

Table 1 Diagnostic criteria for Bickerstaff brainstem encephalitis

以下の(1) (2) (4)をいずれも満たすものを **Definite Bickerstaff 型脳幹脳炎**とする。

(1) (4)、あるいは(2) (3) (4)を満たすものを **Probable Bickerstaff 型脳幹脳炎**とする。

(1) 以下の三徴候の全てが急性進行性にみられ、発症後 4 週以内にピークとなり、三カ月以内に軽快傾向を示す

(三徴候)

- ・両側外眼筋麻痺(左右対称性であることを原則とするが、軽度の左右差はあってもよい)
- ・運動失調
- ・意識水準の低下

(2) 血中 IgG 型 GQ1b 抗体陽性

(3) (1)の臨床的特徴のうち、一部が一致しない

- ・筋力低下・意識水準低下などのため運動失調の評価が困難である
- ・軽快傾向を確認できない
- ・外眼筋麻痺に高度の左右差がある場合(片側性など)
- ・意識水準の低下はないが、長径路徴候を示唆する所見(片側性感覚障害や錐体路徴候、痙性麻痺など)がある場合

(4) 以下の疾患(順不同)が各種検査(脳脊髄液、画像検査など)から除外できる

Wernicke 脳症、脳血管障害、多発性硬化症、視神経脊髄炎、急性散在性脳脊髄炎、神経 Behçet 病、神経 Sweet 病、下垂体卒中、ウイルス性脳幹脳炎、重症筋無力症、脳幹部腫瘍性病変、血管炎、ボツリヌス中毒、橋本脳症

Table 2 Clinical features of patients with Bickerstaff brainstem encephalitis

	BBE				<i>P</i> value ^b (Total BBE vs Others)
	Total (N=37)	Definite (N=19)	Probable (N=18)	Others ^a (N=50)	
Sex (M/F)	21/16	10/9	11/7	32/18	NS
Median age (range)	35 (1-87)	39 (18-78)	34 (1-87)	55 (2-84)	0.03
Antecedent infectious symptoms	28/36 (78%)	16 (84%)	12/17 (71%)	24/46 (52%)	0.02
Fever	16/33 (49%)	6/16 (38%)	10/17 (59%)	15/40 (38%)	NS
URTI	20/33 (61%)	12/17 (71%)	8/16 (50%)	14/44 (32%)	0.01
Diarrhea	9/33 (27%)	5/16 (31%)	4/17 (24%)	4/41 (9.8%)	NS
Initial neurological symptoms					
Double vision	10 (27%)	7 (37%)	3 (17%)	6 (12%)	NS
Numbness at distal entremities	7 (19%)	5 (26%)	2 (11%)	2 (4%)	0.03
Conscious disturbance	7 (16%)	3 (16%)	4 (22%)	10 (20%)	NS
Dizziness	4 (11%)	2 (11%)	2 (11%)	3 (6.0%)	NS
Gait instability	3 (8.1%)	3 (16%)	0	6 (12%)	NS
Convulsions	2 (5.4%)	0	2 (11%)	2 (4.0%)	NS
Dysphagia/dysarthria	2 (5.4%)	0	2 (11%)	4 (4.0%)	NS
Neurological features during the illness					
Conscious disturbance	34 (92%)	19 (100%)	15 (83%)	24/46 (52%)	<0.001
JCS 1-3	7/33 (21%)	4/18 (22%)	3/15 (20%)	9/46 (20%)	
JCS 10-30	15/33 (46%)	9/18 (50%)	6/15 (40%)	6/46 (13%)	
JCS 100-300	8/33 (24%)	5/18 (28%)	3/15 (20%)	9/46 (20%)	
Optic nerve involvement	2/35 (5.7%)	2/18 (11%)	0/17	3/49 (6.1%)	NS
External ophthalmoparesis	37 (100%)	19 (100%)	18 (100%)	20/49 (41%)	<0.001
Abducent-predominance	15/26 (58%)	8/11 (73%)	7/15 (47%)	8/24 (33%)	NS
Internal ophthalmoparesis	10 (27%)	7 (37%)	3 (17%)	9 (18%)	NS
Facial palsy	15 (41%)	7 (37%)	8 (44%)	14 (28%)	NS
Oropharyngeal palsy	23 (62%)	13 (68%)	10 (56%)	19/49 (39%)	0.03
Limb weakness	19/35 (54%)	12/18 (67%)	7/17 (41%)	18/49 (37%)	NS
Tendon reflex					
Absent/Decreased	20/30 (67%)	12/14 (86%)	8/16 (50%)	14/49 (29%)	0.01
Normal	3/30 (10%)	1/14 (7.1%)	2/16 (13%)	12/39 (31%)	NS
Brisk	4/30 (13%)	1/14 (7.1%)	3/14 (21%)	11/39 (28%)	NS
Babinski/Chaddock	12/28 (43%)	5/12 (42%)	7/16 (44%)	12/42 (29%)	NS
Ataxia	33/36 (92%)	19 (100%)	14/17 (82%)	20/28 (71%)	<0.001
Sensory disturbance	20/36 (56%)	13 (68%)	7/17 (41%)	16/49 (33%)	NS
At distal entremities	10/30 (33%)	7/15 (47%)	3/15 (20%)	3/42 (7.1%)	0.01
Autonomic disturbance	11/36 (31%)	6/18 (33%)	5 (28%)	14/39 (36%)	NS
Days at nadir					0.03
<1 week	23 (62%)	15 (79%)	8 (44%)	22/48 (46%)	
1-2 weeks	10 (27%)	4 (21%)	6 (33%)	11/48 (23%)	
2-3 weeks	2 (5.4%)	0	2 (11%)	1/48 (2.1%)	
3-4 weeks	2 (5.4%)	0	2 (11%)	4/48 (8.3%)	
>4 weeks	0	0	0	10/48 (21%)	
Hughes disability grade at nadir					NS
1	1/35 (2.9%)	0	1/16 (6.3%)	7/44 (16%)	
2	0/35	0	0/16	4/44 (9.1%)	
3	7/35 (20%)	6 (32%)	1/16 (6.3%)	4/44 (9.1%)	
4	20/35 (57%)	10 (53%)	10/16 (63%)	18/44 (41%)	
5	7/35 (20%)	3 (16%)	4/16 (25%)	11/44 (25%)	

^a Patients who met the criteria for brainstem encephalitis described in the text, but not the criteria for BBE (**Table 1**).

^b Differences in frequencies between the groups were analyzed using the the χ^2 or Fisher's exact test.

Differences in medians were examined by the Mann-Whitney *U* test.

BBE = Bickerstaff brainstem encephalitis; NS = Not significant (*P*>0.05);

URTI = Upper respiratory tract infectious symptoms; JCS = Japan Coma Scale

Table 3 Laboratory, electrophysiological, and radiological findings of patients with Bickerstaff brainstem encephalitis

	BBE				<i>P</i> value ^b (Total BBE vs Others)
	Total (N=37)	Definite (N=19)	Probable (N=18)	Others ^a (N=50)	
Serum anti-ganglioside antibody (IgG)					
Anti-GQ1b	24/32 (75%)	19 (100%)	5/13 (38%)	0/19	<0.001
Anti-GM1	2/33 (6.1%)	1 (5.3%)	1/14 (7.1%)	0/18	NS
CSF					
Cell count (/mm ³); Median (range)	5 (1-214)	5 (1-214)	9 (2-169)	12 (0-9420)	NS
≤ 5/mm ³	16/29 (56%)	10/16 (42%)	6/13 (46%)	15/36 (42%)	NS
6-10/mm ³	1/29 (3.4%)	0	1/13 (7.7%)	2/36 (5.6%)	
11-50/mm ³	6/29 (21%)	5/16 (31%)	1/13 (7.7%)	11/36 (31%)	
51-100/mm ³	3/29 (10%)	0/16	3/13 (23%)	2/36 (5.6%)	
>100/mm ³	3/29 (10%)	1/16 (6.3)	2/13 (15%)	6/36 (16.7%)	
Protein; Median (range)	37 (13-400)	28 (17-72)	59 (13-400)	54 (14-549)	NS
Elevated (≥ 45mg/dL)	11/29 (38%)	2/16 (13%)	9/13 (69%)	24/36 (67%)	0.02
Albuminocytologic dissociation	4/29 (14%)	1/16 (6.3%)	3/13 (23%)	7/36 (19%)	NS
EEG abnormality	10/20 (50%)	4/8 (50%)	6/12 (50%)	13/23 (57%)	NS
NCS abnormality	11/29 (38%)	5/15 (33%)	6/14 (43%)	10/20 (50%)	NS
Brain MRI abnormality	8/35 (23%)	1/17 (5.9%)	7/18 (39%)	29/50 (58%)	0.02

^a Patients who met the criteria for brainstem encephalitis described in the text, but not the criteria for BBE (Table 1).

^b Differences in frequencies between the groups were analyzed using the χ^2 or Fisher's exact test.

Differences in medians were examined by the Mann-Whitney *U* test.

BBE = Bickerstaff brainstem encephalitis; NS = Not significant (*P*>0.05);

CSF = cerebrospinal fluid; EEG = electroencephalogram; NCS = nerve conduction study; MRI; magnetic resonance imaging

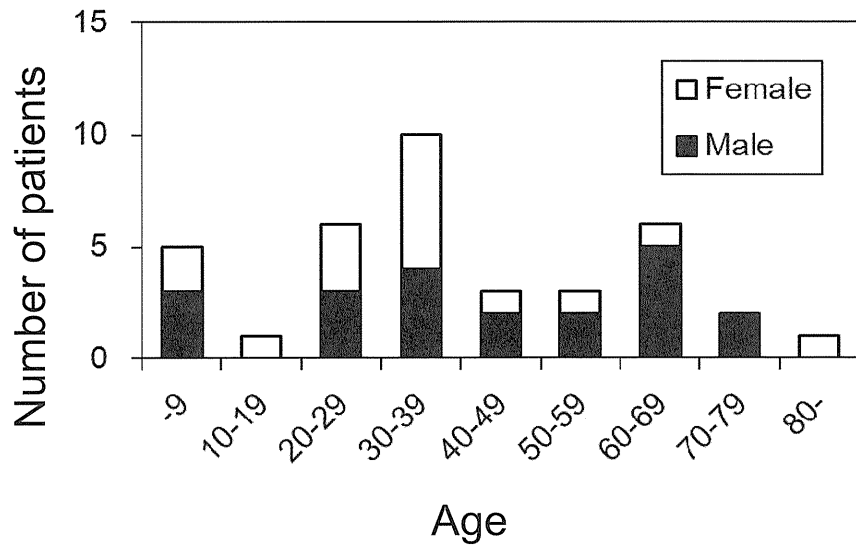


Fig. 1 Age distribution of patients who met the diagnostic criteria for Bickerstaff brainstem encephalitis between 3 years (2006 to 2009)

Black bar = male; striped bar =female

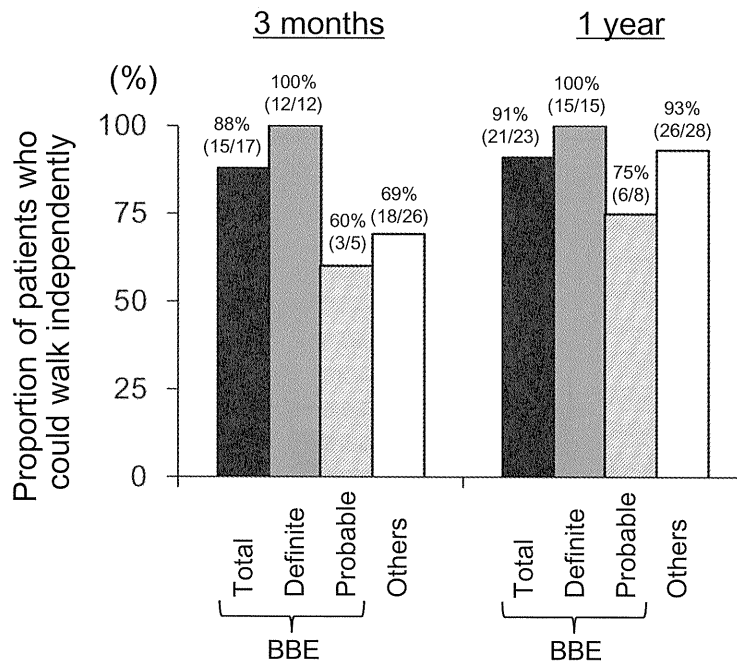


Fig. 2 Proportion of patients who reached Hughes disability scale 2 or less 3 months and 1 year after the disease onset.

BBE = Bickerstaff brainstem encephalitis; Black bar = total patients with BBE (definite or probable; **Table 1**); gray bar = patients with definite BBE; striped bar = patients with probable BBE; white bar = patients who met the criteria for brainstem encephalitis described in the text, but not the criteria for BBE.

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
「ビッカースタッフ型脳幹脳炎の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究」
分担研究報告書

ビッカースタッフ型脳幹脳炎における血液脳関門障害に関する研究

研究代表者 神田 隆 (山口大学大学院医学系研究科神経内科学教授)
研究分担者 古賀 道明 (山口大学大学院医学系研究科神経内科学講師)
楠 進 (近畿大学医学部内科学講座神経内科部門教授)
共同研究者 齋藤 和幸 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学)
清水 文崇 (山口大学大学院医学系研究科神経内科学)
佐野 泰照 (山口大学大学院医学系研究科神経内科学)

研究要旨

【目的】ビッカースタッフ型脳幹脳炎 (BBE) は生命中枢である脳幹を首座として起こる炎症性疾患である。BBE における血液脳関門 (BBB) の動態を明らかにする事を目的とする。【方法】BBE 患者血清と BBE と非常に類似した免疫学的機序を背景とすると考えられているミラーフィッシャー症候群 (MFS) 患者血清がヒト BBB 及びヒト血液神経関門 (BNB) 構成内皮細胞に及ぼす影響を検討した。【結果】BBE 患者血清はヒト BBB 構成内皮細胞の電気抵抗 (TEER) 値を有意に低下させた。BBE 患者血清はヒト BBB 構成内皮細胞の claudin-5 の蛋白量を有意に低下させた。BBE 患者血清に併せて matrix metalloproteinases (MMP)s の阻害剤である GM6001 を作用させるとヒト BBB 構成内皮細胞の TEER 値と claudin-5 蛋白量を有意に改善させた。BBE 患者血清はヒト BBB 構成内皮細胞の MMP-9 の mRNA 発現量及び蛋白量を有意に上昇させた。一方 BBE 患者血清はヒト BNB 構成内皮細胞には影響を及ぼさず、MFS 患者血清はヒト BBB/BNB 構成内皮細胞いずれにも影響を及ぼさなかった。【結論】BBE 患者血清を作用させると BBB が破綻することが示された。BBE では脳微小血管内皮細胞から autocrine に産生される MMP-9 が BBB 機能の破綻に関与している可能性が想定された。

A. 研究目的

ビッカースタッフ脳幹脳炎 (以下 BBE) は生命中枢である脳幹を首座として起こる原因不明の自己免疫疾患であり、我が国では年間数百人単位の発症が見込まれている。希少疾患の特性として国内施設に少数の患

者が分散しているため、現時点では確立した治療方針はない。一般的に一峰性の経過をたどる予後良好な疾患として理解されていたが、現在ではギラン・バレー症候群 (以下 GBS) や急性散在性脳脊髄炎などとオーバーラップする重症例も多数存在する事が明ら

かになっており、機能予後・生命予後ともに必ずしも良好ではなく、罹患患者に重大な生活面の支障をきたす可能性のある疾患である。また GBS の亜系として知られているミラーフィッシャー症候群 (以下 MFS) は、外眼筋麻痺と運動失調という BBE と共通する臨床症状を呈する。さらに、両者とも抗ガングリオシド抗体 (IgG 抗 GQ1b 抗体) が高率に検出されることから BBE と MFS は非常に類似した免疫学的機序を背景としていと考えられている。しかし、BBE では意識障害を伴い、MFS では意識障害がみられないなど、両疾患の臨床症状は大きく異なっているが、その差を起こす原因は明らかでない。GBS では血液神経関門 (以下 BNB) の破綻が発症と増悪の鍵とされている²⁾。一方、MFS の剖検例では脳幹や小脳に変化はなく、坐骨神経の血管周囲にわずかなリンパ球浸潤を伴う程度の軽度な炎症所見が示されており³⁾、BNB の破綻が MFS の発症や増悪に関与する可能性が推測される。BBE の剖検例では脳幹部において血管周囲のリンパ球集簇が証明されており、血液脳関門 (以下 BBB) の破綻が BBE の発症と増悪の鍵となる可能性が考えられる。以上のことから、BBE や MFS の発症と増悪に BBB/BNB の破綻が深く関わっている可能性が推測されるが、稀少疾患であるということもこれまで十分な検討はなされてこなかった。近年 BBB や BNB の破壊に matrix metalloproteinases (以下 MMP) -9⁴⁾や MMP-2⁵⁾が関与する報告が散見され、MMP によりタイトジャンクション (以下 TJ) が破壊され、BBB 及び BNB が機能障害をきたすメカニズムが推測されている。また、MMP 阻害剤により多発性硬化症モデルの experimental autoimmune

encephalomyelitis の臨床症状の悪化を妨げた例⁶⁾や、GBS モデルの experimental autoimmune neuritis の重症度を下げた例⁷⁾があることから、MMP 阻害剤が治療に有用である可能性が考えられている。本研究の目的は、「BBE と MFS の臨床症状の違いが、患者血清による BBB 及び BNB 透過性への影響の違いに起因する」という仮説を立てて、BBE と MFS における BBB/BNB の動態を解析することである。

B. 研究方法

対象: 山口大学神経内科と近畿大学神経内科にて確定診断した BBE 患者 11 例と MFS 患者 10 例の血清を対象とした。BBE 血清 11 例のうち 8 例で、MFS 血清 10 例のうち 9 例で IgG 抗 GQ1b 抗体が陽性であった。両患者の血清を山口大学神経内科で開発したヒト BBB 由来微小血管内皮細胞株 (BMECs)⁶⁾及びヒト BNB 由来微小血管内皮細胞株 (PnMECs)⁷⁾に作用させた。(1) BBE/MFS 患者血清をそれぞれヒト BMECs/PnMECs に作用させて TEER 値を測定した。(2) BBE/MFS 患者血清 3 例ずつをそれぞれ BMECs/PnMECs に作用させて TJ 関連蛋白質である claudin-5 及び occludin の変化を Western-blot (WB) 法で検討した。(3) BBE 患者血清 3 例ずつを MMP 阻害剤(GM6001)とともにヒト BMECs に作用させ、TEER 値及び claudin-5 の変化を WB 法で検討した。(4) BBE/MFS 血清 3 例ずつをそれぞれ BMECs/PnMECs に作用させ、MMP-9/MMP-2 蛋白量変化を WB 法で解析した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト脳組織、末梢神経組織由来の

細胞株及びヒト血清を用いるため、山口大学及び近畿大学医学部倫理委員会による承認を得た上で研究を開始した。組織ならびに血清提供者に対して十分な説明の後、研究への協力を文書で同意を得た上で組織を採取した。個人が特定できないようサンプルの匿名化に配慮し、プライバシーの保護に万全を尽くした。

C. 研究結果

(1) BBE/MFS 患者血清を作用させても PnMECs の TEER 値に変化はなかった (Fig. 1A)。BBE 患者血清を作用させると、BMECs の TEER 値が有意に低下した (Fig. 1B)。(2) BBE/MFS 患者血清を作用させても PnMECs の TJ 関連蛋白量に変化はなかった (Fig. 2A, B)。BBE 患者血清を作用させると BMECs の claudin-5 蛋白量が有意に低下したが、occludin 蛋白量は変化しなかった (Fig. 2C, D)。(3) GM6001 投与下で BBE 患者血清を作用させると BMECs の TEER 値及び claudin-5 蛋白量が有意に増加した (Fig. 3A, B, C)。(4) BBE/MFS 患者血清を作用させると PnMECs の MMP-2 および MMP-9 蛋白量に変化はなかった (Fig. 4A)。BBE 患者血清を作用させたヒト BBB 細胞株の MMP-9 蛋白量が有意に増加した (Fig. 4B)。

D. 考察

BBE の患者血清が BBB 機能を破綻させることが明らかとなった。BBE 患者血清を作用させると BBB 構成内皮細胞の MMP-9 の mRNA 発現量及び MMP-9 蛋白量が増加したことから、BBE では脳微小血管内皮細胞から autocrine に産生される MMP-9 が BBB 機能の破綻に関与している可能性が想定された。また、MMP 阻害剤が BBE 患者血清によ

り破綻した BBB のバリア機能を改善したことから、MMP 阻害剤が BBE の新たな治療法となりうる可能性が考えられた。

E. 結論

BBB 構成内皮細胞から autocrine に産生される MMP-9 が BBE での BBB 破綻に関与する可能性が考えられた。

文献

(1) Odaka et al. Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain Barré syndrome. *Brain* 2003; 126: 2279-90

(2) Kanda T et al., Sera from Guillain Barré syndrome enhance leakage in blood-nerve barrier model. *Neurology* 2003; 60: 301-6

(3) Phillips MS et al., Neuropathological findings in Miller Fisher syndrome. *JNNP* 1984; 47: 492-5

(4) Kieseier B.C et al., Matrix Metalloproteinases MMP-9 and MMP-7 Are Expressed in Experimental Autoimmune Neuritis and the Guillain Barré syndrome. *Annals Neurol* 1998; 43: 427-34

(5) Chen W et al., Matrix metalloproteinase's inhibition provides neuroprotection against hypoxia-ischemia in the developing brain. *J Neurochem* 2009; 111: 726-36

(6) Gibels K et al., Reversal of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis with a

Hydroxamate Inhibitor of Matrix Metalloproteinases. J Clin Invest 1994; 94: 2177-82

(7) Redford EJ et al., A combined inhibitor of matrix metalloproteinase activity and tumor necrosis factor- α processing attenuates experimental autoimmune neuritis. Brain 1997; 120: 1895-1905

(8) Sano Y et al., Establishment of a new microvascular endothelial cell line retaining an in vivo blood-brain barrier function. J Cell Physiol 2010; 225: 519-28

(9) Kashiwamura et al., Hydrocortisone Enhances the Function of the Blood-Nerve Barrier Through the Up-Regulation of Claudin-5. Neurochem Res 2011; 36: 849-55

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu F, Sano Y, Haruki H, Kanda T. Advanced glycation end-products induce basement membrane hypertrophy in endoneurial microvessels and disrupt the blood-nerve barrier by stimulating the release of TGF- β and vascular endothelial growth factor (VEGF) by pericytes. Diabetologia 2011; 54(6):1517-1526.

2. Shimizu F, Sano Y, Takahashi T, Haruki H, Saito K, Koga M, Kanda T. Sera from neuromyelitis optica patients disrupt the blood-brain barrier. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012; 83(3): 288-297.

3. Shimizu F, Sano Y, Saito K, Abe MA, Maeda T, Haruki H, Kanda T. Pericyte-derived glial cell line-derived neurotrophic factor increase the expression of claudin-5 in the blood-brain barrier and the blood-nerve barrier.

Neurochem Res 2012; 37: 401-409.

4. Shimizu F, Sano Y, Abe M, Maeda T, Ohtsuki S, Terasaki T, Kanda T. Peripheral nerve pericytes modify the blood-nerve barrier function and tight junctional molecules through the secretion of various soluble factors. J Cell Physiol. 2011; 226: 255-266.

5. Kashiwamura Y, Sano Y, Abe M, Shimizu F, Haruki H, Maeda T, Kawai M, Kanda T. Hydrocortisone enhances the function of the blood-nerve barrier through the up-regulation of claudin-5. Neurochem Res. 2011;36:849-855.

6. Sano Y, Kanda T. Isolation and properties of endothelial cells forming the blood-nerve barrier. Methods Mol Biol. 2011;686: 417-25.

7. Koga M, Takahashi T, Kawai M, Fujihara K, Kanda T. A serological analysis of viral and bacterial infections associated with neuromyelitisoptica. J Neurol Sci 2011; 300: 19-22

8. 清水文崇, 安部真彰, 神田 隆. 糖尿病性末梢神経障害の病態解明に向けたヒト血液神経関門 *in vitro* モデルの作成. Peripheral nerve 2011; 22 (1): 57-63.

9. 竹下幸男 古賀道明 尾本雅俊 小笠原淳一 川井元晴 神田隆: 感覚障害を主徴とし, 免疫グロブリン静注療法により速やかに改善した遠位型慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーの46歳男性例. 臨床神経 2011; 51: 478-481.

10. 西原秀昭, 小笠原淳一, 古賀道明, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田隆: IgG4 関連自己免疫性腓炎による腓腫大を呈した POEMS 症候群. 臨床神経 2011; 51: 417-421

11. 清水文崇, 神田 隆. 血管内皮異常. 医学の歩み「ここまでわかった多発性筋炎・皮

膚筋炎」2011; 239 (1): 58-62.

2. 学会発表

1. Kanda T. Immortalized human cells originating from endoneurial capillary; useful tools to study BNB damage in inflammatory neuropathies. Colloquium 16: Autoimmune Mechanism of Peripheral Neuropathies-Guillain-Baree Syndrome and Related Disorders. 2011.3.23 42nd Annual Meeting of the American Society for Neurochemistry, St..Louis, USA.
2. Haruki H, Sano Y, Shimizu F, Nakata, Kanda T: Establishment of glio-vascular unit model to reveal of pathogenesis of neuromyelitisoptica The 63rd American Academy of Neurology Annual Meeting, Honolulu, U.S.A. April 14, 2011
3. Koga M, Kanda T, Yuki N: GQ1b-seronegative Fisher syndrome: serological study. Biennial Meeting of the Peripheral Nerve Society Potomac, Maryland, USA. June 25-29, 2011.
4. Shimizu F, Sano Y, Takahashi Y, Haruki H, Kanda T: Sera from neuromyelitisoptica patients disrupt the blood-brain barrier. ECTRIMS, Amsterdam. Oc21-23t, 2011.
5. 古賀道明、高橋正樹、結城伸泰、神田隆: ギラン・バレー症候群発症におけるカンピロバクター・シアル化の意義. 第52回日本神経学会学術大会. 名古屋. 2011年5月18-20日.
6. 佐野泰照, 齋藤和幸, 清水文崇, 春木明代, 神田 隆: アミロイドβ蛋白の血液脳関門を介した輸送機構の解析. 第52回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011年5月18-20

日.

7. 清水文崇, 佐野泰照, 齋藤和幸, 春木明代, 前田敏彦, 安部真彰, 神田 隆: 視神経脊髄炎血清での血液脳関門破綻メカニズムの解析. 第52回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011年5月18-20日.
8. 春木明代, 佐野泰照, 清水文崇, 尾本雅俊, 安部真彰, 前田敏彦, 齋藤和幸, 神田隆: 抗 AQP4 抗体陽性患者血清によるアストロサイト細胞死とその機序について. 第52回日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011年5月18-20日.
9. 神田 隆: 血液神経関門をターゲットとした治療戦略. シンポジウム 17 難治性末梢神経疾患の治療戦略. 日本神経学会学術大会. 名古屋, 2011年5月19日
10. 古賀道明, 神田隆, 結城伸泰: GQ1b-seronegative Fisher 症候群: 臨床像と新たな診断マーカー. 第22回日本末梢神経学会学術集会. 沖縄, 2011年9月2-3日.
11. 清水文崇, 佐野泰照, 安部真彰, 前田敏彦, 齋藤和幸, 春木明代, 松井尚子, 梶龍兒, 神田 隆: 多巣性運動ニューロパチー血清が血液神経関門に及ぼす影響の解析. 第22回日本末梢神経学会総会. 沖縄, 2011年9月2-3日.
12. 本田真也, 清水文崇, 古賀道明, 小笠原淳一, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆: 末梢神経伝導検査で著明な脱髄所見を呈した抗 GT1b-IgG 抗体陽性ギラン・バレー症候群の75歳男性例. 山口県神経内科医会. 山口, 2011年9月10日.
13. 古賀道明, 上田昌美, 楠進, 神田 隆: ビッカーstaff型脳幹脳炎における感染症の関与: ギラン・バレー症候群との差異. 第23回日本神経免疫学会学術集会. 東京,

2011年9月15-17日.

14. 春木明代, 佐野泰照, 清水文崇, 尾本雅俊, 安部真彰, 前田敏彦, 斎藤和幸, 神田隆: 抗AQP4抗体陽性患者血清によるアストロサイト細胞死とその機序について.

第23回日本神経免疫学会学術集会. 東京, 2011年9月15-17日.

15. Haruki H, Sano Y, Shimizu F, Nakata T, Kanda T: NMO sera and astrocyte cell death: an in vitro study. 5TH JOINT TRIENNIAL CONGRESS of the European and Americans committees for treatment and research in multiple sclerosis Amsterdam, Netherland. October, 20 2011.

16. 清水文崇, 佐野泰照, 安部真彰, 前田敏彦, 斎藤和幸, 春木明代, 松井尚子, 梶龍兒, 神田 隆: 多巣性運動ニューロパチー血清が血液神経関門に及ぼす影響の解析. 「難治性ニューロパチーの診断技術と治療法の開発に関する研究」班. 平成23年度班会議. 東京, 2011年12月2日.

17. 清水文崇, 斎藤和幸, 佐野泰照, 前田敏彦, 安部真彰, 春木明代, 神田 隆: 皮膚筋炎の病態解明に向けてのヒト筋肉由来血管内皮細胞株樹立の試み. 「自己免疫疾患に関する調査研究」班平成23年度班会議. 東京, 2011年12月9日.

18. 本田真也, 清水文崇, 古賀道明, 小笠原淳一, 尾本雅俊, 川井元晴, 神田 隆: 長期間にわたり脱髄を示唆する電気生理所見を呈したIgG抗GT1b抗体強陽性ギラン・バレー症候群の75歳男性例. 第91回日本神経内科地方会. 高知, 2011年12月10日.

19. 斎藤和幸. Bickerstaff型脳幹脳炎とMiller Fisher症候群の患者血清が血液脳関

門と血液神経関門に及ぼす影響の解析.

第23回日本神経免疫学会学術集会 (2011年9月15~17日, 東京)

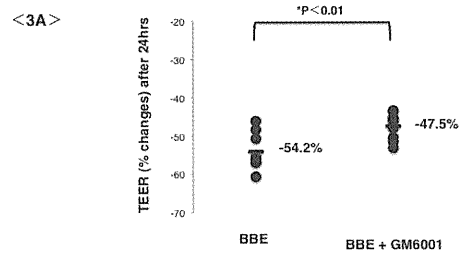
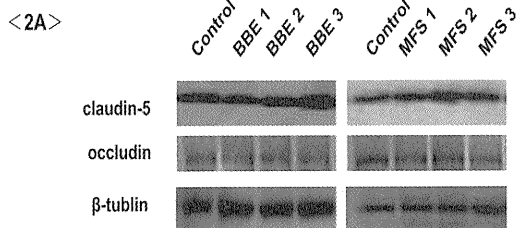
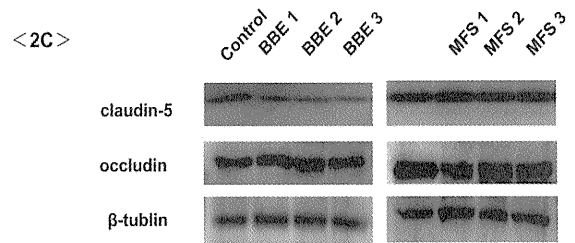
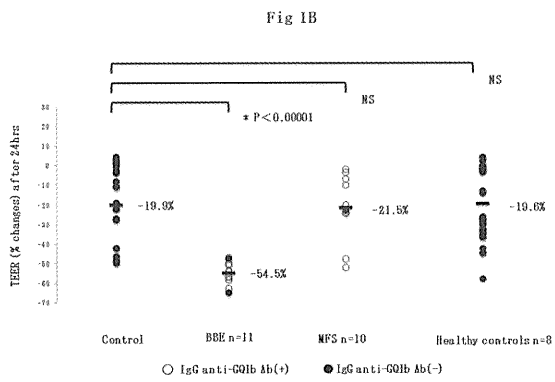
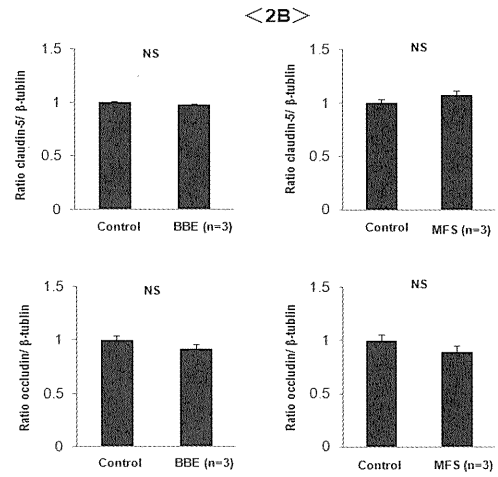
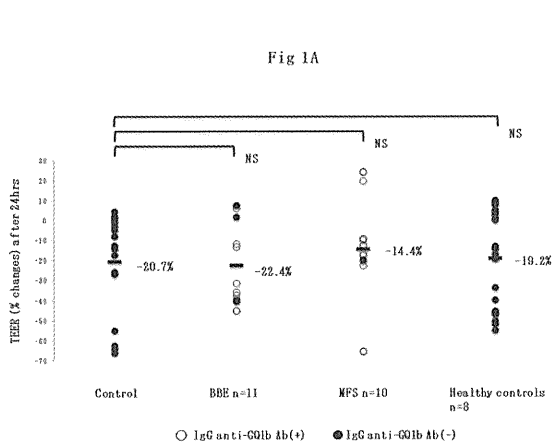
G. 健康危険情報

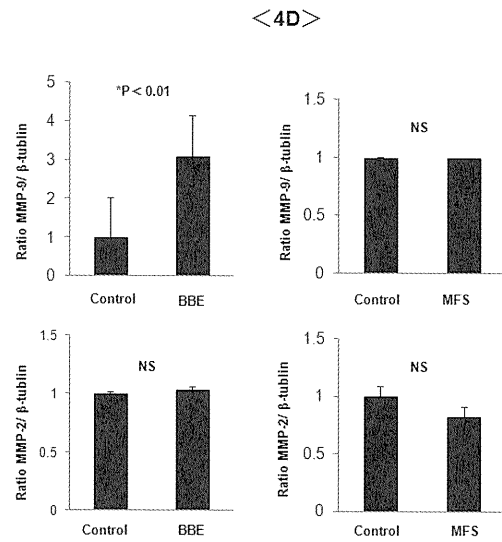
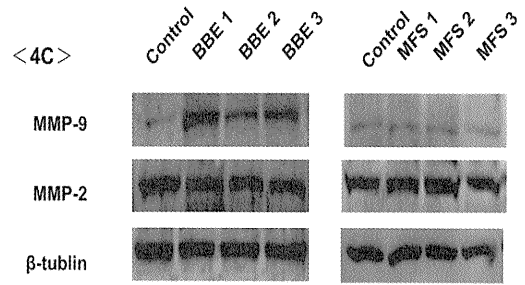
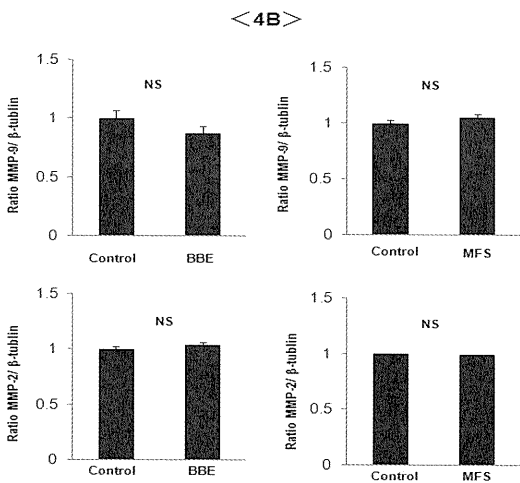
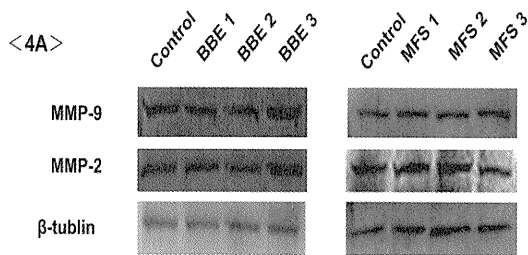
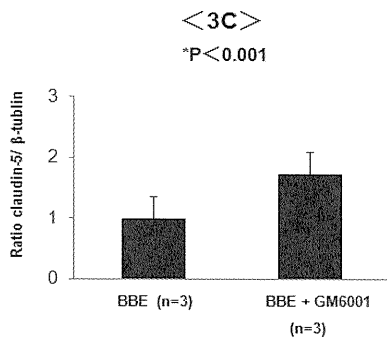
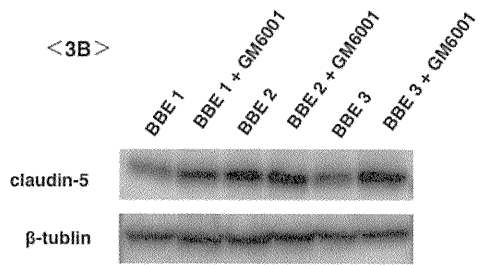
なし

H. 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





厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
「ビッカーstaff型脳幹脳炎の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究」
分担研究報告書

ビッカーstaff型脳幹脳炎における抗 GQ1b 抗体の反応特異性の検討

研究分担者 楠 進 (近畿大学医学部内科学講座神経内科部門教授)

研究要旨

抗 GQ1b IgG 抗体は、フィッシャー症候群(FS)をはじめとして、眼球運動障害・嚙下構音障害や運動失調を呈するギラン・バレー症候群(GBS)などの自己免疫性末梢神経障害にみられるが、意識障害を呈するビッカーstaff型脳幹脳炎(BBE)でも高率に陽性となる。一部の症例でのみ中枢神経障害を伴うことについて、抗体の微細な反応性の違いも関与している可能性を検討した。一定期間内に近畿大学神経内科に検査依頼のあった全ての抗 GQ1b IgG 抗体陽性例の抗体の反応性を検討した。その結果、BBE では、GT1a と比べて GQ1b により強く反応する抗体をもつ例が多く、GQ1b にフォスファチジン酸を加えた抗原に比べて GQ1b そのものにより強く反応する抗体をもつ例が多かった。すなわち BBE では GQ1b そのものに特異性の高い抗体の上昇が示唆され、そのような反応性をもつ抗体の上昇が、中枢神経障害をきたす要因のひとつと考えられた。

A. 研究目的

抗 GQ1b IgG 抗体は、フィッシャー症候群(FS)およびその不全型(眼球運動麻痺あるいは運動失調のどちらか一方のみ等)や、眼球運動障害・嚙下構音障害や運動失調を部分症状として呈するギラン・バレー症候群(GBS)などの自己免疫性末梢神経障害で高頻度に検出されるが、意識障害を呈するビッカーstaff型脳幹脳炎(BBE)でも高率に陽性となる。抗 GQ1b 抗体陽性血清では、糖鎖末端構造が同じである GT1a にも抗体活性がみられることが多く、それぞれの相対的な反応の強さは症例により異なる。また GQ1b 単独よりも、フォスファチジン酸(PA)の共存下でより強く反応する抗体もある。同じ GQ1b を標的とする抗体が上昇しながらも、一部の症例でのみ中枢神経障害を伴う原因が、抗体の微細な反応性の違いにある可能性を検討した。

B. 研究方法

2006年10月から2009年7月までに近畿大学神経内科に検査依頼のあった全ての抗 GQ1b IgG 抗体陽性例 347例(BBE(n=20)、MFS(n=197)、GBS(n=78)、その他(n=52))を対象とした。BBE、MFS、GBSの3群間で、また意識障害が有る群(+)と無い群(-)とで、a) GQ1bとGT1aに対する相対的な抗体活性の強さ、b) GQ1bとGQ1b+PAに対する相対的な抗体活性の強さ、c) GQ1b、GT1a、GQ1b+PAに対する抗体価について比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は近畿大学医学部の倫理委員会において承認を受けた。プライバシーの保護には十分に配慮した。

C. 研究結果

BBE と MFS は、抗 GQ1b 抗体価が抗 GT1a 抗体価より高い症例が 70% と 57.9% で、GBS の 38.5% と比べて高く ($p=0.015$)、BBE は抗 GQ1b 抗体価が +PA で増強する例が 35% で、MFS の 69.5% に比べて少なかった ($p=0.004$)。意識障害が有る例とない例とで、GQ1b と GQ1b+PA に対する抗体価に差はなかったが、意識障害がある例は抗 GQ1b 抗体価が PA 添加で増強する例が 35% で意識障害がない例の 62.7% と比べて少なかった ($p=0.026$)。

D. 考察

BBE または意識障害を伴う例では、GT1a と比べて GQ1b により強く反応する抗体をもつ例が多く、GQ1b+PA よりも GQ1b そのものにより強く反応する抗体をもつ例が多かった。すなわち GQ1b そのものに特異性の高い抗体の上昇が示唆された。こうした反応性をもつ抗体の上昇が、中枢神経障害をきたす要因のひとつと考えられる。

E. 結論

GQ1b そのものに特異性の高い抗体の上昇が、BBE の病態形成において重要と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ogawa G, Kaida K, Kusunoki S, Ueda M, Motoyoshi K, Kamakura K. Antibodies to ganglioside complexes consisting of asialo-GM1 and GQ1b or GT1a in Fisher and Guillain-Barré syndromes. *J Neuroimmunol* 2009; 214: 125-127.
2. Kaida K, Kusunoki S. Antibodies to gangliosides and ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: Mini-review. *J Neuroimmunol*, 2010; 223: 5-12.
3. Kusunoki S, Kaida K. Antibodies against ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and related disorders. *J Neurochem*, 2011; 116: 828-832
4. Kuwahara M, Suzuki S, Takada K, Kusunoki

S. Antibodies to LM1 and LM1-containing ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 2011; 239: 87-90.

5. 海田賢一、楠 進。神経疾患と分子マーカー：Guillain-Barré 症候群。 *Clinical Neuroscience* 28: 1400-1404, 2010
 6. 楠 進。GBS とガングリオシド複合体抗体—最近の知見—。 *Annual Review 神経* 2011 (鈴木則宏 他、編、中外医学社、東京) pp293-299, 2011
- ### 2. 学会発表
1. Kusunoki S. Gangliosides and ganglioside complexes as targets for neuroimmunological diseases. Second German-Japanese Neuroimmunology Symposium. July 9-12, 2009, Eibsee, Germany
 2. Kusunoki S. Gangliosides and ganglioside complexes as targets for Guillain-Barré syndrome. The Fourth ISN Special Neurochemistry Conference "Membrane Domains in CNS Physiology and Pathology", May 22-26, 2010, Erice, Italy
 3. Kusunoki S. Antibodies to glycoconjugates in autoimmune neuropathies. 42nd Annual Meeting of the American Society for Neurochemistry, March 19-23, 2011, St. Louis, USA
 4. Kusunoki S, Suzuki S, Ueda M, Kuwahara M. Clinical relevance of the fine specificity of IgG anti-GQ1b antibodies. 2011 Meeting of the Peripheral Nerve Society, June 25-29, 2011, Potomac, MD, USA
 5. Kusunoki S, Suzuki S, Ueda M, Kuwahara M. Clinical features associated with fine specificity of IgG anti-GQ1b antibodies. 136th Annual Meeting of the American Neurological Association, September 25-27, 2011, San Diego, CA, USA
 6. 楠 進。レビュートーク「神経免疫と臨床免疫：現在の到達点」：免疫性末梢神経疾患の基礎と臨床。第 22 回日本神経免疫学会学術集会 (2010 年 3 月 17 日～19 日、東京)
 7. 楠 進。ホットピックス：自己抗体からみたニューロパチー。第 52 回日本神経学会学術大会 (2011 年 5 月 18 日～20 日、名古屋)
 8. 鈴木聖子、桑原基、楠 進。抗 GQ1b 抗体の反応特異性と臨床徴候の関連。第 52 回日本神経学会学術大会 (2011 年 5 月 18 日～20 日、名古屋)
 9. 鈴木 聖子、桑原 基、上田 昌美、高田和男、楠 進。MFS、BBE、GBS における抗

GQ1b 抗体の反応特異性と臨床徴候との関連。第 23 回日本神経免疫学会学術集会 (2011 年 9 月 15 日～17 日、東京)

10. 楠 進。シンポジウム「機能性糖鎖:基礎から疾患まで」免疫性末梢神経障害と糖鎖に対する抗体。第 84 回日本生化学会大会 (2011 年 9 月 21 日～24 日、京都)

G. 健康危険情報

なし

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
3. その他:なし

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
「ビッカースタッフ型脳幹脳炎の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究」
分担研究報告書

ビッカースタッフ型脳幹脳炎の免疫病態の評価に関する研究

研究分担者 山村隆(国立精神・神経医療研究センター神経研究所
免疫研究部部長)

研究協力者 千原典夫、荒浪利昌(国立精神・神経医療研究センター神経研究所
免疫研究部)

研究要旨

Bickerstaff 型脳幹脳炎(BBE)は意識障害、眼筋麻痺、顔面神経麻痺、小脳性運動失調、錐体路症状などが亜急性の経過で進行する原因不明の中樞神経疾患で、その病態には自己抗体産生をはじめとする液性免疫の関与が示唆されている。自己抗体が関与する炎症性中樞神経疾患としては、視神経脊髄炎(NMO)が知られている。我々は NMO 末梢血では、通常型多発性硬化症および健常者と比較して、CD180 陰性 CD38 強陽性 CD27 陽性 CD19 弱陽性細胞が有意に増加しており、この分画は、プラズマブラストという特定の B 細胞であり、抗アクアポリン 4 抗体産生能を有することを明らかにした。末梢血 B 細胞に占めるプラズマブラストの頻度を測定することは、BBE の液性免疫病態の評価方法としても有用である可能性がある。

A. 研究目的

BBE は原因不明の中樞神経炎症性疾患であるが、血中に抗ガングリオシド抗体などの自己抗体が認められ、病態への関与が示唆されている。自己抗体が関与する炎症性中樞神経疾患としては、視神経脊髄炎(NMO)における抗アクアポリン 4 抗体(抗 AQP4 抗体)が知られている。本研究の目的は、抗体介在性中樞神経炎症性疾患のプロトタイプとして、NMO 末梢血検体を用いて、自己抗体産生細胞の末梢血での解析法を開発することである。

B. 研究方法

年齢のマッチした抗 AQP4 抗体陽性患者 24 例、CMS 患者 19 名、健常者 20 名を対象とした。末梢血単核細胞を分離し、蛍光標識抗体で染

色し、B 細胞亜分画の頻度を測定した。B 細胞亜分画をフローサイトメーターで精製分離し、*in vitro* で培養し、培養上清の抗 AQP4 抗体価を測定した。

倫理面への配慮: 書面による研究協力への同意を取得した。本研究は国立精神神経センター倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

健常者、CMS 患者と比較し、抗 AQP4 抗体陽性患者群において、CD180 陰性 CD38 強陽性 CD27 陽性 CD19 弱陽性 B 細胞の頻度が有意に増加していることが判明した。また、NMO のこの B 細胞分画はプラズマブラストであることが判明した。NMO プラズマブラストの培養上清にのみ、抗 AQP4 抗体活性を認めた。

D. 考察

今回 NMO 患者末梢血中で抗 AQP4 抗体産生能を有するプラズマブラストの増加を認めた。今回確立したフローサイトメリー技術を用いて、BBE 末梢血 B 細胞異常の有無を明らかにすることが重要であると考ええる。

E. 結論

NMO 末梢血において抗 AQP4 抗体産生能を有するプラズマブラストの増加を認めた。プラズマブラストの頻度測定は、BBE 液性免疫異常の評価方法として有用である可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Norio Chihara, Toshimasa Aranami, Wakiro Sato, Yusei Miyazaki, Sachiko Miyake, Tomoko Okamoto, Masafumi Ogawa, Tatsushi Toda and Takashi Yamamura. 2011. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 108(9):3701-6.

2. 学会発表

1. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Yamamura T: Plasma cell-like B cells produce aquaporin 4 autoantibody in neuromyelitis optica. Kyoto: Neuroimmunology Kyoto Conference 2010, August 21 2010.
2. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Yamamura T: Auto-reactive anti-aquaporin 4 antibodies

are secreted from peripheral plasma cell-like B cells in neuromyelitis optica. Kobe: 14th International Congress of Immunology 2010, Kobe, August 23 2010.

3. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Toda T, Yamamura T: Plasma cell-like B cells produce aquaporin 4 autoantibody in neuromyelitis optica. 10th International Congress of Neuroimmunology 2010, Sitges (Barcelona), Oct.29, 2010.
4. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Yamamura T. Interleukin 6 Signaling Enhances Anti-aquaporin 4 Autoantibody Production from Plasmablasts in Neuromyelitis Optica Federation of Clinical Immunology Societies (FOCIS) 11th annual meeting, Washington, June.24, 2011.
5. 千原典夫、佐藤和貴郎、荒浪利昌、宮崎雄生、三宅幸子、岡本智子、小川雅文、山村隆：視神経脊髄炎(NMO)におけるB細胞の役割について。第22回日本神経免疫学会学術集会、東京、2010年3月18日
6. 千原典夫、荒浪利昌、林幼偉、岡本智子、小川雅文、戸田達史、山村隆：視神経脊髄炎(NMO)におけるplasmablastsの関与。第23回日本神経免疫学会学術集会2011、東京、2011年9月17日

G. 健康危険情報

なし

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
3. その他:なし

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
「ビッカースタッフ型脳幹脳炎の診断及び治療方法の更なる推進に関する研究」
分担研究報告書

ビッカースタッフ型脳幹脳炎における感染症の関与の解明

研究分担者 古賀道明 (山口大学大学院医学系研究科神経内科学講師)
楠 進 (近畿大学医学部神経内科教授)
研究協力者 上田昌美 (近畿大学医学部神経内科)

研究要旨

ビッカースタッフ型脳幹脳炎(BBE)は、先行感染や血中抗ガングリオシド抗体、一過性の経過などの共通点からギラン・バレー症候群と類似する発症機序が推測される。ギラン・バレー症候群の主要な原因とされる4種の病原体の先行感染頻度は、BBEではわずかに約1割であることを明らかにした(平成21年度研究成果)。昨年度は、他の14種のウイルス・細菌感染につき網羅的に血清学検討を行い、急性期の感染が示されたのはBBE 29例中11例(38%)であり、対照群(33例中5例[15%])よりも高頻度であった($P=0.04$)。高頻度に急性期感染が示唆されたのは、水痘帯状疱疹ウイルス、*Haemophilus influenzae*、ムンプスウイルスの3種の病原体であり、それぞれBBE症例の10%でみられることが分かった(平成22年度研究成果)。本年度は、自験BBE例の糞便からサルモネラ属菌が分離されたことから、血中抗サルモネラ抗体測定系をELISAで樹立した。BBE例で本抗体を測定したが、本菌による先行感染が示唆されたBBE例を見出すことができなかった。昨年度までの結果を踏まえ、ギラン・バレー症候群と同様にBBEでは、感染症が発症に関与しているが、原因となる病原体はギラン・バレー症候群と大きく異なっていることが示された。

A. 研究目的

ビッカースタッフ型脳幹脳炎(BBE)は、先行感染や血中抗ガングリオシド抗体、一過性の経過などの共通点からギラン・バレー症候群(GBS)と類似する発症機序が推測される。GBSの主要な原因とされる病原体(*Campylobacter jejuni*、サイトメガロウイルス、Epstein-Barrウイルス、*Mycoplasma pneumoniae*)の先行感染頻度は、4種合わせてもBBEではわずかに約1割であることを平成21年度の研究成果として報告した。さらに昨年度は、残り約9割のBBE症例における先

行感染病原体を見つけ出すべく、他の14種のウイルス・細菌感染につき網羅的に血清学検討を行い、急性期の感染が示されたのはBBE 29例中11例(38%)であった。今回は、サルモネラ属菌腸炎後に発症したBBE/GBS合併例を経験したことから、BBE例における本菌感染の有無を検討した。

B. 研究方法

・症例提示:23歳女性。水様性下痢が3日間持続、その約3週間後、四肢の脱力感と歩行時のふらつき、しゃべりにくさ、複視が出現、

日ごとに症状が増悪するため当科緊急受診。受診時、意識障害(JCS-1)と両眼外転制限、両側眼瞼下垂、呂律緩慢があった。四肢筋力は上肢優位にMMT 4レベルと低下し、腱反射は上肢正常で両下肢では亢進、ふらつき強く歩行不可で四肢運動失調がみられた。血算・生化学検査、および髄液検査は正常で、脳MRI検査でも異常はみられなかった。神経伝導検査では上肢でF波の出現率が低下していた。GQ1bとGT1aに対するIgG抗体が陽性。入院後、IVIgを行うも意識障害や四肢筋力低下は進行、発症6日目頃に症状はピークとなり、以降は軽快した。Bickerstaff脳幹脳炎を合併したGBSと診断。入院時に採取した糞便より*S. Stanley* (YB-1)が分離培養された。咽頭培養では病原菌は検出されず、*C. jejuni* や *Haemophilus influenzae*、*M. pneumoniae*、サイトメガロウイルス、EBウイルスなどの血中抗体はいずれも陰性であった。

- ・対象:近畿大学医学部内科学講座神経内科部門に抗糖脂質抗体測定目的で送付されたBBE患者血清29例を対象とした。
- ・抗サルモネラ抗体:大量培養した*S. Stanley* (YB-1)をグリシン-塩酸緩衝液(pH 2.2)を用いて菌体外膜蛋白を抽出し、これをサルモネラ抗原(100ng/100 μ l PBS/well)として血中抗体(IgG/IgM/IgA)をELISAで測定した。健常者(N=104)の平均吸光度+3SD以上を陽性とし、IgG/IgM/IgAのうち2クラス以上が陽性を示す場合に「サルモネラ感染あり」と判定した。*S. Stanley* (YB-1)が分離された自験例では、この基準でIgGとIgAクラスの抗サルモネラ抗体が陽性であり、血清学的にも「感染あり」と判定された。
- ・倫理面への配慮:本研究の実施に際し、山口大学医学部附属病院医薬品等治験・臨床

研究等審査委員会および近畿大学倫理審査委員会の了承を得た。患者血清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。

C. 研究結果

対象BBE29例の中で、「サルモネラ菌の感染あり」と判定される症例は見つけ出すことはできなかった。

D. 研究結果

今回の検討では、サルモネラ属菌がBBEの主要な病原体であることを証明できなかった。独自に樹立した、血中抗体測定系の感度は確認できておらず、今回の結果により本菌とBBEとの関連を否定することはできない。しかし、分離株(YB-1)のリポ多糖上にGQ1bエпитープは検出できないことから(古賀ら、投稿準備中)、少なくとも分子相同性仮説の観点からは、本菌がBBEの原因病原体となりえるとは考え難い。

一方で、昨年度までの研究成果を踏まえると、GBSと同様にBBEでも感染症が発症に関与していることが示された。さらに、高頻度に急性期感染が示唆された病原体は水痘帯状疱疹ウイルスと*H. influenzae*、ムンプスウイルス、ヒト単純ヘルペスウイルスであった。オランダで行われた検討結果では、GBSにおける水痘帯状疱疹ウイルスや*H. influenzae*、ヒト単純ヘルペスウイルスの先行感染頻度はそれぞれ1%程度と報告されており(Jacobs et al. *Neurology* 1998; 51: 1110-1115)、ムンプス感染の先行感染頻度は明らかにされていない。これらの結果から、先行感染の観点からは、BBEはGBSと比べ多彩な病態であることが示された。