

ガングリオシド抗原へのコレステロール付加による抗原抗体反応増強作用の解析：Guillain-Barré 症候群とその関連疾患における検討

研究協力者 海田賢一

共同研究者 本郷悠、高崎寛、山崎啓史、小牟田縁

研究要旨

Guillain-Barre 症候群 (GBS) と関連疾患においてガングリオシド単独抗原への cholesterol 付加 (chol+) による抗原抗体反応増強作用を検討した。対象は GBS96 例, 関連疾患 27 例 (Fisher 症候群:FS:25, Bickerstaff 型脳幹脳炎:2)。血清抗 GM1 抗体弱陽性の 23 例 (GBS 22, FS 1) に対 GM1 モル比:0.625~320 倍の cholesterol を GM1 抗原に付加し, 抗体活性の変化を解析した。抗 GM1 抗体陰性連続 100 症例でも chol+ の効果を解析した。chol+ での反応増強例は抗 GM1 抗体弱陽性例中 11 例 (増強群)。増強効果は cholesterol 付加量に依存した。増強群は消化器感染先行が多く, 抗 GQ1b 抗体検出頻度が低かった。抗 GM1 抗体陰性 6 例で chol+ で血清反応が陽転化した。chol+ は GBS と関連疾患で抗糖脂質抗体の検出頻度を上げ, 病態の解明にも寄与すると考える。

研究目的

Guillain-Barré 症候群 (GBS) 及び関連疾患の抗ガングリオシド抗体検出系として ELISA が広く行われている。抗ガングリオシド抗体は, 認識抗原周囲の脂質環境に影響を受けて抗原へアクセスすると考えられており, ELISA プレート上に生体細胞膜に近い脂質環境を再現することで抗体検出感度が増加することが期待できる。既報告でも Phosphatidic acid (PA) や, Cholesterol/Galactocerebroside (GA) 混合物などをガングリオシド抗原に付加することで, GBS や多巣性運動ニューロパチー (Multifocal motor neuropathy: MMN) 患者血清の抗ガングリオシド抗体検出率が増加すると報告されている¹⁻³。

防衛医科大学校 神経・抗加齢血管内科

Cholesterol は細胞膜脂質ラフトの主要な構成成分であり, ガングリオシドと共存し相互作用することが知られている³。本研究はガングリオシド抗原への Cholesterol 付加が抗ガングリオシド抗体活性に与える変化を解析することを目的とする。

研究方法

2016 年~2019 年に当科で検討を実施した Guillain-Barré 症候群と, その類縁疾患連続 123 例 (Guillain-Barré 症候群: GBS = 96 例, Fisher 症候群: FS = 25 例, Bickerstaff 型 脳幹脳炎 = 2 例) の血清を対象とした。症例の臨床記録は検体採取施設からのアンケートにより集積した。全 123 例で, 11 種類の単一ガングリオシド抗原および 42 種類のガングリオシド複合体抗原に対する血清抗体スクリーニング検査

を ELISA 法で実施した。スクリーニングで IgG 抗 GM1 抗体弱陽性 (補正 OD 値⁴: 0.1 - 0.2)であった 23 例 (GBS = 22 例, FS = 1 例) で, GM1 抗原 100 ng に対し 30 ng-16 µg (対 GM1 モル比: 0.625 ~ 320 倍) の Cholesterol を付加し, 抗原-抗体反応性の増強の有無を確認した。いずれかの濃度の Cholesterol 付加により 補正 OD 値で 0.1 以上の増加を見た場合, 増強作用ありと定義した⁴。

スクリーニング検査で抗 GM1 抗体陰性だった症例連続 100 例の血清を用いて, GM1 抗原への Cholesterol 付加による血清反応陽性転化の有無を確認した。統計解析には JMP Pro14 (SAS Institute) を用いた。検体、臨床情報の解析にあたっては、各被検者に文書による同意を得て実施し、防衛医科大学校倫理委員会からの審査を受けた。

研究結果

IgG 抗 GM1 抗体弱陽性 23 例中, Cholesterol 付加により血清の抗原抗体反応の増強が見られた例は 11 例 (増強群), 影響を認めなかった例は 12 例 (非増強群) であった。反応増強作用は, Cholesterol 付加用量が 2-4 ng/well (対 GM1 モル比: 40-80 倍) までは用量依存的で, 8 ng 以上の付加では, さらなる反応増強は見られなかった。増強群では消化器感染の先行が有意に多く ($p = 0.012$), 血清抗 GQ1b 抗体の検出頻度が有意に低かった ($p = 0.037$)。

スクリーニング検査では抗 GM1 抗体が陰性だった連続 100 症例中 6 例で, Cholesterol 付

加により ELISA の血清反応が陽性転化した。これら 6 例の先行感染は呼吸器感染症 2 例・消化器感染症 2 例・発熱のみ 1 例・先行感染症なし 1 例で一定の傾向はなく, 並存する抗 ガングリオシド抗体については 6 例すべてで抗 GQ1b 抗体は陰性だが, 他の並存抗体については一定の傾向は見いだせなかった。

考察

本研究で, Guillain-Barré 症候群と関連疾患において GM1 抗原への Cholesterol 付加が項 GM1 抗体活性を増強させる作用があることを見出した。Cholesterol は GM1 の水素結合部に結合することで立体構造を変化させるため^{5,6}, Cholesterol 付加により抗体の GM1 抗原への accessibility や結合性が変化し, ELISA での反応増強作用が見られたと考えられる。

Cholesterol 付加により抗 GM1 抗体検出率は向上するが, Cholesterol 付加による反応増強群の臨床的特徴については今後症例数を増やして検討する必要がある。

文献

1. Pestronk A, et al. Neurology. 1997a
2. Pestronk A, et al. Neurology 1997b
3. Hirakawa M, et al. J Neuroimmunol. 2005
4. Kaida K, et al. Ann Neurol. 2005
5. Lingwood D, et al. Nat Chem Biol. 2011
6. Fantini J, et al. Front Physiol 2013

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