

GQ1b・GalNAc-GD1aの8種であり、これらの中の2種と組み合わせたGS複合体に対するIgG抗体も測定した。(血清量が僅少である例ではGBS症例はGM1・GD1a・GD1b・GT1b・GalNAc-GD1aのうち2種、FS症例はGM1・GD1a・GD1bのうち1種とGT1aもしくはGQ1bの組み合わせを測定) [IgGの精製] 急性期患者血清からMelon Gel Kitを用いてIgGを精製した。[IgGサブクラスの同定] IgG抗GS抗体のIgGサブクラス(IgG1・IgG3)に対する特異抗体を用いて同定。IgG1、IgG3、IgG1/IgG3陽性群の3群に分類した。IgG1・IgG3共に陰性の場合には検討対象から除外した。[補体活性化能の測定] 各患者の抗GS抗体のうち、最も高い補正OD値を持つ抗体に関して補体活性化能を評価した。各患者血清から精製したIgGをGSに反応させ、補体源として健常ドナー希釈血清を加えた。最終産物である膜障害性複合体(C5b-9)に対する抗体のOD値を測定し、陰性コントロール(健常ドナーの精製IgGを同様の手順で測定)を除いたものを補体活性化能とした。抗体価(OD)が0.1以上で補体活性化能(OD)が0.1以上の14例については、最も強い抗体価のGS以外に反応のあった全てのGS/GS複合体に対する補体活性化能も測定した。抗GS抗体IgGサブクラスと抗GS抗体活性、補体活性化能を各患者群の臨床症状と検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は防衛医科大学校の倫理委員会において承認を受けた。プライバシーの配慮に十分配慮した。

研究結果

GBSでIgG1群19名、IgG3群20名、IgG1/IgG3群12名、FSでIgG1群10名、IgG3群18名、IgG1/IgG3群2名(除外例GBS6例、FS5例)だった。FSのIgG1/IgG3陽性は2例と少数で、検討対象から除外した。抗GS抗体価は補体活性化能と正の相関関係をGBSで認めた($p<0.01$, 相関係数0.49)が、FSでは認めなかった($p=0.069$)。補体活性化能とGBSの臨床的重症度(F-score)は相関関係を認めず($p=0.68$)、サブクラスごとの解析でも相関はみられなかった。臨床症状はIgG1/IgG3陽性群は他群よりも年齢が若く、抗体活性が高く($p<0.05$)、補体活性化能も高値だった($p<0.05$)。IgG1群と比較し先行感染に消化管感染が多く($p<0.05$)、IgG3群と比較し脳神経障害を欠いていた($p<0.05$)。FSについては抗GS抗体サブクラスによる臨床症状の差はなかった。

補体活性化能が低値であった14例に対する追加検討では4例は対象以外のGS/GSCも含めて補体活性化能は低値で、8例では対象としていたGSに対して弱い陽性反応が見られた。2例では対象のGS/GSCには補体活性化能が見られず、それ以外のGS/GSCに補体活性化能が見られた。1例ではGM1, GD1a, GD1b, GalNAc-GD1aに対し抗体価ODはほぼ同程度ながら、補体活性化能ではGD1b、GalNAcGD1aに反応があるもののGM1、GD1aには反応がみられなかった。

考察

サブクラスによる先行感染症状の違いについては以前の報告¹⁻²⁾と異なっていたが、異なる

抗 GS 抗体プロファイルやサンプルサイズの違いが影響している可能性がある。GBS で抗 GS 抗体価と補体活性化能に正の相関を認めるが、F-score と補体活性化能の有意な相関がなく、補体活性化能の高さは重症度に相関しなかった。これは臨床的重症度には高齢、治療開始遅延、抗 GS 抗体毎の標的部位、補体非介在性神経障害といった多様な因子が影響しているためと考えられた。

また少数例において、抗 GS 抗体の抗体価が同程度でも補体活性化能に明らかな差がみられる場合があり、抗体価のみでは神経障害に最も関与する抗体を同定できない可能性が示唆された。今後、抗体の結合活性など補体活性化能を決定する要因を明らかにする必要がある。

結論

GBS、FS では補体活性化能と重症度は相関しなかった。GBS の重症度には補体活性化以外

にも多様な要因が関与しているものと考えられる。

文献

- 1) Jacobs BC, et al. Subclass IgG to motor gangliosides related to infection and clinical course in Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol* 2008; 194: 181-190.
- 2) Koga M, et al. Anti-GM1 antibody IgG subclass. A clinical recovery predictor in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2003; 60: 1514-18

健康危険情報

無し

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

抗 galactocerebroside 抗体陽性 Guillain-Barré 症候群の臨床的・電気生理学的検討

分担研究者 楠 進

共同研究者 ○寒川 真, 濱田征宏, 桑原 基, 鈴木秀和, 高田和男, 三井良之

研究要旨

Galactocerebroside (Gal-C)は中枢および末梢の髄鞘の主要な構成成分であり, Gal-C 抗体は動物実験では脱髄因子であることが示されている. また, Guillain-Barré syndrome (GBS) などの免疫性神経疾患の一部では急性期血清中に Gal-C に対する自己抗体が検出されることも知られており病態との関連が示唆されているが十分な検討は行われていない. 我々は抗 Gal-C 抗体陽性 GBS の臨床所見および電気生理学的所見を検討したところ, 感覚障害および自律神経障害を呈した症例が Gal-C 抗体陽性群で有意に多く認められた. また Gal-C 抗体の産生メカニズムと呼吸器感染の関連が示唆された. 抗 Gal-C 抗体陽性 GBS の電気生理学的分類に関しては対照群と比較して統計学的有意差は認めず, 既報告と同様で脱髄型が多いことが確認された.

研究目的

Galactocerebroside (Gal-C)は中枢および末梢の髄鞘の主要な構成成分であり, Gal-C 抗体は動物実験では脱髄因子であることが示されている. また, Guillain-Barré syndrome (GBS) などの免疫性神経疾患の一部では急性期血清中に Gal-C に対する自己抗体が検出されることも知られており, 病態との関連が示唆されているが, 抗 Gal-C 抗体陽性 GBS 多数例について十分な検討はまだ行われていない.

今回, 我々は抗 Gal-C 抗体陽性 GBS の臨床所見および電気生理学的所見を検討した.

研究方法

2006年6月から2012年6月の間に当科に GBS 病名で抗糖脂質抗体測定依頼があり, IgM あるいは IgG Gal-C 抗体価 (補正 OD 値) が 0.4 以上であった 48 例 (陽性群: 男性 25 例/女性 23 例, 平均年齢 48.3 歳(3 - 88)) につ

いて, 担当医にアンケート調査を実施し臨床的特徴を検討した.

重症度は Hughes らの functional grade (Lancet.1978) を用い評価した.

マイコプラズマ感染に関しては血清マイコプラズマ抗体 (PA 法) が 320 倍以上の場合を感染と判断した. また, 詳細な電気生理学的所見が得られた 40 例で Hadden らの基準 (Ann Neurol. 1998) および Ho らの基準 (Brain. 1995) を用い電気生理学的に検討した.

対照群として免疫性神経疾患に関する調査研究班の GBS 疫学調査における 188 例のデータを用了

(同調査研究班平成 23 年度報告書).

近畿大学医学部神経内科

(倫理面への配慮)

患者情報、および血液検体は匿名化し個人が特定できないように配慮した。個人の情報が表にで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

臨床所見では脳神経障害を呈した症例が Gal-C 抗体陽性群で 19 例 (40%) (内訳: 眼球運動障害/顔面神経麻痺/嚥下障害=5/8/11) であり、対照群の 87 例 (46%) (内訳: 眼球運動障害/顔面神経麻痺/嚥下障害=28/54/41) と比較して差は認めなかった。感覚障害を呈した症例が陽性群で 42 例 (88%) (内訳: 表在覚障害/深部覚障害/両方=30/3/10) であり、対照群の 129 例 (69%) (内訳: 表在覚障害/深部覚障害/両方=87/15/34) と比較して有意に高頻度であった。自律神経障害を呈した症例が陽性群で 13 例 (27%) であり、対照群の 22 例 (12%) と比較して有意に高頻度であった。人工呼吸器の使用頻度は陽性群で 7 例 (15%)、対照群で 27 例 (14%) と比較して差は認めなかった。最重症時の functional grade は陽性群で平均 3.35 ± 1.18 であり、陰性群の平均 3.25 ± 1.23 と比較して差は認めなかった。先行感染は Gal-C 抗体陽性群で 44 例 (91%)、内訳: 呼吸器/消化器/両方/その他=35/3/1/5) であり、対照群の 148 例 (79%)、内訳: 呼吸器/消化器/両方/その他=54/83/4/7) と比較して呼吸器感染が有意に高頻度であった。Gal-C 抗体価と重症度に相関は認められなかった。Gal-C 抗体陽性群中 21 例 (48%) で mycoplasma pneumoniae 感染が確認された。電気生理学的検討において Hadden の基準では陽性群で axonal 3 例, demyelinating 22 例, equivocal 17 例, normal 0 例, 対照群 axonal 19 例,

demyelinating 86 例, equivocal 69 例, normal 14 例であった。一方, Ho の基準では陽性群で AMAN 6 例, AIDP 20 例, unclassified 16 例, normal 0 例, 対照群で AMAN 34 例, AIDP 79 例, unclassified 75 例, normal 0 例でありどちらの基準でも両群間で有意差は認めなかった。Gal-C 抗体陽性群の中で他の抗糖脂質抗体も陽性であった症例が 8 例認められたが, 単独陽性群と比較して臨床的, 電気生理学的に差は認めなかった。

考察

感覚障害および自律神経障害を呈した症例が Gal-C 抗体陽性群で有意に多く認められた。Gal-C 抗体の産生メカニズムと呼吸器感染の関連が示唆された。抗 Gal-C 抗体陽性 GBS の電気生理学的分類に関しては対照群と比較して統計学的有意差は認めず, 既報告と同様で脱髓型が多いことが確認された。Gal-C 抗体陽性で軸索障害を呈する症例の病態についてはさらに検討が必要である。

結論

Gal-C 抗体陽性群は、感覚障害および自律神経障害を呈した症例が多く認められた。また、Gal-C 抗体の産生メカニズムと呼吸器感染の関連が示唆された。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録: なし

免疫性脱髄性末梢神経障害を鑑別するための神経サイズの検証

研究分担者 郡山達男¹⁾
共同研究者 杉本太路²⁾, 越智一秀²⁾, 細見直永²⁾, 上野弘貴²⁾,
中村 毅²⁾, 高橋哲也²⁾, 山脇健盛²⁾, 松本昌泰²⁾

研究要旨

われわれは神経超音波検査により, 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP) など神経サイズの拡大が検出できることを過去に報告している. この神経サイズの拡大をより正確に判定するためには, 測定値に影響を与える因子や測定系の信頼性の検証が必要である. 20 歳以上の健常日本人 60 名を対象とし, 超音波診断装置を用いて正中神経 5 か所, 尺骨神経 5 か所の神経断面積, 頸神経根 C5-C7 の直径を両側で測定するとともに年齢, 性別, 利き手, 身長, 体重, body mass index (BMI), 手首周囲径との関連を重回帰分析などで検証した. 信頼性の検討については Bland-Altman 解析と変動係数 (CV) を用いた. 平均神経サイズは正中神経: 5.6-9.1 mm², 尺骨神経: 4.1-6.7 mm², 頸神経根: 2.14-3.39 mm であった. 正中神経では測定部位, 性別, 身長, 手首周囲径, 尺骨神経では測定部位, 手首周囲径, 頸神経根では測定部位, 利き手, BMI との関係が認められた. 測定の信頼性が高い部位は正中神経: distal wrist crease, mid-humerus, 尺骨神経: arterial split, 頸神経根: 第 5 神経根であった (検者内誤差: CV 5.5-9.2%, 検者間誤差: CV 7.1-8.7%). これらの結果は基準上限近傍の神経サイズ拡大の判定や経過観察時の変化の判定に有用であり, 今後 CIDP などの末梢神経疾患の診断精度の向上が期待される.

研究目的

われわれは神経超音波検査により, 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP) など神経サイズの拡大が検出可能であることを今までに報告している¹⁾. 図 1 に健常人と CIDP 患者における神経根での神経サイズの例を示す. この神経サイズの拡大をより正確に判定する際には, 測定値に影響を与える因子や測定系の信頼性を考慮した検証が必要である. 測定値に影響を与える因子には測定部位や体格などが考えられるが, その影響の程度については controversial で一定の見解が得られていない. 神経サイズは正中神経や尺骨神経では一定であるという報告があるが^{2, 3)}, 肉眼解剖では部位によって異なることが推測される. さらに, 超音波による末梢神経サイズ測定の信頼性について詳細に検討した報告はない. 本研

究では健常人を対象に, 正中神経, 尺骨神経ならびに頸神経根において複数の測定部位にて神経サイズを測定し, その測定部位による違いや体格要素の影響を検討した. さらに, 測定部位毎の測定値の信頼性についても検証を行った.

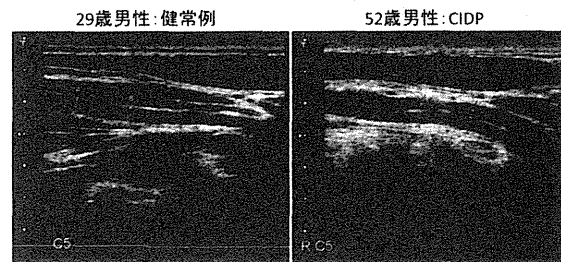


図 1. 健常例と CIDP 患者における神経根での神経サイズの違い

研究方法

対象は健常な 20 歳以上の日本人 60 名とした. 超音波診断装置は Toshiba SSA-770A を使用し, 7-14 MHz のリニアプローブを用いた. 神経断面

1) 広島市立広島市民病院 神経内科
2) 広島大学大学院 脳神経内科学

積は神経上膜をトレースし、その面積を求めた。両側正中神経、両側尺骨神経、両側頸神経根を測定対象とした。いずれの神経も複数の部位で測定した。正中神経は次の5か所を測定部位に選んだ：(1) distal wrist crease (MedWrist), (2) distal forearm (MedDist), (3) proximal forearm (MedProx), (4) antecubital fossa (MedElbow), (5) mid-humerus (MedArm)。尺骨神経は次の5か所を測定部位に選んだ：(1) distal wrist crease (UlnGuyon), (2) distal forearm (UlnDist), (3) arterial split (UlnProx), (4) tip of the medial epicondyle (UlnElbow), (5) mid-humerus (UlnArm)。頸神経根についてはC5, C6, C7の長軸像での断面距離を3か所測定し、その平均を直径と定義した。体格要素として、年齢、性別、利き手、身長、体重、body mass index (BMI)、手首周囲径を測定し、神経サイズとの関連を検討した。

検者内誤差を検証するため、一人の検者(T.S.)が対象者20人をそれぞれ2回ずつ測定した。同様に、検者間誤差を検証するため、二人の検者(T.S.とK.O.)が別の対象者20人をそれぞれ1回ずつ測定した。信頼性の指標にはBland-Altman解析と変動係数(CV)を用いた⁴。

各測定部位間の神経サイズの比較には、one-way analyses of varianceとTukey's honestly significant difference post-hoc検定を用いた。性差の有無についてはt検定を用いた。神経サイズの体格要素との関連についてはステップワイズ法(Fin = 0.05, Fout = 0.10)によって変数選択を行って多変量解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」に則って実施し、広島大学疫学研究倫理審査委員会の審査を受け承認を得ている。匿名化を行った上で解析を行うなど個人情報保護については十分な配慮を行った。

研究結果

対象者の基本情報は男性29名(年齢33.9±

6.6歳、身長1.72±0.07m、体重67.9±9.8kg、BMI22.9±3.1kg/m²、手首周囲径右17.1±0.9cm、左16.9±0.8cm)、女性31名(年齢36.9±11.9歳、身長1.56±0.06m、体重52.7±9.1kg、BMI21.7±4.0kg/m²、手首周囲径右15.1±0.7cm、左14.9±0.7cm)であった。神経サイズは正中神経で5.6-9.1mm²、尺骨神経で4.1-6.7mm²、頸神経根で2.14-3.39mmであった(図2)。

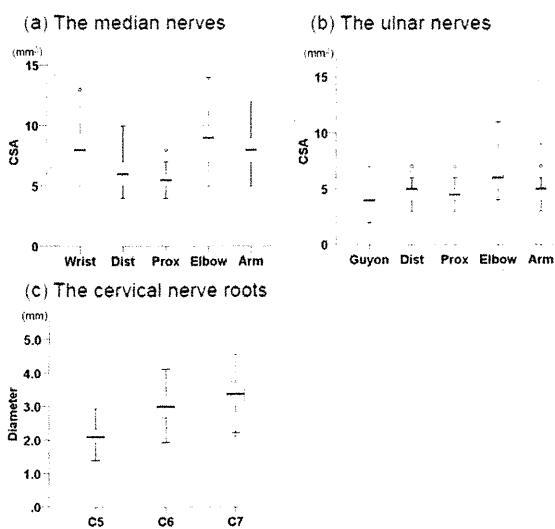


図2. 各測定部位における神経サイズ (CSA = cross-sectional area)

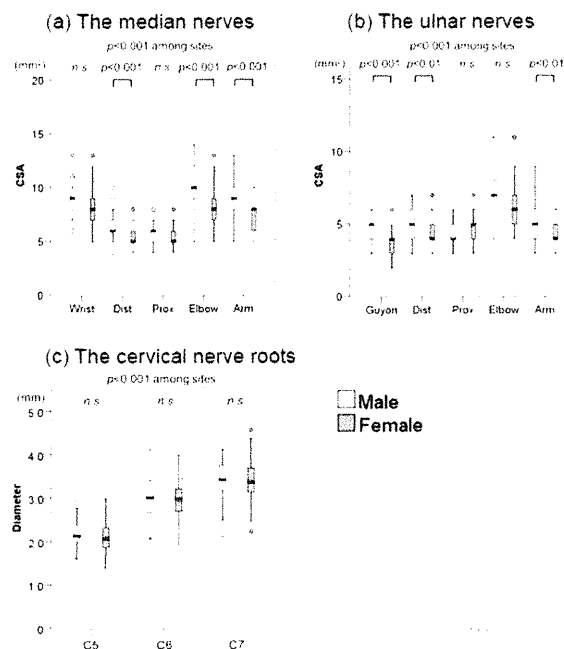


図3. 神経サイズの部位間差ならびに性差 (CSA = cross-sectional area)

正中神経においては、MedDist と MedProx における神経サイズが他の測定部位と比較して小さかった(図 3a; $F = 104.7$, $p < 0.001$; 両者とも $p < 0.001$)。尺骨神経における神経サイズは、UlnGuyon で最も小さく、UlnElbow で最も大きかった(図 3b; $F = 83.0$, $p < 0.001$; それぞれ $p < 0.05$ と $p < 0.001$)。頸神経根の神経サイズにおいては、C5 が最も小さく、C7 が最も大きかった(図 3c; $F = 276.9$, $p < 0.001$; 両者とも $p < 0.001$)。

正中神経、尺骨神経、頸神経根における神経サイズの体格要素との関連を評価するために多変量解析を行った。その結果、正中神経では測定部位、性別、身長、手首周囲径、尺骨神経では測定部位、手首周囲径、頸神経根では測定部位、利き手、BMI との関係が認められた。その標準偏回帰係数を表 1 に示す。

表 1. 正中神経、尺骨神経、頸神経根における神経サイズと体格に関する標準偏回帰係数

因子	正中神経 (n = 600)	尺骨神経 (n = 600)	頸神経根 (n = 358)
測定部位	0.157 †	0.309 †	0.765 †
性別	-0.254*	-	-
利き手	-	-	-0.130 †
年齢	-	-	-
身長	-0.197*	-	-
体重	-	-	-
BMI	-	-	0.096*
手首周囲径	0.211*	0.202 †	-

* $p < 0.01$; † $p < 0.001$.

測定の信頼性が高く、系統誤差も認めない部位は MedWrist(平均 CV: 検者内 8.4%, 検者間 8.8%), MedArm(平均 CV: 検者内 8.3%, 検者間 8.2%), UlnProx(平均 CV: 検者内 9.2%, 検者間 8.7%), C5(平均 CV: 検者内 5.5%, 検者間 7.1%) の 4 か所であった。

考察

神経サイズにより強く影響を与える体格要素を明らかにすることは、神経サイズ拡大の判定に

際して、基準上限近傍の神経サイズのより正確な評価につながる。また、測定部位毎の正確性や精度を把握することは、経過観察時の神経サイズの変化の判定を可能にする。

UlnElbow の神経サイズは肘を屈曲させて測定すると小さくなるという報告がある^{5,6}。したがって今回の検討で UlnElbow の神経サイズが他の部位よりも大きい理由として、肘を伸展させて測定したことが関連している可能性がある。頸神経根においては、特に C5 の神経サイズ測定に関して再現性が高い結果となったが、理由としてその形状が円柱に近いと考えられた。

本検討により、神経超音波検査においては、同一の末梢神経であっても、測定部位により異なる基準値を用いた上、さらに異なる体格要素を考慮すべきであることが判明した。CIDP では局所的な神経サイズの拡大が報告されているが⁷、CIDP 患者に対する超音波検査による神経サイズ拡大の判定の際には、上記項目を考慮に入れる必要があるものと思われた。

結論

末梢神経における神経サイズの超音波による評価の際には測定部位や体格要素などを考慮する必要がある。測定部位毎に信頼性も異なり、MedWrist, MedArm, UlnProx, C5 が高い測定の信頼性を示した。これらの知見により、神経超音波検査の CIDP を含めた末梢神経疾患への臨床応用が期待される。

文献

- 1) Matsuoka N, Kohriyama T, Ochi K, et al. Detection of cervical nerve root hypertrophy by ultrasonography in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. J Neurol Sci 2004;219:15-21.
- 2) Cartwright MS, Shin HW, Passmore LV, et al. Ultrasonographic reference values for assessing the normal median nerve in adults. J Neuroimaging 2009;19:47-51.
- 3) Cartwright MS, Shin HW, Passmore LV, et al. Ultrasonographic findings of the normal ulnar

nerve in adults. Arch Phys Med Rehabil 2007;88:394-6.

4) Ludbrook J. Statistical techniques for comparing measurers and methods of measurement: a critical review. Clin Exp Pharmacol Physiol 2002;29:527-36.

5) Okamoto M, Abe M, Shirai H, et al. Morphology and dynamics of the ulnar nerve in the cubital tunnel: Observation by ultrasonography. J Hand Surg Br 2000;25:85-9.

6) Thoires K, Williams MA, Phillips M. Ultrasonographic measurements of the ulnar nerve at the elbow: role of confounders. J Ultrasound Med 2008;27:737-43.

7) Scheidl E, Böhm J, Simó M, et al. Ultrasonography of MADSAM neuropathy: focal nerve enlargements at sites of existing and resolved conduction blocks. Neuromuscul Disord 2012;22:627-31.

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・バレー症候群患者血清における抗 ganglionic AChR 抗体の測定

研究分担者 松尾秀徳¹⁾

共同研究者 中根俊成^{1,2)}、樋口 理²⁾、東原真奈³⁾、海田賢一³⁾、濱田征宏⁴⁾、楠 進⁴⁾

研究要旨

抗 ganglionic アセチルコリン受容体 (gAChR) 抗体は自己免疫性自律神経節障害 (AAG) の病態において主たる役割を担っていると推測されている。我々は平成 23 年度本会議にて簡便、高感度、且つ定量性を備えた新規の抗 gAChR 抗体測定系確立を報告するとともに、全国からの抗体測定依頼を受ける態勢を整備した。抗 gAChR 抗体測定を含んだ AAG の臨床像解析と、自律神経障害を呈する他の神経疾患にこの抗体が関与する可能性についての検討を行い、AAG の臨床症状が非常に多様であること、self-limited な経過をたどる疾患ではないこと、ギラン・バレー症候群患者血清において本抗体陽性例が存在することを明らかにした。

研究目的

下記の 3 つが本研究計画の目的である。

1. 抗 gAChR 抗体陽性 AAG 症例の臨床像を明らかにする。
2. 抗 gAChR 抗体陽性 AAG 症例における各種治療に対する症状の変化と抗体価の関連について明らかにする。
3. ギラン・バレー症候群 (GBS) 症例における抗 gAChR 抗体陽性頻度を明らかにする。

※上記番号 1-3 は研究方法、結果、考察・結論における番号と対応している。

研究方法

1) 対象

1. 抗 gAChR 抗体陽性 AAG として 7 症例、抗 gAChR 抗体陽性ニューロパチーとして 2 症例を集積し、これらを臨床像解析の対象とした。
2. 抗 gAChR 抗体陽性 AAG 症例のうち、経過

- 1) 長崎川棚医療センター 神経内科
- 2) 長崎川棚医療センター 臨床研究部
- 3) 防衛医科大学校 内科 3 神経内科
- 4) 近畿大学 神経内科

が追跡可能であった 4 症例を対象とした。

3. 抗糖脂質抗体陽性 GBS (自律神経障害あり) 26 症例、抗糖脂質抗体陽性 GBS (自律神経障害なし) 20 症例、抗糖脂質抗体陰性 GBS (自律神経障害あり) 24 症例、抗糖脂質抗体陰性 GBS (自律神経障害なし) 10 症例を対象とした (合計 80 症例)。

2) 方法

本研究 1-3 では生物発光を利用したタンパク質間相互作用解析法であるカイアシルシフェラーゼ免疫沈降 (Gaussia Luciferase Immunoprecipitation: GLIP) を応用した検出法にて抗 gAChR 抗体 ($\alpha 3$ サブユニット、 $\beta 4$ サブユニット) 測定を行った。これに加え、

1. 臨床像解析として通常の疫学的項目のほか、経過、先行感染の有無、自律神経症状、自律神経機能検査、合併症、治療内容などの項目について調査した。
2. 免疫治療施行後の臨床症状の変化、抗体価の推移を治療反応性の観点から解析した。
3. 上記対象の GBS 80 症例について自律神

経障害の有無と種類、抗糖脂質抗体測定の結果について retrospective に情報を収集、解析した（*自律神経障害の有無については測定時に送付された書類中の担当医の記載による）。

（倫理面への配慮）

本研究に用いた患者血清については、各医療施設に設置された倫理委員会において承認された臨床研究計画書に基づき、本研究の主旨を十分に説明した上で同意書を取得済みである。本研究の実施について長崎川棚医療センター倫理委員会で承認を得て行った。

研究結果

1. 急性発症する症例、慢性に経過する症例が存在することを確認した。臨床症候としては起立性低血圧、腸管蠕動障害、発汗障害、排尿障害を高率に認めたが、一部では感覚障害や無月経を呈した症例もあった。体位性起立性頻拍症候群疑いの症例、慢性偽腸閉塞症の症例でも抗 gAChR 抗体陽性例が存在した。症状は他の診療科領域のものもあり、初診は神経内科ではないことが多い。α3 サブユニットに対する抗 gAChR 抗体は 7 例全例陽性、うち 1 例では β4 サブユニットに対する抗 gAChR 抗体も陽性であった。
2. 各種免疫治療により症状の改善、抗体価の低下を認めるが、治療効果が持続しない症例もある。抗体価の推移からは AAG は self-limited ではない可能性が示された。同一症例においても免疫治療が効果的な症状とそうでない症状がある。また同一症例において抗体活性は重症度を反映している。
3. GBS でも抗 gAChR 抗体陽性例が存在(9/80 症例、11.3%)。抗糖脂質抗体 (+) GBS (自律神経障害+) 群で最も多く抗 gAChR 抗体陽性

例が存在した (5/26 症例、19.2%)。抗 gAChR 抗体陽性 GBS 症例に共通の抗糖脂質抗体は認めなかった。

考察・結論

1. AAG や自律神経障害を呈するニューロパチーの疾患概念の再考も念頭に置き、全国規模の抗 gAChR 抗体測定を含む自律神経ニューロパチー調査の実施が必要と考える。
2. 複合的免疫治療の有効性が示されたが、免疫治療抵抗性の症例も存在する。治療における優先すべき順位や難治症例に対する治療を今後検討すべきである。また抗 gAChR 抗体測定以外の有用なパラメーターの探索も重要と考える。
3. GBS における自律神経障害に抗 gAChR 抗体が何らかの影響をもたらしている可能性が示されたが、GBS と AAG の病態（病変の起こる部位や機序）の相違も考慮する必要がある。今後、prospective に症例を蓄積し、自律神経障害を含む GBS の症状の変化と抗糖脂質抗体と抗 gAChR 抗体の抗体価の推移を解析することを計画している。

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

プロテオーム解析による GBS 患者血清中の自己抗体の検索

分担研究者 萩野美恵子¹⁾、

研究協力者 ○南 尚²⁾、長塩 亮^{2,3)}、金澤直美¹⁾、入江幸子¹⁾、佐藤雄一^{2,3)}

1) 北里大学医学部 神経内科学、2) 北里大学大学院医療系研究科 応用腫瘍病理学、
3) 北里大学医療衛生学部 臨床検査学

研究要旨

プロテオーム解析により Neuroblastoma、Schwannoma 由来細胞株から抽出した蛋白質を抗原に用いて、ギラン・バレー症候群 (Guillain-Barré Syndrome: GBS) の患者血清中の自己抗体を検出し、免疫標的抗原の同定を試みた。多発性硬化症 (MS) 群および正常コントロール (NC) 群と比較し、GBS/Fisher 症候群 (FS) 患者血清のみで自己抗体が反応を示す 40 スポット (39 種類) の抗原蛋白を同定した。その中から標的抗原候補として 6 種類の膜蛋白を合成し、多数例の血清を用いて Dot Blot 解析を行った。その結果、急性期の GBS/FS 患者血清では、MS、NC 群に比し、Annexin A1、Protein SET に対する自己抗体が有意に上昇していた。今後、さらに症例数を増やし、これらの自己抗体の疾患特異性、抗原分子の機能と疾患との関連を検討する。

研究目的

GBS では、先行感染の病原微生物との分子相同性により、抗神経抗体が産生され神経障害がおこると考えられている。高頻度に検出されるのは抗ガングリオシド (GGD) 抗体であるが、急性期の患者血清の約 60% に検出されるのみである。今回我々は、他の標的抗原を検索するためにプロテオーム解析により GBS 患者血清中の蛋白質抗原に対する自己抗体の探索を行い、疾患特異的抗原蛋白質の同定を試みた。

対象および研究方法

1) プール血清による抗原蛋白の質量分析
Campylobacter jejuni、サイトメガロウイルスの先行感染のない GBS/FS の急性期 (AP) 血清 8 (抗 GGD 抗体陽性 GBS 2 例、抗 GGD 抗体陽性 FS 2 例、抗 GGD 抗体陰性 GBS 4 例) および同一患者の回復期 (RP) 血清 (発症 3-7 年後、全例とも抗 GGD 抗体は陰性化) を用いた。対照として、MS 患者血清 4 例、NC 血清 4 例を用いた。

神経蛋白抗原として、ヒト

Neuroblastoma 由来細胞株 (SK-N-SH、LA1-5s)、ヒト Schwannoma 由来細胞株 (YST-1、HS-Sch-2) の 4 細胞株から可溶性蛋白質を抽出し、等量ずつ混合した試料をアガロース二次元電気泳動法で分離し、各グループ毎に作製したプール血清を一次抗体に用いた免疫ブロット法を行い、血清中の IgG 自己抗体を検出した。メンブレン上での自己抗体の反応を比較し、GBS/FS 患者血清のみに認められた反応について MALDI-TOF/TOF MS により抗原蛋白質を同定した。

2) 多検体用いた Dot Blot 解析

これまでの報告より、膜蛋白質が自己抗体の標的となりやすいと考えられていることから、同定した 6 種類の膜蛋白質に対応する合成蛋白質を作製し、GBS/FS の AP 血清 23 例および同一患者の RP 血清、MS 患者血清 12 例、正常コントロール血清 15 例を用いた Dot Blot 法により血清中に含まれる IgG 自己抗体の比較を行った。得られたシ

1) 北里大学医学部神経内科学
2) 北里大学医療系研究科応用腫瘍病理学
3) 北里大学医療衛生学部臨床検査学

グナル値は統計学的に解析を行った (Mann-Whitney U test ; $P < 0.05$)。

(倫理面への配慮)

本研究は北里大学の倫理規定を遵守し、倫理委員会の承認をえて行った。患者へのインフォームドコンセントのもと収集された検体を使用し、個人情報、プライバシーの保護には十分に配慮した。

研究結果

GBS/FS 患者血清群のみで自己抗体が反応を示す 40 スポット (39 種類) の抗原蛋白質を同定した。GBS/FS の AP のみで 6 種類、RP のみで 15 種類の蛋白質が認められ、21 種類は AP と RP に共通して認められた。同定した 6 種類の膜蛋白質 (Annexin A1, Protein SET, Pronibitin, Annexin A2, Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like, NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1) を標的抗原の候補として、蛋白質合成を合成し、多数例の血清を用いて Dot Blot 解析を行ったところ、AP の GBS/FS 患者血清では、MS、NC 群に比し、Annexin A1、Protein SET に対する自己抗体 (の存在量) が有意に上昇していたが、RP とは有意差を認めなかった (図 1、図 2)。他の 4 種類の自己抗体は、疾患群間で有意な差を認めなかった。

考案

GBS と FS はしばしば同じ抗原に対する抗体を有し、臨床的にも両疾患には連続性がある。今回、標的抗原を広くスクリーニングする目的で GBS と FS を合わせた数例の急性期プーリング血清を用いて候補抗原の検索を行った。その結果得られた候補抗原をタンパク合成し、より多くの症例の血清にて検索することで、網羅的にしかも効率よく標的蛋白抗原を絞り込むことができた。

Annexin A1、Protein SET はともに ホスホリパーゼ A2 の活性を阻害することで、抗炎症作用に関与することが報告されている。抗 Annexin A1 自己抗体は、MS や SLE においても報告があることから、病因とい

うよりは、二次的な炎症を反映して上昇している可能性が考えられた。

Protein SET は、調べた限りでは、疾患に関連した自己抗体の報告はなく、GBS の標的抗原であるか、さらに症例数を増やした解析により疾患特異性の評価が必要である。また、今後モノクローナル抗体を用いて末梢神経組織における認識部位と抗原蛋白質の局在 (、病原体との分子相同性) など、病態との関連を検討する。

結論

GBS/FS 患者血清中の自己抗体の検出を試み、39 種類の抗原蛋白質を同定した。抗 Annexin A1、抗 Protein SET 自己抗体はそれぞれ AP の GBS/FS 患者血清中に多く含まれていた。

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

図 1. 抗 Annexin A1 自己抗体の検出結果

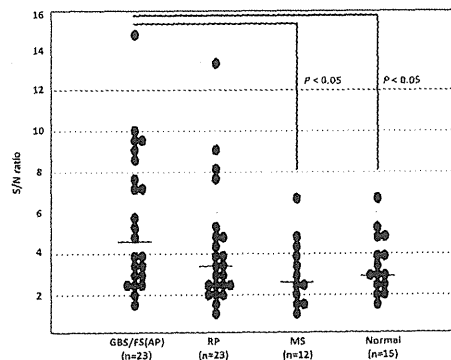
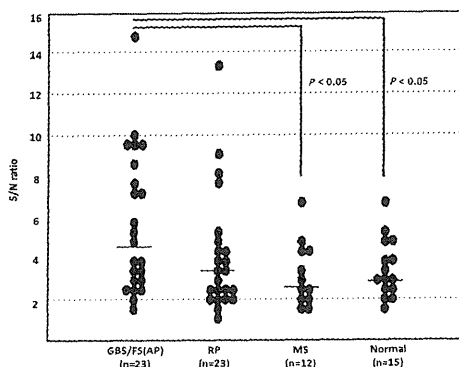


図 2. 抗 Protein SET 自己抗体の検出結果



プロテオーム解析を用いた脱髄型ギラン・バレー症候群の標的分子の探索

分担研究者 桑原聡¹⁾

共同研究者 澤井摂²⁾、佐藤守²⁾、森雅裕¹⁾、三澤園子¹⁾、野村文夫²⁾

研究要旨

ギラン・バレー症候群 (GBS) は軸索型と脱髄型の二大病型に分けられる。軸索型については抗グングリオシド抗体による発症機序がほぼ確立されているが、脱髄型では標的分子や病態機序は不明である。これまでの研究から、脱髄型 GBS の標的抗原は Schwann 細胞膜上に発現する分子が有望であると予想されている。本研究では、Schwannoma 細胞株 (YST-1) を用い、プロテオーム解析により脱髄型 GBS の免疫標的分子を同定し、発症機序を解明することを目的とした。

YST-1 より抽出した蛋白質を 2 次元電気泳動で分離し、ウエスタン・ブロットで先行感染がサイトメガロウイルス (CMV) と確定されている脱髄型 GBS 患者血清との反応をみた。反応がみられたゲル上のスポットを質量分析計で解析した結果、抗原候補として moesin が同定された。moesin に対する自己抗体の存在を多検体で検証するため、その合成蛋白質を用いて、GBS 40 症例、正常対照 46 症例、GBS 非合併 CMV 感染 5 例について、血清を 1 次抗体としたウエスタン・ブロットを行った。その結果、GBS 40 例中 7 例に抗 moesin 抗体が存在し、CMV 感染後の GBS は全体で 6 例であったが、そのうち 5 例と高率に抗 moesin 抗体がみられた。なお正常対照では 46 例中 2 例にみられ、GBS 非合併 CMV 感染では 5 例のうち抗体がみられたものはなかった。患者血清中 IgG と抗 moesin 抗体による免疫組織化学的検討では、YST-1 の distal tip の同一部位に、両者で反応がみられた。

CMV 感染後の脱髄型 GBS では抗 moesin 抗体がみられ、moesin が新規標的分子の候補である。

背景・研究目的

ギラン・バレー症候群 (GBS) は軸索型と脱髄型の二大病型に分けられる。これまでの研究において、軸索型 GBS ではキャンピロバクター菌体外膜上とヒト末梢神経軸索膜にグングリオシド GM1、GD1a 様構造が共通して発現していることから分子相同性による発症機序がほぼ確立されている¹⁾。一方脱髄型 GBS ではこれまで多くのミエリン構成蛋白質が標的分子として検討されたが、いずれも否定的な結果に終わっており、標的分子や病態機序は不明である。

Hafer-Macko らは脱髄型 GBS 症例の剖検所見で、Schwann 細胞の外層に沿って補体の沈着を認め、患者血清中の抗体が Schwann 細胞外層表面の標的分子に結合することで補体を活性化し、ミエリンの小胞性分解を引き起こし、マクロファージが集簇して障害されたミエリンを除去する、というメカニズムを推測した²⁾。すなわち、

²⁾千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学 Schwann 細胞膜上に発現する蛋白が標的分子として有望であると予想される。本研究では、Schwannoma 細胞株を用い、プロテオーム解析により脱髄型 GBS の免疫標的分子を同定し、発症機序を解明することを目的とした。

研究方法

Schwannoma 細胞株 (YST-1) より抽出した蛋白質を 2 次元電気泳動で分離し、ウエスタン・ブロットで先行感染がサイトメガロウイルス (CMV) と確定されている脱髄型 GBS 患者血清との反応を検討した。

血清が反応した蛋白質を同定するため、血清 IgG と反応がみられた箇所をゲルより切り出し、ゲル内トリプシン消化で得られた抽出物を質量分析計 (LTQ XL, Thermo Scientific) で解析した。

同定した蛋白質に対する自己抗体の存在を多検体で検証するため、その合成蛋白質を用いて、GBS 40 症例、正常対照 46 症例、GBS 非合併

¹⁾千葉大学大学院医学研究院神経内科学

CMV 感染 5 例について、血清を 1 次抗体としたウエスタン・ブロットを行った。

また、同定した蛋白質を Schwannoma 細胞株における局在を免疫染色で評価した。

倫理面への配慮

本研究に際しては、千葉大学大学院医学研究院および医学部附属病院の倫理規定を遵守して行った。血清検体の利用に関しては患者からはインフォームド・コンセントを得た。個人の情報は決して表に出ることがないように、またプライバシーの保護についても、十分に配慮した。

研究結果

2 次元電気泳動で分離した蛋白質のうち、患者血清と反応したスポットは 8 個みられ、質量分析計による解析で 6 つの蛋白質が得られた。免疫標的抗原は Schwann 細胞外表面に存在すると予想されるため、細胞膜に存在する蛋白質という条件で検討することで、抗原候補はひとつに絞られ、moesin が同定された。

多検体での検証では、GBS 40 例中 7 例に抗 moesin 抗体が存在し、そのうち 5 例は CMV 感染後の GBS であった。CMV 感染後の GBS は全体で 6 例であり、そのうち 5 例とかなり高率で抗 moesin 抗体がみられた。なお正常対照では 46 例中 2 例 (4%) にみられ、GBS 非合併 CMV 感染では 5 例のうち抗体がみられたものはなかった。患者血清中 IgG と抗 moesin 抗体による免疫組織化学的検討では、Schwannoma 細胞の distal tip の同一部位に、両者で反応がみられた。

考察

Moesin は ezrin、radixin と共に ERM ファミリーと呼ばれ、様々な細胞でアクチンフィラメントと細胞膜を接着する働きをしている³。Schwann 細胞では微絨毛に存在し⁴、ランビエ絞輪の形成に関与している⁵とされており、本研究の免疫組織化学の結果はこれを支持している。

CMV 感染後脱髄型 GBS では高頻度に抗 moesin 抗体が検出され、両者に関連があることが示唆された。また脱髄型 GBS の中でも先行感

染因子により標的分子が異なる可能性が示された。

結論

CMV 感染後の脱髄型 GBS では抗 moesin 抗体がみられ、moesin が新規標的分子である可能性がある。

文献

1. Yuki N & Kuwabara S. Axonal Guillain-Barre syndrome: carbohydrate mimicry and pathophysiology. *J Peripher Nerv Syst* 2007;12:238-249.
2. Hafer-Macko CE, Sheikh KA, Li CY, et al. Immune attack on the Schwann cell surface in acute inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Ann Neurol* 1996;39:625-635.
3. Tsukita S & Yonemura S. Cortical actin organization: lessons from ERM (ezrin/radixin/moesin) proteins. *J Biol Chem* 1999;274:34507-34510.
4. Melendez-Vasquez CV, Rios JC, Zanazzi G, et al. Nodes of Ranvier form in association with ezrin-radixin-moesin (ERM)-positive Schwann cell processes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:1235-1240.
5. Gatto CL, Walker BJ, Lambert S.. Local ERM activation and dynamic growth cones at Schwann cell tips implicated in efficient formation of nodes of Ranvier. *J Cell Biol* 2003;162:489-498.

健康危険情報

なし

知的所有権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録：なし

Fisher 症候群は免疫療法の適応となりえるか？

初診時の診断からみた検討

研究代表者 神田 隆

研究分担者 古賀道明、田崎彩子、大石真莉子、小笠原淳一、川井元晴

研究要旨

Fisher 症候群 (FS) は未治療でも転帰が良好で、免疫グロブリン大量静注療法など免疫治療を行う有用性は低いと考えられているが、これは経過を通じて四肢筋力低下や中枢神経障害を合併しなかった症例における知見に基づいている。本研究では、初診時の診断が FS (不全型も含む) であり経過中に Guillain-Barré 症候群や Bickerstaff 型脳幹脳炎へ移行する症例の割合を明らかにし、その予測因子を見つけることを目的に検討を行った。神経内科初診時の診断が FS (不全型も含む; 四肢脱力や意識障害を合併している例は除く) であった 27 例を対象に、前方視的に情報を収集した結果、FS 27 例中 5 例 (19%) で経過中に Guillain-Barré 症候群や Bickerstaff 型脳幹脳炎に移行していた。これら 5 例は他の 22 例と比較して入院時に他覚的な感覚障害がみられた頻度が有意に高かったが、年齢・性別、発症から初診時までの日数、先行感染症状、初発症状、入院時 Hughes 重症度、脳脊髄液所見、神経伝導検査、抗ガングリオシド抗体 (パターン・IgG サブクラス)、*Campylobacter jejuni*・*Haemophilus influenzae* による先行感染の頻度は二群間で有意差はなかった。本研究により、発症当初は FS と考えられても、結果的に免疫療法を早期に実施した方が望ましい症例が 2 割以上存在する。特に発症早期に他覚的な感覚障害 (主として四肢末梢部の触痛覚低下) が存在すれば、Guillain-Barré 症候群などへの移行を待たずに積極的に免疫療法を検討する根拠はあるものと考えられる。

研究目的

Fisher 症候群 (FS) は未治療でも転帰が一般に良好で免疫療法を行う有用性は低いと考えられている。これは経過を通じて四肢筋力低下を合併せず、かつ Bickerstaff 型脳幹脳炎 (BBE) へ移行しなかった症例に関しての知見に基づいており^{1),2)}、四肢脱力や中枢神経障害を合併した場合には Guillain-Barré syndrome (GBS) に準じて免疫療法を行うべきとの考え方がある。本研

究の目的は、初診時の診断が FS (不全型も含む) であった症例の中で、経過中に四肢脱力や中枢神経障害をきたす症例の割合を明らかにし、その予測因子を見つけることである。

研究方法

当科に入院ないし抗ガングリオシド抗体測定依頼のあった症例の中で、神経内科初診時の診断が FS (不全型も含む; 四肢脱力 [MMT 3 以下] や中枢神経障害を示唆する神経所見を呈する例は除く) であった 27 例を対象にした。臨床

経過に関して各主治医に情報提供を依頼した。22例(81%)の症例では入院後に免疫グロブリン大量静注療法が施行されていた。本研究では、四肢でMMT 3以下の筋力低下がみられた場合にGBSへの移行と判断した。BBEへの移行は、既報の診断基準を用いた³⁾。

(倫理面への配慮)

血清学的な検討に関して山口大学医学部倫理委員会による承認を得た上で、研究への協力を文書で説明し同意を得た。個人が特定できないようにサンプルを匿名化し、プライバシーの保護に配慮した。

研究結果

27例中5例(19%)で経過中に四肢脱力(N=5)や意識障害(N=1)がみられ、経過を通じた診断は、GBS(N=4)ないしBBE/GBSオーバーラップ(N=1)であった。これら5例全例で免疫グロブリン大量静注療法が施行されており、他の症例(N=22)と比べ、入院時に他覚的な感覚障害がみられた頻度が有意に高かった(60% vs 11%; P=0.048; オッズ比 12.0, 95%CI 1.2-121.6)。年齢・性別、発症から初診時までの日数、先行感染症状、初発症状、入院時 Hughes 重症度、脳脊髄液所見、神経伝導検査、抗ガングリオシド抗体(パターン・IgG サブクラス)、*Campylobacter jejuni*・*Haemophilus influenzae* に対する抗体頻度などは二群間で有意差はみられなかった。

考察

初診時の診断がFSやその不全型の症例において、免疫療法を行っても約2割の症例で経過中に四肢脱力の合併やBBEへの移行がみられた。つまり、当初はFSと考えられても、積極的な

免疫療法が望ましい症例が2割程度は存在することが示唆された。特に発症早期に他覚的な感覚障害(主として四肢末梢部の触痛覚低下)が存在すれば、GBSやBBEへの移行を待たずに積極的に免疫療法を検討する根拠はあるものと考えられる。今後は症例数が少なかったが、今後は症例数を増やし、発症早期に積極的な免疫療法を考慮すべき症例の特徴をさらに明らかにする必要がある。

結論

発症当初はFSと考えられても、免疫療法を早期に実施した方が望ましい症例が2割以上存在する。特に発症早期に他覚的な感覚障害が存在すれば、GBSなどへの移行を待たずに積極的に免疫療法を検討する根拠はあるものと考えられる。

引用文献

- 1) Mori M, Kuwabara S, Fukutake T, et al. Clinical features and prognosis of Miller Fisher syndrome. *Neurology* 2001; 56: 1104-1106.
- 2) Mori M, Kuwabara S, Fukutake T, et al. Intravenous immunoglobulin therapy for Miller Fisher syndrome. *Neurology* 2007; 68: 1144-1146.
- 3) Koga M, Kusunoki S, Kaida K, et al. Nationwide survey of patients in Japan with Bickerstaff brainstem encephalitis: epidemiological and clinical characteristics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83: 1210-1215.

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

MMN と ALS におけるサイトカイン・プロファイル～第 2 報～

班員 梶 龍兒¹⁾

共同研究者 古川貴大¹⁾、松井尚子¹⁾、藤田浩司¹⁾、和泉唯信¹⁾、清水文崇³⁾
宮本勝一²⁾、神田隆³⁾、高橋幸利⁴⁾、楠進²⁾

研究要旨

多巣性運動ニューロパチー (multifocal motor neuropathy:MMN) は、免疫学的機序が推定されているが、その詳細は未だ不明である。MMN の血清サイトカイン・プロファイルについて、臨床的に鑑別を要する疾患である筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) と比較することで検討した。MMN では血清で IL-1ra や TNF- α が有意に増加していた。髄液では MMN はサイトカインやケモカインの変動が乏しく、ALS とは有意差がある項目が多く、鑑別に有効な可能性がある。

研究目的

多巣性運動ニューロパチー (multifocal motor neuropathy:MMN) においては、GM1 などのガングリオシド抗体が検出されることや免疫グロブリン大量静注療法が有効なケースが存在することより、免疫学的機序が推定されている。しかし、その詳細は未だ不明であり、サイトカインに関してもほとんど報告がない。また、MMN は治療可能な疾患であるにもかかわらず、筋線維束攣縮があることや感覚症状の欠落により、筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) と誤診されることがある。昨年、我々はサイトカインと MMN の病態の関連性を ALS と比較して検討するため、MMN と ALS 患者における血清のサイトカイン・ケモカインを解析した。本年は、疾患群の症例数増加と疾患対照群の年齢調整を行った。

-
- 1) 徳島大学神経内科
 - 2) 近畿大学神経内科
 - 3) 山口大学神経内科
 - 4) 静岡てんかん・神経医療センター

研究方法

血清と髄液について、対照群、疾患群 (MMN、ALS) のサイトカイン・プロファイルを比較した。

血清について、疾患群は改訂 EFNS/PNS 診断基準を満たす MMN 15 例と改訂 El Escorial 診断基準を満たす ALS 16 例を登録した (MMN 群は年齢 41.0 ± 17.2 歳、男女比 13:2、罹病期間 5.71 ± 4.74 年。ALS 群は年齢 58.5 ± 9.6 歳、男女比 11:5、罹病期間 1.1 ± 0.8 年)。疾患対照として 15 例を登録した (年齢 38.1 ± 13.3 歳、男女比 7:8)。

髄液について、MMN12 例と ALS22 例、疾患対照 14 例を登録した (MMN 群は年齢

44.3±15.0 歳、罹病期間 5.2 ± 4.1 年。ALS 群は年齢 64.3±8.0 歳、罹病期間 1.21 ± 9.3 年。疾患対照群の年齢は 68.9 ± 10.4 歳)。

Bio-Plex suspension array system (Bio-Rad, San Francisco, CA) を用いて、3 群の血清中のサイトカイン・ケモカイン 27 種 (IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGFbasic, G-CSF, GM-CSF, IFN γ , IP-10, MCP-1, MIP1a, MIP1b, PDGFb, RANTES, VEGF, TNF- α) を測定した。髄液サンプルの ALS 群については ALSFRS-R も評価した。統計解析は Kruskal-Wallis test および Dunn's Multiple Comparison Test によった。

研究結果

- 1) 血清では MMN 患者は疾患対照と比較し、IL-1ra、TNF- α が有意に増加していた。また疾患対照や ALS 群と比較し、TNF- α が有意に増加していた。
- 2) 髄液では MMN 患者は疾患対照と比較し、IL-1ra のみが有意に増加していた。ALS と比較すると有意に増加しているものはなく、IL-4、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1b、RANTES、TNF- α が有意に低下していた。
- 3) 髄液では ALS 患者は疾患対照と比較し、IL-1ra、IL-4、IL-7、IL-12、Eotaxin、PDGF bb、RANTES が有意に増加していた。
- 4) 髄液では ALS 患者は IL-10、TNF- α 、FGF basic、G-CSF、MIP-1 β はそれぞれ正に相関していた ($r > 0.7$, $p < 0.001$)。一方、IL-10、TNF- α 、FGF basic、G-CSF については、GM-CSF が

負に相関していた ($r < -0.6$, $p < 0.01$)。MIP-1 β と罹病期間は正に相関しており ($r = 0.5702$, $p = 0.0333$)、疾患進行速度とは負の相関が疑われた ($r = -0.5165$, $p = 0.0586$)。

考察

血清では MMN 患者は IL-1ra や TNF- α が上昇していた。狩猟しえた中で唯一の MMN の血清についての報告で TNF- α が高値であったこと¹⁾や、AIDP の最重症期では TNF- α と sTNF-R が上昇しているとの報告²⁾と合わせて考えると、病変部で局所的に IL-1 β や TNF- α が病態に関与している可能性が示唆された。髄液では MMN はサイトカインやケモカインの変動は乏しく、ALS と有意差がある項目が多いことから、鑑別に有用な可能性がある。ALS では複数の項目に相関関係があり、そのうちの一つである MIP-1 β は既報告³⁾と同じく罹病期間と相関関係があり、また、有意差はなかったが疾患進行速度とも相関関係が認められた。MIP-1 β とは IL-10 や TNF- α 、FGF basic、G-CSF が正の相関関係を、GM-CSF が負の相関関係を認めた。ALS の疾患モデルマウスである SOD1 マウスでは進行が緩徐な早期相と急速な後期相があり、それぞれサイトカインやケモカインのバランスが大きく変動すると報告されている⁴⁾。また、上記のサイトカインについては、SOD1 マウスにてそれぞれ免疫促進もしくは免疫抑制に働くことが報告されている^{5), 6), 7)}。本研究における ALS 患者は ALSFRS-R で 39.8±5.5 と軽症のものが多く含まれており、SOD1 マウスの疾患モデルでは早期相に当たるものが多かった。この

時期は神経障害に関与する免疫促進性のサイトカイン、ケモカイン、血球増殖因子に対し、神経障害を抑制する免疫抑制性のものが十分反応できていると考えられ、本研究での TNF- α や IL-10 などの相関関係はこれを反映したものと考えられた。

結論

MMN 患者の血清では、IL-1 β と TNF- α が有意に上昇していた。髄液では MMN と ALS についてサイトカイン・プロファイルで有意差を多く認め、鑑別に有用である可能性があった。

文献

- 1) Terenghi F, et al.: Circulating levels of cytokines and their modulation by intravenous immunoglobulin in multifocal motor neuropathy. J Peripher Nerv Syst 11:67-71, 2006
- 2) Deng H, et al.: The role of IL-12 and TNF- α in AIDP and AMAN. Eur J Neurol 15: 1100-1105, 2008
- 3) Tateishi T, et al.: CSF chemokine alterations related to the clinical course of amyotrophic lateral sclerosis. J Neuroimmunol 222: 76-81, 2010
- 4) Beers DR, et al: Endogenous regulatory T lymphocytes ameliorate amyotrophic lateral sclerosis in mice and correlate

with disease progression in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Brain 134: 1293-1314, 2011

- 5) Thau N, et al: Prolonged survival and milder impairment of motor function in the SOD1 ALS mouse model devoid of fibroblast growth factor 2. Neurobiol Dis 47:248-257:2012
- 6) Yamasaki R, et al: Restoration of microglial function by granulocyte-colony stimulating factor in ALS model mice. J Neuroimmunol 229:51-62:2010
- 7) Parajuli B, et al: GM-CSF increases LPS-induced production of proinflammatory mediators via upregulation of TLR4 and CD14 in murine microglia. J Neuroinflammation 9:268, 2012

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

Japan SFEMG study、concentric needle を用いた SFEMG 正常値の構築：施設間差の検討

研究分担者 園生雅弘¹

共同研究者 国分則人²、今井富裕³、有村由美子⁴、桑原聡⁵、小森哲夫⁶、小林正人⁷、有村公良⁴

研究要旨

単線維筋電図 (SFEMG) は鋭敏な神経筋接合部の機能検査である。近年はディスプレイの同芯針電極を用いた SFEMG 検査 (CN-SFEMG) が近年広く行われているようになっているが、この検査の正常値の報告は多くない。我々は日本で多施設共同前向き研究を行い、CN-SFEMG の正常値構築を試みた。対象は 60 歳未満の健常者 69 例。Voluntary SFEMG (v-SFEMG) と stimulated SFEMG (s-SFEMG) をそれぞれ総指伸筋 (EDC) と前頭筋 (FRO) で施行し、outlier 法による個々の MCD のカットオフ値を計算した。その結果、+2 SD によるカットオフ値 (μs) は、EDC-V 53.5, EDC-S 52.7, FRO-V 52.3, FRO-S 46.5 となった。また主要 4 施設間での施設間差を検討したが EDC-V においては有意な差がなく、最も信頼できるデータと考えられた。本研究でのカットオフ値は、近年の CN-SFEMG についての報告の値より大きいのが、単線維針を用いた過去の報告とはよく一致していた。この解離の理由について考察した。

研究目的

単線維筋電図 (SFEMG) は重症筋無力症 (MG) 診断のための鋭敏な検査法として有用である。従来は単線維針電極が用いられていたが、近年、ディスプレイの同芯針電極 (CN 針) を用いた SFEMG 検査 (CN-SFEMG) が広く行われているようになっている。しかし、この検査の正常値の報告は多くない。我々は日本

で多施設共同前向き研究を行い、CN-SFEMG の正常値構築を試みた。

研究方法

(1) 対象：60 歳未満の健常者 69 例 (男性 53 例、女性 16 例)。Voluntary SFEMG (v-SFEMG) と stimulated SFEMG (s-SFEMG) をそれぞれ総指伸筋 (EDC) と前頭筋 (FRO) で施行した。各検査法毎の被検者数は、EDC の v-SFEMG (EDC-V) 56 例、EDC の s-SFEMG (EDC-S) 59 例、FRO の v-SFEMG (FRO-V) 56 例、FRO の s-SFEMG (FRO-S) 63 例であった。

(2) 方法：Velocity recovery function (VRF) jitter、composite potential, subthreshold

- 1) 帝京大学神経内科
- 2) 獨協医科大学神経内科
- 3) 札幌医科大学神経内科
- 4) 鹿児島大学神経内科・老年病学
- 5) 千葉大学神経内科
- 6) 独立行政法人国立病院機構箱根病院神経内科
- 7) 横浜国立大学経済学部