 抗体の反応性は糖鎖の三次元構造の変化に影響を受けやすく、GD1b 自体への特異性がきわめて高いものと考えられる。すなわち GD1b にきわめて高い特異性をもつ抗体が、細胞膜上の GD1b 抗原に強く結合することにより、失調をきたすことが示唆された。

E. 結論

(1)GD1b は gangliotetraose 骨格の 4 位にシアル酸をもつガングリオシドとの混合で、その三次元構造を変化させた GSC を形成する。
(2)GD1b 自体に対する特異性が高い抗 GD1b 抗体は ataxia の発症に関連する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kuzumoto Y, Shioyama M, Kihara M, Kusunoki S. Abnormal sudomotor axon reflex and antiganglioside antibodies. Muscle Nerve, 33:828-829, 2006

2. 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* 77: 1043-1046, 2006.
3. Miyamoto K, Miyake S, Mizuno M, Oka N, Kusunoki S, Yamamura T. Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2 independent pathway. *Brain* 129: 1984-1992, 2006.
4. Jin K, Takeda A, Shiga Y, Sato S, Ohnuma A, Nomura H, Arai H, Kusunoki S, Ikeda M, Itoyama Y. CSF tau protein: a new prognostic marker for Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 67:1470-1472, 2006.
5. Nodera H, Bostock H, Izumi Y, Nakamura K, Urushihara R, Sakamoto T, Murase N, Shimazu H, Kusunoki S, Kaji R. Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy: Magnetic fatigue test. *Neurology* 67: 280-287, 2006.
6. Tokuda N, Zhang Q, Yoshida S, Kusunoki S, Urano T, Furukawa K, Furukawa K. Genetic mechanisms for the synthesis of fucosyl GM1 in small cell lung cancer cell lines. *Glycobiology* 16: 916-925, 2006.
7. Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability in GBS. *J Neuroimmunol* 182:212-8, 2007.
8. Kuzumoto Y, Kusunoki S, Kato N, Kihara M, Low PA. Effect of the aldose reductase inhibitor fidarestat on experimental diabetic neuropathy in the rat. *Diabetologia* 49: 3085-3093, 2006.
2. 学会発表
2. 楠 進. GBSにおける自律神経障害。第47回日本神経学会総会(2006年5月11日～13日、東京)
3. 海田賢一、神崎真実、森田大児、鎌倉恵子、元吉和夫、平川美菜子、楠 進。Miller Fisher症候群における抗ガングリオシド複合体抗体。第47回日本神経学会総会(2006年5月11日～13日、東京)
4. Kusunoki S, Kaida K. Anti-GD1a/GD1b complex antibody is associated with severe Guillain-Barré syndrome. 131st Annual Meeting of the American Neurological Association, Chicago, USA, October 8-11, 2006. *Ann Neurol* 60 (suppl): S20, 2006.
5. Kaida K, Kanzaki M, Morita D, Kamakura K, Motoyoshi K, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies in Miller Fisher syndrome. 131st Annual Meeting of the American Neurological Association, Chicago, USA, October 8-11, 2006. *Ann Neurol* 60 (suppl): S38, 2006.
6. Kusunoki S. Going solo or in need of a friend: Ganglioside and lipid clusters form novel antigenic determinations in GBS. Eighth International Conference of Neuroimmunology, Nagoya, Japan, October 15-19, 2006. *J Neuroimmunol* 178(Suppl 1): 30, 2006.
7. Kaida K, Kanzaki M, Morita D, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa

M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies in Miller Fisher syndrome. Eighth International Conference of Neuroimmunology, Nagoya, Japan, October 15-19, 2006. J Neuroimmunol 178(Suppl 1): 126, 2006.

8. Kusunoki S. Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome; New aspects of research. Glycobiology and Sphingobiology 2007 · Hakomori Commemorative Forum , Tokushima, Japan, February 27-March 1, 2007.

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

Fisher 症候群動物モデルの作製

研究要旨

Guillain-Barré 症候群の亜型 Fisher 症候群の疾患モデル作製を試みた。FS 患者から分離された *Campylobacter jejuni* (GC033) をウサギ 4 羽に感作し、1 羽で IgG 抗 GQ1b、抗 GD1c 抗体価が上昇し、体重減少、四肢麻痺を呈した。GQ1b を 12 羽に感作し、3 羽で IgG 抗 GQ1b 抗体の上昇がみられ、うち 1 羽では 4 回感作後に体重減少、四肢麻痺を呈した。

A. 研究目的

Fisher 症候群(FS)の 2 割で、*Campylobacter jejuni* 腸炎が先行する。患者から分離された *C. jejuni* のリポオリゴ糖(LOS)は、GQ1b に類似した GT1a 様、GD1c 様構造を有していた。*C. jejuni* 腸炎後 FS は、こうした LOS を発現している *C. jejuni* に感染し、交叉反応性に抗 GQ1b 抗体産生が誘導されて、動眼神経や 1 次感覚ニューロンに発現している GQ1b に結合して、発症すると考えられている。しかしながら、FS は予後良好で剖検は得られにくいいため、運動失調の責任病巣は明らかでない。FS の病態を解明するために、疾患モデルの樹立を試みた。

B. 研究方法

(1) ウサギ後根神経節における GQ1b の発現

モノクローナル抗 GQ1b 抗体とパルプアルブミン(深部感覚をつかさどる大型ニューロンのマーカー)に対する抗体を組み合わせて 2 重染色で検討した。

(2) *C. jejuni* 菌体感作による抗ガングリオシド抗体を誘導する系の確立

予備実験に GC033 を用い、1 羽当たり菌体粗抽出物 200mg を蒸留水に溶解して計 750 μ l とし、同量の不完全 Freund アジュバントを加えエマルジョン化したものをウサギ 4 羽に 3 週おきに感作した。このようにして抗ガングリオシド抗体価が上昇する抗原量、感作回数、間隔を決定した

(3) GQ1b の感作による Fisher 症候群動物モデルの作成

GQ1b を 1 羽当たり 500 μ g を *keyhole limpet hemocyanin* (KLH) 500 μ l に溶解し、同量の完全 Freund アジュバント (CFA) を加えたものを感作した。体重を週 2 回測定し、減少傾向がみられた時点から、神経徴候を毎日観察し、既報(Nishimoto et al., *Neurology* 2004) に倣ってスコア化した。毎週採血し、血中抗 GQ1b、抗 GT1a、抗 GD1c、抗 GD3 抗体の上昇を調べた。3 週おきに半

年間感作を続けた。

(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) ウサギ後根神経節における GQ1b の発現

GQ1b が一部の大型ニューロンに発現していることを確認した。

(2) *C. jejuni* 菌体感作による抗ガングリオシド抗体を誘導する系の確立

3 回感作後に 1 羽で IgG 抗 GQ1b、抗 GD1c 抗体価が上昇し、体重減少、四肢麻痺を呈した。このウサギの前根、後根では軸索変性はみられなかった。

(3) GQ1b の感作による Fisher 症候群動物モデルの作成

3 回感作後に 3 羽で IgG 抗 GQ1b 抗体の上昇がみられ、うち 1 羽では 4 回感作後に体重減少、四肢麻痺を呈した。

D. 考察

C. jejuni 菌体や、GQ1b の感作では一部のウサギで抗ガングリオシド抗体が上昇し、神経症状の発現がみられたものの、動物モデル樹立には至らず抗体産生誘導は不十分であると考えられた。

E. 結論

これまでの実験では、FS 動物モデル樹立に残念ながら成功していない。GQ1b と KLH との共有結合物などを用いて感作することにより、抗体産生の誘導能を高める必要があると考えた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文

- 1) Koga M, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Koike S, Hirata K, Yuki N.
Comprehensive analysis of bacterial risk factors for the development of Guillain-Barré syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis.
J Infect Dis 2006;193:547-555.
- 2) Kamitani T, Kuroiwa Y, Susuki K, Kishida H, Miyazaki Y, Yuki N.
Rhinolalia after diarrhea: a sole motor symptom occurring in post-infectious neuropathy associated with anti-ganglioside antibodies.
Eur J Neurol 2006;13:203-204.
- 3) Tatsumoto M, Odaka M, Hirata K, Yuki N.
Isolated abducens nerve palsy as a regional variant of Guillain-Barré syndrome.
J Neurol Sci 2006;243:35-38.
- 4) Nagasawa K, Kuwabara S, Misawa S, Fujii K, Tanabe Y, Yuki N., Hattori T, Kohno Y.
Electrophysiological subtypes and prognosis of childhood Guillain-Barré syndrome in Japan.
Muscle Nerve 2006;33:766-770.
- 5) Houlston RS, Endtz HP, Yuki N., Li J, Jarrell HC, Koga M, Van Belkum A, Karwaski MF, Wakarchuk WW, Gilbert M.
Identification of a sialate *O*-acetyltransferase from *Campylobacter jejuni*: demonstration of direct transfer to the C-9 position of terminal α -2,8-linked sialic acid.
J Biol Chem 2006;281:11480-11486.
- 6) Yoshida T, Yazaki M, Gono T, Tazawa K, Morita H, Matsuda M, Funakoshi K, Yuki N., Ikeda S.
Severe cranial nerve involvement in a patient with monoclonal anti-MAG/SGPG IgM antibody and localized hard palate amyloidosis.
J Neurol Sci 2006;244:167-171.
- 7) Funakoshi K, Koga M, Takahashi M, Hirata K, Yuki N.
Campylobacter coli enteritis and Guillain-Barré syndrome: no evidence of molecular mimicry and serological relationship.
J Neurol Sci 2006;246:163-168.
- 8) Tatsumoto M, Koga M, Gilbert M, Odaka M, Hirata K, Kuwabara S, Yuki N.
Spectrum of neurological diseases associated with antibodies to minor gangliosides GM1b and GalNAc-GD1a.
J Neuroimmunol 2006;177:201-208.
- 9) Komagamine T, Yuki N.
Ganglioside mimicry as a cause of Guillain-Barré syndrome.
CNS & Neurological Disorders – Drug Targets 2006;5:391-400.
- 10) Gono T, Matsuda M, Shimojima Y, Ishii W, Yamamoto K, Morita H, Hashimoto T, Susuki K, Yuki N., Ikeda S.
Rituximab therapy in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with anti-SGPG IgM antibody.
J Clin Neurosci 2006;13:683-687.
- 11) Yuki N., Koga M.
Bacterial infections in Guillain-Barré and Fisher syndromes.
Curr Opin Neurol 2006;19:451-457.
- 12) Kimoto K, Koga M, Odaka M, Hirata K, Takahashi M, J. Li, Gilbert M, Yuki N.
Relationship of bacterial strains to clinical syndromes of *Campylobacter*-associated neuropathies.
Neurology 2006;67:1837-1843.

2. 学会

- 1) Koga M, Takahashi M, Masuda M, Hirata K, Yuki N.
“*Campylobacter* gene polymorphism as a determinant of clinical features of Guillain-Barré syndrome” (Poster)
Gordon Research Conferences. Glycolipid & Sphingolipid Biology.
Ventura, CA, USA. January 10-12, 2006.
- 2) Yuki N.
“Guillain-Barré syndrome and anti-ganglioside antibodies” (教育講演)
IX International Congress on Neuromuscular Diseases.
Istanbul, Turkey. July 4, 2006.
- 3) Yuki N., Susuki K.
“Gangliosides are important for the maintenance of the nodes of Ranvier” (シンポジウム)
Axon and Myelin Cross Talk: Damage and Repair (CNS and PNS).
29th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society.
Kyoto, Japan. July 19, 2006.

- 4) Yuki N.
 “*Campylobacter* sialyltransferase gene polymorphisms define Guillain-Barré or Fisher syndrome” Sialic Acid and Disease. (シンポジウム)
 5th International Conference Sialoglycoscience 2006.
 Mishima, Japan. August 30, 2006.
- 5) Yuki N.
 “It’s all in the genes: *Campylobacter* polymorphism direct the clinical feature of GBS” Autoimmune Neuropathies. (シンポジウム)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 6) Susuki K, Rasband MN, Tohyama K, Hirata K, Baba H, Yuki N.
 “Anti-GM1 IgG antibodies mediate complement-dependent destruction of sodium channel clusters in peripheral motor nerve fibers” (Poster, selected for Best Poster Award)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 7) Nishimoto Y, Susuki K, Yuki N.
 “Guillain-Barré syndrome associated with anti-ganglioside antibodies” (Poster)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 8) Ito M, Odaka M, Koga M, K. Hirata, Yuki N.
 “Continuous spectrum of Fisher syndrome and Bickerstaff’s brainstem encephalitis” (Poster)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan, October 18, 2006.
- 9) Tatsumoto M, Koga M, M Gilbert, Odaka M, K Hirata, Kuwabara S, Yuki N.
 “Spectrum of neurological diseases associated with antibodies to minor gangliosides GM1b and GalNAc-GD1a” (Poster)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 10) Funakoshi K, Koga M, Takahashi M, Hirata K, Yuki N.
 “*Campylobacter coli* enteritis and Guillain-Barré syndrome: no evidence of molecular mimicry and serological relationship” (Poster)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 11) Nagashima T, Koga M, Odaka M, K. Hirata, Yuki N.
 “Pharyngeal-cervical-brachial variant of Guillain-Barré syndrome: analysis of 100 cases” (Poster)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 18, 2006.
- 12) Odaka M, Tatsumoto M, K Hirata, Yuki N.
 “Efficacy of ciclosporin in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy patients who require repeated treatment with intravenous immunoglobulins” (Oral)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 19, 2006.
- 13) Koga M, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Hirata K, Yuki N.
 “Complex formation of bacterial GM1- and GD1a-like lipo-oligosaccharides can make GM1b mimicry for antibody production” (Oral)
 8th International Congress of Neuroimmunology. Nagoya, Japan. October 19, 2006.
- 14) Yuki N.
 “*Campylobacter* sialyltransferase gene polymorphisms is a determinant of development and clinical features of Guillain-Barré syndrome”
 Neural Disease. (シンポジウム)
 2nd Special Conference of the International Society for Neurochemistry. Antigua, West Indies. December 4, 2006.
- 15) Susuki K, Baba H, Tohyama K, Kanai K, Kuwabara S, Hirata K, Furukawa K, Rasband MN, Yuki N.
 “Gangliosides contribute to stability of paranodal junctions and ion channel clusters in myelinated nerve fibers” (Poster, selected for one of the Best Posters)
 2nd ISN Special Neurochemistry Conference, “Neural Glycoproteins and Glycolipids” Antigua, West Indies. December 1-5, 2006.
- 16) Susuki K, Rasband MN, Tohyama K, Hirata K, Baba H, Yuki N.
 “Anti-GM1 IgG antibodies cause complement-mediated disruption of sodium channel clusters and axo-glial junctions in peripheral motor nerve fibers” (Poster)
 2nd ISN Special Neurochemistry Conference, “Neural Glycoproteins and Glycolipids” Antigua, West Indies. December 1-5, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
 なし

厚生労働化学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（分担）研究報告書

レプトスピラ感染に伴う神経障害における抗ガングリオシド抗体の役割に関する研究

分担研究者 清水 潤 東京大学医学部附属病院神経内科

研究要旨：レプトスピラ感染に伴い神経症状の出現と共に血液中の抗ガングリオシド抗体の上昇を認めた症例を報告した。症例は、51歳男性で、発熱、頭痛、咳、結膜充血症状に続き2週間後に進行性の下肢筋力低下出現。身体所見では、下肢の筋力低下、感覚低下を認め、下肢誘発潜時で末梢潜時の延長を認めた。血清中で抗レプトスピラ抗体値の上昇と抗ガングリオシド抗体値の上昇を認め、経過にともない陰性化した。抗ガングリオシド抗体上昇を伴うヒト神経障害の誘発感染として、レプトスピラ感染が関与する可能性をはじめて指摘した

A. 研究目的

レプトスピラ感染に伴う神経障害における抗ガングリオシド抗体の役割に関して明らかにする。

B. 研究方法

レプトスピラ感染に伴い神経症状の出現と共に血液中の抗ガングリオシド抗体の上昇を認めた1症例を報告する。

本研究においては、東京大学倫理委員会の倫理規定に基づきおこなわれ、患者さまのプライバシーに配慮した。

C. 研究結果

症例は51歳男性。06年7月中旬より、発熱、頭痛、咳、結膜充血を認め、同28日より下肢脱力が出現進行し歩行困難となり8月2日に当院救急入院となる。入院時の身

体所見では、頭痛を認め、結膜、皮膚に黄疸、腹部軽度圧痛を認めた。神経所見では、下肢の筋力低下、下腹部以下の表在・深部感覚の低下、筋把握痛を認めた。検査所見では、白血球 $16300/\mu\text{l}$, RBC $398\text{万}/\mu\text{l}$, Plt $1.8\text{万}/\mu\text{l}$, CRP 13.5mg/dl , GOT 94IU/l , GPT 105IU/l , LDH 378IU/l , CK 1640IU/l , Mb 2991ng/dl , Na 135mEq/l , K 3.2mEq/l , Cl 93mEq/l , T.B. 12.6mg/dl , D.B 8.8mg/dl , 髄液 cell $123(\text{M}68\%, \text{PMN}32\%)$, 糖 98mg/dl , 蛋白 89mg/dl , 培養陰性。レプトスピラに対する抗体値はMAT(顕微鏡下凝集試験) $\times 160(+)$, Dipstick法 $(+)$ であったが、血液レプトスピラPCRは陰性であった。末梢神経伝導速度検査で下肢MCS、腓腹神経SCSは正常であるが、後頸骨神経FCVは遅延 (46.3m/s) 、下肢SEPで末梢潜時の延長を認めた。脊髄MRIでは明らかな異常はなかった。血液中のガングリオシド抗体値(8月4日)は、IgGクラス(GD1b $++$, GM1,

GM2, GD1a, GalNac-GD1a +) IgM クラス (GD1b, GalNac-GD1a ++, GM1, GD1a, GT1b, GQ1b, GA1 +)と広範な反応を認めた。抗生物質 (ロセフィン) 投与により全身症状、血液データの改善と共に、下肢筋力と感覚障害は改善し退院となった。フォローにて MAT は有意な低下を示し、抗ガングリオシド抗体は陰性化した。

D. 考察

本例では、発熱、黄疸、出血傾向、腎障害に加え、下肢筋力低下と感覚障害を認め、経過に伴い、レプトスピラに対する抗体値と抗ガングリオシド抗体値が推移した。

ヒト血清における抗ガングリオシド抗体の上昇は、ギランバレー症候群の病態機序に関与し、誘発先行感染として、Cytomegaro virus や EB virus などのウイルス感染や、*Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) などの細菌感染が知られている。特に *C. jejuni* では、菌体表面の糖タンパクへの免疫反応として抗ガングリオシド抗体が上昇し、交差反応として末梢神経障害が出現する病態機序が明らかにされてきている。

一方、レプトスピラ感染に伴う神経症状としては二次性の宿主の免疫反応として無菌性髄膜炎が知られ、小数例であるがギランバレー症候群の報告も過去にされているが、その病態機序は不明である。

本例では、感染後の神経症状出現時期に一致して、広範な抗ガングリオシド抗体の出現を認めており、レプトスピラの感染に伴う抗ガングリオシド抗体の関与した免疫反応として神経症状が出現した可能性が示

唆された。

E. 結論

レプトスピラ感染に伴い神経症状の出現と共に血液中の抗ガングリオシド抗体の上昇を認めた 1 症例を報告した。抗ガングリオシド抗体上昇を伴うヒト神経障害の誘発感染として、レプトスピラ感染が関与する可能性をはじめて指摘した

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1)長谷川路子、橋本明子、杉本泉、清水潤、後藤順、辻省次、太田康男、小泉信夫。レプトスピラ症に下肢筋力低下と振動覚低下を伴い、抗ガングリオシド抗体陽性を認めた一症例。第 19 回日本神経免疫学会学術集会(2007 年 4 月 12 日-13 日、金沢)にて発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kuzumoto Y, Shioyama M, Kihara M, <u>Kusunoki S.</u>	Abnormal sudomotor axon reflex and antiganglioside antibodies.	Muscle Nerve	33	828-829	2006
Kaida K, Kanzaki M, Morita D, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, <u>Kusunoki S.</u>	Anti-ganglioside complex antibodies in Miller Fisher syndrome.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	77	1043-1046	2006
Miyamoto K, Miyake S, Mizuno M, Oka N, <u>Kusunoki S.</u> Yamamura T.	Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2 independent pathway.	Brain	129	1984-1992	2006
Jin K, Takeda A, Shiga Y, Sato S, Ohnuma A, Nomura H, Arai H, <u>Kusunoki S.</u> Ikeda M, Itoyama Y.	CSF tau protein: a new prognostic marker for Guillain-Barré syndrome.	Neurology	67	1470-1472	2006
Nodera H, Bostock H, Izumi Y, Nakamura K, Urushihara R, Sakamoto T, Murase N, Shimazu H, <u>Kusunoki S.</u> Kaji R.	Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy: Magnetic fatigue test.	Neurology	67	280-287	2006
Tokuda N, Zhang Q, Yoshida S, <u>Kusunoki S.</u> Urano T, Furukawa K, Furukawa K.	Genetic mechanisms for the synthesis of fucosyl GM1 in small cell lung cancer cell lines.	Glycobiology	16	916-925	2006
Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, <u>Kusunoki S.</u>	Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability in GBS.	J Neuroimmunol	182	212-218	2007
Kuzumoto Y, <u>Kusunoki S.</u> Kato N, Kihara M, Low PA.	Effect of the aldose reductase inhibitor fidarestat on experimental diabetic neuropathy in the rat.	Diabetologia	49	3085-3093	2006

<p>Hamaguchi T, Sakajiri K, Sakai K, Okino S, Sada M, <u>Kusunoki S.</u></p>	<p>Guillain-Barré syndrome with antibodies to GD1a/GD1b complex.</p>	<p>J Neurol Neurosurg Psychiatry, in press.</p>			

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koga M, Gilbert M, Takahashi M, Li J, Koike S, Hirata K, Yuki N.	Comprehensive analysis of bacterial risk factors for the development of Guillain-Barré syndrome after <i>Campylobacter jejuni</i> enteritis.	<i>J Infect Dis</i>	193	547-555	2006
Kamitani T, Kuroiwa Y, Susuki K, Kishida H, Miyazaki Y, Yuki N.	Rhinolalia after diarrhea: a sole motor symptom occurring in post-infectious neuropathy associated with anti-ganglioside antibodies.	<i>Eur J Neurol</i>	13	203-204	2006
Tatsumoto M, Odaka M, Hirata K, Yuki N.	Isolated abducens nerve palsy as a regional variant of Guillain-Barré syndrome.	<i>J Neurol Sci</i>	243	35-38	2006
Nagasawa K, Kuwabara S, Misawa S, Fujii K, Tanabe Y, Yuki N, Hattori T, Kohno Y.	Electrophysiological subtypes and prognosis of childhood Guillain-Barré syndrome in Japan.	<i>Muscle Nerve</i>	33	766-770	2006
Houliston RS, Endtz HP, Yuki N, Li J, Jarrell HC, Koga M, Van Belkum A, Karvaski MF, Wakarchuk WW,	Identification of a sialate <i>O</i> -acetyltransferase from <i>Campylobacter jejuni</i> : demonstration of direct transfer to the C-9 position of terminal α -2,8-linked sialic acid.	<i>J Biol Chem</i>	281	11480-11486	2006
Yoshida T, Yazaki M, Gono T, Tazawa K, Morita H, Matsuda M, Funakoshi K, Yuki N, Ikeda S.	Severe cranial nerve involvement in a patient with monoclonal anti-MAG/SGPG IgM antibody and localized hard palate amyloidosis.	<i>J Neurol Sci</i>	244	167-171	2006
Funakoshi K, Koga M, Takahashi M, Hirata K, Yuki N.	<i>Campylobacter coli</i> enteritis and Guillain-Barré syndrome: no evidence of molecular mimicry and serological relationship.	<i>J Neurol Sci</i>	246	163-168	2006
Tatsumoto M, Koga M, Gilbert M, Odaka M, Hirata K, Kuwabara S, Yuki N.	Spectrum of neurological diseases associated with antibodies to minor gangliosides GM1b and GalNAc-GD1a.	<i>J Neuroimmunol</i>	177	201-208	2006
Komagamine T, Yuki N.	Ganglioside mimicry as a cause of Guillain-Barré syndrome.	<i>CNS & Neurological Disorders – Drug Targets</i>	5	391-400	2006