

免疫性脱髄性末梢神経疾患における血清抗ガングリオシド抗体の研究

柴田 明德

Guillain-Barré 症候群 (GBS), Fisher 症候群 (FS), 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎 (chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy ; CIPD) における血清抗ガングリオシド抗体を enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定し, 臨床症状, 電気生理学的検査所見との対比を行った. 四肢運動障害と抗 GM 1 抗体, 抗 GD 1 a 抗体, 抗 GD 1 b 抗体が, 眼球運動障害と抗 GQ 1 b 抗体がそれぞれ相関を認めた. 電気生理学的検査では, GBS 17例中, 脱髄型は14例で, 軸索型は2例であった. 軸索型は2例ともに抗 GM 1 抗体の上昇が認められ, 前駆症状に下痢があった. 最近, 注目されている *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) 感染後軸索型 GBS の可能性が示唆された. CIPD においては抗ガングリオシド抗体と有意な関係は認められなかった. (平成10年9月3日受理)

Serum Anti-ganglioside Antibody in Inflammatory Demyelinating Neuropathies

Akinori SHIBATA

Serum anti-ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome (GBS), Fisher syndrome (FS), and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIPD) were measured by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and compared with their clinical symptoms and electrophysiological examinations. The severity of muscular weakness in the four extremities correlated with the anti-GM 1, GD 1 a and GD 1 b antibodies. Disturbances of eyeball movement correlated with the anti-GQ 1 b antibody. Electrophysiological examinations showed 14 of 17 patients with GBS to be of the demyelinating type and two were of the axonal type. Both axonal type patients had a high anti-GM 1 antibody titer and their preceding symptom was diarrhea, suggesting the possibility of *Campylobacter jejuni* infection. No significant correlation with CIPD and anti-ganglioside antibodies was found. (Accepted on September 3, 1998) *Kawasaki Igakkaishi* 24 (3) : 123-130, 1998

- Key Words** ① Guillain-Barré syndrome ② Fisher syndrome
③ Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy
④ Anti-ganglioside antibody ⑤ *Campylobacter jejuni*

はじめに

GBS や FS はその治療に血漿交換が有用なことから、液性免疫の関与が示唆されていた。近年 Yuki ら¹⁾によってその発症原因の一つとなる抗 GM 1 抗体が証明された。その後さまざまな抗ガングリオシド抗体が発見されてきたことから、GBS、FS 等の免疫性脱髄性末梢神経疾患と血清抗ガングリオシド抗体との関連が注目されている。今回、著者は免疫性脱髄性末梢神経疾患において、種々の血清抗ガングリオシド抗体を測定し、臨床症状、電気生理学的検査所見との対比を行い、それぞれの相関について検討した。

対 象

免疫性脱髄性末梢神経疾患として、川崎医科大学神経内科で平成5年8月から平成10年2月の間に経験した GBS 17例、FS 8例、CIDP 6例を対象とした。その他疾患コントロールとして、脊髄小脳変性症 4例、パーキンソン病 3例、運動ニューロン疾患 4例、アルツハイマー型老年痴呆 2例、ウイルス性髄膜炎 1例、ウイルス性脳炎 1例、ウイルス性筋炎 1例、Bell 麻痺 2例、脳梗塞 1例、ミトコンドリア脳筋症 1例、神経 Behcet 病 1例、Meige 症候群 2例を用いた。正常コントロールは19例である。

方 法

1. それぞれの患者血清は採血後、使用直前ま

Table 1. Summary of patients

No.	age	sex	disease	preceding symptom	clinical symptom				electrophysiological examination		
					weakness	sensory disturbance	disturbance of eyeball movement	respiratory disturbance	demyelination	axonal degeneration	conduction block
1.	47	M	GBS	CCS	++	+	-	-	+	-	-
2.	24	F	〃	〃	++	+	-	-	+	-	-
3.	62	M	〃	〃	+++	+	-	-	+	-	+
4.	49	M	〃	diarrhea	+++	-	-	-	+	-	+
5.	19	M	〃	CCS	+++	+	+	+	+	-	-
6.	57	M	〃	diarrhea	+++	-	-	+	+	-	-
7.	28	M	〃	CCS	+++	-	-	-	+	-	-
8.	41	M	〃	-	+++	-	-	-	+	-	+
9.	59	F	〃	diarrhea	+	+	-	-	+	+	-
10.	69	F	〃	CCS	+++	+	-	+	+	-	-
11.	65	F	〃	〃	+++	-	-	-	+	-	-
12.	37	M	〃	〃	-	+	-	-	+	-	-
13.	24	M	〃	diarrhea	++	-	-	-	+	-	+
14.	23	M	〃	〃	++	-	-	-	+	+	-
15.	73	F	〃	CCS	+++	+	-	+	+	-	+
16.	16	F	〃	〃	+	+	-	-	-	-	-
17.	23	F	〃	diarrhea	+++	+	-	-	+	-	+
18.	40	M	FS	-	+	+	+	-	-	-	-
19.	25	F	〃	CCS	+	+	+	-	-	-	-
20.	12	M	〃	〃	-	-	+	-	+	-	-
21.	69	F	〃	〃	-	+	+	-	-	-	-
22.	23	M	〃	〃	-	-	+	-	-	-	-
23.	57	F	〃	〃	+	+	+	-	-	-	-
24.	38	F	〃	〃	+	+	+	-	-	+	-
25.	31	M	〃	〃	-	+	+	-	-	-	-
26.	50	M	CIDP	-	++	+	+	-	+	-	-
27.	55	F	〃	-	+	-	-	-	+	-	+
28.	60	M	〃	-	+++	+	-	-	+	-	-
29.	22	M	〃	-	++	+	-	-	+	-	+
30.	36	M	〃	-	+	+	-	-	+	-	-
31.	60	M	〃	-	++	+	-	-	+	-	-

CCS : common cold symptoms

で-20℃にて凍結保存しておいた。

2. ELISA

標準ガングリオシド (GM 1, GM 2, GD 1a, GD 1b, GT 1b, GQ 1b : Sigma 社製) を99.5% エタノールに1mg/1mlの濃度となるように溶解した。マイクロプレートの各wellに100 μ lずつスポットし、蒸発・乾燥固定した。0.5% skim-milk-トリス緩衝液 (pH7.4) -0.05% Tween20 (以下 blocking 溶液) で1時間室温でblockingを行った。1次抗体として患者血清をblocking液で400倍に希釈し、マイクロプレートの各wellに100 μ lずつ加え、4℃にて5時間反応させた。blocking液で5分間3回洗浄後、2次抗体として1000倍希釈のペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG抗体を各wellに100 μ lずつ加え、室温にて3時間反応させた。blocking溶解にて再び洗浄後、O-phenylenediamineにて発色させ2M硫酸で反応を停止し、492nmにて吸光度を測定した。用いた吸光度計はBeckmanDU® 640である。

3. 電気生理学的検討

免疫性脱髄性末梢神経疾患の全例で、末梢神経伝導検査を正中神経、尺骨神経、脛骨神経にて施行した。運動神経伝導速度 (motor nerve conduction velocity : MCV), 遠位潜時, M波振幅, 伝導ブロックについて検討し、末梢神経障害のタイプを電気生理学的検査上、脱髄型と軸索型に分類した。MCVの低下や遠位潜時の延長、伝導ブロックの存在が認められる場合を脱髄型とし、M波振幅の低下を示し、遠位潜時、MCVが保たれている場合を軸索型と判定した。

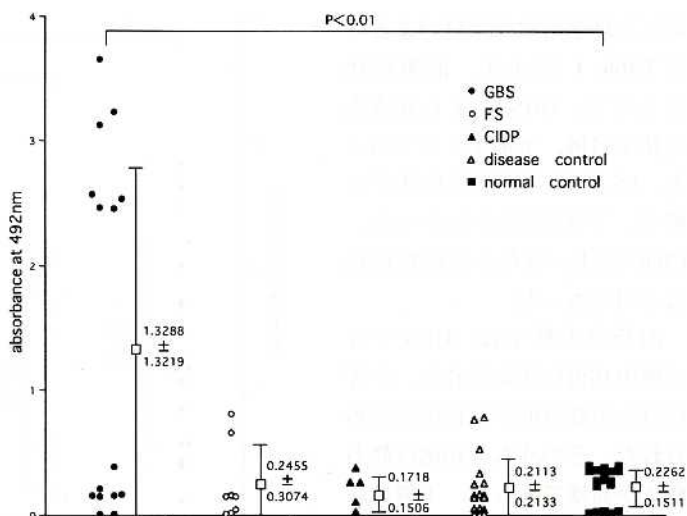


Fig. 1. anti-GM1 antibody

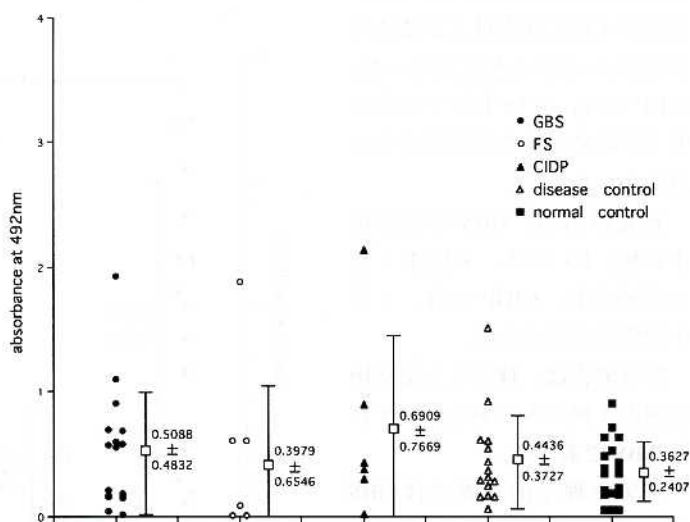


Fig. 2. anti-GM2 antibody

4. 臨床症状

問診にて前駆症状の有無を聴取した。また一般身体所見、神経学的所見について検討した。

5. 統計学的解析

Studentのt検定を用いた。

結 果

免疫性脱髄性末梢神経疾患患者の臨床症状、

電気生理学的検査所見のまとめを **Table 1** に示す。前駆症状としては、GBS では上気道炎症症状が11例、下痢が5例であった。FS では上気道炎症症状が7例で、下痢は認めなかった。CIDP では、明らかな前駆症状は不明であった。

四肢筋力低下は、GBS では17例中16例に認められた。中等度以上の筋力低下は14例に認められた。そのうちの10例は筋力低下が高度であった。1例は筋力低下は顔面筋に限局し、四肢筋力は正常であった。FS では、8例中4例に筋力低下が認められたが、いずれも軽度であった。CIDP では、6例すべてに筋力低下が認められたが高度なものはなかった。

感覚障害は、GBS では17例中10例、FS では、8例中6例に認められ、CIDP では、6例中5例に認められた。

呼吸障害は、検討した全症例31例中4例のみであり、いずれも GBS であった。

電気生理学的検査では GBS 17例中、14例が脱髄型で、2例が軸索型であった。1例は電気生理学的検査の所見は軽微でいずれの型とも判定できなかった。

FS では、8例中、2例のみに電気生理学的に異常が認められた。伝導ブロックは GBS では17例中5例に認め、CIDP では6例中2例に認められたが、FS では認められなかった。

各抗ガングリオシド抗体と各疾患との関連を **Figure 1~6** に示す。正常コントロールの結果より、吸光度1.0を cut off 値とした。抗 GM 1 抗体は、GBS で17例中7例 (40%) に有意な上昇を認めた ($p < 0.01$, **Fig. 1**)。FS, CIDP

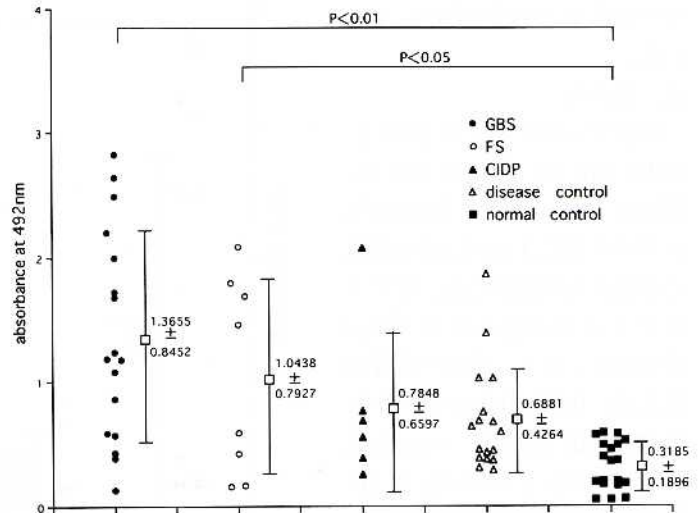


Fig. 3. anti-GD1a antibody

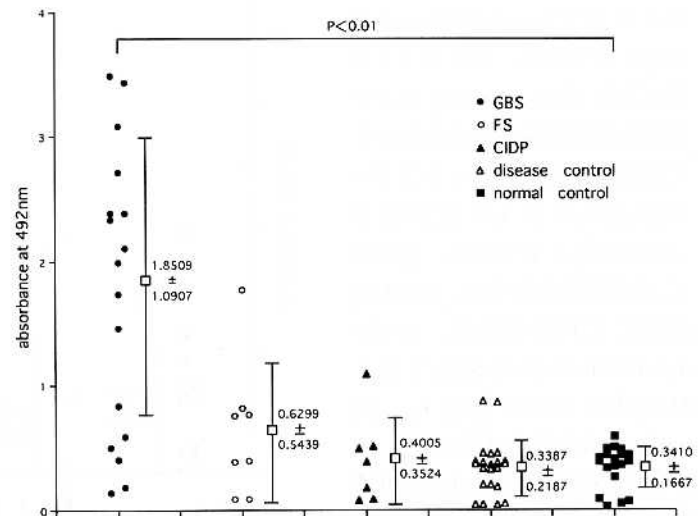


Fig. 4. anti-GD1b antibody

では有意な上昇は認められなかった。抗 GM 2 抗体は、GBS で2例、FS で1例、CIDP で1例に高値を認めたが統計学的に有意なものではなかった (**Fig. 2**)。抗 GD 1a 抗体は、GBS で17例中11例 (64%)、FS で8例中4例 (50%) に高値を認めた ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。しかし疾患コントロール群でも正常コントロール群と比べ有意の上昇が認められた ($p < 0.01$, **Fig. 3**)。抗 GD1b 抗体は、GBS で17例中11例 (64%)

と有意な上昇を認めた ($p < 0.01$, Fig. 4). 抗GT1b抗体は, GBSで4例(20%), FSでは4例(50%)に有意な上昇を認めたが ($p < 0.05$, $p < 0.05$), 疾患コントロール群でも正常コントロール群と比べ有意の上昇が認められた ($p < 0.05$, Fig. 5). 抗GQ1b抗体は, GBSで3例(18%), FSで7例(88%)に有意な上昇を認めた ($p < 0.05$, $p < 0.00005$, Fig. 6, Table 2).

考 察

GBSは, 先行感染の一定期間後に通常下肢から上行性に進行してゆく弛緩性の四肢麻痺, 四肢腱反射の消失, ときには脳神経障害, 呼吸障害を呈し, 单相性の経過をたどる疾患である. 治療に血漿交換が有効であることから, 液性因子の関与した感染後自己免疫疾患と考えられている. 発症機序として, 先行感染の病原体が末梢神経の髄鞘の構成成分と共通する抗原を有し, 病原体の交差抗原に対する抗体が自己抗体として末梢神経に障害を与えるという交差抗原説が提唱されている. GBSの先行感染の病原体として, 細菌, ウ

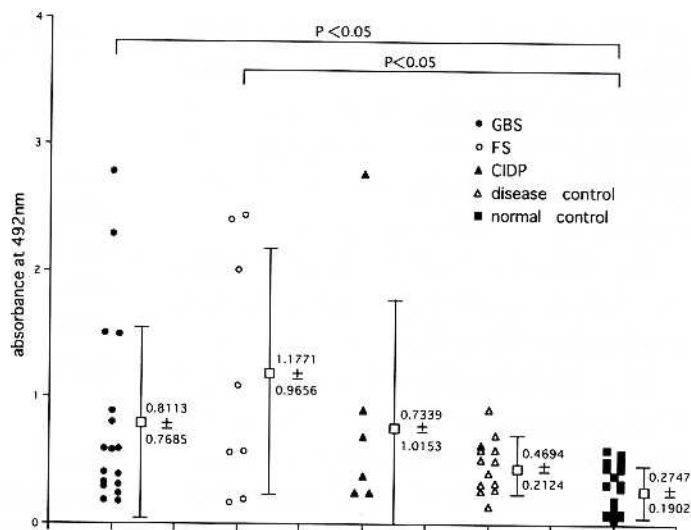


Fig. 5. anti-GT1b antibody

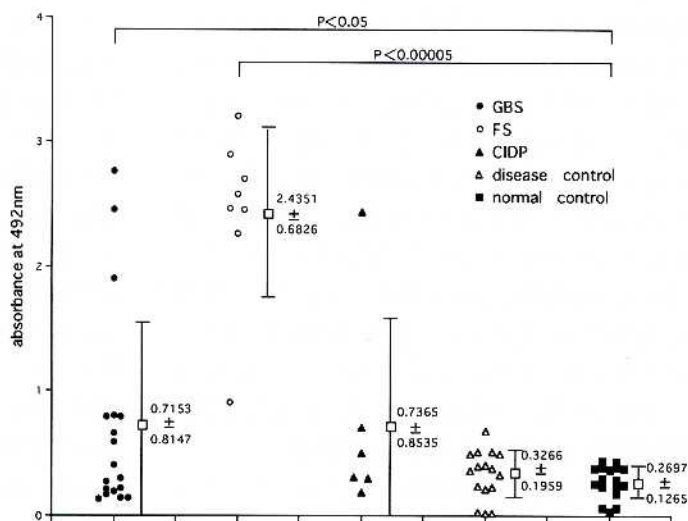


Fig. 6. anti-GQ1b antibody

イルス, *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) 等が知られているが, *C. jejuni* 感染後 GBS は, 運動優位の障害を呈し, 予後不良であるといわれている^{2),3)}. Yuki ら¹⁾は, *C. jejuni* 感染後 GBS 患者から分離された *C. jejuni* のリポ多糖と GM1 ガングリオシドとの分子相同性を証明し, GBS 発症に抗 GM1 抗体が関与していることを示した. GM1 エピトープはランヴィエ絞輪や脊髄運動ニューロンに存在するとされ, 実験

的にも抗 GM1 抗体を有する血清をラット坐骨神経に加えると, 運動神経の電気的ブロックが生じることが証明されている⁴⁾.

一方 GBS の亜型と考えられている FS は, 眼球運動障害, 四肢腱反射の消失, 失調を主徴とする疾患で, GBS と同様单相性の経過をたどる. 千葉らによって, そのほぼ全例に抗 GQ1b 抗体が特異的に出現することが示され, 抗 GQ1b 抗体が眼球運動障害に関与しているこ

とが明らかにされた。さらに千葉、楠らは免疫組織学的検討によって、動眼・滑車・外転神経の髄外部分の傍絞輪部にGQ1bエピトープが局在することを示した^{5),6)}。この傍絞輪部への抗体の結合によって刺激伝導がブロックされ、眼筋麻痺を生じると考えられている。

今回、GBS, FS, CIDP 患者血清中の各種抗ガングリオシド抗体を測定し、臨床症状、電気生理学的検査所見との関連について検討した。

まず、各疾患の前駆症状を見るとGBSでは上気道炎症状が10例、下痢が6例であるがそれぞれと各臨床症状との関連は認めない。しかし、電気生理学的所見と対比してみると前駆症状が上気道炎症状の場合、脱髄型が9例(90%)、軸索型が0例であり、下痢の場合は、脱髄型が4例(66%)で、軸索型が2例(33%)である。症例数が少ないため明確なことは言えないが、軸索型GBSは上気道炎症状よりも下痢との関連性が示唆される。筋力低下はGBSに最も特徴的で、かつ高度であった。特に高度の筋力低下を呈する10症例全てが脱髄型であり、そのうちの5例に伝導ブロックを認めた。CIDPの筋力低下は中等度で、FSでは軽度以下であった。感覚障害はGBS, FS, CIDPともに認め、疾患特異性はないと考える。眼球運動障害はFSに最も高頻度(100%)に認められたが、GBSではわずか1例にのみ認められた。呼吸障害は全体の12%(4例)に認め、全例GBSであり、かつこれらの例では四肢筋力低下が高度であった。4例全てが脱髄型であった。

以上の結果と、抗ガングリオシド抗体との関連について検討して見ると、Table 2に示すように軸索型GBSでは2例ともに抗GM1抗体が認められ(100%)、抗GD1a抗体、抗GD1b抗体はともに50%に認められた。脱髄型GBSでは、それぞれ35%、64%、70%の出現率であることから、特に抗GM1抗体が軸索型に有意に認められ特徴的であると思われる。また、呼吸障害を呈した4例のGBSにおけるガングリオシド抗体は、抗GM1抗体は1例のみであり、抗GD1a抗体が2例、GD1b抗体が

Table 2. Summary of anti-ganglioside antibodies

	GBS (n=17)		FS (n=8)	CIDP (n=6)
	demyelination (n=14)	axonal degeneration (n=2)		
GM1	5	2	0	0
GM2	2	0	1	1
GD1a	9	1	4	1
GD1b	10	2	1	1
GT1b	4	0	4	1
GQ1b	3	0	7	1

1例出現している。

Yukiらは、下痢を前駆症状とするC. jejuni感染後GBS患者の急性期血清中にIgG抗GM1抗体価が上昇することを見出した^{7),8)}。C. jejuni感染後GBSは、感覚障害は認めても軽度であり、運動障害優位の症状を呈し、電気生理学的には軸索型の所見を示すことが多い⁹⁾。また症状が遷延し予後不良であるといわれている¹⁾。我々の検討では軸索型GBSでは、2例ともに下痢を認めたが筋力低下は軽度ないし中等度であった。更に経過は良好であり、Yukiらの報告とは異なっている。また、一般的に軸索型GBSは予後不良といわれているが、我々の症例では、呼吸障害を呈する重症例は全例脱髄型であった。前述したように今回の軸索型GBS 2例には、ともに抗GM1抗体の上昇を認めており、最近注目されているC. jejuni感染後GBSの可能性を示唆するのではないかと考えられた。しかし、今回の検討では便中にC. jejuniは証明できなかった。

楠、尾林らはGBSの患者血清中に、約15~30%に抗GM1抗体の上昇が認められることを報告している^{10)~12)}。また、抗GM1抗体上昇患者には、抗GD1b抗体も平行して上昇することが多く、Gal(β1-3)GalNAc糖鎖をエピトープとして認識する抗体であると述べている^{10)~12)}。楠は、24例のGBS症例中、抗GM1または抗GD1b抗体いずれかを有する症例が12例に認めたことより、抗GM1及び抗GD1b抗体がGBS発症に重要であるとしている¹¹⁾。

前述したように、抗 GM 1 抗体は運動神経伝導をブロックし、抗 GD 1 b 抗体は、脊髄前根での軸索及び傍絞輪部に局在することが明らかにされている。今回の症例でも GBS 17 例中、GM 1 は 7 例、GD 1 a は 10 例、GD 1 b は 12 例とそれぞれ抗体の上昇を認めており、楠らの報告と矛盾しない結果が得られた。

以上のことより、GBS では抗ガングリオシド抗体として抗 GM 1、GD 1 a、GD 1 b 抗体が重要であり、これらが運動障害発現に関与していると思われる。特に軸索型では GM 1 抗体の存在が重要と考える。FS では 8 例中 7 例に抗 GQ 1 b 抗体が認められたことから、今回の検討でも FS の発症機序に抗 GQ 1 b 抗体が重要であることが明らかとなった。CIDP に関しては、抗 GM 1 抗体が出現した報告が散見される^{13)~15)}、現時点では、特異的な抗体であるとは考えられていない。今回の検討でも全 6 例

中、抗 GM 1 抗体は検出されず、GM 2、GD 1 a、GD 1 b、GT 1 b、GQ 1 b 抗体が各 1 例ずつ出現しているのみであり、統計学的にも有意な上昇は認められなかった。

以上、免疫性脱髄性末梢神経疾患 (GBS, FS, CIDP) と抗ガングリオシド抗体との関連を臨床症状、電気生理学的検査所見とあわせ検討した。

GBS, FS には非定型的な症状を呈する症例もあり、抗ガングリオシド抗体の検索は診断の一助となりうるということがわかった。

謝 辞

稿を終えるに当たり終始直接のご指導を賜った川崎医科大学神経内科 寺尾 章教授に深甚の謝意を表します。また終始ご指導とご協力をいただきました川崎医科大学学生化学第一講座 島方孝士講師ならびに神経内科 舟川 格講師に深く感謝します。

文 献

- 1) Yuki N, Taki T, Inagaki F, Kasama T, Takahashi M, Saito K, Handa S, Miyatake T: A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillain-Barré syndrome has a GM 1 ganglioside-like structure. *J Exp Med* 178: 1771-1775, 1993
- 2) 結城伸泰, 吉野 英, 佐藤修三, 大野 司, 宮武 正: GM₁, GD_{1b} ガングリオシドと反応する抗体を認めた急性軸索性 Guillain-Barré 症候群. *臨床神経* 30: 989-993, 1990
- 3) Feasby TE, Gilbert JJ, Brown WF, Bolton CF, Hahn AF, Koopman WF, Zochodne DW: An acute axonal Guillain-Barré polyneuropathy. *Brain* 109: 1115-1126, 1986
- 4) Arasaki K, Kusunoki S, Kudo N, Kanazawa I: Acute conduction block in vitro following exposure to antiganglioside sera. *Muscle Nerve* 16: 587-593, 1993
- 5) 千葉厚郎: Miller Fisher 症候群と抗 GQ_{1b} 抗体. *神経内科* 38: 455-463, 1993
- 6) 楠 進, 千葉厚郎: フィッシャー症候群-特異的マーカーとしての抗 GQ 1 b 抗体-. *日本臨床* 52: 171-176, 1994
- 7) Yuki N, Yoshino H, Sato S, Miyatake T: Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM₁ antibodies following *Campylobacter* enteritis. *Neurology* 40: 1900-1902, 1990
- 8) Yuki N, Hanada S, Taki T, Kasama T, Takahashi M, Saito K, Miyatake T: Cross-reactive antigen between nervous tissue and a bacterium elicits Guillain-Barré syndrome: Molecular mimicry between ganglioside GM₁ and lipopolysaccharide from Penner's serotype 19 of *Campylobacter jejuni*. *Biomed Res* 13: 451-453, 1992
- 9) 結城伸泰: *Campylobacter jejuni* 腸炎と Guillain-Barré 症候群. *神経内科* 43: 195-204, 1995
- 10) 楠 進: 抗糖脂質抗体と神経疾患. *神経進歩* 39: 923-929, 1995
- 11) 楠 進: 抗ガングリオシド抗体と脱髄性ニューロパシー. *Annual Review 神経*. 東京, 中外医学社. 1996, pp 209-215

- 12) 尾林 博, 斎田孝彦, 黒木茂一, 貫名政文, 西谷 裕: Guillain-Barré 症候群と *Campylobacter jejuni* 感染. 神経内科 38: 431-438, 1993
- 13) 中塚敬輔, 多田穰治, 大西見生, 山本辰紀, 橋本朋子: 抗 GM₁ ガングリオシド抗体価の上昇を伴った慢性炎症性脱髄性多発根神経炎. 神経内科 41: 175-178, 1994
- 14) van Schaik IN, Vermeulen M, van Doorn PA, Brand A: Anti-GM 1 antibodies in patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) treated with intravenous immunoglobulin (IVIg). J Neuroimmunol 54: 109-115, 1994
- 15) 林 靖子, 結城伸泰, 吉野 英, 金子清俊, 宮武 正: 抗 GM₁ 抗体価上昇を認めた distal lower motor neuron syndrome の 1 例. 臨床神経 31: 674-676, 1991