

免疫介在性ニューロパチーにおける抗ガングリオシド抗体の補体結合
性の意義に関する研究

汐崎 祐

(神経病学専攻)

防衛医科大学校

平成25年度

目次

第 1 章：緒言	- 1 -
第 2 章：抗ガングリオシド抗体 IgG サブクラスと補体結合能	- 5 -
2-1 背景・目的	- 5 -
2-2 対象および方法	- 5 -
2-3 結果	- 10 -
2-4 考察	- 12 -
2-5 小括	- 16 -
第 3 章：傍腫瘍性神経症候群と抗ガングリオシド抗体	- 17 -
3-1 背景・目的	- 17 -
3-2 対象および方法	- 17 -
3-3 結果	- 18 -
3-4 考察	- 19 -
3-5 小括	- 20 -
第 4 章：包括的考察	- 21 -
第 5 章：結論	- 23 -
引用文献	- 24 -
図表	- 34 -
謝辞	- 54 -

第1章 緒言

1. ガングリオシドの生体での役割

ガングリオシドとはシアル酸を分子内に持つスフィンゴ糖脂質の総称である。この物質の発見の契機は Tay-Sachs 病患者の脳にオルシノール-硫酸試薬で赤紫色を呈する物質が蓄積していることが発見され、ガングリオシドと命名されたことに始まる¹⁾。ガングリオシドは全身の臓器・細胞に発現しているが、神経組織にもっとも多く分布し、その構造はガラクトース、グルコース、シアル酸などからなる親水性の糖鎖部分と疎水性のセラミド部分で構成され、細胞膜の主要な構成として糖鎖部分を細胞膜外に露出した状態で存在している。現在、ガングリオシドの中でもガングリオシド系列ならびにラクトースとガラクトースを基本糖鎖とするものについては Svennerholm の命名法²⁾が汎用されている。その概要はまずシアル酸の個数が 1, 2, 3, 4 個であるものを GM, GD, GT, GQ と呼び、ついでシアル酸が結合する基本糖鎖の構造がガングリオテトラオース(4 つの糖で構成される糖鎖骨格)の場合を 1, ガングリオトリオース(3 つの糖で構成される糖鎖骨格)の場合を 2, ラクトースの場合を 3, ガラクトースの場合を 4 と定義する。さらにセラミドから数えて 2 番目の位置にあるガラクトースに結合するシアル酸の個数 1, 2, 3 をそれぞれ a, b, c と対応させている。この方法を用いるとシアル酸を 4 つ持ち、中性糖鎖骨格が 4 つの糖からなり、セラミドから数えて 2 番目の糖に結合するシアル酸の数が 2 個であるガングリオシドは GQ1b と命名される。Svennerholm の命名はよく体系化されており、IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)の構造式に比較し、簡便であることから汎用されている³⁾。本稿においても Svennerholm の命名法に基づいて記載する (図 1-1)。

神経系においてガングリオシドは神経突起の伸長、細胞間および細胞と基質の接着、細胞表面のマイクロドメイン形成によるシグナル伝達^{4,5)}といった幅広い役割を持ち、近年では細胞膜の表面だけではなく核膜上にも存在し、細胞内および核内 Ca^{2+} の調整

因子として、 Ca^{2+} によって誘発されるアポトーシスを制御していることも報告されている⁶⁾。一方、ガングリオシドは腫瘍細胞の進展にも大きな役割を担っている。悪性腫瘍においてガングリオシドは細胞間の接着、腫瘍の血管新生、免疫抑制作用、マイクロドメインを介した増殖シグナルの伝達、転移の際の運動/接着性の調節因子として働いている。抗ガングリオシド抗体を用いた腫瘍の免疫療法について研究も進められており⁷⁾、GD2では神経芽細胞腫に対するモノクローナル抗体⁸⁾、グリオーマに対するワクチン療法⁹⁾、GD3ではメラノーマに対してモノクローナル抗体¹⁰⁾、肺小細胞癌に対してワクチン療法¹¹⁾、GM2でメラノーマに対するワクチン¹²⁾といった抗ガングリオシド抗体による腫瘍に対する免疫療法についての研究がなされている。腫瘍細胞の悪性化に伴いガングリオシドの分布や発現パターンは変化し、そのメカニズムとしてガングリオシド合成・代謝の異常、glycosyltransferaseの活性化による糖鎖骨格の修飾、セラミド部分の構造変化、細胞膜上に他の物質が発現することでガングリオシドのエピトープを変化させるといった要因が考えられている¹³⁾。このようにガングリオシドは多様な機能を持つことが知られているが、そのメカニズムには未解明の部分が多い。

2. 抗ガングリオシド抗体と免疫介在性ニューロパチー

免疫介在性ニューロパチーとは、末梢神経の構成成分に対する自己免疫によるニューロパチーの総称であり、急性発症のギラン・バレー症候群（Guillain-Barré syndrome: GBS）、慢性に経過する慢性炎症性脱髄性多発根神経炎やIgM パラプロテイン血症をともなうニューロパチー、傍腫瘍性ニューロパチーなどを含む。免疫反応には大きく分けて細胞性免疫と液性免疫があるが、免疫介在性ニューロパチーではそのどちらも重要な働きをすることが知られている。免疫介在性ニューロパチーの中には神経細胞膜上のガングリオシドを標的抗原とする神経疾患があり、ガングリオシドに対する抗体が急性期血清の約60%にみられるGBSおよび、90%以上に抗GQ1b抗体を認めるフィ

ッシャー症候群(Fisher syndrome; FS) はその代表である¹⁴⁻¹⁵⁾。

GBS は急性に経過し、一般的に単相性の経過で四肢麻痺や感覚障害を生じるニューロパチーで、亜型として眼筋麻痺・失調・腱反射の低下を主徴候とする FS が知られる。GBS の約 2/3 に呼吸器感染や消化器感染の症状が見られ¹⁶⁾、その病原体は

Campylobacter jejuni, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, *Mycoplasma pneumoniae* などである¹⁷⁾。これらの病原体が神経組織の膜表面の糖脂質と類似した糖鎖をもつために糖鎖に対する抗体が産生されるというメカニズム（分子相同性機序）が考えられており¹⁸⁾、*Campylobacter jejuni* の lipopolysaccharide (LPS) には GM1 類似の糖鎖構造が存在している¹⁹⁾。

一方、悪性腫瘍患者にはさまざまな神経障害が合併し、腫瘍に対する免疫学的機序により生じると考えられているのが傍腫瘍性神経症候群（paraneoplastic neurological syndrome; PNS）である。発症には腫瘍組織と神経に交差反応する自己抗体が関与していると考えられているが、自己抗体として抗ガングリオシド抗体が出現する場合があることも報告されている²⁰⁾。

3. 研究の動機

本研究では免疫介在性ニューロパチーの中でも最も頻度の高い GBS とその亜型である FS を対象として抗ガングリオシド抗体の補体介在性神経傷害作用と臨床像, IgG サブクラスとの相関を検討した。これまで抗ガングリオシド抗体の神経傷害作用について、抗体による補体介在性神経傷害が重視され、GBS に対する補体活性化阻害を目標とした治療法も考えられている²¹⁾。例えばヒト組織を用いた研究として、Acute motor axonal neuropathy (AMAN) 型 GBS において剖検組織から得られた運動神経線維に IgG と補体の沈着がおきていること²²⁾、生検で得られた腓腹神経での補体活性化²³⁻²⁴⁾、動物組織ではマウスの神経筋接合部に対する抗 GQ1b 陽性血清による補体活性化²⁵⁾や

Campylobacter jejuni LPS に対するモノクローナル抗体によるマウス末梢神経組織での IgM と補体の沈着²⁶⁾、動物モデルとしてはマウスでの抗 GQ1b 抗体の運動神経終末での補体活性化²⁷⁻²⁸⁾、GM1 免疫ウサギから得られた抗 GM1 抗体の補体活性化作用²⁹⁻³⁰⁾といった抗ガングリオシド抗体の補体介在性神経傷害に関する研究がなされており、中でも古典経路が重要とされる。このように補体系は GBS の病態に密接な関係があり、補体介在性神経傷害の強さが、重症度、予後に関連する可能性がある。補体活性化に影響を与える要因としては抗原抗体反応の結合力、抗体の産生量、宿主の補体制御因子などの要因が考えうるが、産生される抗ガングリオシド抗体 IgG サブクラスの種類によっても影響を受ける可能性がある。しかしながら、抗体およびその補体結合能と重症度、IgG サブクラスとの相関は検討されたことが無い。今後、補体活性化抑制剤などの新規治療の方向性を考える際に補体結合能がどの程度病態に寄与しているかを知っておく必要がある。

一方、悪性腫瘍に伴う神経障害で見られる抗ガングリオシド抗体は、29 例中 9 例で抗 GM1-IgM 抗体が見られたことが報告されているが³⁰⁾、その臨床的意義や病的意義は不明である。また PNS ではこれまで、2 種のガングリオシドからなるガングリオシド複合体に対する抗体については検索されていない。以上のことから本論文では第 2 章で抗ガングリオシド抗体サブクラスによる補体結合能と臨床的特徴の差異を、第 3 章で悪性腫瘍に伴う神経障害における抗ガングリオシド抗体、抗ガングリオシド複合体抗体の頻度、アイソタイプ、臨床症状を検討し報告する。

今回の研究に用いられた臨床データ及び検体は被験者の同意のもとで取得し、厚生労働省の「臨床研究に関する倫理指針」に従って管理・使用された。また、以下の研究は防衛医科大学校倫理委員会の承認を得て行った。

第2章：抗ガングリオシド抗体 IgG サブクラスと補体結合能

2-1 背景・目的

抗ガングリオシド抗体による補体活性化は GBS・FS の主要な神経傷害機序と考えられている。IgG サブクラスは補体活性化に影響を与える要因の一つとして知られているが、GBS・FS において抗ガングリオシド抗体による補体活性化の強弱が抗体の種類あるいは IgG サブクラスと関連があるかという点についてはこれまで検討されたことがない。本研究の目的は抗ガングリオシド IgG サブクラスにも注目し、①IgG サブクラスによる補体結合能に差異を認めるか、②GBS 患者の臨床的重症度は補体結合能に相関するかを検討することである。

2-2 対象および方法

対象

2005 年 3 月～2011 年 8 月の間に当施設で収集した GBS および FS 患者 (GBS 38 例, FS 20 例) の急性期血清 (初回入院時の治療前血清) と 2007 年 1 月～2012 年 3 月の間に近畿大学神経内科で治療された GBS 患者および FS 患者 (GBS 19 例, FS 15 例) のうち Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いたスクリーニング検査で抗ガングリオシド IgG 抗体が陽性であった血清 (GBS 57 例, FS 35 例) を対象とした。

スクリーニング方法

使用した抗原は GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a である。ガングリオシド抗原は GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1b は Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) から、GT1a, GQ1b は Hytest (Turku, Finland) から購入した。GalNAc-GD1a は既存の報告³²⁾に基づき当施設で精製したものをを用いた。スクリーニン

グの抗体活性測定は Kusunoki らの方法³²⁾に基づいて行った。すなわち、

- 1) 単独のガングリオシドに対する抗体測定の場合は、抗原としてエタノールに溶解したガングリオシドを 1 ウェルあたり $0.2 \mu\text{g}$ を用いた。ガングリオシド複合体に対する抗体測定の場合は 1 ウェルあたりそれぞれ $0.1 \mu\text{g}$ の単独ガングリオシドを混ぜたものを ELISA プレート (Corning International Corporation, Corning, NY, USA) に静置したのちに 37°C で乾燥させた。
- 2) Phosphate buffered saline (PBS) で希釈した 1%ウシ血清アルブミン液(1%BSA in PBS)を $50 \mu\text{L}$ 加え 30 分間ブロッキングした。ブロッキング液を捨て、1%BSA in PBS で 40 倍希釈した患者血清 $50 \mu\text{L}$ を一次抗体として 90 分反応させた。
- 3) 血清を捨て、 $300 \mu\text{L}$ の 0.1%BSA in PBS で 3 回洗浄した。
- 4) 2 次抗体として 1%BSA in PBS で 500 倍希釈した Horseradish peroxidase(HRP) 標識抗ヒト IgG 抗体(MP biomedical, Solon, OH, USA) $50 \mu\text{L}$ を 90 分反応させた。
- 5) 2 次抗体を捨て、 $300 \mu\text{L}$ の 0.1%BSA で 3 回洗浄した。
- 6) $100 \mu\text{L}$ の orthophenylenediamine dihydrochloride(40mg/dL で pH5.0 リン酸-クエン酸緩衝液に溶解)で 2 分間発色させた。
- 7) 8N 硫酸($50 \mu\text{L}/\text{well}$)で反応を停止させ、Microplate reader(Microplate reader Model680, Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, CA, USA)を用いて吸光度(OD, 490nm)を測定した。抗原を入れていない well に対して同様の手順を行い、得られた OD 値を引いた補正 OD 値を抗体価として決定した。抗体価が 0.1 以上の場合と陽性と判定した。

スクリーニングの対象抗体は当院で収集した症例では GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b, GalNAc-GD1a の単独抗原とそのうち 2 種のガングリオシド複合体に対する抗体を検討し、近畿大学の症例は単独抗原のみを対象としてスクリーニン

グを行った。

臨床情報と診断

GBS および FS の診断は調査票・診療録に記載した主治医の診断に基づき、臨床症状も調査票（図 2-1）・診療録を元に解析した。神経伝導検査の結果は Hadden らの分類³³⁾（表 2-1）に基づいて分類した。臨床的重症度は Hughes の Functional grade³⁴⁾（表 2-2）に基づき分類した。治療は血液浄化療法(単純血漿交換・二重膜濾過・免疫吸着療法を含む)と大量ガンマグロブリン療法を治療と定義し、ステロイドパルスについては治療回数に含めない。血液浄化は一連の治療を 1 回、大量ガンマグロブリン療法は 5 日間投与で 1 回の投与と算定した。

対象抗体の決定

当施設で収集した検体は、スクリーニング検査で陽性となった抗体で最も強い反応を持つものをそのまま対象抗体として決定した。

近畿大学の検体ではガングリオシド複合体に対する抗体の測定を追加し、単独抗原と追加したガングリオシド複合体に対する抗体の中で最も強い反応を持つものとした。保存されている血清が僅少であり、当施設の症例よりも対象抗原を狭めた範囲で抗体を検索した。すなわち GBS ではスクリーニング時の抗 GQ1b 抗体出現の有無で分別し、抗 GQ1b 陰性の場合は GM1・GD1a・GD1b・GT1b・GalNac-GD1a の単独抗原およびそのうち 2 種の複合抗原を、抗 GQ1b 抗体陽性の場合は GM1・GD1a・GD1b のうち 1 種と GT1a もしくは GQ1b の組み合わせの複合抗原に対して抗体を測定した。FS は抗 GQ1b 抗体陽性の GBS と同様の組み合わせで抗体を測定した。測定した中で最も強く反応したガングリオシドに対する抗体を対象抗体とした。

患者血清からの IgG の精製

患者血清から Melon™ Gel IgG Spin Purification Kit (Thermo, IL, USA)を用いて IgG を精製した. すなわち, Melon Gel Purification Buffer で 10 倍希釈した血清を Melon Gel と混合し, カラムを 8000 回転で 1 分間遠心分離して得られた IgG をさらに 1%BSA で 4 倍希釈したものを精製した IgG として用いた.

抗ガングリオシド抗体価と補体結合能の測定

抗ガングリオシド抗体価の測定はスクリーニング検査に基づいて対象抗原を決定した後, 補体結合能の測定と同時に改めて抗体価を測定して決定した. 抗体価の測定はスクリーニングによって決定された抗体を対象に, スクリーニングと同様の方法で実施した. 補体結合能も個々の患者で決定された抗体を対象として以下に記載する方法で測定した.

- 1) 抗体価の測定時と同様の方法を用いて, 各患者の対象として決定されたガングリオシド抗原を ELISA プレート (Corning International Corporation, Corning, NY, USA) に固着させた.
- 2) 1% BSA in PBS を $50\mu\text{L}$ 入れて, 30 分間ブロッキングを行った.
- 3) ブロッキング液を捨て, 精製した患者 IgG を $50\mu\text{L}$ 加え, 一晚 4°C で反応させた.
- 4) 翌日に精製 IgG を捨て, $300\mu\text{L}$ の 0.1%BSA で 3 回洗浄した.
- 5) 抗ガングリオシド抗体を持たない健常者から得た血清を 1%BSA in PBS で 100 倍希釈したものを $50\mu\text{L}$ 加えて, 60 分反応させた.
- 6) 希釈血清を捨て, $300\mu\text{L}$ の 0.1%BSA で 3 回洗浄した.
- 7) 1%BSA in PBS で 500 倍に希釈した抗 C5b-9 ウサギ抗体(Abcam, Cambridge, UK)を $50\mu\text{L}$ 加えて, 60 分反応させた.
- 8) 抗 C5b-9 ウサギ抗体を捨て, $300\mu\text{L}$ の 0.1%BSA で 3 回洗浄した.

9) 1%BSA in PBS で 500 倍に希釈した HRP 標識抗ウサギ IgG ヤギ抗体(Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)を 50 μ L 加えて 60 分反応させた後に, 抗体価と同様の手法で反応を停止させて OD を測定した. 同様の手順で抗ガングリオシド抗体を持たない健常人血清から精製した IgG を用いて行ったものを陰性コントロールとして, 患者 OD 値から陰性コントロールを除いて補正した補正 OD 値を補体結合能と定義した. 手順の概略を図で示す (図 2-2) .

IgG サブクラスの決定

各対象のガングリオシドに血清もしくは精製した IgG を反応させた. HRP 標識抗ヒト IgG1 マウス抗体 (Life Technologies) ・ HRP 標識抗ヒト IgG3 マウス抗体 (Life Technologies) を用いて抗ガングリオシド抗体の測定と同様に, ELISA 法で測定した. 二次抗体の濃度は血清を用いた場合は 500 倍, 精製 IgG を用いた場合は 200 倍とした. 補正 OD 値 0.1 以上を陽性と判定し, IgG1 のみ陽性の群(IgG1+/IgG3-群), IgG3 のみ陽性の群(IgG1-/IgG3+群), IgG1 と IgG3 の両者が陽性であった群(IgG1+/IgG3+群)の 3 群に分類した. 両者とも反応が無いもの(IgG1-/IgG3-群)については今回の検討の対象から除いた.

統計学的解析

3 つに分類した群のそれぞれの補体活性化能・抗体価, 調査票によって得られた臨床情報を 2 群ごとに統計学的に解析した. 統計学的計算には Statcel3 (OMS, Saitama, Japan)を用い, 手法として Student's t-test, Mann-Whitney's U-test, Pearson's correlation coefficient test, Spearman's correlation coefficient by rank test, Chi-square for independence test, Fisher's exact probability test, Tukey-Kramer method, Steel-Dwass method を用い, 有意水準が 0.05 以下の場合を有意差ありと判断

した.

2-3 結果

GBS・FS群の対象抗体とIgGサブクラスによる分類

GBSではIgG1+/IgG3-群が19人(防衛医科大学校14, 近畿大学5), IgG1-/IgG3+群が20人(防衛医科大学校15, 近畿大学5), IgG1+/IgG3+群が12人(防衛医科大学校7, 近畿大学5), IgG1-/IgG3-群が6人(防衛医科大学校2, 近畿大学4)だった. Pure motor variant GBSの標的抗原である, GM1, GalNAc-GD1a および GM1/GalNAc-GD1a を合わせて motor ganglioside と定義し, 各群での割合を検討したが有意差は認めなかった (IgG1+/IgG3-群 vs IgG1-/IgG3+群: $p=0.429$, IgG1+/IgG3-群 vs IgG1+/IgG3+群: $p=0.525$, IgG1-/IgG3+群 vs IgG1+/IgG3+群: $p=0.261$). FSではIgG1+/IgG3-群は10人(防衛医科大学校7, 近畿大学3), IgG1-/IgG3+群18人(防衛医科大学校10, 近畿大学8), IgG1+/IgG3+群2人(防衛医科大学校2, 近畿大学0), IgG1-/IgG3-群5人(防衛医科大学校1, 近畿大学4)であった. GBS, FSともIgG1-/IgG3-群を検討の対象からはずした. さらにFSではIgG1+/IgG3+群は2名のみであり, 比較・解析に十分な数ではないと考え検討対象からはずした. 最終的に対象となった患者のプロファイルを示す(表2-3, 表2-4).

抗ガングリオシド抗体サブクラスと臨床像の相関

抗ガングリオシド抗体サブクラスと臨床像の関係について表に示す(表2-5, 表2-6). 本研究では先行感染の病原体が血清学・微生物学的に示された症例は無かった. GBS患者においてはIgG1+/IgG3+群は他の群に比較すると抗体価(vs IgG1+/IgG3-群: $p=0.001$, vs IgG1-/IgG3+群: $p=0.003$), 補体結合能が高く(vs IgG1+/IgG3-群: $p=0.011$, vs IgG1-/IgG3+群: $p=0.043$), 年齢も若かった(vs IgG1+/IgG3-群: $p=0.008$, vs

IgG1-/IgG3+群: $p=0.013$) . IgG1+/IgG3-群と比較した場合, IgG1+/IgG3+群は有意に脳神経障害が少なく ($p=0.018$), 消化管感染が多かった ($p=0.023$) . 入院期間やピーク時の重症度, 治療回数, 感覚障害の頻度は3群で差は見られなかった. 検索可能であった範囲の, 発症後2ヶ月間の臨床的重症度をGBS各群で示す(図2-3). 重症度の判明している例の多い発症後1ヵ月後のデータを見ると, IgG1+/IgG3-群はピーク時に歩行不能(Functional grade 4以上)だった9人のうち, 発症1ヵ月後に補助無しで5m以上歩行可能(Functional grade 2以下)であったのは3人だった. 同様に IgG1-/IgG3+群でピーク時の Functional grade 4以上の5人のうち1ヵ月後の Functional grade 2以下は3人, IgG1+/IgG3+群でピーク時の Functional grade 4以上の5人のうち1ヵ月後の Functional grade 2以下は2人だった. これらの割合を各群で比較した場合のいずれも有意差は無かった. 一方, FS患者ではIgG1+/IgG3-群とIgG1-/IgG3+群の間に臨床症状の有意な差を認めなかった(表2-6).

抗ガングリオシド抗体価と補体結合能, 補体結合能とピーク時の臨床的重症度の関係

GBSでは抗体価と補体結合能には正の相関関係($p<0.001$, 相関係数 0.538)が見られた(図2-4A). また, GBSで出現する代表的な抗ガングリオシド抗体である抗GM1抗体が陽性である例に限定して検討した場合も抗体価と補体結合能に有意な相関関係($p=0.024$, 相関係数 0.678)が認められた(図2-4B). GBSのうち補体結合能が0.1以下と低値だったものが5例認められた. そのうち2例では抗ガングリオシド抗体価は0.964および1.073と十分に上昇していたにもかかわらず補体結合能が低値だった. ピーク時の重症度により分類した患者群で補体結合能の多群比較を行ったが, いずれの群間においても危険率5%で有意差を認めなかった(図2-5).

一方FSでは有意な相関を認めず($p=0.19$, 図2-6A), FSで見られる代表的なガングリオシド抗体である抗GQ1b抗体に限定して検討した場合も相関関係は有意でなかった

($p=0.153$, 図 2-6B).

抗ガングリオシド抗体の種類による抗体価・補体結合能

GBS で対象とした抗体が 5 例以上存在した GM1, GD1a, GQ1b, GalNAc-GD1a, GM1/GalNAc-GD1a を抗体の種類ごとに抽出しそれぞれの抗体の抗体価・補体結合能・ピーク時重症度を多群比較した(図 2-7). 抗体価・補体結合能・ピーク時の重症度のいずれも各群で有意な差を認めなかった.

また, 対象とした抗体が単独の抗ガングリオシド抗体であったものと抗ガングリオシド複合体抗体であったものを分けて検討した場合, 単独のガングリオシドに対する抗体と複合体に対する抗体の間に抗体価 ($p=0.515$), 補体結合能($p=0.823$)ともに有意差は見られなかった.

2-4 考察

GBS・FS では抗ガングリオシド抗体 IgG サブクラスは IgG1, IgG3 もしくはその両者が出現することが知られている³⁵⁻⁴⁰⁾. IgG1 と IgG3 は補体を活性化することや高い胎盤通過能をもつことなどの機能的特徴は似通っている⁴¹⁾ (表 2-7). マイトジェンの多くは IgG1 と IgG3 の産生を促進する一方, IgG2 および IgG4 産生に及ぼす作用は弱いこと, 14 番染色体上に存在する免疫グロブリン遺伝子領域の位置が IgG1 は IgG3 と, IgG2 は IgG4 と近接していること, IgG2 欠損症の患者は同時に IgG4 も欠損する頻度が多いことから B 細胞は IgG1/IgG3 を産生するものと IgG2/IgG4 を産生するもので系列が異なることが示唆されている⁴²⁾. 特定の抗原に対してはある一定のサブクラスの IgG 抗体が産生される傾向があり, ヘルパー T 細胞のサイトカイン分泌によるコントロールが考えられている⁴³⁻⁴⁴⁾. *Campylobacter jejuni* 感染に対する抗体は通常 IgG2 が産生されるが, *Campylobacter jejuni* 感染を伴う GBS でみられる抗ガングリオシド抗体

は IgG1・IgG3 サブクラスであり³⁶⁾、その理由は明らかにはなっていない。また、IgG1・IgG3 へのクラススイッチにはヘルパーT 細胞の助けが必要であるが、通常の T 細胞は糖脂質を認識しないという問題も解明されていない。糖脂質を認識できる γ δ T 細胞が抗体産生に関与している可能性も考えられているが⁴⁵⁾、GBS 発症者と健常者の間に末梢血中 γ δ T 細胞の割合は変化していないとする研究もあり⁴⁶⁾、その役割について一致した見解はない。

過去に抗ガングリオシド抗体サブクラスと臨床的特徴の関係を検討した報告はいくつか見られる。抗 GM1 抗体陽性の GBS を対象とした Koga らの報告³⁸⁾では、抗 GM1-IgG1 抗体の出現例では消化管感染が有意に多く、血清学的に *Campylobacter jejuni* 感染が示された例も多かった一方で、IgG3 抗体の出現は上気道感染と感染するとされる。臨床的には IgG1 抗体陽性群では歩行開始の遅延傾向が有意に見られ、IgG3 では逆に治療に対する反応性が良好であったことが報告されている。Jacobs らの報告⁴⁰⁾も対象としたガングリオシドは GM1, GM1b, GD1a, GalNAc-GD1a といった pure motor GBS に関係するものに限定しており、IgG サブクラスの分類は IgG1+/IgG3-群、IgG1+/IgG3+群、抗体陰性群とに分類している。その中で IgG1+/IgG3-群は下痢、*Campylobacter jejuni* 感染、*Campylobacter jejuni* LPS への交差反応性を有する抗体の出現、予後不良と関連し、IgG1+/IgG3+群では上気道感染、*Haemophilus influenzae* LPS への交差反応性を有する抗体の出現、良好な回復に関連するとされる。FS における報告では、Schwerer ら⁴⁷⁾が上気道感染後の FS に見られる抗 GQ1b 抗体サブクラスは IgG3 が多く、他方で消化管感染後の FS では IgA, IgM, IgG2 が多く見られること報告している。しかしながら、GBS における先行感染は我々の検討では IgG1+/IgG3+群は IgG1+/IgG3-群よりも消化器感染が多く、Koga ら、Jacobs らの報告と異なっていた。Jacobs によると IgG1+/IgG3+群は AMAN が少ないが、我々の検討では IgG1+/IgG3+群の電気生理学特徴は他群と有意な差は無かった。我々の結果では

IgG1+/IgG3+群で IgG1+/IgG3-群に比較して脳神経障害が少なかったが、この点は Jacobs らの IgG1+/IgG3+群は抗体陰性群に比較して脳神経障害が少ないとする結果に矛盾しないと考えた。先行研究と我々の研究のデザインは抗体のサブクラスによる分類という点では共通であるが、異なる部分も多い。①Koga らでは対象の抗体を抗 GM1 抗体, Jacobs らは対象抗体を pure motor variant GBS に関与する GM1, GM1b, GD1a, GalNAc-GD1a に対する抗体に限定しているが、我々は抗ガングリオシド抗体の種類によって対象を限定していない、②Jacobs らは IgG3 抗体のみの陽性例が無く、対象として IgG1 抗体も IgG3 抗体も持たない群を設定している、③Jacobs らは欧州での研究で人種的背景が異なる、④Jacobs らは対象の患者は総計 176 名と我々よりも多い、といった違いが異なる結果に原因となったものと推測している。

今回の検討では、ガングリオシド単独に対する抗体とガングリオシド複合体に対する抗体の間で補体結合能に差を認めなかった。また、単独のガングリオシドに対する抗体の間にも、抗ガングリオシド抗体の抗原の種類による補体結合能の違いを認めなかった。しかしながら、Notturmo ら⁴⁸⁾は抗ガングリオシド複合体抗体がガングリオシド単体に対する抗体よりも高頻度に補体活性化を生じるとしている。これについては、今回は最も OD 値の高い抗体のみを対象としたが、様々な抗ガングリオシド抗体で検証する必要がある。

補体結合による神経傷害は GBS の重要な神経傷害機序である。補体結合能の強さによって臨床的重症度が影響を受けるかという点では既存の報告は無く、本研究が初めての報告である。今回の検討では、GBS では抗体価と補体結合能は正に相関しており、補体結合能は抗体の抗原への結合量に依存することが示唆された。FS では抗体価と補体結合能に相関は見られなかったが、GBS に比較し症例数の少ないことが影響している可能性がある。GBS において抗体価と補体結合能の相関を認めるものの、ピーク時の重症度と補体結合能の強さに相関はなかった。また、IgG1+/IgG3+群の抗体 OD 値と補体結合能は他の

2 群よりも高値であるが、ピーク時の重症度には差が見られなかった。以上のことから抗ガングリオシド抗体の補体結合能の強さが直ちに臨床的重症度に相関していないことが示された。GBS の予後は年齢、発症から治療開始までの期間⁴⁹⁾、先行感染の種類などの様々な因子^{38, 40)}に影響されることが知られている。また、GD1a/GT1b や GD1b/GT1b といった特定の抗ガングリオシド複合体抗体の出現が補助換気の必要性和関連する⁵⁰⁾ことが報告されている。さらに、今回の検討では補体成分は C5b-9 のみを評価対象としているが、補体結合能を正確に反映しているかという問題も考えられる。補体をさらに詳細に評価するためには、例えば C3 など他の補体成分の評価や免疫組織化学的手法での評価も必要であろう。補体結合が高度であれば、神経傷害もそれに比例して高度となることが予測されるが、今回の検討のように臨床的重症度と相関しなかったのは上記のような要因および制限が存在するためと考えられる。

今回の検討では一部に補体結合能が低い例も認められた。抗体価が十分に上昇していても補体結合能が見られない例も見られる。in vitro における検討という制限はあるが、こうした例での神経傷害作用の発現には補体を介さない神経傷害の存在が推測される。抗 GM1 抗体は電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの阻害作用を有し、運動神経終末でのシグナル伝達を阻害しうること⁵¹⁻⁵²⁾や、補体非介在性に神経成長因子(NGF)関連の神経突起の伸長および NGF 誘発チロシンキナーゼリン酸化反応を抑制すること⁵³⁾が報告されている。また、抗 GalNAc-GD1a 抗体は運動神経終末に結合し、補体非依存性に神経筋接合部の伝達を阻害すること⁵⁴⁾、抗 GD1a 抗体が受動免疫法によってネズミ末梢神経の軸索再生を補体非依存性に阻害すること⁵⁵⁾も知られており、こうした補体非介在性の神経傷害が生じている可能性がある。

本研究では前述のように多様な因子の影響により、補体結合能と臨床的重症度の相関関係が見られなかったと考えた。補体活性化阻害薬は GBS の治療薬の有力な候補となりうるが、その予後改善に対する効果に関しては様々な予後因子を考慮に入れた検

討が必要であろう。

2-5 小括

- ・ IgG1 と IgG3 の両方の IgG サブクラスが出現する抗ガングリオシド抗体の補体結合能は高値だった。
- ・ 補体結合能と臨床的重症度に正の相関を認めなかった。

第3章： 傍腫瘍性神経症候群と抗ガングリオシド抗体

3-1 背景・目的

神経障害を生じた担癌患者において稀ながら抗ガングリオシド抗体が血清中に出現することが報告されており、抗ガングリオシド抗体が腫瘍に対する免疫応答の一部として産生されている可能性が知られているが、抗ガングリオシド複合体抗体については検討されたことが無い。傍腫瘍性神経症候群(PNS)において、抗ガングリオシド複合体抗体を含めた抗体の出現頻度および出現例の臨床的特徴を解析し、その意義について検討する。

3-2 対象および方法

対象

2005年から2010年の間に防衛医科大学校に、2008年から2009年の間に近畿大学に抗ガングリオシド抗体測定のために送付されてきた患者血清でPNSが疑われた22例を対象とした。PNSを疑う病歴は神経症状に先行する悪性腫瘍の既往、神経障害発症後に悪性腫瘍が見出された場合(最大観察期間3年間)とした。対照として同期間に近畿大学に抗ガングリオシド抗体測定を目的に送付されたニューロパチー患者血清で悪性腫瘍の病歴の無いものを20例無作為に抽出し同時に検討を行った。

方法

ELISA法により抗ガングリオシドIgGおよびIgM抗体の測定を行った。対象としたガングリオシドはGM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1bとGQ1bとした。残存血清が十分である場合(腫瘍群21, 対照群15)はGD2 (Hytest, Turku, Finland), GD3

(EMD Millipore, Billerica, MA, USA), GM3 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) および GalNAc-GD1a に対する抗体も測定した。(特に記載が無い限り, 第 2 章で使用した抗原・試薬を用いて測定した。) ELISA は前章と同様に Kusunoki らの方法³²⁾に基づいて行った. IgM 抗体に対する二次抗体は HRP 標識抗ヒト IgM (MP biomedical)を用い, IgG 抗体の場合と同様に 1%BSA で 500 倍に希釈したものを用いた. IgM 抗体, IgG 抗体とも OD>0.1 の場合を陽性と判定した.

3-3 結果

腫瘍群の 22 例の腫瘍の内訳は 10 例が悪性リンパ腫, 5 例が胃癌(うち 1 例大腸癌と重複), 2 例が肺小細胞癌, 急性骨髄性白血病, 前立腺癌, 膝癌, 腎癌, 成人 T 細胞性白血病が 1 例ずつであった. 腫瘍群患者の 22 名の臨床像の概略を表 3-1 に示す. 22 例のうち 2 例で IgM クラスの抗ガングリオシド抗体が陽性であった. 1 例目は鼻腔の NK/T 細胞リンパ腫で抗 GM1-IgM 抗体が陽性であった. 初発症状は右上肢の筋力低下と感覚障害でその後, 左足の下垂足と感覚障害が続いた. 既往歴に乳癌の手術歴があったが, 再発は認めなかった. 神経伝導検査は多発単神経炎で運動感覚神経の軸索障害が示唆された. 頭部の CT により鼻腔から上咽頭の腫瘍が見出され, 生検により Extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type と診断された. 化学療法 (MACOP-B; methotrexate with leucovorin rescue, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, prednisone, and bleomycin)を施行されるも中枢神経への浸潤により死亡した. 剖検は得られなかった. 2 例目は抗 GM1-IgM 抗体と抗 GM2-IgM 抗体が見出された肺小細胞癌の女性である. 急速に進行する筋力低下で短期間のうちに臥床状態となり, 神経伝導検査では運動ニューロパチーが見られ, 神経反復刺激検査では waning を認めなかった. 肺 CT の所見と腫瘍マーカーの上昇から肺小細胞癌と診断された. 抗 Hu 抗体陽性, 抗電位依存性カルシウムチャンネル抗体は陰性であった. Carboplatin と Etoposide を投与され腫瘍の

縮小を認めたが神経症状に改善を認めず、化学療法継続のため他院に転院した。対照群 20 例では抗ガングリオシド抗体は認めなかった。抗ガングリオシド複合体抗体は腫瘍群、対照群のいずれでも認めなかった。

3-4 考察

ガングリオシドは神経系に豊富に存在するが、腫瘍の表面にも発現しており、腫瘍細胞の悪性化に伴いガングリオシドの分布や発現パターンが変化する可能性が考えられている¹³⁾。腫瘍の表面のガングリオシドは細胞障害性 T 細胞の抑制、腫瘍の血管新生、細胞の接着・転移調整因子として働いている⁵⁶⁾。さらに腫瘍表面のガングリオシドは血中に分泌されて T 細胞非依存性の体液性応答をもたらす⁵⁷⁾、産生される IgM 抗体は免疫抑制性に働くガングリオシドを除去するものと考えられている⁵⁸⁾。胃癌患者 31 人に出現する自己抗体の検討を行ったところ、11 人に抗 GM1 抗体、9 人に抗 GD1b 抗体を認めたと報告され、自己抗体出現例では生命予後が良好であったこと⁵⁹⁾、122 人のメラノーマのうち抗 GM2-IgM 抗体が 6 例に見られたこと¹²⁾が報告されているが、腫瘍における抗ガングリオシド抗体の出現頻度は明らかではない。既存の症例報告⁶⁰⁻⁶⁷⁾(表 3-2) および我々の症例からは PNS で出現する抗ガングリオシド抗体のクラスは IgM が多いことが分かる。また PNS で見られる抗ガングリオシド抗体は抗 GM1-IgM 抗体の頻度が多い³¹⁾が、GBS や FS のような特定の抗体の出現と臨床症状の関連は明らかではない。ガングリオシド抗原を含む糖脂質抗原は T-cell independent type 2 antigen であり、しばしば IgM から IgG へのクラススイッチが生じない⁶⁸⁾ことが IgM 抗体の頻度が多い理由と推測される。ヒトでの抗ガングリオシド IgG 抗体産生の前段階には正常な抗体レパートリーに含まれている低親和性の抗ガングリオシド IgM 抗体に可変部領域の再構成による親和性上昇が生じており、そこに先行感染病原体分子による抗原提示が加わることで病原性を持つ IgG 抗体が産生されたとする仮説も提唱されてい

る⁶⁹⁾。ヒトにおいて見られる抗ガングリオシド抗体 IgG は抗ガングリオシド抗体に対して産生された抗イディオタイプ抗体に対する抗体もしくはガングリオシド類似のエピトープに対する抗体⁵⁷⁾ であるとする意見もある。

抗ガングリオシド抗体の PNS での神経障害のメカニズムについては不明な点が多いが、免疫組織化学染色でメラノーマ表面の GM2 や GQ1b に患者 IgM が反応すること^{60,62)} や前立腺癌患者の IgM が腫瘍と正常な末梢神経組織に存在する GM1 および GD1a に反応した⁶⁷⁾ こと、抗 GM1 抗体陽性 GBS 患者血清は血液神経関門の透過性を高めること⁷⁰⁾ から腫瘍に対する免疫応答により産生された抗ガングリオシド抗体が交差反応により、神経組織のガングリオシドを攻撃することにより引き起こされると推測される。PNS の診断は悪性腫瘍が潜在性の場合には診断に難渋することをしばしば経験する。抗ガングリオシド抗体が PNS の診断に役立つとする研究は今まで報告されていないが、本研究の結果からは抗ガングリオシド抗体、特に IgM 抗体の検索が PNS の診断に役立つ場合があることが示唆された。

3-5 小括

- ・ 本研究では PNS22 例のうち 2 例 (9.1%) で IgM 抗ガングリオシド抗体 (抗 GM1 抗体 1 例, 抗 GM1 抗体および抗 GM2 抗体 1 例) を認めたが、抗ガングリオシド複合体抗体の出現例はなかった。

第4章 包括的考察

すでに個々の研究での考察はそれぞれの章で行ったため、ここではGBSとPNSにおける抗グングリオシド抗体の神経傷害機序について比較し論じる。GBSにおいて脱髄が主な病態である Acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy では EANと同様に細胞性免疫・液性免疫の両者が関与すると考えられるが、AMANや Acute motor sensory axonal neuropathy (AMSAN)では抗グングリオシド抗体による液性免疫が主体である⁷¹⁾と考えられている。今まで論じてきたように、抗グングリオシド抗体による補体活性化は神経障害に重要であることは疑いないが、動物モデルでは抗グングリオシド抗体の出現が神経障害の発症・抗体による補体活性化と結びついていない場合があり²⁹⁾、抗グングリオシド抗体の神経傷害作用には補体抑制機能の低下も伴う必要があると推測する。補体系は本来、外来の微生物から身を守るための一つのシステムであるが、あまりにその反応が激しい場合は生体に不利益になるため、補体制御因子と呼ばれる数種のタンパク群が補体系を抑制していることが知られる。GBSにおいて補体制御因子の働きを検討した報告はないが、重症筋無力症(Myasthenia gravis; MG)を対象として補体制御因子の一つである Decay-accelerating factor の働きを検討したものが存在する⁷²⁾。GBSにおいても補体制御因子の機能の個体差が神経傷害の強さに関与している可能性はある。今後、このような因子の検証も必要であろう。

一方、PNSについては抗体が出現する例があること以外にはほとんどの神経障害機序が未解明である。抗グングリオシド抗体の抗腫瘍効果は、メラノーマ細胞を用いた抗 GD2 抗体の抗体依存性細胞性細胞傷害(Antibody dependent cell-mediated cytotoxicity; ADCC)⁷³⁾、ヌードマウスに移植した腫瘍細胞に対する抗 GM2 抗体の作用といった研究を初めとして⁷⁴⁾、ADCCの効果に注目されている。補体介在性細胞傷害も存在すると考えられているが、主な抗腫瘍作用はADCCによると考えられている⁷⁵⁾。神経に対する傷害にはADCCと補体介在性細胞傷害のどちらが主に作用しているのか

明らかになっていない。

本研究では神経傷害における補体結合以外の因子に関しては検討していない。抗ガングリオシド抗体の免疫介在性ニューロパチーにおける役割の解明には補体介在性神経傷害に加えて補体非介在性神経傷害, ADCC のいずれの観点からも検討を進める必要がある。実際に GBS の剖検例における末梢神経組織の検討で活性化された補体の沈着と同時に MHC-I の発現亢進・細胞傷害性 T 細胞の割合の増加が活動性の高い脱髄部位で見られ⁷⁶⁾, 液性免疫と細胞性免疫の両方の関与が同一個体で存在する場合があることが報告されている。従って細胞性免疫による神経障害が強い場合は補体活性化阻害剤の効果が十分でない可能性がある。個体ごとに液性免疫と細胞性免疫のどちらが優位であるかを知ることは有効な治療の選択につながると考えられ、重要である。現時点では, AMAN・AMSAN で T 細胞が認識する抗原は明らかではない⁷⁷⁾。GBS の病態解明および有効な治療法の確立には, 抗ガングリオシド抗体を介した液性免疫の働きと共に細胞性免疫の観点からの検討も進めていく必要がある。

第5章 結論

IgG1+/IgG3+群の補体結合能は他の2群と比較し、高値だったが臨床的重症度に差を認めなかった。また、ピーク時の重症度で分類した患者群の間に補体結合能の差はなく、本研究の結果からは補体結合能の強弱は臨床的重症度に相関していなかった。

PNS では22例のうち2例(9.1%)にIgM抗ガングリオシド抗体(抗GM1抗体1例, 抗GM1抗体および抗GM2抗体1例)が上昇していたが、抗ガングリオシド複合体抗体を認めた例は無かった。

引用文献

- 1) Klenk E. Über die Ganglioside des Gehirns bei der infantilen amaurotischen Idiotie vom Typ Tay-Sachs. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1942; 75:1632-6.
- 2) Svennerholm L. Chromatographic separation of human brain gangliosides. *J Neurochem*. 1963;10:613-23.
- 3) 鈴木康夫, 安藤進(編著). 生物化学実験法 35 ガングリオシド研究法 I, 学会出版センター, 東京, 1995, pp.1-6.
- 4) Hakomori S. The glycosynapse. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:225-32.
- 5) Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2000;1:31-9.
- 6) Ledeen RW, Wu G. Gangliosides of the nuclear membrane: a crucial locus of cytoprotective modulation. *J Cell Biochem*. 2006;97:893-903.
- 7) Durrant LG, Noble P, Spendlove I. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: glycolipids as targets for tumour immunotherapy. *Clin Exp Immunol*. 2012;167:206-15.
- 8) Frost JD, Hank JA, Reaman GH, Friedrich S, Seeger RC, Gan J, et al. A phase I/IB trial of murine monoclonal anti-GD2 antibody 14.G2a plus interleukin-2 in children with refractory neuroblastoma: a report of the Children's Cancer Group. *Cancer*. 1997;80:317-33.
- 9) Becker R, Eichler MK, Jennemann R, Bertalanffy H. Phase I clinical trial on adjuvant active immunotherapy of human gliomas with GD2-conjugate. *Br J Neurosurg*. 2002;16:269-75.
- 10) Cheresch DA, Honsik CJ, Staffileno LK, Jung G, Reisfeld RA. Disialoganglioside

- GD3 on human melanoma serves as a relevant target antigen for monoclonal antibody-mediated tumor cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82:5155-9.
- 11) Giaccone G, Debruyne C, Felip E, Chapman PB, Grant SC, Millward M, et al. Phase III study of adjuvant vaccination with BCG/bacille Calmette-Guérin in responding patients with limited-disease small-cell lung cancer (European Organisation for Research and Treatment of Cancer 08971-08971B; Silva Study). *J Clin Oncol*. 2005;23:6854-64.
- 12) Livingston PO, Wong GY, Adluri S, Tao Y, Padavan M, Parente R, et al. Improved survival in stage III melanoma patients with GM2 antibodies: a randomized trial of adjuvant vaccination with GM2 ganglioside. *J Clin Oncol*. 1994;12:1036-44.
- 13) Ritter G, Livingston PO. Ganglioside antigens expressed by human cancer cells. *Semin Cancer Biol*. 1991;2:401-9.
- 14) Kusunoki S, Iwamori M, Chiba A, Hitoshi S, Arita M, Kanazawa I. GM1b is a new member of antigen for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Neurology*. 1996;47:237-42.
- 15) Chiba A, Kusunoki S, Obata H, Machinami R, Kanazawa I. Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barré syndrome: clinical and immunohistochemical studies. *Neurology*. 1993;43:1911-7.
- 16) Ropper AH. The Guillain-Barré syndrome. *N Engl J Med*. 1992;326:1130-6.
- 17) Jacobs BC, Rothbarth PH, van der Meché FG, Herbrink P, Schmitz PI, de Klerk MA, et al. The spectrum of antecedent infections in Guillain-Barré syndrome: a case-control study. *Neurology*. 1998;51:1110-5.

- 18) Yuki N, Susuki K, Koga M, Nishimoto Y, Odaka M, Hirata K, et al.
Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni*
lipooligosaccharide causes Guillain-Barre syndrome. *Proc Natl Acad Sci*
USA. 2004;101:11404-9.
- 19) Yuki N, Taki T, Inagaki F, Kasama T, Takahashi M, Saito K, et al. A bacterium
lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM1 ganglioside-like
structure. *J Exp Med*. 1993;178:1771-5.
- 20) 武藤 多津郎, 三原 貴照. 傍腫瘍症候群: 診断と治療の進歩 IV. 最近の話題 2.
抗糖脂質抗体. *日本内科学会雑誌*. 2008;97: 84-90.
- 21) Halstead SK, Humphreys PD, Goodfellow JA, Wagner ER, Smith RA, Willison
HJ. Complement inhibition abrogates nerve terminal injury in Miller Fisher
syndrome. *Ann Neurol*. 2005;8:203-10.
- 22) Hafer-Macko C, Hsieh ST, Li CY, Ho TW, Sheikh K, Cornblath DR, et al. Acute
motor axonal neuropathy: an antibody-mediated attack on axolemma. *Ann Neurol*.
1996;40:635-44.
- 23) Lu JL, Sheikh KA, Wu HS, Zhang J, Jiang ZF, Cornblath DR, et al.
Physiologic-pathologic correlation in Guillain-Barré syndrome in children.
Neurology. 2000;54:33-9.
- 24) Putzu GA, Figarella-Branger D, Bouvier-Labit C, Liprandi A, Bianco N,
Pellissier JF. Immunohistochemical localization of cytokines, C5b-9 and ICAM-1 in
peripheral nerve of Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Sci*. 2000;174:16-21.
- 25) Plomp JJ, Molenaar PC, O'Hanlon GM, Jacobs BC, Veitch J, Daha MR, et al..
Miller Fisher anti-GQ1b antibodies: alpha-latrotoxin-like effects on motor end
plates. *Ann Neurol*. 1999;45:189-99.

- 26) Goodyear CS, O'Hanlon GM, Plomp JJ, Wagner ER, Morrison I, Veitch J, et al. Monoclonal antibodies raised against Guillain-Barré syndrome-associated *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides react with neuronal gangliosides and paralyze muscle-nerve preparations. *J Clin Invest.* 1999;104:697-708.
- 27) O'Hanlon GM, Plomp JJ, Chakrabarti M, Morrison I, Wagner ER, Goodyear CS, et al. Anti-GQ1b ganglioside antibodies mediate complement-dependent destruction of the motor nerve terminal. *Brain.* 2001;124:893-906.
- 28) Willison HJ, Halstead SK, Beveridge E, Zitman FM, Greenshields KN, Morgan BP, et al. The role of complement and complement regulators in mediating motor nerve terminal injury in murine models of Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol.* 2008;201-202:172-82.
- 29) van Sorge NM, Yuki N, Jansen MD, Nishimoto Y, Susuki K, Wokke JH, et al. Leukocyte and complement activation by GM1-specific antibodies is associated with acute motor axonal neuropathy in rabbits. *J Neuroimmunol.* 2007;182:116-23.
- 30) Susuki K, Rasband MN, Tohyama K, Koibuchi K, Okamoto S, Funakoshi K, et al. Anti-GM1 antibodies cause complement-mediated disruption of sodium channel clusters in peripheral motor nerve fibers. *J Neurosci.* 2007;27:3956-67.
- 31) Antoine JC, Camdessanché JP, Ferraud K, Caudie C. Antiganglioside antibodies in paraneoplastic peripheral neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004;75:1765-7.
- 32) Kusunoki S, Chiba A, Kon K, Ando S, Arisawa K, Tate A, et al. N-acetylgalactosaminyl GD1a is a target molecule for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol.* 1994;35:570-6.
- 33) Hadden RD, Cornblath DR, Hughes RA, Zielasek J, Hartung HP, Toyka KV, et al.

Electrophysiological classification of Guillain-Barré syndrome: clinical associations and outcome. Plasma Exchange/Sandoglobulin Guillain-Barré Syndrome Trial Group. *Ann Neurol.* 1998;44:780-8.

34) Hughes RA, Newsom-Davis JM, Perkin GD, Pierce JM. Controlled trial prednisolone in acute polyneuropathy. *Lancet.* 1978;2:750-3.

35) Ogino M, Orazio N, Latov N. IgG anti-GM1 antibodies from patients with acute motor neuropathy are predominantly of the IgG1 and IgG3 subclasses. *J Neuroimmunol.* 1995;58:77-80.

36) Jacobs BC, Endtz HP, van der Meché FG, Hazenberg MP, de Klerk MA, van Doorn PA. Humoral immune response against *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides in Guillain-Barré and Miller Fisher syndrome. *J Neuroimmunol.* 1997;79:62-8.

37) Yuki N, Ichihashi Y, Taki T. Subclass of IgG antibody to GM1 epitope-bearing lipopolysaccharide of *Campylobacter jejuni* in patients with Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol.* 1995;60:161-4.

38) Koga M, Yuki N, Hirata K, Morimatsu M, Mori M, Kuwabara S. Anti-GM1 antibody IgG subclass: a clinical recovery predictor in Guillain-Barré syndrome. *Neurology.* 2003;60:1514-8.

39) Ilyas AA, Chen ZW, Cook SD, Mithen FA, Singhal BS. Immunoglobulin G subclass distribution of autoantibodies to gangliosides in patients with Guillain-Barre syndrome. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001;109:115-23.

40) Jacobs BC, Koga M, van Rijs W, Geleijns K, van Doorn PA, Willison HJ, et al. Subclass IgG to motor gangliosides related to infection and clinical course in Guillain-Barré syndrome. *J Neuroimmunol.* 2008;194:181-90.

41) Murphy K, Traverse P, Walport M. Janeway's immunobiology 7th ed. Garland

science, New York, USA, 2008. (笹月 健彦 (監訳) Janeway's 免疫生物学, 南江堂, 東京, 2010, pp.161-162.)

42) Shakib F (Editor). The human IgG subclasses, Pergamon Press, Oxford, UK, 1990, pp.161-83.

43) Lucas AH. IgG subclass-restricted immune responses to allergens. Springer Semin Immunopathol. 1990;12:385-400.

44) Scott-Taylor TH, O'B Hourihane J, Strobel S. Correlation of allergen-specific IgG subclass antibodies and T lymphocyte cytokine responses in children with multiple food allergies. Pediatr Allergy Immunol. 2010;21:935-44.

45) Van Rhijn I, Logtenberg T, Ang CW, Van den Berg LH. Gammadelta T cell non-responsiveness in Campylobacter jejuni-associated Guillain-Barré syndrome patients. Neurology. 2003;61:994-6.

46) Scelsa SN, Ghali V, Herskovitz S, Bieri P, Shank DL, MacGowan DD, et al. Blood gammadelta T cells, Campylobacter jejuni, and GM1 titers in Guillain-Barré syndrome. Muscle Nerve. 2004;30:423-32.

47) Schworer B, Neisser A, Bernheimer H. Distinct immunoglobulin class and immunoglobulin G subclass patterns against ganglioside GQ1b in Miller Fisher syndrome following different types of infection. Infect Immun. 1999;67:2414-20.

48) Notturmo F, Luciani M, Caporale CM, Ciarelli A, Uncini A. Antibodies to ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome: clinical correlates, finespecificity and complement activation. Int J Immunopathol Pharmacol. 2009;22:437-45.

49) van Doorn PA, Kuitwaard K, Walgaard C, van Koningsveld R, Ruts L, Jacobs BC. IVIG treatment and prognosis in Guillain-Barré syndrome. J Clin Immunol.

2010;30:S74-8.

50) Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, et al. Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability in GBS. *J Neuroimmunol.* 2007;182:212-8.

51) Buchwald B, Zhang G, Vogt-Eisele AK, Zhang W, Ahangari R, Griffin JW, et al. Anti-ganglioside antibodies alter presynaptic release and calcium influx. *Neurobiol Dis.* 2007;28:113-21.

52) Nakatani Y, Hotta S, Utsunomiya I, Tanaka K, Hoshi K, Ariga T, et al. Cav2.1 voltage-dependent Ca²⁺ channel current is inhibited by serum from select patients with Guillain-Barré syndrome. *Neurochem Res.* 2009;34:149-57.

53) Ueda A, Shima S, Miyashita T, Ito S, Ueda M, Kusunoki S, et al. Anti-GM1 antibodies affect the integrity of lipid rafts. *Mol Cell Neurosci.* 2010;45:355-62.

54) Taguchi K, Ren J, Utsunomiya I, Aoyagi H, Fujita N, Ariga T, et al. Neurophysiological and immunohistochemical studies on Guillain-Barre syndrome with IgG anti-GalNAc-GD1a antibodies-effects on neuromuscular transmission. *J Neurol Sci.* 2004;225:91-8.

55) Lehmann HC, Lopez PH, Zhang G, Ngyuen T, Zhang J, Kieseier BC, et al. Passive immunization with anti-ganglioside antibodies directly inhibits axon regeneration in an animal model. *J Neurosci.* 2007;27:27-34.

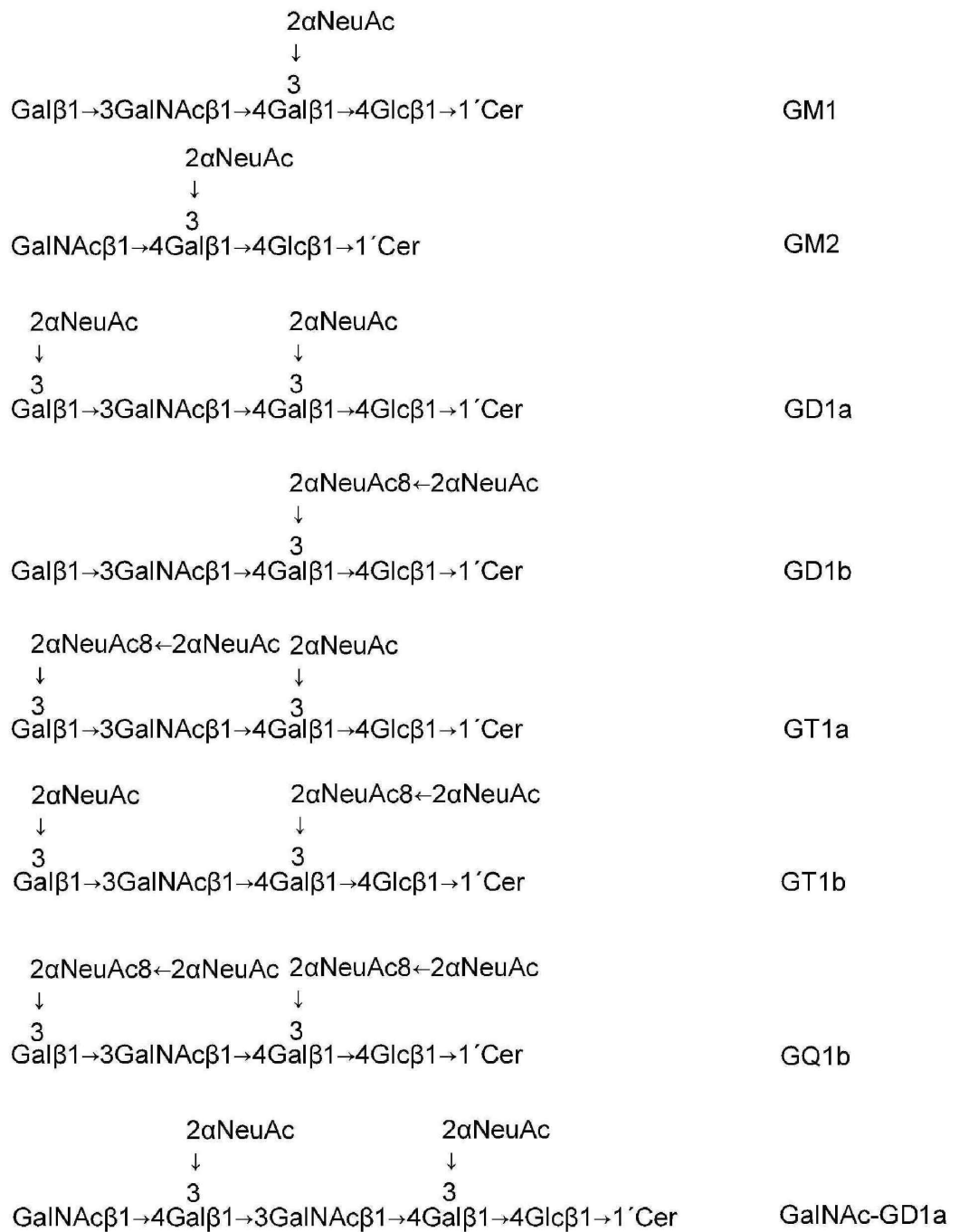
56) Birklé S, Zeng G, Gao L, Yu RK, Aubry J. Role of tumor-associated gangliosides in cancer progression. *Biochimie.* 2003;85:455-63.

57) Ravindranath MH, Muthugounder S, Saravanan TS, Presser N, Morton DL. Human antiganglioside autoantibodies: validation of ELISA. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1050:229-42.

- 58) Ravindranath MH, Muthugounder S, Presser N, Selvan SR, Santin AD, Bellone S, et al. Immunogenic gangliosides in human ovarian carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;353:251-8.
- 59) Konstandoulakis MM, Syrigos KN, Leandros M, Charalabopoulos A, Manouras A, Golematas BC. Autoantibodies in the serum of patients with gastric cancer: their prognostic importance. *Hybridoma.* 1998;17:431-5.
- 60) Kloos L, Sillevs Smitt P, Ang CW, Kruit W, Stoter G. Paraneoplastic ophthalmoplegia and subacute motor axonal neuropathy associated with anti-GQ1b antibodies in a patient with malignant melanoma. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003;74:507-9.
- 61) Mitsui Y, Kusunoki S, Hiruma S, Akamatsu M, Kihara M, Hashimoto S, et al. Sensorimotor polyneuropathy associated with chronic lymphocytic leukemia, IgM antigangliosides antibody and human T-cell leukemia virus I infection. *Muscle Nerve.* 1999;22:1461-5.
- 62) Weiss MD, Luciano CA, Semino-Mora C, Dalakas MC, Quarles RH. Molecular mimicry in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and melanoma. *Neurology.* 1998;51:1738-41.
- 63) Kobayashi M, Kato K, Funakoshi K, Watanabe S, Toyoshima I. Neuropathology of paraneoplastic neuropathy with anti-disialosyl antibody. *Muscle Nerve.* 2005;32:216-22.
- 64) Nishiyama K, Kurisaki H, Masuda N, Kusunoki S, Takatsu M. Carcinomatous neuropathy associated with hepatic cell carcinoma: an autopsy case report. *Neuromuscul Disord.* 1993;3:227-9.
- 65) 伊藤 崇, 榎本 雪, 牧田 圭弘, 榎本 博之, 黒田 健司, 木村 隆ら. 肺小細胞癌

- を有し抗 GM1 抗体が陽性だった, 感覚運動ニューロパチーの 1 例. 臨床神経学. 2002;42:878-80.
- 66) Lagrange E, Veran O, Besson G. Pure motor relapsing Guillain-Barré syndrome associated with anti-GM1 antibodies revealing urinary bladder cancer. Eur J Neurol. 2007;14:e7.
- 67) De Toni L, Marconi S, Nardelli E, Alberti D, Borsellino G, Fracasso G, et al. Gangliosides act as onconeural antigens in paraneoplastic neuropathies. J Neuroimmunol. 2004;156:178-87.
- 68) Heimburg-Molinaro J, Lum M, Vijay G, Jain M, Almogren A, Rittenhouse-Olson K. Cancer vaccines and carbohydrate epitopes. Vaccine. 2011;29:8802-26.
- 69) Nores GA, Lardone RD, Comín R, Alaniz ME, Moyano AL, Irazoqui FJ. Anti-GM1 antibodies as a model of the immune response to self-glycans. Biochim Biophys Acta. 2008;1780:538-45.
- 70) Kanda T, Yamawaki M, Mizusawa H. Sera from Guillain-Barré patients enhance leakage in blood-nerve barrier model. Neurology. 2003;60:301-6.
- 71) Hughes RA, Cornblath DR. Guillain-Barré syndrome. Lancet. 2005;366:1653-66.
- 72) Heckmann JM, Uwimpuhwe H, Ballo R, Kaur M, Bajic VB, Prince S. A functional SNP in the regulatory region of the decay-accelerating factor gene associates with extraocular muscle pareses in myasthenia gravis. Genes Immun. 2010;11:1-10.
- 73) Barker E, Mueller BM, Handgretinger R, Herter M, Yu AL, Reisfeld RA. Effect of a chimeric anti-ganglioside GD2 antibody on cell-mediated lysis of human neuroblastoma cells. Cancer Res. 1991;51:144-9.

- 74) Fukumoto H, Nishio K, Ohta S, Hanai N, Fukuoka K, Ohe Y, et al. Effect of a chimeric anti-ganglioside GM2 antibody on ganglioside GM2-expressing human solid tumors in vivo. *Int J Cancer*. 1999;82:759-64.
- 75) Iannello A, Ahmad A. Role of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in the efficacy of therapeutic anti-cancer monoclonal antibodies. *Cancer Metastasis Rev*. 2005;24:487-99.
- 76) Wanschitz J, Maier H, Lassmann H, Budka H, Berger T. Distinct time pattern of complement activation and cytotoxic T cell response in Guillain-Barré syndrome. *Brain*. 2003;126:2034-42.
- 77) 免疫介在性ニューロパチー. 楠 進. 臨床神経学. 2009;49:956-8.



ガングリオシドの構造

Svennerholmの命名法

図 1-1. 本研究で使用した代表的なガングリオシドの構造および表記法
 本研究で使用した代表的な糖脂質の構造を左側に、Svennerholm の命名法を右側に併記する。

(施設名 _____) (患者 _____ 殿)

1. 年齢/性別 : (歳 / 男 / 女) 発症 (年 月 日)
検体採血年月日 (年 月 日)

☐ 入院あり (ありの場合は入退院日をお願いします) ☐ 入院なし

入院日 (年 月 日) 退院日 (年 月 日)

2. 先行感染 (該当するものに○を付けて下さい。原因病原体が判明した場合、あるいは関連性が強いと考えられる場合はそれらを記入して下さい。)

a. 呼吸器感染

☐ Haemophilus Influenzae ☐ Mycoplasma

☐ Influenza-like (non-specific) infection ☐ その他 ()

b. 消化器感染

i) *Campylobacter jejuni* 感染の有無

☐ 陽性 (☐ 便培養 ☐ 血清抗 *C. jejuni* 抗体) ☐ 陰性 ☐ 検索せず^{a)}

ii) ☐ その他, あるいは不明 ()

c. ☐ Cytomegalovirus ☐ Epstein-Barr virus

d. ☐ その他 ()

3. 臨床症状

・初発症状 : ()

・発症からピークまでの時間 (日) : ()

・脳神経障害 : ☐ 無

☐ 有 (I II III IV VI V VII VIII IX X XI XII)

・筋力低下の分布 (Predominant weakness) (該当するものに○を付けて下さい。)

☐ Distal ☐ Proximal ☐ Global (proximal = distal)

☐ Mixed (上肢 : 近位優位, 下肢 : 遠位優位など)

・ピーク時の運動障害 (Functional score; F-score)*

F-score : 第 病日

☐ 0 = healthy

☐ 1 = having minor symptoms and signs but fully capable of manual work

☐ 2 = able to walk 10m or more without assistance

☐ 3 = able to walk 10m or more with a walker or support

☐ 4 = bedridden or chairbound

☐ 5 = requiring assisted ventilation for at least part of the day

☐ 6 = dead

握力 : 右 _____ kg 左 _____ kg

図 2-1 各施設の主治医に送付したアンケート

・筋委縮 : ☐ 無 ☐ 有 (部位 :)

・感覚障害

☐異常なし ☐四肢の痛みのみ

☐しびれなどの異常感覚のみ (paresthesia, dysesthesia など自覚症状のみ)

(部位: _____)

☐感覚低下・脱失 (sensory loss): 1. 表在覚、部位 (_____)

2. 深部覚、部位 (_____)

・失調症状: ☐無 ☐有 ☐深部感覚性 ☐小脳性 ☐混合性 (_____)

・自律神経障害: ☐無 ☐有 (_____)

・来院時腱反射: ☐亢進 ☐正常 ☐低下あるいは消失

(部位: _____)

(経過中: ☐消失 ☐すべては消失せず (_____)

・中枢神経障害: ☐無 ☐有 (_____)

4. 検査結果

髄液蛋白: _____ mg / dl (第 _____ 病日) (経過中の最高値を記入して下さい.)

細胞数: _____ 個 / μ l

Spirometry: VC(肺活量) _____ mL, %VC _____ % (症状のピーク時を記入して下さい.)

その他の検査異常 (神経伝導検査を除く):

5. 治療内容

(施行病日, 回数, 効果をわかる範囲で記入し, 効果は主観的な判断を記載して下さい.)

(記入例: 第7—15病日, 6回, 効果1)

※効果: 1. 極めて有効 2. 有効 3. 不変 (無効) 4. 悪化

☐施行せず (経過観察のみ)

☐単純血漿交換・二重膜濾過法:

☐免疫吸着法 (TR, TR-S, PH):

☐大量免疫グロブリン静注療法:

☐副腎皮質ステロイド:

6. 予後: 発症後1~12カ月の F-score をわかる範囲で記入して下さい.

1カ月— () 2カ月— () 3カ月— () 4カ月— ()

5カ月— () 6カ月— () 1年後— ()

1年後以降の予後:

7. 電気生理所見: 急性期 (初回) および2回目以降 (発症後3~5週) の神経伝導検査生データのコピーをお送りいただければ幸いです.

(貴施設の正常値, 測定機器名などもお分かりになる範囲で教えていただければ幸いです).

図 2-1. 各施設の主治医に送付したアンケート (続き)

表 2-1. Hadden らに基づくギラン・バレー症候群の電気生理学的分類 (文献 33 から引用)

Hadden らの基準

1. Normal

検査された神経全てで下記の基準を満たす

$DML \leq 100\%ULN$, $F\text{-latency} \leq ULN$, $MCV \geq 100\%LLN$, $dCMAP \geq 100\%LLN$, $pCMAP \geq 100\%LLN$, $pCMAP / dCMAP \text{ ratio} > 0.5$

2. Primary demyelinating

少なくとも 2 神経それぞれに下記の 1 つが見られるか, 1 神経しか誘発できない場合は $dCMAP \geq 10\%LLN$ かつ誘発可能な 1 神経で下記の 2 つが見られる

$MCV < 90\%LLN$ or $MCV < 85\%LLN + dCMAP < 50\%LLN$

$DML > 110\%ULN$ or $DML > 120\%ULN + dCMAP < 100\%LLN$

$pCMAP / dCMAP \text{ ratio} < 0.5 + dCMAP \geq 20\%LLN$

$F\text{-latency} > 120\%ULN$

3. Primary axonal

上記の「脱髄」所見がいずれの神経にも見られない, または $dCMAP < 10\%LLN$ の 1 神経に一つだけ上記の所見が見られるのみ, かつ $dCMAP < 80\%LLN$ が 2 神経以上で見られる

4. Inexcitable

$dCMAP$ が全ての神経で誘発されない, または $dCMAP < 10\%LLN$ が 1 神経にのみ見られる

5. Equivocal

上記のいずれにも当てはまらない

DML: distal motor latency, MCV: motor conduction velocity

dCMAP: compound muscle action potential amplitude after distal stimulation

pCMAP: compound muscle action potential amplitude after proximal stimulation

LLN: lower limit of normal, ULN: upper limit of normal

表 2-2. Hughes の Functional Grade (文献 34 より引用)

0:正常	異常を認めない
1:走れる	軽微な神経症状で走ることは可能
2:歩ける	歩行器, 杖, あるいは支え無しで5m以上歩行が可能だが, 走ることは不可能
3:歩ける (要補助)	歩行器, 杖を用いて, あるいは支えられて5mの歩行が可能
4:歩けない	ベッド上あるいは車椅子上に限定
5:呼吸困難	換気補助を必要とする
6: 死亡	

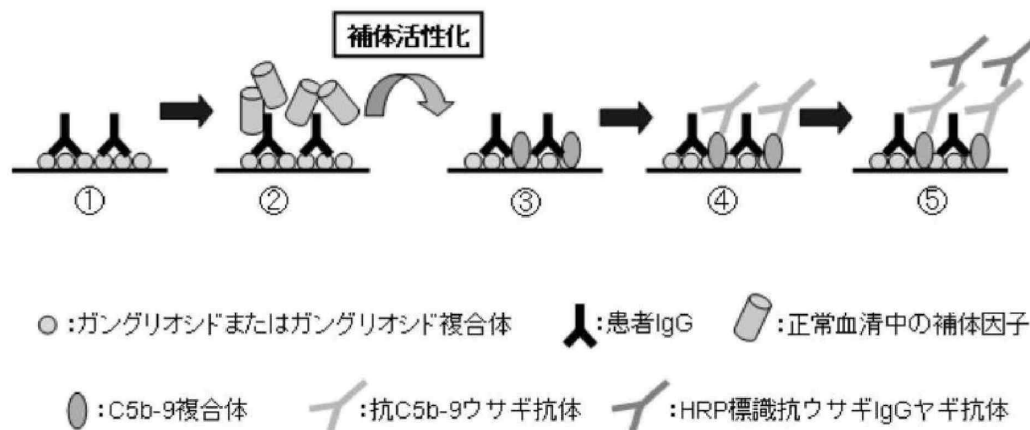


図 2-2. 補体結合能測定法の模式図

同様の手順を患者の精製 IgG と健常者 IgG で行い, (患者 IgG での OD 値 - 健常者 IgG での OD 値) = 補体結合能と定義した。

表 2-3. GBS 患者のプロファイル

番号	年齢	性別	入院期間	先行症状	抗体価	神経結合能	ピーク時の Function (p20)	神経経路損傷型	感覚障害	運動経路障害	対象筋状態	対象筋体以外に異常の認められた筋群
IgG1+/IgG2+群												
1	28	M	64	なし	1.056	0.409		5 Denervating	-	+	GM1/GD1b	GM1/GT1a, GD1b/GT1a, GD1b/GD1b
2	78	F	37	なし	0.989	0.277		4 Denervating	+	-	GM2	None
3	25	F	22	上気道	0.964	0.008		2 Eutrocal	+	-	GM1	GM1/GaINAc-GD1a
4	59	F	66	消化器	1.457	0.574		4 Axonal	-	-	GM1/GaINAc-GD1a	None
5	77	F	15	消化器	1.388	0.51		4 Denervating	-	-	GM1	None
6	32	M	Unknown	ワクチン後	0.710	0.719		5 Unknown	-	+	GM1/GD1b	GM1, GM1/GT1a, GM2/GT1a
7	71	M	9	なし	0.275	0.088		2 Axonal	-	+	GM1	None
8	76	M	59	なし	0.154	0.001		4 Denervating	+	+	GaINAc-GD1a	None
9	64	F	27	消化器	1.073	0.081		4 Eutrocal	+	+	GM1	None
10	92	F	198	なし	1.18	0.52		5 Denervating	-	+	GT1a/GaINAc-GD1a	GD1b, GT1a, GaINAc-GD1a, GD1a/GT1a
11	78	M	Unknown	上気道	0.801	0.504		3 Unknown	+	+	GM1/GT1a	GD1b, GT1a, GM1/GT1b, GD1b/GaINAc-GD1a
12	64	F	46	上気道	1.081	0.279		4 Denervating	-	-	GM1/GaINAc-GD1a	GT1a, GT1b
13	69	F	33	上気道	0.696	0.173		2 Eutrocal	-	+	GD1b	GT1a
14	77	F	46	上気道	1.179	0.372		3 Eutrocal	+	+	GD1b	GM1/GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1b, GM2/GT1a
15	56	F	29	上気道	1.454	0.654		2 Denervating	-	+	GM1	GM1/GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1b, GM2/GT1a
16	43	M	19	消化器	0.673	0.474		1 Denervating	-	-	GM1	GaINAc-GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1a, GM1/GT1b, GM2/GT1a, GD1a/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a
17	26	F	36	消化器	1.357	0.651		4 Eutrocal	-	-	GT1a	GM1/GT1a, GD1a/GT1a
18	31	M	60	消化器	1.152	0.341		4 Axonal	+	+	GM1/GD1a	GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1b, GD1a/GD1b, GD1b/GT1b
19	23	M	54	上気道	0.638	0.199		4 Axonal	+	+	GM1/GD1a	GD1a, GD1b, GT1b, GM1/GD1b, GM1/GT1b, GD1a/GD1b, GD1a/GT1b, GD1a/GaINAc-GD1a, GD1b/GT1b
IgG1-/IgG2+群												
20	37	M	34	消化器	1.301	0.806		5 Denervating	+	+	GM1/GT1a	GM1/GD1b, GD1b/GD1b, GD1b/GT1a
21	38	M	19	上気道	1.259	0.604		2 Denervating	-	-	GM1/GaINAc-GD1a	GD1b/GaINAc-GD1a
22	23	M	7	消化器	1.541	0.242		2 Denervating	+	+	GD1b	GT1a
23	72	M	16	なし	1.435	0.593		4 Denervating	-	-	GM1/GaINAc-GD1a	None
24	70	F	28	上気道	1.392	0.103		4 Eutrocal	-	+	GD1b	None
25	38	M	13	上気道	0.771	0.123		3 Eutrocal	+	+	GD1a/GT1a	GT1a, GT1a/GT1b
26	33	M	29	上気道	0.404	0.39		2 Eutrocal	+	+	GD1b	None
27	63	F	55	上気道	1.112	1.039		3 Eutrocal	+	+	GM1/GT1a	GD1b, GT1a, GD1b, GD1b/GT1a
28	36	F	28	上気道	1.315	0.572		4 Eutrocal	+	-	GM1	GD1b
29	27	M	16	消化器	0.98	0.306		2 Eutrocal	-	-	GaINAc-GD1a	GD1a
30	33	M	Unknown	上気道	0.371	0.291	Unknown	5 Unknown	+	+	GM1/GT1b	GM1/GT1a, GM1/GT1b
31	46	M	82	消化器	0.493	0.01		5 Denervating	-	+	GM1	GD1b, GaINAc-GD1a
31	59	M	Unknown	上気道	1.011	0.21		5 Denervating	+	-	GD1b	GM1, GM2, GaINAc-GD1a, GM1/GD2, GM1/GD1a, GM1/GT1b, GM1/GaINAc-GD1a
33	52	M	39	消化器	1.226	0.212		4 Denervating	+	-	GM1/GD1b	GD1a, GD1b, GT1a, GD1b, GM1/GD1a, GD1a/GD1b, GM1/GT1b, GM2/GT1a, GD1a/GT1a, GD1b/GT1a, GD1b/GaINAc-GD1a
34	82	F	Unknown	なし	0.955	0.074		4 Denervating	+	-	GD1b	None
35	46	M	27	消化器	0.644	0.189		2 Eutrocal	-	-	GaINAc-GD1a	GM1, GM1/GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1b, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a
36	73	M	27	不詳	0.962	0.41		1 Normal	-	+	GD1b/GT1a	GD1a, GD1b, GT1a, GD1b, GM1/GT1a, GM1/GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a
37	51	M	23	消化器	0.663	0.111		4 Denervating	-	-	GM1/GaINAc-GD1a	GM1, GM1/GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a
38	22	M	8	消化器	1.322	1.092		1 Eutrocal	-	-	GaINAc-GD1a	GD1a, GD1b, GM1/GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a, GD1b/GT1a, GD1a/GT1b, GD1b/GaINAc-GD1a
39	16	F	57	消化器	0.803	0.708		1 Normal	+	+	GT1a	GD1a, GM1/GT1a, GM1/GD1b, GD1a/GD1b, GD1b/GD1b, GD1b/GT1a, GD1b/GT1b
IgG1+/IgG2-群												
40	23	M	9	消化器	0.902	0.319		2 Eutrocal	-	-	GM1	None
41	65	F	99	消化器	1.364	0.327		4 Denervating	+	-	GM1	None
42	38	M	Unknown	消化器	1.287	0.495		5 Axonal	-	+	GM1/GD1a	GD1a, GM1/GT1b, GD1a/GD1b, GD1a/GD1b, GT1b/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a
43	24	M	14	消化器	1.201	0.964		2 Eutrocal	-	-	GaINAc-GD1a	None
44	26	M	16	消化器	1.469	0.74		2 Denervating	+	-	GD1b	GD1b, GT1a, GT1b, GM1/GD1a
45	33	M	34	上気道	1.368	0.569		4 Eutrocal	+	-	GD1b	GM1/GD1a, GM1/GT1a, GM1/GT1b, GM1/GD1b
46	26	M	34	上気道	1.528	0.531		4 Denervating	-	-	GM1	GaINAc-GD1a
47	30	F	15	消化器	1.413	0.401		2 Denervating	+	-	GD1b	GM1/GD1a, GM1/GD1b, GM1/GT1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GT1b, GD1b/GaINAc-GD1a
48	20	M	25	上気道	1.787	0.91		4 Axonal	-	-	GaINAc-GD1a	GD1a, GM1/GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a
49	31	M	27	消化器	1.087	0.559		3 Denervating	-	-	GM1	GD1a, GM1/GT1a, GM1/GD1a, GM1/GT1b, GM1/GaINAc-GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a
50	14	F	66	消化器	1.711	0.997		4 Denervating	-	+	GT1a	GD1a, GM1/GT1a, GM1/GD1a, GM1/GT1b, GM1/GaINAc-GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1a/GD1b, GD1b/GaINAc-GD1a
51	22	M	12	消化器	1.369	0.94		2 Denervating	+	-	GaINAc-GD1a	GM1/GaINAc-GD1a, GM1/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a, GD1b/GaINAc-GD1a

表 2-4. FS 患者のプロファイル

番号	年齢	性別	入院期間	先行感染	抗体価	補体結合能	感覚障害	対象抗体	対象抗体以外に反応の見た抗体
IgG1+/IgG3-群									
1	24	M	28	上気道	1.29	0.284	+	GT1a	GD1b, GQ1b, GM1/GaINAc-GD1a
2	38	F	27	上気道	1.745	0.432	+	GQ1b	GT1a, GM1/GT1a
3	21	M	0	上気道	0.947	0.847	-	GM1/GT1a	GM1/GQ1b
4	34	M	10	上気道	0.627	0.255	+	GQ1b	None
5	18	M	29	なし	0.554	0.276	-	GM1/GT1a	GM1/GQ1b
6	81	F	Unknown	上気道	1.412	0.319	-	GQ1b	GM1/GT1a
7	56	F	27	上気道	1.466	0.17	+	GQ1b	None
8	39	F	18	上気道	0.79	0.375	+	GQ1b	GT1a, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
9	72	M	38	上気道	1.054	0.285	+	GM1/GT1a	GT1a, GQ1b, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
10	33	M	24	上気道	0.943	0.239	-	GM1/GQ1b	GT1a, GQ1b, GM1/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
IgG1-/IgG3+群									
11	53	M	16	上気道	1.623	0.686	-	GQ1b	GT1a
12	66	F	46	上気道	1.123	0.375	+	GT1a	None
13	40	M	Unknown	なし	1.333	0.185	-	GQ1b	GT1a, GT1b, GaINAc-GD1a
14	22	M	24	消化器	1.056	0.467	+	GT1a	GT1b, GD1a/GQ1b
15	16	F	7	消化器	1.006	0.343	+	GT1a	None
16	32	F	Unknown	上気道	1.339	0.524	+	GQ1b	GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GT1a/GQ1b
17	25	M	Unknown	消化器	0.924	0.288	+	GQ1b	GD1a, GT1a, GT1b, GM2/GD1b, GM2/GT1a
18	74	F	19	上気道	0.776	0.58	-	GT1a	GQ1b, GM2/GT1a, GM2/GQ1b
19	32	F	12	消化器	1.083	0.517	+	GT1a	GQ1b
20	40	M	4	上気道	1.265	0.499	+	GQ1b	GT1a
21	71	M	17	Unknown	0.119	0.257	-	GD1b/GQ1b	GT1a, GQ1b, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b
22	32	M	33	上気道	0.664	0.259	+	GT1a	GQ1b, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
23	53	F	12	上気道	0.946	0.319	+	GM1/GQ1b	GT1a, GQ1b, GM1/GT1a, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
24	30	F	21	上気道	0.93	0.288	-	GQ1b	GT1a, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
25	40	F	10	上気道	0.558	0.745	+	GM1/GT1a	GT1a, GQ1b, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
26	23	F	15	消化器	1.309	0.858	+	GT1a	GQ1b, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
27	59	F	15	上気道	0.713	0.22	-	GM1/GT1a	GT1a, GQ1b, GM1/GQ1b, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b
28	57	F	15	上気道	1.504	0.699	-	GQ1b	GT1a, GM1/GT1a, GM1/GQ1b, GD1a/GT1a, GD1a/GQ1b, GD1b/GT1a, GD1b/GQ1b

表 2-5. GBS における IgG サブクラスと臨床的特徴

GBS(n=51)	抗ガングリオシド抗体 IgGサブクラス			p value		
	IgG1+/IgG3- (n=19)	IgG1-/IgG3+ (n=20)	IgG1+/IgG3+ (n=12)	IgG1+/IgG3- vs IgG1-/IgG3+	IgG1+/IgG3- vs IgG1+/IgG3+	IgG1-/IgG3+ vs IgG1+/IgG3+
年齢						
平均(標準偏差)	52.6(22.7)	45.9(18.9)	29.4(13.2)	0.391	0.008	0.013
性別(M/F)	8/11	15/5	9/3	0.038	0.077	0.668
先行感染		(n=19)				
呼吸器	7	8	3	0.74	0.389	0.282
消化器	6	9	9	0.319	0.023	0.126
なし	5	2	0	0.202	0.068	0.368
ワクチン接種	1	0	0			
入院日数						
平均(標準偏差)	46.8(43.4)	27.2(20.0)	31.4(27.6)	0.082	0.151	0.832
ピーク時 Functional grade		(n=19)				
平均(標準偏差)	3.47(1.17)	3.05(1.39)	3.17(1.11)	0.353	0.437	0.832
抗体価(OD)						
平均(標準偏差)	0.95(0.37)	1.00(0.35)	1.38(0.24)	0.637	0.001	0.003
補体結合能(OD)						
平均(標準偏差)	0.36(0.22)	0.43(0.31)	0.64(0.26)	0.455	0.011	0.043
神経伝導検査	(n=17)	(n=19)				
軸索型	4	0	2	0.04	0.513	0.142
脱髄型	8	9	7	0.985	0.413	0.41
その他(正常を含む)	5	10	3			
治療回数		(n=19)				
1回以下/2回以上	12/7	17/2	7/5	0.062	0.788	0.058
感覚障害						
あり/なし	7/12	12/8	5/7	0.148	0.788	0.314
脳神経障害						
あり/なし	12/7	10/10	2/10	0.408	0.018	0.063

表 2-6. FS における IgG サブクラスと臨床的特徴

FS(n=30)	抗ガングリオシド抗体 IgGサブクラス		p value
	IgG1+/IgG3- (n=10)	IgG1-/IgG3+ (n=18)	
年齢			
平均(標準偏差)	41.6(21.4)	42.5(17.8)	0.813
性別			
M/F	6/4	7/11	0.249
先行感染		(n=17)	
呼吸器	9	11	0.161
消化器	0	5	0.077
なし	1	1	
入院日数	(n=9)	(n=16)	
平均(標準偏差)	22.1(11.1)	17.7(10.5)	0.342
抗体価(OD)			
平均(標準偏差)	1.09(0.39)	1.01(0.37)	0.63
補体結合能(OD)			
平均(標準偏差)	0.34(0.19)	0.44(0.2)	0.125
治療回数	(n=9)		
1回以下/2回以上	9/0	17/1	0.666
感覚障害			
あり/なし	6/4	11/7	0.679

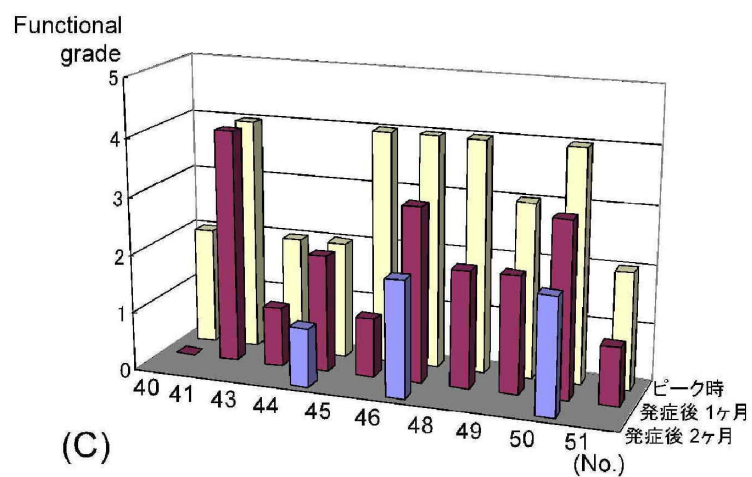
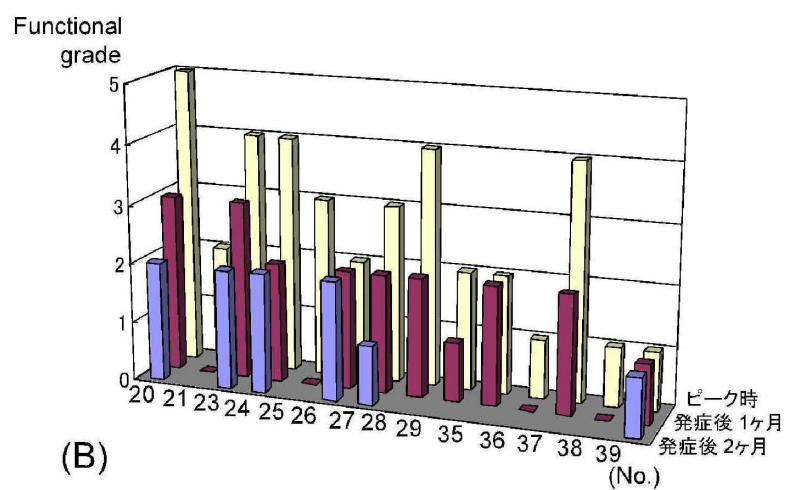
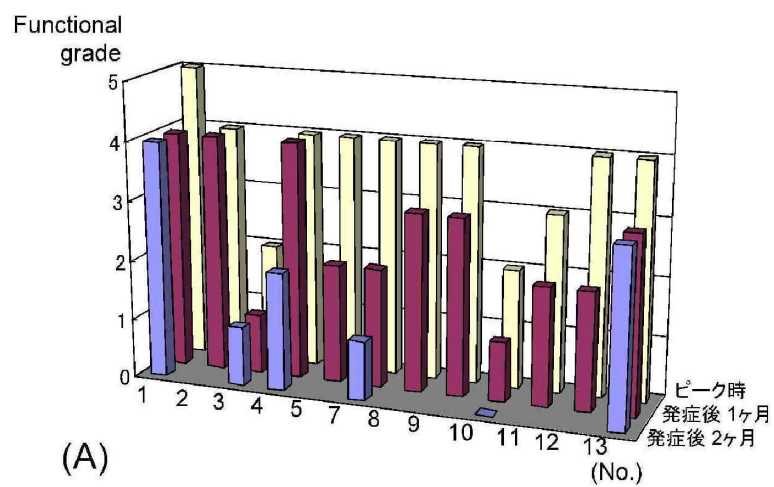


図 2-3. 臨床経過の判明した GBS 患者の発症後 2 ヶ月の臨床的重症度

図 2-3.

(A)IgG1+/IgG3-群(B)IgG1-/IgG3+群(C)IgG1+/IgG3+群, それぞれの発症後 2 ヶ月間の臨床的重症度の変化.ピーク時に歩行不能だった状態から, 1 ヶ月後に補助無しで歩行可能になった割合を各群で比較したが, 有意な差は無かった.(IgG1+/IgG3-群 vs IgG1-/IgG3+群: $p=0.657$, IgG1+/IgG3-群 vs IgG1+/IgG3+群: $p=0.238$, IgG1-/IgG3+群 vs IgG1+/IgG3+群: $p=0.262$)

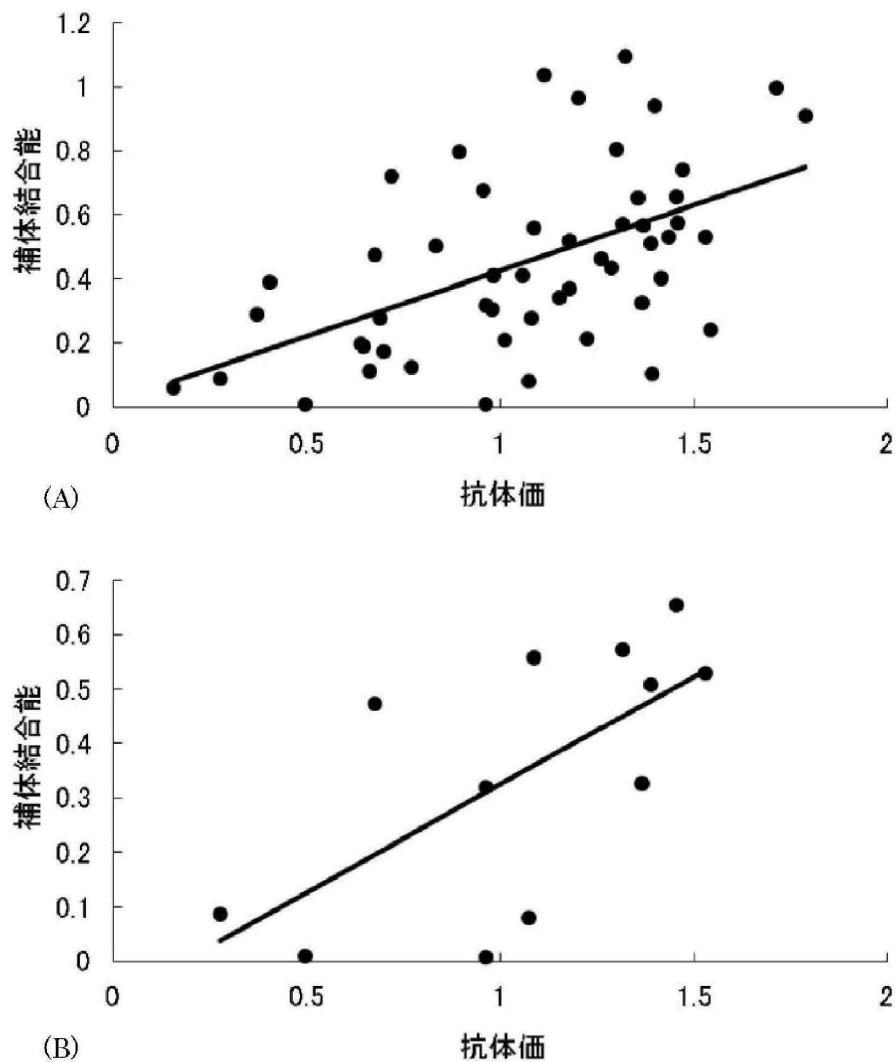


図 2-4. ギラン・バレー症候群の抗体価と補体結合能

(A)ギラン・バレー症候群患者全体の抗体価と補体結合能の関係($p < 0.001$, 相関係数 0.538), (Pearson's correlation coefficient test). (B)GM1 が対象のガングリオシドであったギラン・バレー症候群の抗体価と補体結合能の関係($p = 0.024$, 相関係数 0.678), (Spearman's correlation coefficient by rank test). いずれの場合も有意な相関が見られた。

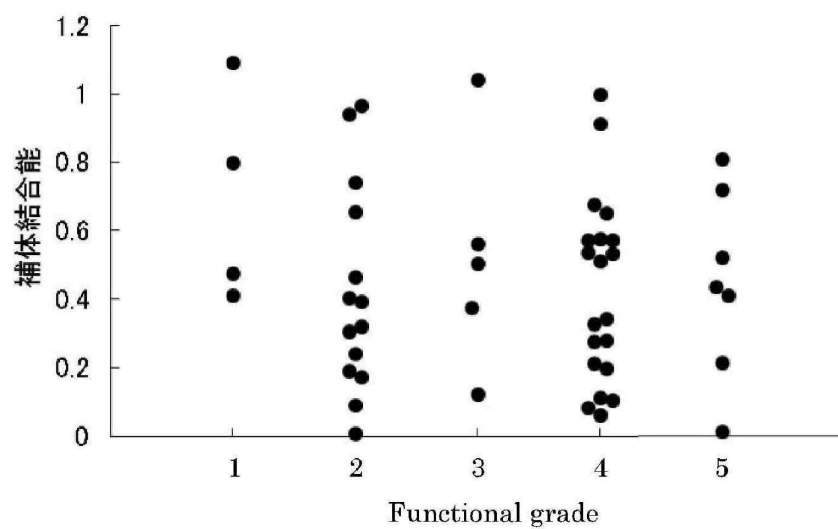
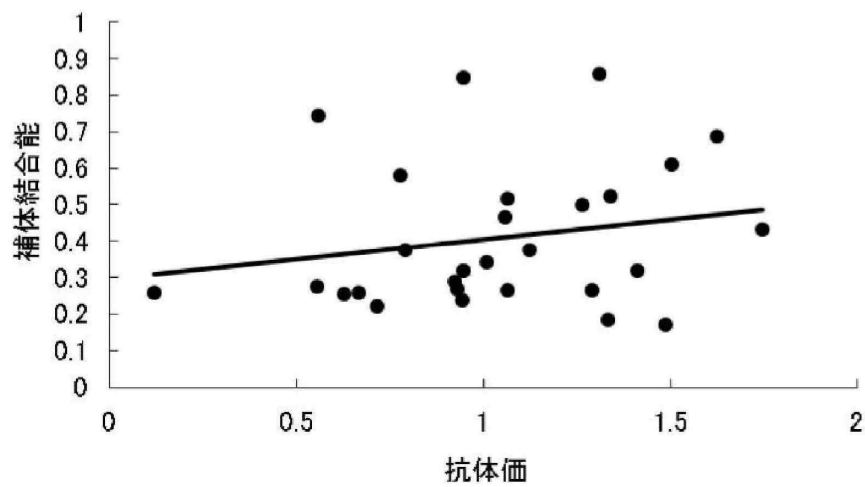
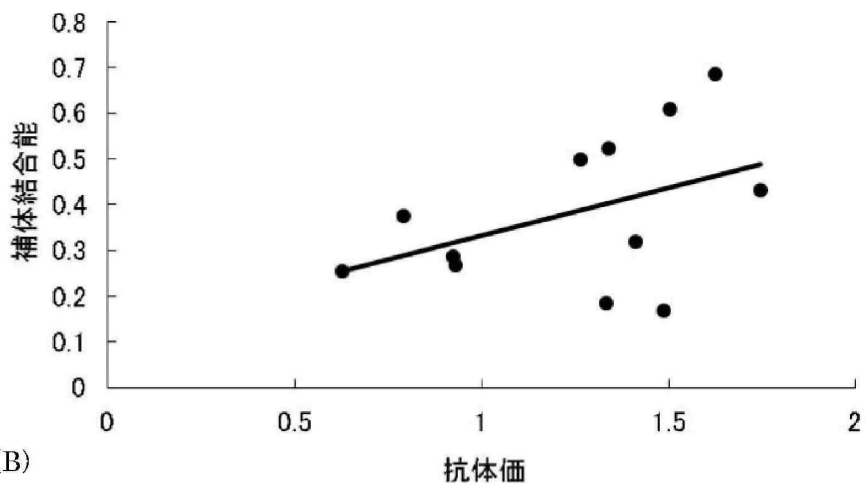


図 2-5. ピーク時の Functional grade と補体結合能

すべての Functional grade 群間で検定統計量の絶対値は5%基準点を下回っており、有意な補体結合能の差を認めなかった(Tukey-Kramer method).



(A)



(B)

図 2-6. フィッシャー症候群の抗体価と補体結合能

(A)フィッシャー症候群の抗体価と補体結合能の関係($p=0.19$), (Spearman's correlation coefficient by rank test). (B)GQ1b が対象のガングリオシドであったフィッシャー症候群の抗体価と補体結合能($p=0.153$), (Pearson's correlation coefficient test). いずれの場合も有意な相関を認めない.

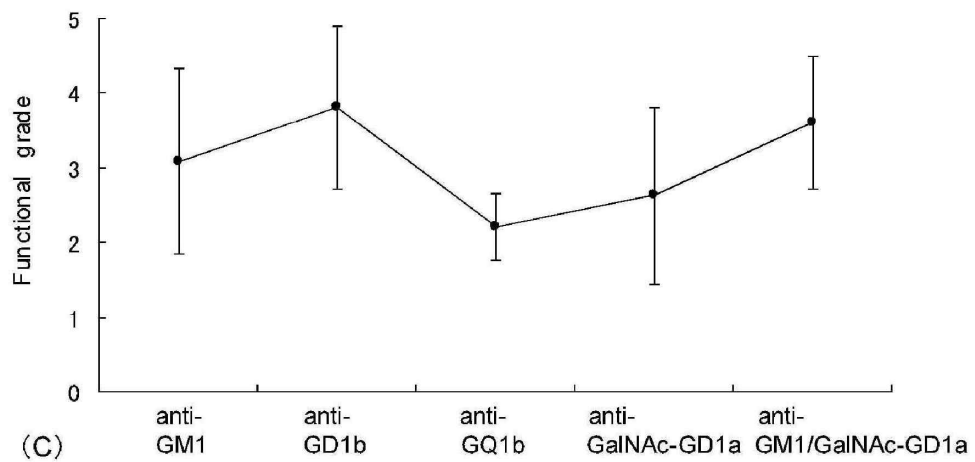
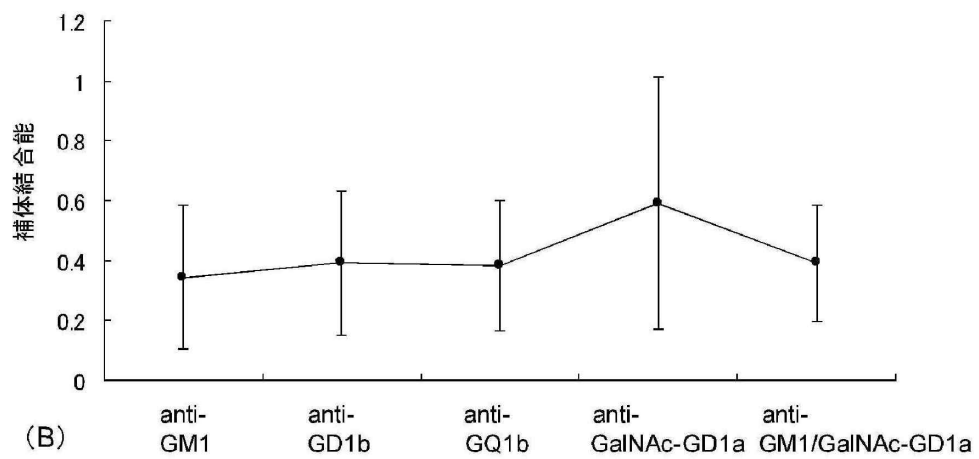
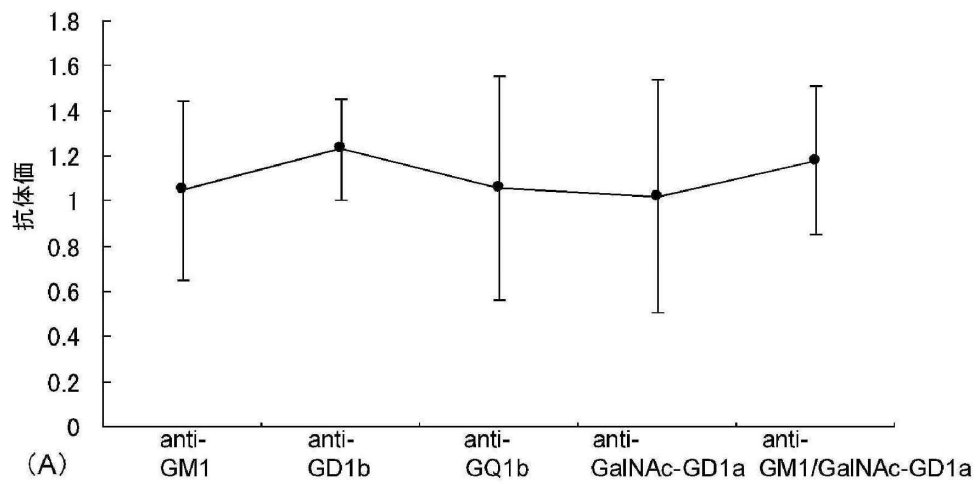


図 2-7. GBS 患者における抗体の種類による抗体価, 補体結合能, ピーク時重症度

図 2-7.

(A)抗ガングリオシド抗体の種類と抗体価, (B)抗ガングリオシド抗体の種類とその補体結合能, (C)抗ガングリオシド抗体の種類とピーク時臨床的重症度. (A), (B), (C)のいずれにおいても抗ガングリオシドの種類による各群間の有意な差を認めなかった. [(A) Tukey-Kramer method, (B)および(C) Steel-Dwass method]

表 2-7. IgG サブクラスの分布と機能（文献 41 より引用）

機能的活性	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
中和	++	++	++	++
オプソニン化	+++	*	++	+
NK細胞キラー活性への感作	++	-	++	-
マスト細胞の感作	+	-	+	-
補体系の活性化	++	+	+++	-
分布				
上皮細胞を介する輸送	-	-	-	-
胎盤を介する輸送	+++	+	++	+/-
血管外組織への拡散	+++	+++	+++	+++
平均血清濃度(mg/ml)	9	3	1	0.5

*IgG2 は白人の約 50%に存在する特殊なアロタイプの Fc レセプターが存在下でオプソニンとして機能し得る.

表 3-1. 神経症状を呈した悪性腫瘍患者のプロファイル

No	年齢	性別	臨床病型	電気生理学的所見	腫瘍
1	72	F	感覚・運動障害	脱髄	悪性リンパ腫
2	63	F	失調	正常	悪性リンパ腫
3	80	M	感覚障害・筋力低下	軸索障害	悪性リンパ腫
4	90	F	感覚障害	不明	悪性リンパ腫 (DLBCL)
5	53	F	脳神経麻痺	不明	悪性リンパ腫 (DLBCL)
6	46	F	筋力低下	軸索障害	悪性リンパ腫 (DLBCL)
7	61	M	脳神経麻痺、運動・感覚障害	軸索障害	悪性リンパ腫 (DLBCL)
8	56	M	筋力低下	脱髄＋軸索障害	悪性リンパ腫 (DLBCL)
9	78	M	運動・感覚障害	脱髄＋軸索障害	悪性リンパ腫 (リンパ形質細胞性リンパ腫)
10	59	F	感覚・運動障害	軸索障害	悪性リンパ腫 (NK/T cell lymphoma)
11	60	M	右動眼神経麻痺	不明	胃癌
12	77	F	感覚・運動障害	脱髄	胃癌
13	85	M	脱力、感覚障害	脱髄＋軸索障害	胃癌
14	60	M	感覚・運動障害	脱髄＋軸索障害	胃癌 (スキルス)
15	78	M	運動・感覚障害	脱髄	胃癌・大腸癌
16	52	F	感覚・運動障害	軸索障害	肺小細胞癌
17	65	M	筋力低下	神経筋接合部異常	肺小細胞癌
18	50	M	顔面神経麻痺	不明	急性骨髄性白血病
19	77	M	感覚・運動障害	脱髄	前立腺癌
20	65	M	下位運動ニューロン疾患	軸索障害	膀胱癌
21	66	M	尿閉、筋力低下	F波の出現低下	腎癌
22	61	M	顔面神経麻痺	不明	成人T細胞性白血病

DLBCL: Diffuse large B-cell lymphoma

赤字は抗ガングリオシド抗体陽性患者.

表 3-2. 悪性腫瘍に伴ったニューロパチーで出現した抗ガングリオシド抗体の報告例

Age/Sex	Clinical symptoms	Anti-ganglioside antibody	Class	Tumor	Reference
68 / F	Ophthalmoplegia Polyneuropathy	GQ1b, GM2, GD3	IgM	Malignant melanoma	60)
65 / M	Sensorimotor neuropathy	GT1b, GQ1b, GD3	IgM	Chronic lymphocytic leukemia	61)
73 / F	Sensorimotor neuropathy	GM2	IgM	Malignant melanoma	62)
63 / M	Sensorimotor neuropathy	GD3, GD2, GD1b, GT1b, GQ1b, fucGD1b	IgM	Diffuse large B-cell lymphoma	63)
76 / M	Sensorimotor neuropathy	GM1	unknown	Hepatocarcinoma	64)
62 / F	Sensorimotor neuropathy	GM1	IgM	Lung small cell carcinoma	65)
76 / M	Motor neuropathy	GM1	IgM	Bladder cancer	66)
73 / M	Motor neuropathy	GM1, GD1a	IgG	Lung adenocarcinoma	67)
71 / M	Ophthalmoplegia Ataxia	GD1a, GD2, GD1b, GQ1b	IgG	Lung small cell carcinoma	67)

謝辞

防衛医科大学校医学研究科で4年間を通じて御指導いただいた内科3 木村 文彦教授および海田 賢一准教授と論文の構成を考える上で貴重なコメントを頂いた解剖学 小林 靖教授に深謝申し上げます。