

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
神経免疫疾患のエビデンスに基づく診断基準・重症度分類・ガイドラインの妥当性と患者
QOL の検証 分担研究報告書

多巣性運動ニューロパチーにおけるフォスファチジン酸添加抗原に対する IgM 抗体反応の検討

研究分担者 楠 進 近畿大学医学部 脳神経内科 客員教授・名誉教授
独立行政法人地域医療機能推進機構 本部
共同研究者 桑原 基 近畿大学医学部 脳神経内科
吉川恵輔 近畿大学医学部 脳神経内科

研究要旨

多巣性運動ニューロパチー（multifocal motor neuropathy : MMN）では、約半数でガングリオシド GM1 に対する IgM 抗体が陽性となる。本研究では MMN におけるフォスファチジン酸（Phosphatidic acid : PA）添加ガングリオシド抗原に対する IgM 抗体反応について検討した。MMN37 例および正常対照 24 例で GM1、GalNAc-GD1a、PA、PA 添加 GM1、PA 添加 GalNAc-GD1a に対する IgM 抗体を測定した。MMN では GM1 および GalNAc-GD1a の単独抗原に対する IgM 抗体が各々 20 例（54%）、3 例（8%）で検出され、PA 添加 GM1 に特異的な IgM 抗体は 9 例（24%）、PA 添加 GalNAc-GD1a に特異的な IgM 抗体は 4 例（11%）で陽性であった。GM1、PA 添加 GM1、GalNAc-GD1a、PA 添加 GalNAc-GD1a のいずれかに対する抗体陽性例は MMN で 26 例（70%）と正常対照（24 例中 5 例：21%）と比べて陽性率が高かった（ $p < 0.01$ ）。GBS における IgG 抗ガングリオシド抗体と同様に、MMN における IgM 抗体についても、ガングリオシドの単独抗原だけでなく PA 添加抗原を用いることによって抗体の検出感度が向上することが本研究によって示された。

A. 研究目的

運動神経における伝導ブロックを特徴とする多巣性運動ニューロパチー（multifocal motor neuropathy : MMN）では、約半数でガングリオシドの GM1 に対する IgM 抗体が陽性となることが知られている。また GalNAc-GD1a に対する IgM 抗体陽性例も報告されている。一方、ギラン・バレー症候群（Guillain-Barré syndrome : GBS）ではガングリオシドに対する IgG 抗体が検出されるが、リン脂質であるフォスファチジン酸（Phosphatidic acid : PA）を抗原に添加することで IgG 抗体反応の増強がみられる。そこで、本研究では MMN において PA 添加ガングリオシド抗原に対する IgM 抗体反応について検討した。

B. 研究方法

2012 年 9 月から 2014 年 12 月の期間に当科へ抗ガングリオシド抗体の測定依頼があった MMN 症例のうち、EFNS/PNS の診断基準で probable または definite である症例を抽出し、MMN 症例および正常対照 24 例で GM1、GalNAc-GD1a、PA、PA 添加 GM1、PA 添加

GalNAc-GD1a に対する IgM 抗体を測定した。抗ガングリオシド抗体は従来の方法に従って ELISA で測定した。

PA 添加抗原に特異的な IgM 抗体とは、ガングリオシド単独ではなく PA 添加することではじめて反応が確認できる抗体、あるいは PA 添加で有意に反応が増強される抗体をいう。そのような抗体陽性の判定は、①ガングリオシド、PA の両方に対する IgM 抗体が共に陰性の場合、PA 添加 GM1 抗体は OD 値が 0.1 以上で陽性、PA 添加 GalNAc-GD1a 抗体は OD 値が 0.2 以上で陽性、②ガングリオシド、PA のどちらか一方に対する IgM 抗体が陽性の場合、陽性となった OD 値より 0.2 以上高値であれば陽性、③ガングリオシド、PA に対する IgM 抗体が共に陽性の場合はその和より高値であれば陽性と定義した。

（倫理面への配慮）

本研究は近畿大学医学部倫理委員会の承認を得て、患者からインフォームド・コンセントを取得して実施された。

C. 研究結果

EFNS/PNS の診断基準で probable 以上の MMN 症例は計 37 例 (probable 8 例、definite 29 例) みられ、男性 30 例、女性 7 例で年齢は中央値 51 歳、罹病期間は中央値 24 ヶ月であった。GM1 および GalNAc-GD1a の単独抗原に対する IgM 抗体は、MMN では各々 20 例 (54%) と 3 例 (8%)、正常対照では各々 1 例 (4%) と 2 例 (8%) で検出された。MMN では、そのうち 2 例で両者に対する抗体がみられた。前述の定義による PA 添加 GM1 に特異的な IgM 抗体は MMN で 9 例 (24%)、正常対照で 3 例 (13%) で陽性であり、PA 添加 GalNAc-GD1a に特異的な IgM 抗体は MMN で 4 例 (11%)、正常対照で 1 例 (4%) 陽性であった。MMN において PA 添加 GM1 に特異的な抗体陽性 9 例のうち、6 例は単独の GM1 に対する IgM 抗体が陰性であり、PA 添加 GalNAc-GD1a 特異的な抗体陽性 4 例のうち、3 例は単独の GalNAc-GD1a に対する IgM 抗体が陰性であった。GM1、PA 添加 GM1、GalNAc-GD1a、PA 添加 GalNAc-GD1a のいずれかに対する抗体陽性例は MMN で 26 例 (70%) であったのに対して、正常対照では 5 例 (21%) あった ($p < 0.01$)。

D. 考察

GBS では、ガングリオシドと各種のリン脂質の混合抗原を用いることで抗体活性の賦活や減弱がみられることが報告されている。また 2 種類の糖脂質が形成する新たなエピトープ (糖脂質複合体) を認識する抗体の存在も知られる。一方、MMN では GM1 にガラクトセレブロシドやコレステロールを加えた抗原に対する IgM 抗体が報告されているが、リン脂質との混合抗原に対する抗体についてはこれまで未検討であった。今回の研究において PA による反応増強効果が認められたことから、MMN においても抗ガングリオシド抗体に対する各種のリン脂質の混合の効果について、さらに詳細な検討を行う必要があると考えられる。

E. 結論

GBS における IgG 抗ガングリオシド抗体と同様に、MMN における IgM 抗体についても、ガングリオシドの単独抗原だけでなく PA を添加する抗原を用いることによって抗体の検出感度が向上する。

F. 文献

1. Pestronk A, Choksi R, Blume G, Lopate G. Multifocal motor neuropathy: serum IgM binding to a GM1 ganglioside-containing lipid mixture but not to GM1 alone. *Neurology*. 1997;48:1104-1106.
2. Kusunoki S, Morita D, Ohminami S, Hitoshi S, Kanazawa I. Binding of immunoglobulin G antibodies in Guillain-Barré syndrome sera to a mixture of GM1 and a phospholipid: possible clinical implications. *Muscle Nerve*. 2003;27:302-306.
3. Hirakawa M, Morita D, Tsuji S, Kusunoki S. Effects of phospholipids on antiganglioside antibody reactivity in GBS. *J Neuroimmunol*. 2005;159:129-132.
4. Morikawa M, Kuwahara M, Ueno R, Samukawa M, Hamada Y, Kusunoki S. Serological study using glycoarray for detecting antibodies to glycolipids and glycolipid complexes in immune-mediated neuropathies. *J Neuroimmunol* 2016; 301: 35-40.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし