

201442069A

厚生労働科学研究委託費
難治性疾患実用化研究事業

免疫性ニューロパチーの治療反応性予測に基づく有効な治療戦略の構築

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 楠 進

平成 27 年 (2015) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、近畿大学 理事長 清水由洋が実施した平成26年度「免疫性ニューロパチーの治療反応性予測に基づく有効な治療戦略の構築」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

- 免疫性ニューロパチーの治療反応性予測に基づく有効な治療戦略の構築
楠 進（近畿大学・神経内科） 5

II. 委託業務成果報告（業務項目）

- ギラン・バレー症候群の臨床情報の集積
ギラン・バレー症候群の治療反応性および予後予測マーカーの開発
楠 進（近畿大学・神経内科） 11
- ギラン・バレー症候群のバイオマーカーの解析
LM1 抗体陽性 GBS の臨床的特徴
楠 進（近畿大学・神経内科） 14
- ギラン・バレー症候群のバイオマーカーの解析
ギラン・バレー症候群亜型における先行感染と転帰との関連
神田 隆（山口大学・神経内科） 17
- ギラン・バレー症候群のバイオマーカーの解析
糖脂質複合による抗原抗体反応増強機序に関する検討
千葉厚郎（杏林大学・神経内科） 19
- 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーの臨床情報の集積
CIDP の病態解明、治療法開発に向けた前向きコホート研究：臨床・ゲノム情報、生体試料リソース構築
祖父江元（名古屋大学・神経内科） 21
- 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーのバイオマーカーの解析
CIDP の治療反応性と予後不良因子の探索・モデルマウスを用いた試み
祖父江元（名古屋大学・神経内科） 23
- 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーのバイオマーカーの解析
慢性炎症性脱髄性多発根神経炎における髄液中 miRNA の網羅的発現解析
横田隆徳（東京医科歯科大学・脳神経病態学） 25
- ギラン・バレー症候群のバイオマーカーの解析
QT 延長がある急性期 Guillain-Barré 症候群では、球麻痺により気管挿管を来しやすい
野村 恭一（埼玉医科大学総合医療センター・神経内科） 27
- 慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーのバイオマーカーの解析
抗 neurofascin 155 抗体の慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー(CIDP)における意義と役割
吉良潤一（九州大学・神経内科） 30

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ●慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーのバイオマーカーの解析 中枢病変を伴う末梢神経障害患者（EMRN）に見られる抗中性糖脂質抗体の抗原特異性 武藤多津郎（藤田保健衛生大学・脳神経内科） | 33 |
| Ⅲ. 学会等発表実績 | 35 |
| Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷 | 59 |

I. 委託業務成果報告(総括)

免疫性ニューロパチーの治療反応性予測に基づく有効な治療戦略の構築

研究代表者 楠 進 近畿大学医学部神経内科 教授

研究要旨

ギラン・バレー症候群(GBS)および慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP)の診療ガイドライン(どちらも2013年発表)では、基づいたエビデンスは海外のものが大部分である。わが国と欧米では対象疾患の臨床的特徴が異なり、治療反応性にも違いがあることが予想される。また従来知見では回答できないクリニカルクエスチョン(CQ)が数多くある。そこで、オールジャパンの体制でわが国発のエビデンスを発信して、ガイドライン改訂につなげる必要がある。本研究では、班員各施設からのGBSおよびCIDPの臨床データ、および血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを集積して解析した。Retrospective studyでは欧米で発表されたmEGOSおよびEGRISはいずれも我が国のGBS症例においても、適用可能なスコアであることが示唆された。また、LM1抗体、糖脂質複合体抗体、心電図のQT時間延長、先行感染の種類などはGBSの、またNF155抗体、脳脊髄液のmicroRNA、中性糖脂質抗体などはCIDPの有用なマーカーとなる可能性が示された。さらにB7-2ノックアウトNODマウスはCIDPの動物モデルとして応用可能と考えられた。平成27年以降、prospectiveな検討および動物モデルのさらなる解析により、上記の結果をさらに検証し有用な臨床的指標を得て、ガイドライン改訂につなげることとする。

研究分担者

- ・池田修一(信州大学医学部内科学(脳神経内科、リウマチ・膠原病内科))
- ・荻野美恵子(北里大学医学部神経内科学)
- ・海田賢一(防衛医科大学校(内科学講座神経・抗加齢血管内科))
- ・梶 龍兒(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部感覚情報医学講座臨床神経科学分野)
- ・神田 隆(山口大学大学院医学系研究科脳神経病態学・神経内科学)
- ・吉良潤一(九州大学大学院医学研究院神経内科学分野)
- ・桑原 聡(千葉大学大学院医学研究院神経内科学)
- ・園生雅弘(帝京大学医学部神経内科学)
- ・祖父江 元(名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学)
- ・高嶋 博(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学)
- ・千葉厚郎(杏林大学医学部・臨床神経学・神経生化学・神経免疫学)
- ・野村恭一(埼玉医科大学総合医療センター神経内科)
- ・武藤多津郎(藤田保健衛生大学医学部脳神経内科学教室・神経内科)
- ・横田隆徳(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・神経内科学)
- ・松井 真(金沢医科大学神経内科学)

研究目的

「ギラン・バレー症候群(GBS)、フィッシャー症候群」および「慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー(CIDP)、多巣性運動ニューロパチー」に対する診療ガイドラインが2013年に発表された。しかし基づいたエビデンスは海外のものが大部分である。わが国と欧米では対象疾患の臨床的特徴が異なり、治療反応性にも違いがあることが予想される。さらに、これまで欧米で行われた大規模研究でも回答できないクリニカルクエスション(CQ)が数多くある。また GBS の難治例・重症例には、より強力な治療を考慮する必要があるが、そのマーカーは存在しない。CIDP では様々な新規治療法の導入が検討されているが、その適応を決めるマーカーも存在しない。以上より、オールジャパンの体制でわが国発のエビデンスを発信して、ガイドライン改訂につなげる必要がある。本研究では、班員各施設からの GBS および CIDP の臨床データ、および血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを集積して解析し、CQ の回答の手がかりとなる有用な臨床的指標を得て、ガイドライン改訂につなげることを目的とする。

研究方法

各班員施設のGBSの臨床データ（年齢、先行感染の種類、機能グレード尺度、MRC sumscoreなど）をretropectiveに収集し、欧米で作成された臨床的予後判定スコアであるmEGOSおよび呼吸不全予測スコアであるEGRISが我が国の症例にも適用可能か

どうかを検証した。

また GBS および CIDP について prospectiveに臨床データおよび血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを収集するために研究計画を作成して、倫理委員会に承認申請した。

また臨床的に有用なバイオマーカーの同定のために以下の検討を行った。

末梢神経ミエリンに局在する糖脂質であるLM1に対する抗体が陽性のGBSの臨床的特徴を解析した（楠）。

CIDP、GBS、多発性硬化症などの患者血中のneurofascin (NF) 155に対する抗体を測定して²、臨床的意義を検討した（吉良）

CIDP患者の脳脊髄液におけるmiRNAについて検討した（横田）。

GBS血中抗体の、糖脂質複合による反応増強機序を解析した（千葉）。

GBS急性期の心電図のQT時間と、気管挿管の必要性の関連について検討した（野村）。

中枢病変を伴う末梢神経障害患者（EMRN）における中性糖脂質抗体について検討した³（武藤）。

GBSの亜型であるフィッシャー症候群における先行感染について検討した（神田）。

慢性経過の炎症性脱髄をきたすB7・2ノックアウトNODマウスの臨床病理学的解析を行った（祖父江）

倫理面への配慮

それぞれの研究は各施設の倫理委員会の承認を受けて実施した。

研究結果

Retrospective な検討の結果、mEGOS は 6 か月の時点での歩行不能例の割合と、EGRIS は呼吸不全の割合と相関が認められた。

GBSおよびCIDPのプロスペクティブスタディの研究計画を作成し、それぞれコア施設での倫理委員会承認を得た。分担研究の各施設での倫理委員会承認を順次得ているところであり、承認が得られた施設では研究を開始した。LM1抗体陽性GBS症例では、呼吸器系の先行感染が多く、脳神経麻痺を呈する頻度が低かった。またLM1抗体のみが陽性であった症例では、軸索型の頻度が少なかった。

NF155抗体はCIDPの18%でみられた。その他の疾患ではGBSの26例中1例にみられたのみであった。臨床的には神経根の肥厚が顕著であり、ときに中枢神経病変の合併がみられた。

CIDP群と正常対照群で発現に有意差のあるmiRNAが5種類見出された。

GA1にガングリオシドを混合した抗原に抗体陽性となる症例で、GA1以外の中性糖脂質やceramideの混合で反応増強する例があり、また抗原量を漸減した条件で抗体価が増強する例もあった。

QT時間延長を認めたGBSでは全例で気管挿管が必要であった。

EMRNでは高頻度にLacCerなどの中性糖脂質に対する抗体上昇がみられた。

フィッシャー症候群で先行感染の違いにより臨床経過が異なる可能性が示唆された。

B7-2ノックアウトNODマウスの臨床および病理所見は、CIDPに類似していた。

考察

mEGOS および EGRIS はいずれも我が国の GBS 症例においても、適用可能なことが示唆された。平成 27 年以降、prospective な検討により、この結果をさらに検証する予定である。

LM1抗体陽性GBS症例の臨床的特徴は、LM1抗体陽性CIDP⁴と類似しており、LM1が末梢神経ミエリンに局在し、脳神経における含有量が比較的少ないことと関連すると考えられる。

CIDPの病態は均一ではないと考えられるが、NF155抗体は特徴的なサブグループのマーカーとなる可能性がある。また同抗体陽性のCIDPはIVIgの有効性が低く、血漿交換が有効であるとの報告もあり、その点の検証も今後の課題である。

脳脊髄液のmicroRNAの解析は、CIDPの補助診断検査となる可能性がある。

糖脂質の複合抗原に対する抗体の反応性に、スパーサー効果による抗体の抗原へのaccessibilityの亢進も関与する可能性がある。

QT時間延長は、GBSの診療においてきわめて重要な気管挿管の判断に有用なデータとなる可能性があり、今後本研究班のprospective studyで検討する必要がある。

LacCerなどの中性糖脂質に対する抗体は、NF155抗体と並んで、中枢神経障害を合併するCIDPにみられる可能性があり、さ

らに症例数を増やして今後検討する必要がある。

先行感染の種類が、GBSおよび関連疾患の臨床経過と関連する可能性がある。

B7-2ノックアウトNODマウスの病態をさらに検討することで、CIDPの病態解明の手がかりが得られる可能性がある

結論

1. GBS および CIDP の臨床データおよび各種試料をプロスペクティブに集積するための体制が構築された。
2. mEGOS, EGRIS などの臨床データに基づくスコアは、わが国の GBS においても、予後予測マーカーとして適用可能であることが示唆された。
3. LM1 抗体、糖脂質複合体抗体、心電図の QT 時間延長、先行感染の種類などは、GBS のタイプ、臨床経過や重症度のマーカーと

なる可能性がある。

4. NF155 抗体、脳脊髄液の microRNA、中性糖脂質抗体などは、CIDP の診断検査となる可能性があり、また特定の臨床的特徴との関連も示唆された。

5. B7-2 ノックアウト NOD マウスは CIDP の動物モデルとなる可能性がある。

文献

1. Mitsui Y et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2015; 86: 110-114
2. Kawamura N et al. Neurology 2013; 81: 714-722
3. Shima S et al. Neurology 2014; 82: 114-118
4. Kuwahara M et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013; 84: 573-575.

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

II. 委託業務成果報告(業務項目)

ギラン・バレー症候群の治療反応性および予後予測マーカーの開発

研究代表者 楠 進 近畿大学医学部神経内科 教授

研究要旨

ギラン・バレー症候群(GBS) (2013 年発表) では、基づいたエビデンスは海外のものが大部分であった。わが国と欧米では対象疾患の臨床的特徴が異なり、治療反応性にも違いがあることが予想される。また従来の見解では回答できないクリニカルクエスチョン(CQ)が数多くある。そこで本研究では、班員各施設からの GBS および CIDP の臨床データ、および血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを集積して解析し、ガイドライン改訂につなげることを目的とする。Retrospective study では欧米で発表された mEGOS および EGRIS はいずれも我が国の GBS 症例にも、適用可能であることが示唆された。Prospective study については、Japan GBS Outcome Study (JGOS)と名付けて、コア施設である近畿大学医学部倫理委員会の承認が得られた。現在分担研究者各施設で承認を得ている段階で、承認が得られたところから研究を開始している。平成 27 年度以降に、各種の臨床的スコアおよびバイオマーカーについて、その有用性を検証する予定である。

研究目的

「ギラン・バレー症候群(GBS)、フィッシャー症候群」に対する診療ガイドラインが 2013 年に発表された。しかし基づいたエビデンスは海外のものが大部分である。わが国と欧米では対象疾患の臨床的特徴が異なり、治療反応性にも違いがあることが予想される。さらに、これまで欧米で行われた大規模研究でも回答できないクリニカルクエスチョン(CQ)が数多くある。とくに GBS の難治例・重症例には、より強力な治療を考慮する必要があるが、そのマーカーは存在しない。

本研究では、班員各施設からの GBS の臨床データ、および血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを集積して解析し、有用な臨床的指標を得て、ガイドライン改訂につな

げることを目的とする。

研究方法

各班員施設の GBS の臨床データ (年齢、先行感染の種類、機能グレード尺度、MRC sumscore など) を retrospective に収集し、欧米で作成された臨床的予後判定スコアである modified Erasmus GBS Outcome Score (mEGOS) および呼吸不全予測スコアである Erasmus GBS Respiratory Insufficiency Score (EGRIS) が我が国の症例にも適用可能かどうかを検証した。

また prospective に GBS の臨床データおよび血清・脳脊髄液・遺伝子などのサンプルを収集するための研究計画を作成した。

倫理面への配慮

Retrospective study および prospective study は近畿大学医学部倫理委員会の承認を受けて実施した。

研究結果

Retrospective な検討の結果、mEGOS は 6 か月の時点での歩行不能例の割合を、また EGRIS は呼吸不全の割合と、よく相関した。

Prospective study については、Japan GBS Outcome Study (JGOS) (図 1) と名付けて、コア施設である近畿大学医学部倫理委員会の承認が得られた。現在分担研究者各施設で承認を得ている段階であり、承認が得られたところから研究を開始している。

考察

mEGOS および EGRIS はいずれも我が国の GBS 症例においても、適用可能なこと

が示唆された。

Prospective study も開始されており、平成 27 年度以降に、mEGOS や EGRIS を含めた各種臨床的スコア、および平成 26 年度の分担研究報告に記載の各種バイオマーカーについて、その有用性を検証する予定である。

結論

1. 臨床データに基づくスコアである mEGOS および EGRIS は、わが国の GBS においても、予後予測マーカーとして適用可能であることが示唆された。
2. Prospective study も開始されており、有用な臨床的指標および各種バイオマーカーが得られると考えられる。

健康危険情報

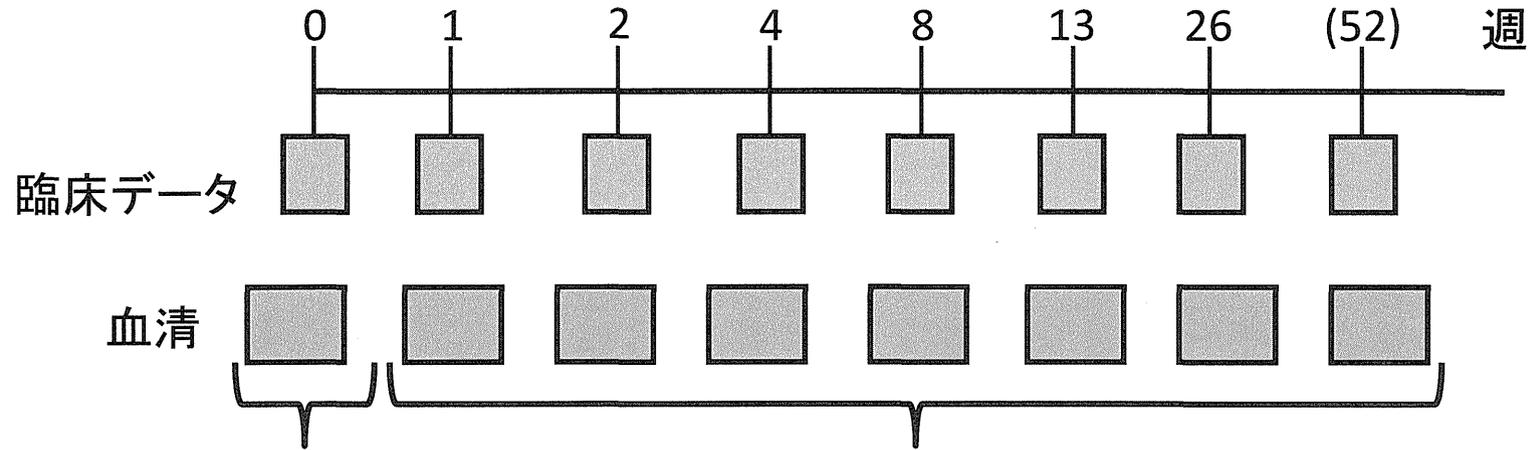
なし

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

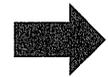
J-GOS プロトコール



必ず治療前!! プロファイル用スピッツで血液を12ml採取し、 $2000 \times g$ 、室温、10分遠心し、1mlずつ分注して保存(-80°C)

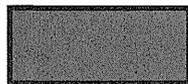
プロファイル用スピッツで血液を8ml採取し、 $2000 \times g$ 、室温、10分遠心し、1mlずつ分注して保存(-80°C)

DNA



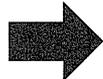
CBCスピッツ2本(4ml)採取

NCS



電気生理検査はエントリー時と、発症4週後に行う

髄液



2mlの髄液を分注、その後2時間以内に遠心($400 \times g$ 、室温、10分)、上澄みの2mlを保存(-80°C)

LM1 抗体陽性 GBS の臨床的特徴

研究分担者 楠 進

共同研究者 桑原 基、森川 みゆき、濱田 征宏、上野 莉乃、寒川 真、三井 良之

研究要旨

以前我々は GBS や CIDP において LM1 または LM1 を含む複合体に対する抗体が検出されることを報告したが、これまで LM1 抗体陽性 GBS 患者の臨床的特徴は十分に検討されていない。そこで、多数例の LM1 抗体陽性 GBS 患者の病型および臨床症状を解析し、LM1 抗体陰性 GBS 患者と比較検討した。抽出した連続 55 例の LM1 抗体陽性 GBS は、呼吸器系の先行感染が 29 例(53%)と多く、脳神経麻痺を呈したのは 18 例(33%)と少なかった ($p<0.05$)。電気生理学的検討では、AIDP19 例(37%)、AMAN7 例(14%)、unclassified25 例(49%)であった。しかしながら、LM1 以外の糖脂質に対する抗体が 55 例中 34 例(62%)でみられており、LM1 抗体のみが陽性であった GBS の電気生理学的検討をしたところ AIDP7 例(39%)、unclassified10 例(56%)で AMAN は 1 例(5%)のみであった。LM1 はヒト末梢神経ミエリンに局在する抗原であり、脊髄前根や後根に比べて脳神経系では含有量が少ない。LM1 抗体陽性 GBS は呼吸器系の先行感染が多く、脳神経麻痺を呈する頻度が少なく、特に LM1 に specific な抗体陽性の GBS は軸索型の頻度が少ない。これらの臨床的特徴は LM1 の局在・分布と相関している可能性がある。

研究目的

Guillain-Barré 症候群(GBS)では末梢神経ミエリンに豊富に局在する LM1 および LM1 を含む複合体に対する抗体がみられることがある¹⁾。また、LM1 関連抗体陽性の CIDP では脳神経麻痺の合併が少なく、運動失調を伴うことが多いが²⁾、LM1 抗体陽性 GBS の臨床的特徴は明らかになっていない。そこで、今回我々は LM1 抗体陽性 GBS を多数例で解析し臨床的特徴を検討した。

研究方法

2012 年 12 月から 2014 年 10 月の間で、当科に抗糖脂質抗体の測定依頼があった

GBS 症例の中で LM1 に対する IgG 抗体が陽性であった連続 55 例を抽出した。それらにおいて年齢、性別、先行感染、脳脊髄液中の蛋白値、臨床症状、電気生理学的分類、その他の糖脂質(GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1b, GQ1b, Gal-C, GalNAc-GD1a, GM1/GD1a, GD1a/GD1b, GM1/GalNAc-GD1a, GD1b/GT1b)に対する IgG 抗体の有無について調べた。比較対照群として、同期間における LM1 抗体陰性 GBS 連続 73 例を抽出し、これらの項目について LM1 抗体陽性 GBS 群と LM1 抗体陰性 GBS 群で比較検討した。糖脂質抗体は従来の方法にしたがって ELISA で測定した。

近畿大学医学部神経内科

倫理面への配慮

本研究は近畿大学倫理委員会の承認を受けて実施した。

研究結果

LM1 抗体陽性 GBS 群は年齢が中央値で 51 歳 [16-88]、男性 34 例、女性 21 例であり、脳脊髄液蛋白値は中央値が 49mg/dl [17-568]であった。先行感染は呼吸器感染が 29 例(53%)、消化器感染 9 例(16%)、呼吸器と消化器の混合感染が 3 例(5%)であり、対照群と比較して呼吸器感染の頻度が多かった。臨床症状は脳神経麻痺の合併が 55 例中 18 例(33%)で対照 GBS 群(52%)と比較して頻度が少なかった($p<0.05$)。感覚障害は 55 例中 31 例(56%)でみられ、対照 GBS 群(74%)と比較して少なかったが($p<0.05$)、対照群では異常感覚のみを呈している例が多く、実際に表在感覚低下や深部感覚障害を呈する頻度に差はなかった。また、運動失調、自律神経障害、人工呼吸器装着の頻度、重症度(Functional Grade)は対照群と有意差をみとめなかった。

LM1 以外の糖脂質に対する抗体は 55 例中 34 例(62%)でみられ、中でも GD1b に対する抗体が 18 例(33%)、GD1a に対する抗体が 14 例(25%)、GM1 に対する抗体が 11 例(20%)と多くみられた。

電気生理学的所見が得られた 50 例を Ho の基準で分類したところ、AIDP19 例(37%)、AMAN7 例(14%)、unclassified24 例(25%)であり対照群と差をみとめなかったが、LM1 抗体のみが陽性であった GBS 症例で検討したところ、AIDP7 例(39%)、

unclassified10 例(56%)であり、AMAN は 1 例(5%)のみであった。

考察

LM1 はヒト末梢神経ミエリンに局在する抗原であり、脊髄前根や後根に比べて脳神経系では含有量が少なく、LM1 関連抗体陽性 CIDP では脳神経麻痺の合併が少ない特徴がある。LM1 は基本骨格がガングリオシド系列と異なるネオラクト系列であるが、末端にシアル基を有しており構造がガングリオシドと類似している。したがって末端に共通の糖鎖構造を有する GD1a や GT1b に対する抗体もしばしば同時に検出されることがある。また、LM1 抗体陽性 GBS の電気生理学的特徴は一定の見解が得られていないが、LM1 に specific な抗体陽性例が AIDP を呈するとの報告がある。

本研究においても LM1 抗体陽性 GBS では脳神経麻痺の合併が少なく、LM1 抗体のみが陽性であった GBS では AMAN は 1 例のみであった。

結論

1. LM1 抗体陽性 GBS の臨床的特徴は呼吸器系の先行感染が多く、脳神経麻痺を呈する頻度が少ない。
2. 特に、LM1 に specific な抗体陽性の GBS は軸索型の頻度が少なく LM1 の局在・分布と相関する。

文献

1. Kuwahara M et al.
J Neuroimmunol.2011;239:87-90.
2. Kuwahara M et al.
J Neurol Neurosurg Psychiatry.
2013;84:573-575.

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・バレー症候群亜型における先行感染と転帰との関連

分担研究者 神田 隆¹⁾

共同研究者 古賀道明¹⁾ 藤川 晋¹⁾ 前田敏彦¹⁾ 小笠原淳一¹⁾ 川井元晴¹⁾

研究要旨

フィッシャー症候群(FS)では、先行感染として *Campylobacter jejuni* 腸炎と *Haemophilus influenzae* 感染との疫学的な関連が示されている。本研究では、これらの感染症後に発症するFSの臨床像に関して、神経内科初診時の診断がFS(不全型も含む)であった33例を対象に検討した。FS 33例中 *H. influenzae* 感染の先行が9例(27%:Hi群)で、*C. jejuni* 感染が5例(15%:Cj群)で確認された。Hi群は、上気道感染症状ののちに複視で発症することが多く、初診時に顔面神経麻痺のみられることが他群と比べ稀である傾向を示した。Cj群は、胃腸炎症状が先行し、初発症状として羞明の頻度が比較的高いことが特徴的で、他群よりも初診時に運動失調がみられる頻度は低く、Hughes重症度も低かった。さらにCj群は、経過を通じてFSの三主徴を全てきたすことは稀であり、ピーク時の重症度も低かった。一方、両感染の先行が確認できなかった症例(N=19:UD群)は、初診時および経過を通じて眼筋麻痺以外の脳神経麻痺症状(顔面神経麻痺、球麻痺)や四肢筋力低下をきたすことが多く、自力歩行不能になる割合が高い傾向にあった。ガングリオシド抗体の頻度・パターンは各群で差はなかったが、IgGサブクラス解析において、Hi群とCj群はIgG1が主体であったのに対し、UD群はIgG3が主体であった。ギラン・バレー症候群と同様にFSでも先行感染により臨床像が規定されていることが示唆された。ただし、*C. jejuni* 腸炎の先行が予後不良因子であるギラン・バレー症候群と異なり、FS(不全型を含む)として発症した場合には *C. jejuni* 腸炎は転帰不良因子とは言えないと考えられる。ガングリオシド抗体のIgGサブクラスパターンは、*H. influenzae* と *C. jejuni* が類似する機序でFSを惹起している一方で、FSの大部分を占める、原因病原体未同定の症例においては、これら二細菌以外とは異なる病態機序を有していることを示していると考えられた。

研究目的

ギラン・バレー症候群(GBS)では、*Campylobacter jejuni* 腸炎の先行が高度の後遺症の予測因子とされ、また、各種先行感染因子によって臨床像に違いがみられる。一方、GBSの亜型であるフィッシャー症候群(FS)では、先行感染病原体として *C. jejuni* 腸炎と

Haemophilus influenzae 感染との疫学的な関連が示されているが、FSにおいて先行感染因子を同定する意義は明らかにされていない。本研究では、GBSと同様にFSにおいても先行感染因子が臨床像や転帰に関連するか明らかにすることを目的とする。

研究方法

・対象:当科に入院ないし抗ガングリオシド抗体

1) 山口大学大学院医学系研究科神経内科学

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)であった33例を対象にした。

- ・先行感染の同定: 血中抗体¹⁾と咽頭・便培養の結果により両先行感染の有無を判定した。
- ・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

FS 33 例中 *H. influenzae* 感染の先行が 9 例 (27%:Hi 群) で、*C. jejuni* 感染が 5 例 (15%:Cj 群) で確認された。Hi 群は、上気道感染症状 (100% vs 48%; $P=0.01$) ののちに複視 (100% vs 58%; $P=0.03$) で発症することが多く、初診時に顔面神経麻痺のみられることが他群と比べ稀である傾向を示した (0% vs 32%; $P=0.15$)。Cj 群は、胃腸炎症状 (100% vs 26%; $P=0.004$) が先行し、初発症状として羞明 (40% vs 3.6%; $P=0.053$) の頻度が比較的高いことが特徴的で、他群よりも初診時に運動失調がみられる頻度は低く (40% vs 89%; $P=0.03$)、Hughes 重症度も低かった (中央値 1 vs 3; $P=0.004$)。さらに Cj 群は、経過を通じて FS の三主徴を全てきたすことは稀であり (0% vs 61%; $P=0.02$)、ピーク時の重症度も低かった (中央値 1 vs 3; $P=0.02$)。一方、両感染の先行が確認できなかった症例 (N=19:UD 群) は、初診時および経過を通じて眼筋麻痺以外の脳神経麻痺症状 (顔面神経麻痺、球麻痺) や四肢筋力低下をきたすことが多く、自力歩行不能になる割合が高い傾向にあった (61% vs 31%; $P=0.058$)。脳脊髄液や神経伝導検査の所見は、各群で差はなかった。ガングリオシド抗体の頻度・パターンも各群で差はなかったが、IgG サブクラス (IgG1-4) の解析において、Hi 群と Cj 群は IgG1 が主体であったのに対し、UD 群は IgG3 が主体であった。Hughes 重症度を用いての転

帰の評価では、各群のほぼ全例で良好な経過をとっていた。

考察

GBSと同様にFSでも先行感染により臨床像が規定されていることが示唆された。ただし、*C. jejuni* 腸炎の先行が予後不良因子であるGBSと異なり、FS(不全型を含む)として発症した場合には *C. jejuni* 腸炎は転帰不良因子とは言えないと考えられる。一般にFSに対して免疫治療は不要と考えられている一方で、GBSやビッカーstaff型脳幹脳炎へ移行した場合には免疫治療を速やかに開始することが好ましいと考えられている。今後、FSとして発症した症例において、免疫治療を開始すべきかどうかの指標として先行感染因子が有用であるかについて検討する予定である。

ガングリオシド抗体のIgGサブクラスパターンは、*H. influenzae*と*C. jejuni*が類似する機序でFSを惹起している一方で、FSの大部分を占める、原因病原体未同定の症例においては、これら二細菌以外とは異なる病態機序を有していることを示していると考えられた。

結論

GBSと同様にFSでも先行感染により臨床像が規定されていることが示唆された。FS(不全型を含む)として発症した場合には *C. jejuni* 腸炎は転帰不良因子とは言えないと考えられる。

引用文献

- 1) Koga M, Gilbert M, Li J, et al. Antecedent infections in Fisher syndrome: a common pathogenesis of molecular mimicry. *Neurology* 2005; 64: 1605-1611.

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

糖脂質複合による抗原抗体反応増強機序に関する検討

協力研究者 千葉厚郎

共同研究者 内堀 歩

研究要旨

Guillain-Barré 症候群 (GBS) で報告されている糖脂質複合による抗原抗体反応の増強現象の機序を検討した。Asialo-GM1 (GA1) を含む複合体抗体陽性の GBS/FS 症例の急性期血清を用いて、GA1 と構造的共通部分を有する中性糖脂質、あるいは ceramide を混合し抗体活性を測定した。GA1 以外の中性糖脂質や ceramide の混合によっても、反応が増強する症例がみられ、GA1/GQ1b 抗体陽性の 16 例中 5 例で GA1 混合時と同等またはそれ以上の強い反応を示した。さらにまた、ceramide 混合で反応増強を示した血清を用いて抗原量を漸減した条件での抗体活性を検討した。抗原量の漸減により抗体価が低下する症例だけではなく、抗原量の漸減によっても抗体価が増強する、または反応が低下した後に増強する症例もみられた。糖脂質複合による反応増強には複数の機序があり、そのひとつの可能性として、スパーサー効果による抗体の抗原への accessibility の改善という機序が示唆された。

研究目的

Guillain-Barré 症候群症例における糖脂質複合による抗原抗体反応の増強現象に関して、中性糖脂質の構造的影響を明らかにすることを目的に、その機序を検討した。

研究方法

Asialo-GM1 (GA1) に GQ1b, GD1a, GD1b のいずれかを混合した複合体抗体が陽性である GBS および Fisher 症候群 (FS) の急性期血清を対象とし、GQ1b, GD1a, GD1b に GA1 またはそれと構造的共通部分を有する中性糖脂質 asialo-GM2, globoside, trihexosylceramide, paragloboside, glucosaminyl lactosylceramide, lactosylceramide, glucosylceramide, あるいは ceramide を混合して固相化し抗体活性を測定した。さらに ceramide の混合によ

り反応が増強した症例について、ELISA で固相化する抗原量を 1 well 当たり通常の 200ng から 12.5ng まで 1/2 系列で減量し、抗体価を測定した。

研究結果

(1). GA1 に GQ1b, GD1a, GD1b を混合した複合体抗体が陽性である GBS 症例において他の中性糖脂質を混合した場合の抗体活性の検討: GA1/GD1a 抗体陽性 11 例のうち 4 例で GA1 以外の中性糖脂質あるいは ceramide の混合によっても抗体反応の増強を認めた。同様に GA1/GD1b 抗体陽性 11 例のうち 4 例で、GA1 以外の中性糖脂質あるいは ceramide の混合によっても抗体反応の増強を認めた。しかし、これらの症例では、その増強の程度は GA1 混合時に比し弱かった。GA1/GQ1b 抗体陽性 16 例のうち 9 例で抗原の混合により抗体反応の増強を認めた。そのうち 5 例で GA1 混合時と同等またはそれ以上の強い反応を示した。

1) 杏林大学医学部第一内科 (神経内科学)

(2). 抗原量を漸減した条件での抗体活性の検討 : ceramide の混合により反応が増強した 12 例について、ELISA で固相化する抗原量を 1/2 系列で減量し、抗体活性を測定した。12 例中 7 例では抗原量の漸減により抗体価が低下した。一方、3 例では抗原量の漸減によっても抗体価が増強し、1 例では反応が低下した後に増強した。1 例では変化がみられなかった。

考 察・結 論

ガングリオシド複合による抗原抗体反応増強の機序として、新たな構造的エピトープが形成される可能性や標的抗原への結合活性や accesibility への影響の可能性が考えられている。

GA1 を含む複合体抗体陽性症例における中性糖脂質あるいは ceramide を混合した場合の反応増強に関して、GA1 混合時にのみ反応増強を示す例では、ガングリオシド複合による新たな構造的エピトープを認識している可能性が考えられる。一方、GA1 以外の他の中性糖脂質の混合により GA1 混合時より強い反応を示した例では、GA1 の糖鎖構造に依存しない抗原抗体反応の増強が起こっている可能性が考えられる。このことからガングリオシド複合による反応増強には複数の機序があると予想される。

今回の検討では、糖鎖を持たない ceramide の混合によっても反応の増強が 12 例でみられた。ceramide は糖鎖を持たない最も単純なスフィンゴ脂質である。抗体測定時には通常

1well 当たり 200ng のガングリオシドを固相化しており、ガングリオシド抗原は非常に過密な状態にあると考えられる。ceramide の混合が過密な抗原のスペーサー的な役割を果たし抗体の抗原への accesibility をよくしているという可能性を考え、抗原量を漸減した条件での実験を施行した。

ceramide の混合により反応が増強した 12 例について、多くの症例では抗原の漸減により抗体価が低下した。しかし、抗原量の漸減にもかかわらず反応が増強する症例もみられた。抗原量を漸減しても反応が増強した症例では、ceramide の混合により抗原密度が低下し、accesibility を改善した可能性がある。

糖脂質複合による反応増強には複数の機序があると考えられる。今回の検討からその機序のひとつとして、他の糖脂質の混合により、真の抗原となる糖脂質の分子間距離が増大し、抗体の抗原への accesibility が向上するというがスペーサー効果による可能性が示された。

健康危険情報：なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし