

合併 21 例 (③過形成や胸腺腫を伴わない胸腺 9 例, ④過形成 5 例, ⑤胸腺腫 7 例) で胸腺腫群では腫瘍周辺の正常胸腺部分を解析に用いた。これらの胸腺から得た凍結組織切片について HE 染色にて実質部分の確認を行ったのち、連続切片を作成した。次に連続切片を用い、CD4、CD8 に加え、Foxp3 (Treg の転写調節因子) または IL17 (Th17 の分泌サイトカイン) に対する抗体を用い、免疫染色を行った。その後、共焦点レーザー顕微鏡にて多重蛍光解析を行った。また Foxp3 の発現に関しては、ImageJ による画像処理にて胸腺髄質部と皮質部に分けて定量化し (Foxp3 陽性細胞数/mm²), 5 群間での比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会において、本研究 (『重症筋無力症における胸腺の免疫学的検討』) の承認を取得している。

研究結果

1) コントロールである新生児胸腺について CD4/CD8 により髄質と皮質領域を同定した。CD4 陽性 T 細胞の核内に Foxp3 のシグナルを認める細胞 (Foxp3 陽性細胞) を Treg と同定した。

2) 新生児胸腺 (①) では髄質に Treg を多く認めたが、皮質にも少数の Treg を認め、これはマウスでの傾向と類似していた。

3) Treg 数の比較では新生児胸腺に比べ、MG 合併の胸腺 (③) と過形成胸腺 (④) で Treg が有意に減少していた。また胸腺腫群 (②と⑤) においては、MG の有無にかかわらず Treg

数の差異を認めなかった。

4) また新生児胸腺において CD4 陽性 T 細胞の一部に IL17 のシグナルを認め、Th17 と同定した。MG 患者では胸腺病変にかかわらず (③, ④, ⑤), IL17 陽性細胞がより多く観察された。

考察

正常では Treg/Th17 が均衡を保っているが、MG 合併の胸腺においては Treg が減少し、Th17 が増加している可能性がある。Treg が減少する原因として、その産生に関与するとされる胸腺上皮細胞、autoimmune regulator (AIRE)、ハッサル小体、thymic stromal lymphopoietin (TSLP)、樹状細胞などの胸腺微小環境因子について Treg の減少と相関があるかどうか検討していく必要があると思われる。また Th17 についてはその転写調節因子である ROR γ t などの免疫染色や IL17 の定量化を追加検討していく必要があると思われる。

結論

今回、我々は MG 胸腺において、Treg/Th17 バランスが変化していることを見出した。

結論

特になし

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症における胸腺異常—正常対照との質的差異—

分担研究者 郡山達男²⁾

共同研究者 池田順子¹⁾、西阪 隆³⁾、松本昌泰²⁾

研究要旨

胸腺の退縮は思春期からおこり、thymocyteの減少とともに皮質、髄質の上皮細胞の減少を伴っている。重症筋無力症(MG)の胸腺はリンパ濾胞過形成や胸腺腫といった異常を高率に認め病態へ関与しているが、個々の症例、とくに年齢によってどの程度違いがあるのかについてはあまり記載がない。本研究ではMGと年齢を一致させた対照例の胸腺病理組織の比較検討によりMGの胸腺異常と病態の関連を探ることを目的とした。胸腺摘除術を施行したMG17例(男性5例、女性12例;平均年齢51.9歳)、年齢を一致した対照25例(男性14例、女性11例;平均年齢57.4歳)の胸腺組織を用い、HE染色、免疫染色(CD20、CD21、Ki-67、cytokeratin、myogenin、desmin)を行った。その結果、胸腺組織面積率はMG群が対照群に比べ高く年齢に逆相関したが、66歳以上では両群の差は認めなかった。CD21またはKi-67陽性の胚中心はMG群の14例で認めた。MG群で胚中心の数は年齢と逆相関し、66歳以上では対照群と差を認めなかった。高齢MGでは若年MGよりも胸腺の病態への関与が低いことが示唆され、高齢MGに対する胸腺摘出術の適応は慎重に検討する必要がある。

研究目的

胸腺の退縮は思春期からおこり、thymocyteの減少とともに皮質、髄質の上皮細胞の減少を伴っている。初期は皮質のthymocyteの減少が主で、上皮細胞に相対的に置き換わっている。より年齢が進行すると胸腺実質はリンパ球が減少し、上皮細胞の島ようになり、一部cysticになりハッサル小体が集積、脂肪組織が豊富になってくる¹⁾。

一方、重症筋無力症(MG)の胸腺はリンパ濾胞過形成や胸腺腫といった異常を高率

に認め病態への関与が示唆されている。しかし胸腺異常の病態への関与は均一ではなく、とくに組織学的に退縮胸腺は病態にどこまで関与しているかはっきりしない。そしてMGの個々の症例、とくに年齢によってどの程度違いがあるのかについてはあまり記載がない。そこで本研究ではMGと年齢を一致させた対照例の胸腺病理組織の比較検討によりMGの胸腺異常と病態の関連を探ることを目的とした。

1) 川崎医科大学神経内科

2) 広島大学大学院脳神経内科学

3) 県立広島病院臨床研究検査科

表 MG 群と対照群のプロフィール

	MG, n=17	対照, n=25
男性 : 女性	5 : 12	14 : 11
胸腺摘除術時の平均年齢	52.3 ± 16.5	57.4 ± 13.1
MGFA 分類		
I	2	
II	6	
III	9	
IV	0	
V	0	
抗AchR 抗体陽性	14	
抗AchR 抗体陰性	3	
胸腺摘除術までの期間 (月)	9.9 ± 11.5	
胸腺摘除術前の治療 (ステロイド)	8	
胸腺摘除術前の治療 (免疫抑制薬)	0	
胸腺摘除術前の治療 (血液浄化療法)	9	

研究方法

胸腺摘除術を施行した MG17 例(男性 5 例、女性 12 例；発症平均年齢 51.8 歳；手術時の平均年齢 52.3 歳)の胸腺組織を検討した。胸腺腫症例については胸腺腫以外の胸腺組織を検討した。対照として MG 以外の疾患で胸腺切除を行った 25 例(男性 14 例、女性 11 例；平均年齢 57.4 歳)の胸腺組織を用いた。症例のプロフィールを表に示す(表)。

組織学的検討は Hematoxylin-Eosin (HE) 染色により行い、画像解析ソフト (WinRoof Ver. 3, Mitani, Japan) を用いて胸腺組織面積率を測定した。免疫組織学的検討により胸腺固有の成分を、抗 CD20 抗体により B リンパ球、抗 CD21 抗体により濾胞樹状細胞、抗 cytokeratin 抗体 (AE1/AE3, CK7/8/10/13/14/18/19/20) により胸腺上皮細胞、抗 myogenin、抗 desmin 抗体により筋様細胞を評価した。抗 Ki-67 抗体により細胞周期にある細胞同定と胚中心の同定を行った。

(倫理面への配慮)

胸腺組織は研究的な材料に用いることが

あることに同意を得ているものを用い、倫理面への配慮を行った。

研究結果

術前の Myasthenia Gravis Foundation of America (MGFA) 分類は、class I が 1 例、class II が 7 例、class III が 9 例、抗 AchR 抗体陽性は 14 例、抗 AchR 抗体陰性は 3 例認めた。胸腺の病理組織診断は、過形成 8 例(平均年齢 38.6 歳)、胸腺腫 + 過形成 5 例(54.5 歳)、胸腺腫 + 退縮胸腺 1 例(88.0 歳)、退縮胸腺 3 例(69.3 歳)であった。胸腺組織面積率は MG 群、対照群ともに有意に年齢に逆相関した(図 1)。Ki-67 陽性胚中心は MG 群の 14 例、検討した対照群 15 例中 3 例で認めた。MG 群で胚中心の数は年齢と逆相関し(図 2)、発症年齢が 66 歳以上では対照群と差を認めなかった。

胸腺上皮細胞は MG において過形成の症例に認め、皮質、髄質ともに増生し、髄質を構成する CK14 陽性上皮細胞がその主な成分であり正常と分布が異なった。高齢発症例は胸腺上皮細胞の分布に変化は乏しかった。

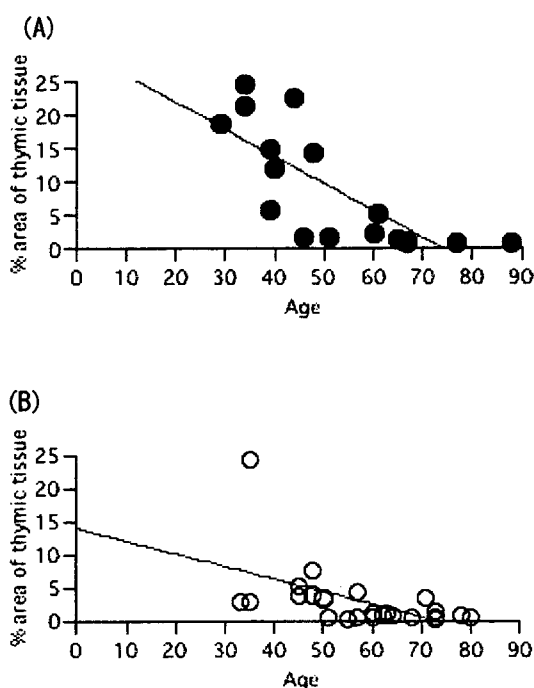


図1 胸腺面積率 (A)MG群、(B)対照群

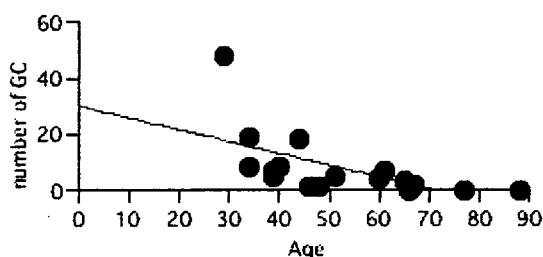


図2 MG群における1切片あたりのKi-67陽性の胚中心の数

考察

正常者の胸腺は年齢とともに退縮し脂肪に置換されていくことが知られている。MGの胸腺は過形成や胸腺腫といった異常を約80%と高率に認めるが²⁾、MGの胸腺異常と年齢との相関についてデータはほとんどない。今回の我々の検討で、MG症例で高齢になるほど胸腺面積率が低下し、胚中心形成も少なくなる傾向がみられ、とくに66歳以上

では胸腺の組織変化に乏しく対照と差異が認められなかった。このことからMGでも高齢では胸腺は退縮する傾向にあり、MGに高率にみられるリンパ濾胞過形成も生じにくくなることが示された。

胸腺の年齢による変化は胸腺腫を伴うMG症例の胸腺組織にも同様にみられた。MGでは胸腺腫に接する腫瘍以外の胸腺組織にリンパ濾胞を形成することが多いことが知られているが³⁾、今回の検討で若年例はリンパ濾胞を伴う一方、高齢では腫瘍以外の胸腺は退縮していた。胸腺腫を伴うMGはリンパ濾胞過形成を伴うMGと病因が異なるといわれているが⁴⁾、若年では腫瘍以外の組織もMG発症にかかわる可能性があり、高齢では腫瘍が発症に強くかかわることが示唆される。

今回の検討では胸腺上皮細胞にも着目した。胸腺上皮細胞はTリンパ球の成熟に関与する。ラットでは加齢の変化でまず皮質の上皮細胞の減少を認める⁵⁾。MGでは皮質の上皮細胞は対照群よりも増加している一方で、高齢発症例は胸腺上皮細胞の分布に変化は乏しく、病態への関与の違いが示唆された。

これらの結果から胸腺の免疫学的な活動性は高齢発症MGでは若年発症MGよりも低い可能性が示され、胸腺の免疫学的な背景のMG発症への関与は若年と高齢では異なると思われる。

結論

高齢MGでは若年MGよりも胸腺の病態への関与が低いことが示唆され、高齢MGに対

する胸腺摘出術の適応は慎重に検討する必要がある。

実用新案登録：なし

文献

- 1) Suster S, Rosai J: HISTOLOGY FOR PATHOLOGISTS THIRD EDITION. In: Mills SE, ed. Thymus. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 505-525.
- 2) 高守正治. 重症筋無力症疫学調査報告. 厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班. 昭和 62 年度報告書 1988; 227-245.
- 3) Quintanilla-Martinez L, Wilkins EW, Jr, FerryJA, et al. Thymoma—morphologic subclassification correlates with invasiveness and immunohistologic features: a study of 122 cases. Hum Pathol. 24: 958-969, 1993.
- 4) Brelinska R, Malendowicz LK, Malinska A, et al. Characteristics of age-related changes in rat thymus: morphometric analysis and epithelial cell network in various thymic compartments. Biogerontology. 21 November 2007 (Epub ahead of print)
- 5) Marx A, Muller-Hermelink HK, Strobel P. The role of thymomas in the development of myasthenia gravis. Ann NY Acad Sci. 998: 223-236, 2003.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

胸腺細胞の正の選択により発現される RANKL を介した胸腺髄質形成

分担研究者 藤井義敬¹⁾

共同研究者 彦坂 雄^{1,2)}、新田 剛²⁾、高浜洋介²⁾

研究要旨

胸腺における中枢性自己寛容獲得の分子メカニズム解明は、重症筋無力症をはじめとする自己免疫疾患の病態理解に向けて重要である。本研究では、中枢性自己寛容獲得に必須の胸腺髄質の形成に関わる胸腺細胞由来クロストークシグナル分子の解明を目的とした。

はじめに、髄質形成には正の選択を受けた胸腺細胞が必須であることを、ストローマ細胞の FACS 解析により確認した。次に、マイクロアレイ解析と定量的 RT-PCR 法を用いて、髄質形成に関わる候補遺伝子を見出した。そのうえで、遺伝子欠損マウスの解析から、RANKL、RANK、OPG の三者による分子間相互作用が髄質形成に深く関与することを明らかにした。

最後に、胸腺細胞に RANKL を強制発現させた骨髄キメラマウスを作製することで、*in vivo* での胸腺内 RANKL 発現が髄質形成をもたらすことを明らかにした。以上の結果から、胸腺細胞の正の選択により発現される RANKL が胸腺髄質形成の主要なシグナル分子であることが明らかとなった。

研究目的

重症筋無力症をはじめとする種々の自己免疫疾患において、胸腺における中枢性自己寛容獲得の異常が、その発症に関与していることが示唆されているが、正確な病態解明には至っていない。本研究では、胸腺微小環境の形成、特に中枢性自己寛容獲得に重要な、胸腺髄質の形成のメカニズムについて、マウスを使った基礎的な手法から、解析を進めている。胸腺髄質の形成および中枢性自己寛容確立を、人為的に制御することができれば、将来的には、種々の自己免疫疾患において、根本的な治療法に至り得ると期待している。

研究方法および結果

(1) B6 野生型マウスと正の選択が誘導されない TCR α 欠損マウスおよび ZAP70 欠損マウスの胸腺について、組織解析 (HE 染色および、AIRE 抗体と髄質上皮マーカー ER-TR5 による免疫蛍光組織染色) と、ストローマ細胞における MHC class II と髄質上皮マーカー UEA1 の発現を FACS にて解析し、それぞれのマウスにおける胸腺髄質上皮細胞 (mTEC) の数を調べた。その結果、TCR α 欠損マウスおよび ZAP70 欠損マウスでは、野生型に比べ、髄質が小さく、mTEC も有意に少ないことが確認された。

(2) 正の選択を受けた胸腺細胞に高く発現される遺伝子をマイクロアレイ解析によってスクリーニングした結果、LT α などいくつかの TNF スーパーファミリーが正の選択に伴って

1) 名古屋市立大学医学部
腫瘍免疫外科学

2) 徳島大学 ゲノム機能研究センター
遺伝子実験施設

胸腺細胞に強く発現されることを見いだした。そこで、胸腺細胞における TNF スーパーファミリーの発現および胸腺上皮細胞における TNF レセプタースーパーファミリーを、定量的 RT-PCR 法にて網羅的に解析した。DP 胸腺細胞に比べ、SP 胸腺細胞で高く発現し、なおかつそのレセプターが cTEC に比べ mTEC で高く発現していた遺伝子として、OX40L-OX40、CD40L-CD40、FasL-Fas、CD30L-CD30、RANKL-RANK/OPG を見いだした。これらの遺伝子を、正の選択による胸腺髄質形成クロストークシグナルの候補遺伝子と考えた。

(3) 前述の候補遺伝子のそれぞれの欠損マウスを解析した結果、RANKL 欠損マウスでは、野生型に比べ、AIRE の発現が少なく、mTEC 数も有意に少ないことが分かった。逆に、RANKL のデコイレセプターである OPG の欠損マウスでは、mTEC 数が多く、髄質も大きいことが分かった。その他のリガンド・レセプター分子の欠損マウスでは著明な異常が認められなかった。

(4) RANKL の強制発現によって髄質形成が誘導できるかどうかを調べるため、TCR α -KO マウス骨髄から Sca1 陽性細胞を単離し、レトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行った後、TCR α -KO マウスに移植して骨髄キメラマウスを作製し胸腺を解析した。ベクター導入マウスでは野生型にみられるような髄質構造は見られないのに対し、RANKL 発現マウスでは明瞭な髄質構造が誘導され、mTEC 数も有意に上昇していた。つまり、RANKL の強制発現によって in vivo で髄質形成を誘導することに成功した。

考察

本研究では、正の選択を受けた胸腺細胞の発現する RANKL が、胸腺髄質形成における重要な分子であることを in vivo で示すことができた。胸腺細胞と胸腺上皮細胞の間でのクロストークシグナルの存在は知られていたが、本研究では、その分子本体を明らかにすることができ、意義は大きいと考えている。今後、RANKL の強制発現によって形成された髄質が中枢性自己寛容獲得にどのように機能するのかについて、更なる検証が必要である。

また、RANKL を用いた、重症筋無力症をはじめとする種々の自己免疫疾患に対する治療への応用なども視野にいれ、研究を進めていく必要がある。

結論

1. 胸腺細胞の正の選択により、mTEC の増加を伴う髄質形成がもたらされる。
2. RANKL シグナルは、RANK と OPG の二つのレセプターを介して mTEC の増加を制御している。
3. RANKL シグナルは、胸腺髄質の微小環境形成における主要なクロストークシグナル分子である。

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症胸腺のシグナル伝達異常

研究協力者 西多賀病院神経内科 小野寺宏

研究要旨

重症筋無力症(MG)は胸腺異常を高率に合併し、なかでも過形成胸腺は胚中心が観察されるなど異常免疫応答の場になっている。抗体産生はリンパ球間およびリンパ球/リンパ組織間のシグナル伝達によって調節されている。MG胸腺での免疫変調にはリンパ球局在化・活性化異常が関与しており、リンパ球の胸腺内局在を制御するCCR7シグナルの亢進が観察されている。したがってMGでは胸腺内免疫細胞局在化シグナルの変調が病態に深く関わっていると考えられる。スフィンゴ脂質 sphingosine-1-phosphate(s1p)は特異的受容体(G protein)を介して細胞増殖・移動を制御している。そこで正常胸腺とMG胸腺におけるs1pシグナルを比較検討し、s1pが過形成MG胸腺で有意に増加していること、胸腺腫では正常胸腺とs1p濃度に差がないこと、過形成MG胸腺ではs1p1受容体発現量が増加していることを見いだした。このことから過形成MG胸腺では複数の細胞局在性シグナルが変調しており、それにとまってリンパ球(s1p1発現)が増加している可能性がある。

目的

抗体産生はリンパ球間およびリンパ球/リンパ組織間のシグナル伝達によって調節されている。重症筋無力症(MG)は胸腺異常を高率に合併し、なかでも過形成胸腺は胚中心が観察されるなど異常免疫応答の場になっている。MG胸腺での免疫変調にはリンパ球局在化・活性化異常が関与しており、B helper T細胞(T_{FH})とB細胞のリンパ組織B領域局在化を制御するケモカイン受容体CXCR5シグナルの変化や、リンパ球の胸腺内局在を制御するCCR7シグナルの亢進が観察されている。したがってMGでは胸腺内免疫細胞局在化シグナルの変調が病態に深く関わっていると考えられる。免疫細胞の局在性制御には細胞膜に普遍的に存在する脂質であるスフィンゴ脂質も重要な役割を演じており、なかでも

sphingosine-1-phosphate(s1p)は特異的受容体(G protein)を介して細胞増殖・移動を制御している。そこで正常胸腺とMG胸腺におけるs1pシグナルを比較検討した。

方法

健常者とMG患者(過形成胸腺, 胸腺腫)の胸腺におけるsphingosine-1-phosphate受容体mRNA発現とsphingosine-1-phosphate含有量を比較検討した。なお、胸腺での遺伝子発現はマイクロアレイにて解析し、GAPDHとの発現比をもって群間比較した。

結果

s1p受容体1~5のうち、S1P1のmRNA発現レベルが過形成胸腺において有意に

上昇していた。

胸腺における sphingosine-1-phosphate レベルは年齢により異なっていたためMG患者の年齢にマッチさせた正常胸腺群とMG胸腺群との間で比較した。正常胸腺群と胸腺腫群との間では s1p 濃度の有意な差は認めなかったが、過形成胸腺では s1p 濃度は正常胸腺に比して有意に s1p 濃度が上昇していた。

考察

s1p はG 蛋白共役型の受容体 S1P 1~5 に結合して作用を発揮する。リンパ節内の s1p 濃度は分解酵素レベルで制御されているとされるが、正常胸腺の s1p 濃度もリンパ節内濃度（既報）と大きな差は無かった。

過形成MG胸腺において s1p 含有量上昇と高い S1P1 mRNA 発現レベルが観察されたことは、s1p シグナルがMG過形成胸腺におけるリンパ球局在システム変調に関与していることを示唆している。MG胸腺において s1p が直接リンパ球に作用して胸腺外移動を阻止し結果的に S1P1 陽性細胞密度が過形成胸腺で増加しているのか、過形成胸腺の stromal cell が胸腺のゲートを閉鎖してリンパ球が胸腺内滞在を余儀なくされているのかは不明である。しかし、未熟なリンパ球が胸腺に長時間滞在している間に CCR7 で刺激され、活性化 dendritic cell から myoid cell 由来 AchR ペプチドを呈示されるという仮説は魅力的である。

スフィン脂質の種類は極めて多く更に脂肪酸修飾も受けうるためか、残念ながら現状では信頼に足る s1p や S1P1 受容体特異的モノクローナル抗体は入手でき

ない。細胞工学的な S1P 受容体発現細胞マッピングがMG胸腺のシグナル異常解明のために必要である。

結論

過形成MG胸腺では CCR7 と s1p という重要なリンパ球局在制御シグナルが変調している。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願登録状況

特許取得 なし

実用新案登録 なし

GQ1b-seronegative Fisher 症候群における血清学的検討

分担研究者 神田 隆

共同研究者 古賀道明

研究要旨

Fisher 症候群 (FS) の約 9 割の症例では急性期血清中に IgG 抗 GQ1b 抗体が検出され、補助診断マーカーとして汎用されている。本研究では IgG 抗 GQ1b 抗体陰性の FS における補助診断マーカーを見出すことを目的に検討を行った。IgG 抗 GQ1b 抗体陰性 FS 24 例を対象に、ガングリオシド複合体、およびカンピロバクター・リポオリゴ糖 (LOS) に対する IgG 抗体を測定した。その結果、24 例中 4 例 (17%) で GM1/GT1a 複合体抗体が、6 例 (25%) で GD1c 様 LOS ないし GalNAc-GM1b 様 LOS に対する IgG 抗体が陽性であった (健常者 37 例では全例陰性)。これらの抗体が陽性の症例は、抗 GQ1b 抗体陽性例と臨床像が類似していた。以上の結果から、FS では IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、GM1/GT1a 複合体抗体を測定すべきである。さらに FS 患者由来カンピロバクターが GD1c 様 LOS や GalNAc-GM1b 様 LOS を発現していることから、GD1c や GalNAc-GM1b に対する抗体も補助診断マーカーとして有用である可能性がある。

研究目的

Fisher 症候群 (FS) 患者の 9 割で、急性期血中に IgG 抗 GQ1b 抗体が検出される。一方、近年 FS や Guillain-Barré 症候群 (GBS) で、複数のガングリオシドからなる「ガングリオシド複合体」に対する IgG 抗体が検出されることが明らかにされてきた。さらに、FS 患者より分離培養された *Campylobacter jejuni* のリポオリゴ糖 (LOS) 上に GD1c 様構造と GalNAc-GM1b 様構造が存在することが示されている。これらの知見をヒントに本研究では、IgG 抗 GQ1b 抗体陰性の FS 症例 (GQ1b-seronegative FS) において、抗ガングリオシド複合体抗体、および GD1c 様 LOS と GalNAc-GM1b 様 LOS に対する IgG 抗体が検出されるか検討した。

研究方法

- ・対象：2000 年 2 月から 2002 年 7 月の間に、抗ガングリオシド抗体測定目的で血清を送付された FS (疑い例を含む) 373 例のうち、以下に示す基準で IgG 抗 GQ1b 抗体陽性例は 183 例 (49%) であった。IgG 抗 GQ1b 抗体陰性例のうち、Odaka ら (JNNP 2001; 70: 50-55) の FS 診断基準を満たすことが入院サマリーなどにより確認された 24 例を GQ1b-seronegative FS として本研究の対象とした。
- ・ガングリオシド・エピトープの検出：患者血清 (500 倍希釈) を用いて、各種ガングリオシド (GM2, GM1, GM1b, GD1a, GalNAc-GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b) に対する IgG 抗体を ELISA で測定し、吸光度 > 0.5 以上を陽性と判定した。ガングリオシド複合体 (以下の 6 つの組み合わせ：GM1/GD1a, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GT1a/GQ1b) に対する IgG 抗体については、

ガングリオシド複合体に対する抗体の吸光度から、各々のガングリオシドに対する抗体の吸光度を差し引いた値が0.5を超える際に陽性と判定した。

- ・抗 LOS 抗体測定：質量分析でオリゴ糖構造が同定された *C. jejuni* の GD1c 様 LOS (GC033) と GalNAc-GM1b 様 LOS (GC209) を抗原として、IgG 抗 LOS 抗体を ELISA で測定した(条件は上記と同様)。吸光度>1.0 の場合に陽性と判定した。LOS は菌株を血液寒天培地で 37 度微好気条件 (O₂ 5%、CO₂ 10%) 下で 48 時間培養した後に、菌を滅菌生理食塩水に回収、Proteinase K 処理を行った混濁液を粗 LOS として実験に用いた。
- ・倫理面への配慮：菌株や患者は全てナンバリングし個人特定できないようにした後に、本研究に用いた。

研究結果

- ・抗ガングリオシド抗体：GQ1b-seronegative FS 24 例中 4 例 (17%) で単独のガングリオシド (GT1a、GM1b、GD1a、GalNAc-GD1a) に対する IgG 抗体が検出された (Table 1)。さらに、単独のガングリオシドに対する抗体が陰性である 3 例を含む 4 例 (17%) で抗ガングリオシド複合体抗体が陽性と判定され、ガングリオシドの組み合わせでは GM1/GT1a に対する抗体が 4 例全例で陽性でかつ最も高力価であった。抗ガングリオシド (単独・複合体) 抗体が検出された 7 例は全例が男性であり、先行感染症状は胃腸炎症状や呼吸器症状など様々であった (Table 2)。通常 FS でみられる外転制限優位の外眼筋麻痺や軀幹失調などの特徴は、これらの 7 例でも同様にみられる傾向にあった。
- ・抗 LOS 抗体：GD1c 様 LOS ないし GalNAc-GM1b 様 LOS に対する IgG 抗体は、GQ1b-seronegative FS 24 例中 6 例 (25%) で陽性と判定された。抗 LOS 抗体陽性の 7 例中 5

例は胃腸炎症状の先行はなく、多くは抗 *C. jejuni* 抗体も陰性の症例であった。健常者 37 例ではいずれの抗 LOS 抗体も検出されなかった。

考察

GQ1b-seronegative FS 24 例中 9 例 (37.5%) で、他の抗ガングリオシド抗体、ないし抗ガングリオシド複合体抗体や抗 GD1c 様 LOS・GalNAc-GM1b 様 LOS 抗体が検出された。これらの症例は IgG 抗 GQ1b 抗体陽性例と臨床像が類似しており、先行感染症状や神経所見からこれらの抗体の有無の推測は困難と考えられる。FS で IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、ガングリオシド複合体 (特に GM1/GT1a) に対する抗体を測定することで検査感度を上げることが示された。また、GD1c と GalNAc-GM1b が FS の標的分子である可能性が示唆され、今後は、GD1c と GalNAc-GM1b とを用いて抗体測定を行う必要がある。

結論

FS では IgG 抗 GQ1b 抗体に加え、GM1/GT1a 複合体抗体を測定すべきである。さらに FS 患者由来カンピロバクターが GD1c 様 LOS や GalNAc-GM1b 様 LOS を発現していることから、GD1c や GalNAc-GM1b に対する抗体も補助診断マーカーとして有用である可能性がある。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

Table 1 Patients with anti-GQ1b IgG-negative Fisher syndrome who showed seropositive results in this study

No	Age/sex	Antecedent symptom	Infectious serology	IgG antibody against		
				Isolated ganglioside	Ganglioside complex	Ganglioside-like LOS
1	19/M	GI	(-)	GT1a, GM1b	(-)	GD1c-like, GalNAc-GM1b-like
2	28/M	(-)	<i>C jejuni</i>	GD1a, GalNAc-GD1a	(-)	GD1c-like, GalNAc-GM1b-like
3	60/M	fever	(-)	GT1a	GM1/GT1a, GM1/GQ1b	GalNAc-GM1b-like
4	63/M	chill	(-)	GM1b	(-)	(-)
5	15/M	GI, RTI, fever	<i>C jejuni</i>	(-)	GM1/GT1a, GM1/GQ1b	(-)
6	24/M	GI, RTI, fever	(-)	(-)	GM1/GT1a, GM1/GQ1b	GalNAc-GM1b-like
7	54/M	RTI, fever	(-)	(-)	GM1/GT1a	(-)
8	22/M	RTI, fever	<i>C jejuni</i>	(-)	(-)	GD1c-like, GalNAc-GM1b-like
9	48/F	fever, joint pain	(-)	(-)	(-)	GalNAc-GM1b-like

GI=gastrointestinal infection, RTI=respiratory tract infection, LOS=lipo-oligosaccharide

Table 2 Neurological features of the patients described in Table 1

No	Initial symptom	Ophthalmoparesis			Ptosis	FP	BP	Sensory disturbance	Ataxia	Others
		External	Internal							
1	nasal voice	only abduction disturbance	(+)	ND	(-)	(+)	vibration ↓	truncal		
2	gait disturbance	only abduction disturbance	ND	ND	(-)	(-)	(-)	truncal	good recovery (without treatment)	
3	double vision	total	(-)	(+)	(+)	(+)	vibration ↓	unknown in detail	neurological onset after lung cancer operation	
4	double vision	adduction and upgaze disturbance	ND	ND	(-)	(-)	(-)	limb, truncal		
5	double vision, gait disturbance	abduction-dominant	(+)	ND	(-)	(+)	(-)	limb, truncal	good recovery after IAT	
6	double vision	only abduction disturbance	ND	ND	(-)	(-)	distal dysesthesia	unknown in detail	relapse (first onset, 14 y.o.), good recovery after IVIg	
7	double vision	unknown in detail	ND	ND	(-)	(-)	(-)	truncal		
8	gait disturbance	abduction-dominant	(-)	ND	(-)	(+)	distal hypesthesia	truncal		
9	ptosis, gait disturbance	unknown in detail	(+)	(+)	(+)	(-)	distal hypesthesia	truncal	good recovery (without treatment)	

FP=facial palsy, BP=bulbar palsy, ND=not described, IAT=immunoabsorption therapy, IVIg=intravenous immunoglobulin

Bickerstaff 型脳幹脳炎における抗ガングリオシド抗体の 反応特異性の検討

分担研究者 楠 進¹⁾

共同研究者 上田昌美¹⁾

研究要旨

ガングリオシドに対する抗体は自己免疫性末梢神経障害で検出される。抗 GQ1b IgG 抗体は Guillain-Barré 症候群 (GBS)、その亜型である Miller Fisher 症候群 (MFS) で高頻度に検出されるが、Bickerstaff 型脳幹脳炎 (BBE) でも高率に陽性となる。中枢病変を伴う BBE と他の 2 疾患では、血中抗体の活性や特異性に違いがある可能性がある。そこで GQ1b と GT1a に対する相対的な抗体活性の比較、他の抗ガングリオシド抗体の陽性頻度、リン脂質添加による抗 GQ1b 抗体活性の影響、他のガングリオシドと GQ1b の形成する複合体に対する抗体活性などについて、MFS、GBS、BBE の三群で比較検討した。結果、BBE と MFS では GQ1b 活性が GT1a 活性より強い症例が多く、BBE では phosphatidic acid 添加により抗 GQ1b 抗体活性の増強をみる率、抗ガングリオシド複合体抗体陽性率が有意に低かった。GQ1b そのものに対する特異的な抗体の存在が BBE にみられる中枢神経障害の必要条件であることが示唆された。

研究目的

抗 GQ1b IgG 抗体は末梢神経障害である MFS や GBS で高頻度に検出されるが、中枢神経障害をきたす BBE でも高率に陽性となる。同じ GQ1b を標的とする抗体が上昇しながら、なぜ一部の例で中枢神経障害もきたすのかは未だ不明である。本研究では、この問題に関して血中の抗ガングリオシド抗体の特異性に焦点を当てて検討した。近年 MFS において、GQ1b を含むガングリオシド複合体 (GSC) に対する抗体も報告されているため (1)、抗 GSC 抗体も含めて検討した。

研究方法

1) 対象

当施設に抗体検査依頼のあった検体について

て、GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1b, GQ1b, GT1a の 9 種類の糖脂質抗原を用いて抗体活性を ELISA 法で測定した。抗 GQ1b IgG 抗体が陽性であった BBE25 例 MFS39 例 GBS29 例を検討の対象とした。

2) 抗体測定

PA との混合抗原に対する抗体測定: ELISA 用マイクロプレート上に GQ1b と phosphatidic acid (PA) 各 0.1 μg の混合抗原、および GQ1b 単独抗原 0.2 μg を固相化し、ELISA 法にて抗体測定した (2)。

GSC に対する抗体測定: GQ1b と GM1 および、GQ1b と GD1a を各 0.1 μg 混合した抗原を固相化し、上記の ELISA 法で抗体活性を測定した。既法に基づき (1)、混合抗原に対する補正 OD 値が、各単独抗原に対するものより 0.2 以上大きい場合に、その二種類のガングリオシド

の形成するエピトープに特異性をもつ抗体が存在すると判定し、抗 GSC 抗体陽性とした。

BBE, GBS, MFS の 3 群間で、抗 GQ1b 抗体価、他の抗体の陽性率、抗 GQ1b 抗体と抗 GT1a 抗体の活性の比較、GQ1b 抗原に PA 添加した場合の抗体活性の変化、抗 GSC 抗体の陽性率を比較検討した。

(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でき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。

研究結果

抗 GQ1b IgG 抗体活性に 3 群間で有意な差はなかった ($p=0.07$)。抗 GQ1b 抗体活性が抗 GT1a 抗体活性よりも高いものの割合は BBE25 例中 20 例 80%、GBS29 例中 14 例 48.3%、MFS39 例中 21 例 79.5%で GBS に比し BBE と MFS では抗 GQ1b 活性が抗 GT1a 活性より高いものが有意に多かった (GBS:BBE $P=0.016$, GBS:MFS $P=0.007$)。GQ1b と GT1a 以外の抗体の陽性率は、BBE では 25 例中 1 例 4%、GBS29 例中 13 例 44.8%、MFS39 例中 6 例 15.4%であり、GBS では GQ1b、GT1a 抗体以外の抗体陽性率は BBE と MFS に比し有意に高かった (GBS:BBE $P=0.001$, GBS:MFS $P=0.007$)。PA 添加にて GQ1b 抗体活性価が上昇する率は、BBE では 25 例中 5 例 20%、GBS29 例中 15 例 51.7%、MFS39 例中 18 例 58.1%で BBE ではほかの 2 群に比し有意に PA 添加での抗体価が増強するものの率が低かった (BBE:GBS $P=0.016$, BBE:MFS $P=0.033$)。抗 GSCs 抗体陽性率は GBS29 例のうち 12 例 41.4%、MFS39 例のうち 14 例 35.8%、BBE では 25 例のうち 1 例 4.0%で、BBE では

他の 2 群より有意に低値であった。(BBE:GBS $P=0.001$, BBE:MFS $P=0.003$)

考察

抗 GSC 抗体の検討から、BBE における抗 GQ1b 抗体は、他のガングリオシドの共存下に立体構造の変化した抗原ではなく、GQ1b そのものの糖鎖構造に強く反応する抗体、GQ1b の糖鎖に対する特異性がより強い抗体であることがわかる。GT1a よりも GQ1b に対する抗体活性が相対的に高いこと、PA 添加により抗体活性の増強が少ないこと、なども BBE では GQ1b そのものに対する特異性の強い抗体が上昇していることと合致する所見である。中枢神経障害をきたす要因については、抗体の反応性以外にも様々なメカニズムが考えられ、今後さらに詳細な検討が必要である。

結論

BBE における中枢神経障害発症のメカニズムのひとつとして、抗体の反応特異性が重要である。

文献

1. 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.
2. Hirakawa M, Morita D, Tsuji S, Kusunoki S (2005) Effects of phospholipids on antiganglioside antibody reactivity in GBS. *Journal of Neuroimmunol* 159: 129-132

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

ギランバレー症候群における髄液中へのアルブミン漏出の検討

分担研究者 水澤 英洋¹⁾

共同研究者 赤座 実穂¹⁾、鎌田 智幸⁴⁾、叶内 匡²⁾、山脇 正永³⁾、
横田 隆徳¹⁾

研究要旨

発症 2 1 日以内のギランバレー症候群(GBS)患者 29 例において髄液への Alb 漏出量(albumin leakage(AL))を評価し、臨床症状、抗 GM1-IgG 抗体の有無、および末梢神経伝導検査所見(NCS)との関連を検討した。初回入院時の AL は歩行不可能群(mean±SD:503.3±614.3mg/日)が歩行可能群(59.1±86.2mg/日)と比べて優位に高く(p=0.0064)、AL 高度高値(≥250mg/日)患者 7 人は全例で歩行不能であった。抗 GM1-IgG 抗体陽性 6 人(398.1±753.3mg/日)と陰性 12 人(267.3±434.1mg/日)では有意差はなかった(p=0.85)。Alb 漏出の程度は MCV, CMAP, TL との関係はなく F 波出現率が低い傾向であった。GBS において髄液へのアルブミン漏出は臨床症状と相関し、原因のひとつとして末梢神経の最も近位部での血液脳関門/血液神経関門の破綻と関連している可能性がある。今回の研究では抗 GM1-IgG 抗体の存在と BBB の破綻には関係がなかった。

研究目的

ギランバレー症候群(GBS)において血液脳関門、血液神経関門(BBB/BNB)の破綻により髄液へのアルブミン(Alb)漏出が生じると考えられる。そこで、髄液への Alb 漏出量(albumin leakage(AL)<75mg/日)を求め、GBS の臨床症状、抗 GM1-IgG 抗体の有無、末梢神経伝導検査(NCS)との関連を検討した。

研究方法

1998 年から 2007 年に当院および都立墨東病院に入院した Asbury と Comblash による診断基準(Ann Neurol. 27:S21-24, 1990)

をみたした GBS 患者 29 例(男性 19 例、女性 10 例、平均年齢 42 歳)を対象に急性期(発症 21 日以内)の歩行状況、髄液所見(細胞数、TP、Albumin leakage、IgG index)、抗 GM1-IgG 抗体の有無、脛骨神経 NCS 所見(CMAP、MCV、TL、F 波)について検討した。Albumin Leakage(式:(髄液 Alb(mg/dl) - 血清 Alb(mg/dl)/230) × 5(dl/日) < 75mg/日)は 1989 年に Tourtellotte らにより提唱され、1 日あたりに髄液中に漏出するアルブミンを定量的に評価したものである。データ統計には t 検定、Mann-Whitney U test、Fisher の直接確率計算法を用いた。

¹⁾ 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学
²⁾ 東京医科歯科大学医学部附属病院検査部
³⁾ 東京医科歯科大学臨床研修教育センター
⁴⁾ 都立墨東病院神経内科

研究結果

初回入院時の AL は歩行不可能群(mean±SD:503.3±614.3mg/日)が歩行可能群(59.1±

86.2mg/日)と比べて優位に高かった(p=0.0064)(グラフ1)。また、AL正常(<75mg/日)と増加(≥75 mg/日)群では、歩行状態に有意な差はなかったが、アルブミン高度漏出(AL≥250mg/day)の患者7人は全員歩行不可能であった(表1)。抗GM1-IgG抗体陽6人(398.1±753.3mg/日)と陰性12人(267.3±434.1mg/日)では有意差は認めなかった(p=0.85)(グラフ2)。また、Alb漏出の程度はMCV, CMAP, TLとの関係はなくF波出現率が低くなる傾向であった(表2)。

結論・考察

末梢神経の遠位部、生理的圧迫部および近位部はBNBが解剖学的、相対的に弱く、GBSでは高率に障害されることが知られている。末梢神経近位部に強い病変がある場合は軸索障害が神経の長距離に渡り、回復に時間がかかることが予想される。本研究において髄液中に高度にアルブミンがもれたケースは臨床症状が重く、遠位刺激CMAPサイズの低下とははっきりした関係がなかったため、髄液中へのアルブミン漏出量は末梢神経近位部の病変の強さを反映すると考えた。しかし、F波の出現率は低下する傾向があるものの有意ではなかった。この原因として今回研究の対象とした下肢末梢神経伝導検査の被検筋が短母趾外転筋のみに限られていたことがあげられる。本研究ではアルブミン漏出量と抗GM1-IgG抗体の存在とBBBの破綻ははっきりしなかった。今後、抗Gd抗体の抗体価とAL値との関係を検討する必要があると考える。

文献

K. Syndulko, W.W. Tourtellotte, A.J. Conrad, et al. Trans-blood-brain-barrier albumin leakage and comparisons of intrathecal IgG synthesis calculations in multiple sclerosis patients.

J Neuroimmunol. 46:185-192, 1993.

RA. Hughes, DR. Cornblath, Guillain-Barré syndrome. Lancet 366:1653-1666, 2005

T. Kanda, M. Yamawaki, T. Iwasaki, et al. Glycosphingolipid antibodies and blood-nerve barrier in autoimmune demyelinating neuropathy.

Neurology 54:1459-1464, 2000

S. Kuwabara, M. Mori, K. Ogawara, et al. Axonal involvement at the common entrapment sites in Guillain-Barré syndrome with IgG anti-GM1 antibody.

Muscle Nerve 22: 840-845, 1999

A. Petzold, N. Hinds, N.M.F. Murray, et al. CSF neurofilament levels: A potential prognostic marker in Guillain-Barré syndrome. Neurology 67:1071-1073, 2006

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

神経根磁気刺激を用いた活動依存性伝導ブロックによる MMN と ALS の鑑別

分担研究者 梶龍兒¹⁾

共同研究者 野寺裕之¹⁾、和泉唯信¹⁾、楠進²⁾

研究要旨

多巣性運動ニューロパチー (MMN) は免疫グロブリン大量療法などで治療可能な免疫性末梢神経疾患であるが、神経難病である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と鑑別が困難な場合があり、免疫グロブリン療法を投与されない場合がある。頸椎神経根からの磁気刺激を行い、運動電位の変化を運動負荷前後で比較したところ、ALS と正常人では運動前後の波形の変化に乏しかったが、MMN では運動直後を最大にして持続時間の延長が見られ、特に陽性成分で著明だった。この検査法は無侵襲であり免疫グロブリン療法に反応する例を有効に見出せる可能性がある。

研究目的

多巣性運動ニューロパチー (以下 MMN) は臨床的に ALS との鑑別が困難である場合が多い。MMN と診断するために重要な検査所見として、神経伝導検査における伝導ブロックと抗ガングリオシド抗体の検出が有名であるが、両者ともに認めない例も存在し、MMN 診断に対する gold standard が存在しないことが問題となる場合がある。このような MMN 例においても大量免疫グロブリン療法 (以下 IVIg) が伝導ブロックを示す MMN 例と同様の効果を示すことが報告されており、治療を試みることで患者の利益になると考えられる。さて、Kaji らは MMN に疲労現象が臨床的に存在し、電気生理学的には活動依存性伝導ブロック (以下 ADCB) と表現された。そのため、神経根磁気刺激を用いた ADCB の検出は MMN と ALS との鑑別に有用か評価する。

研究方法

MMN 患者 (9 名) は、通常の神経伝導検査にて明らかな伝導ブロックを認めないが IVIg に明らかな反応性を示した者を対象とし、ALS 患者 (8 名) と正常コントロール (12 名) と比較した。第 7 頸椎上に円形プローブを当て、神経根磁気刺激を行うことにより APB または FDI からの CMAP を記録した。1 分間の最大随意収縮の前後で CMAP のパラメータを比較検討した。被験者には文書で説明を行い、何時でも実験を中止できる事を確認した。

研究結果

MMN と ALS 患者間で平均年齢の差は無かった (MMN 56.8 ± 9.6 years、ALS 62.0 ± 6.5)、通常の正中並びに尺骨神経刺激による CMAP と最短 F 波には両群間で差を認めなかった。磁気刺激によって得られたパラメータも随意収縮前は両群で差が無かったが、正常コント

1) 徳島大学医学部神経内科

2) 近畿大学医学部神経内科

ロール群では振幅が有意に大きかった (mean CMAP amplitude MMN 1.6mV, ALS 1.6mV, control 5.3mV)。運動直後の磁気刺激により MMN では CMAP 持続時間が延長し、特に陽性相で延長が明らかだった ($P < 0.015$, MMN vs. ALS) が、ALS と正常群ではごく軽度の延長に留まった。すべての群で随意収縮後いったん延長した CMAP 持続時間は短縮した。CMAP の立ち上がりから陽性相の頂点までの延長が 14.4% 以上の場合、MMN が強く疑われた。MMN と ALS 群間で CMAP 振幅の変化に有意差はなく、MMN 群は temporal dispersion が主であったためと考える。

考察

通常の神経伝導検査で明らかな伝導ブロックを認めずも、IVIG に反応する症例が存在することは多数報告があり、神経根部の伝導ブロックがある可能性がある。MRI 画像にて神経根あるいは神経叢に肥厚を認めた MMN 例もある。ADCB は脱髄により軸索の safety factor が低下し、運動によって活性化された $Na^+-K^+-ATPase$ がもたらす過分極により跳躍伝導が不可能になることで説明され、ごく軽度の伝導ブロックを検出できると考えられる。CMAP の持続時間は陽性相がより著明に延長していたが、伝導遅延の程度の異なる 2 種類の CMAP を重ね合わせたモデルを作成すると、実際の波形に類似した陽性相のより延長した波形が得られることから考え、陰性相は phase

cancellation により延長がより少ないものと考ええる。

結論

最大随意収縮後の活動依存性伝導ブロック (ADCB) は神経根磁気刺激で検出され、多巣性運動ニューロパシー (MMN) と ALS との鑑別に有用である。この方法により、神経伝導検査で明らかな伝導ブロックを認めずとも IVIG に反応する可能性のある MMN 患者を検出できる可能性がある。

文献

Nodera H, Bostock H, et al. Activity-dependent conduction block in multifocal motor neuropathy: magnetic fatigue test. *Neurology*. 2006;67:280-7.

Nodera H, Kaji R. Nerve excitability testing and its clinical application to neuromuscular diseases. *Clin Neurophysiol*. 2006;117:1902-16.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

GBS・CIDPにおけるCD1遺伝子多型

分担研究者 荻野美恵子

共同研究者 金沢直美、入江幸子、荻野裕、坂井文彦

研究要旨

GBS および CIDP の一部では脂質抗原に対する抗体が認められるため、何らかの脂質抗原提示が発症のきっかけになっていると考えられており、また、GBS の場合、同じ感染症に罹患してもごく一部の症例が発症することより、発症には固体側の因子も関与していると考えられる。脂質抗原提示には CD1 分子が重要であるため、CD1 の遺伝子多型が疾患発症に関連する可能性がある。昨年われわれは GBS35 例、日本人健常者 36 例につき CD1 の遺伝子多型を検索したが、有意差のある多型はなかった。本年度は CIDP での CD1 遺伝子多型を検索し、さらに GBS についても再度多数例の日本人健常者遺伝子多型と比較を試みたが、有意差をえることはできなかった。今後症例数を増やして検討する必要がある。

研究目的

GBS や CIDP の発症機序に関してはいまだ不明の点が多いが、GBS については感染等により何らかの抗原刺激がきっかけとなって発症すると推測されている。しかし、抗原刺激を受けた個体すべてが発症するわけではなく、個体側にも発症しやすい素因があると考えられる。これまで、主にヒト組織適合抗原である HLA について解析されてきたが、我々が報告した再発性 GBS (rGBS) を含め HLA 遺伝子多型に一定の傾向はえられなかった。

一方、HLA はタンパク質に対しての抗原提示を行っており、脂質の抗原提示には CD1 分子が重要であることが近年明らかになってきている。神経組織は脂質に富む組織であり、特に GBS や CIDP で高頻度にみられる抗神経自己抗体はガングリオシドなど脂質を抗原としているものが多い。そのため抗原刺激に対する反応として HLA 分子よりも CD1 分子が大切な役割を担っている可能性があると考えた。我々が CD1 に注目した平成 12 年当時は CD1 の遺伝子多型についての情報はまだ十分ではなく、あまり注目されていなかった。その後様々な人種における遺伝子多型の報告があいつぎ、特に近年 CD1d は NKT 細胞に対する抗原提示分子として注目されている。

CD1 分子は MHC クラス I 分子と類似の構造をもつ膜糖タンパクで CD1A・E が同定されている。HLA よりも遺伝子多型は少ないと報告されているが、1 塩基置換でも電荷が変化し抗原結合能に変化をきたすと考えられるため、SNP が疾患に関連する場合もあり、CD1 の遺伝子多型が疾患に関連する可能性はあると考えた。

以上のような背景より昨年に引き続き GBS および CIDP における個体側の素因を明らかにするために CD1 遺伝子多型を検索した。

対象および研究方法

平成 12 年より研究を計画し、平成 17 年倫理委員会の承認をえて検索を開始した。過去に当院に入院された GBS 症例に研究協力をお願いし、同意を得られた症例につき遺伝子解析を施行した。既に連絡がとれなくなっている症例も多数あったが、連絡がとれたなかで、約 40% の方から研究協力の申し出をうけ、臨床症状、抗体検索、筋電図検査、遺伝子検索を施行した。臨床症状、抗体検索、筋電図検査の結果については 1 昨年の本会議および ISNI にて報告した。

今回の遺伝子解析は日本人 GBS/FS 症例 35 例 (うち rGBS 8 例、FS7 例を含む)、CIDP11 例につき行った。対照として 36 例の日本人健常者およびより多数の健常者データを比較するために日本人 SNP データベース (JSNP データベース、JBIC-allele、HapMap-JPT、JSNP 55typed) を用いた。末梢白血球から DNA を抽出し、各 CD1 遺伝子のエクソン 2 を増幅する PCR を行い、Direct Sequence length polymorphism (RFLP) 法を用いて多型の解析を行った。GBS 群と健常者群を比較することにより CD1 の遺伝子多型 (genotype) に一定の傾向があるかを比較した。また、GBS と CIDP 全体、通常の GBS と反復性 GBS、MFS、などのタイプ別、抗ガングリオシド抗体の有無などでサブ解析を行った。検定にはオッズ検定、FISHER 検定、カイ 2 乗検定と 3 種類を用いた。

なお、本研究は北里大学の倫理委員会において承認を受けた。研究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。

研究結果

今回解析したサンプルでは CD1B、CD1C (rGBS のみ検索)、CD1D は全例 genotype 01/01 であり、多型を認めなかった。CD1A および CD1E については遺伝子多型を認めたが、その発現頻度に GBS 群全体、CIDP 群、GBS と CIDP 合計、MFS、GBS、rGBS、と健常対象群で有意差はなく、多少多い傾向のある ALLELE があるものの有意差にはいたらなかった。

これは CD1A と CD1E の組み合わせでも同様であった(表1)。

また、日本人を含むアジア人は欧米人に比べて古くから多様化しており、欧米人の SNP の多様性は日本人よりも少ない。そのため、多くの日本人 SNP データとも比較したが、有意差はなかった。(表2)

抗体の有無で差がないかという視点からも分析してみたが、抗体陽性群と陰性群で差がなかった。以上の検定にはオッズ検定、FISHER 検定、カイ 2 乗検定を用いたが、いずれの検定を用いても有意差は得られなかった。

考案

2006年7月 Caporale ら (Italy) が我々と全く同じ発想で GBS および CIDP について検索した結果を *J of Neuroimmunolgy* に報告した。彼らの結果では CD1A*01/02 と CD1E*01/02 の組み合わせが GBS 発症の危険度を5倍低下させたと報告しているが、今回の我々の検索では同様の結果は得られなかった。CIDP にも彼らの結果と同様特定の多型の関与はなかった。昨年検索では対象群の人数が少なかつたため有意差を得にくかつた可能性も考え、今年既報告の多数による日本人 SNP データを用いて比較してみたが、我々の正常コントロール群のデータはこれまでの日本人の報告とほぼ同じであり、信頼性のあるコントロール群であることがわかつた。今回調べた範囲では GBS および CIDP 発

症の危険度に関与したと思われる遺伝子多型は特定できなかつた。正常群と異なる傾向にある多型もあり、症例数を増やすことで意味のあることかどうか確認できると考える。今回はエクソン2について検索したが、他の領域が重要である可能性は否定できない。

結論

今回検索した範囲では CD1 遺伝子多型と GBS および CIDP 発症に一定の傾向は得られなかつた。

文献

C.M.Caporale et.al.:Susceptibility to Guillain-Barre syndrome is associated to polymorphisms of CD1 genes. *J Neuroimuno* 177 ;112-118,2006

M.V.Angelis et.al. Polymorphisms of CD1 genes in chronic dysimmune neuropathies. *J Neuroimuno* 186:161-163,2007

健康危険情報 問題なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし