

ギラン・バレー症候群における
自律神経障害に関する臨床的，免疫学的検討：
GQ1b 関連抗体の病的意義に関して

たかざき ひろし
高崎 寛

(神経病学専攻)

防衛医科大学校

令和4年度

目次

第1章 研究の背景

第1節	ギラン・バレー症候群	1
第2節	抗糖脂質抗体の GBS の病態への関与について	2
第3節	GBS における自律神経障害と抗 GQ1b 抗体について	5
第4節	研究の目的	8

第2章 対象と方法

第1節	自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連	10
第2節	自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討	12
第3節	GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討	15

第3章 結果

第1節	自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連	17
第2節	自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討	20
第3節	GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討	21

第4章 考察

第1節	自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連	23
第2節	自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討	26
第3節	GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討	29

第 4 節 総合考察	31
第 5 章 結論	34
謝辞	35
略語一覧	36
引用文献	38
図表	47
付録	61

第1章 研究の背景

第1節 ギラン・バレー症候群

ギラン・バレー症候群（Guillain-Barré syndrome : GBS）は急性発症の免疫介在性多発根神経炎であり，四肢の弛緩性運動麻痺と腱反射消失が特徴である．中核症状の筋力低下以外にも，感覚障害や脳神経麻痺，自律神経障害など様々な神経症状を呈しうる¹．末梢神経を標的とする自己免疫性機序により発症する疾患と考えられており，感冒や下痢などの先行感染により誘発されることが多い．手術や悪性腫瘍，妊娠，自己免疫疾患，脊髄麻酔，ワクチン接種なども先行イベントとして報告されているが，狂犬病ワクチン接種以外は病態に関与している明らかなエビデンスがあるわけではない²．通常，GBS は先行感染等から 1～2 週間程度を経て発症し，2～4 週間以内に症状はピークに達し，その後 3～12 ヶ月で緩徐に改善していく^{3,4}．一般的に単相性経過で予後良好な疾患であると考えられているが，治療が普及する以前は発症 12 か月後に 20%は後遺症を残し，13%が死亡したと報告され⁴，血漿交換法（plasma exchange : PE）や経静脈的免疫グロブリン療法（intravenous immunoglobulin : IVIg）が治療として普及したあとでも，死亡率は 4.1～6.3%と報告されている⁵．GBS の死亡原因として自律神経障害による心停止が最も多かったとの報告もあり⁴，自律神経障害は GBS の生命予後に影響をおよぼしうる重要な症状である．

従来 GBS は末梢神経の脱髄が主な病態であり，急性炎症性脱髄性ポリニューロパチ

ー (acute inflammatory demyelinating polyneuropathy : AIDP) とほぼ同義であると
考えられていたが、運動神経の軸索障害が主な病態である急性運動性軸索型ニューロパ
チー (acute motor axonal neuropathy : AMAN) の特徴を示す GBS の存在も明らか
になっている^{6,7}。両者の鑑別は神経伝導検査に基づいて行われる。代表的な電気生理学
的診断基準に Ho の基準, Hadden の基準がある。Ho の基準では脱髄型の AIDP は運
動神経伝導速度の低下や遠位潜時の延長, 時間的分散, 最短 F 波潜時の延長などの所見
を認めること, 軸索型の AMAN は脱髄の所見がなく複合活動電位振幅の低下を認める
ことを特徴としている^{7,8}。Hadden の基準では伝導ブロックも脱髄の徴候とみなして,
脱髄型を primary demyelinating, 軸索型を primary axonal と分類している。GBS は
脱髄型と軸索型で臨床経過や予後が異なっていると言われ, 特に脱髄型は人工呼吸器装
着や心臓交感神経系の亢進症状などの重篤な自律神経障害の危険因子である可能性が
示唆されている^{9,10}。一方で, 後述する GBS 剖検例の自律神経組織の所見からは, 迷走
神経や交感神経幹の神経節で神経細胞が障害されることも報告されており⁴⁹⁻⁵¹, GBS
における自律神経障害には脱髄以外の組織障害もその病態形成に関与している可能性
がある。

第 2 節 抗糖脂質抗体の GBS の病態への関与について

GBS の約 60%の急性期血清からシアル酸を有するスフィンゴ糖脂質であるガングリ

オシドに対する自己抗体, 抗ガングリオシド抗体が検出される. シアル酸を含まない中性糖脂質であるガラクトセレブロシドなどに対する自己抗体も含めて, 抗糖脂質抗体と呼ばれている¹¹. 糖脂質は基本糖鎖の種類やシアル酸の個数, 結合部位によって GM1, GD1a, GQ1b など様々な種類が存在し, 生体組織で局在する種類や含有量は臓器によって異なっている¹². 特に神経系組織には糖脂質が多く含有されており, 細胞接着や細胞内シグナル伝達, ミエリン軸索間相互作用などに働くことが知られている¹³.

GBS の臨床像や病型は, 産生されている抗糖脂質抗体の種類に関連すると考えられており, 抗体が標的とする糖脂質の局在を反映した臨床症状を示すとされている. 現在までに, GBS においては 10 種類を超える単独の糖脂質に対する自己抗体が病原性を有する抗体として報告されている¹⁴. 例えば, GD1b は後根神経節細胞に局在することが知られており, 抗 GD1b 抗体陽性の GBS では感覚性運動失調を示すことが報告されている. また GalNAc-GD1a は運動神経のランヴィエ絞輪, 傍絞輪部の軸索膜に局在することが確認されており, 抗 GalNAc-GD1a 抗体陽性 GBS では軸索型運動神経障害を示す^{15,16}. さらに GQ1b は, 外眼筋支配神経の傍絞輪部ミエリン, 後根神経節大型細胞, 骨格筋の筋紡錘内神経終末にも局在することが確認されており¹⁷⁻¹⁹, 抗 GQ1b 抗体は GBS の亜型で外眼筋麻痺, 運動失調症状, 腱反射消失を 3 徴とする Fisher 症候群の 80 ~90%で陽性となり²⁰⁻²², 外眼筋麻痺を伴う GBS や Bickerstaff 型脳幹脳炎 (Fisher 症候群と同様な臨床症状に中枢神経病変を伴うもの) でも高頻度で認められる^{17,23}. 加

えて、抗 GQ1b 抗体は補体依存性にマウス横隔膜の神経筋接合部に作用し、その伝達を阻害し、呼吸筋麻痺による呼吸器障害をきたすことも示されている^{24,25}。ヒト横隔膜の神経筋接合部への抗 GQ1b 抗体の作用については過去に検討されていないが、人工呼吸器装着を必要とする GBS では抗 GQ1b 抗体陽性率が高いことが報告されており²⁶、GBS の呼吸器障害の病態形成に抗 GQ1b 抗体が関与している可能性がある。

抗糖脂質抗体の産生機序としては、先行感染などの病原体が、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分子相同性機序が考えられており、抗 GM1 抗体陽性例の先行感染として認められることが多い *Campylobacter jejuni* の菌体表面には GM1 類似の糖鎖構造の存在が確認されている^{27,28}。

また、細胞膜上においてガングリオンドをはじめとする糖脂質はリン脂質やコレステロールとともに存在し、集簇する特性を持っている。糖脂質単独分子だけでなく、これらの集合体が標的抗原として認識される可能性があり、糖脂質にリン脂質やコレステロールを付加することによって抗体検出感度が上昇することも報告されている^{15,29}。類似の現象が糖脂質を混合した抗原に対してもみいだされ、単独の糖脂質に対する抗体が検出されない場合でも 2 種類の糖脂質を混合した糖脂質複合体に対する抗体が陽性となる場合がある³⁰。この抗糖脂質複合体抗体も GBS の臨床像と関連することが示されており、抗 GD1a/GD1b 抗体、抗 GD1b/GT1b 抗体陽性 GBS では人工呼吸器装着の頻度

が高いことが示されている³¹。また、抗糖脂質複合体抗体の産生機序も単独の抗糖脂質抗体と同様に分子相動性機序が推測されている³²。抗糖脂質複合体抗体も GBS の病態に関連しており、GBS の抗糖脂質抗体の検討において抗糖脂質複合体抗体の検討も加えることは重要である。

第 3 節 GBS における自律神経障害と抗 GQ1b 抗体について

GBS では種々の自律神経障害による症候を伴うことが多い。報告によって異なるが、自律神経障害は GBS の 25～66.7%に認められ³³⁻³⁶、血圧変動、不整脈、直腸膀胱障害、発汗障害、インポテンツなど様々な症状が報告されており、交感神経優位の症状、副交感神経優位の症状いずれの症状もきたしうる^{33,34,37,38}。GBS における自律神経障害は、死亡原因となるような重篤な症状の場合もあり、GBS の死亡例 15 例中、5 例の死因は突然の心停止や著明な高血圧によるくも膜下出血などの自律神経障害が関連していたとの報告や、人工呼吸器管理下の 33 例中 11 例に重篤な不整脈がみとめられ、そのうち 7 例が死亡したという報告もある^{39,40}。その他に posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) も GBS における自律神経障害関連の重篤な合併症として報告されている⁴¹。このような重篤な自律神経症状が生じる機序はあきらかにされていないが、自律神経障害を認めた GBS 例で交感神経節後線維における筋交感神経活動が亢進しており、圧受容器反射の求心路である舌咽・迷走神経の入力がブロックされ、延髄血管運

動中枢に対する抑制が取れて交感神経活動が活発化するという機序が考えられている。交感神経系の過活動状態のときには、迷走神経活動もこれに拮抗する形で活動を高め、徐脈、血圧低下、心停止の原因ともなりうる⁴²。また、心臓を支配する交感神経節後線維である上・中・下心臓神経やその神経節である上・中・下頸神経節の直接の障害も交感神経活動の亢進に影響を与えうる⁴³。心血管系以外の GBS における重篤な自律神経障害として麻痺性イレウスが生じる場合もあり⁴⁴、迷走神経やその節後ニューロンの存在する腸管神経叢、骨盤神経などが障害される可能性もある⁴³。

さらに、人工呼吸器装着を伴う GBS 例においては、伴わない例と比較して自律神経障害合併の割合が高いことも報告されている^{45,46}。この機序も明らかにされていないが、迷走神経求心路は大動脈小体の化学受容器、肺伸展受容器の情報を孤束核に伝える経路で、その切断により呼吸調節異常による呼吸器障害が出現することが確認されている^{47,48}。自律神経障害を認める GBS 例でも迷走神経求心路の障害が、自律神経障害に加えて呼吸器障害にも関連していると推測される。

このように、GBS における自律神経障害は、予後に関連する重要な症状であり、迷走神経求心路や交感神経節後線維やその神経節、腸管神経叢などが重篤な症状に関連している可能性があるが、その病態形成のメカニズムや抗糖脂質抗体との関連は解明されていない。

GBS 剖検例における病理所見では迷走神経や交感神経幹の脱髄、その神経節で神経

細胞の崩壊や単核球浸潤が報告されている⁴⁹⁻⁵¹。また、ラットにミエリン蛋白を感作した experimental allergic neuritis (EAN) において、迷走神経に静脈周囲の細胞浸潤や脱髄、髄鞘再生が認められ、頸部交感神経では脱髄は認められなかったとも報告されている⁵²。しかしこれらの変化に抗糖脂質抗体を含む自己抗体が関与しているかどうかとも検討されていない。

他方で、近年の研究からは、GBS における自律神経障害に抗 GQ1b 抗体が関与している可能性が示唆されつつある。自律神経障害と抗糖脂質抗体の関連について、自律神経障害を呈した GBS の検討で抗糖脂質抗体陽性頻度は低く、抗体陽性例の中では抗 GQ1b 抗体が最も高頻度であったと報告されている⁵³。また、症例報告ではあるが、自律神経障害を合併した GBS で自律神経症状の変動と抗 GQ1b 抗体の力価の推移が一致していたという報告もある⁵⁴。さらに、GBS や Fisher 症候群の定量的軸索反射性発汗検査 (quantitative sudomotor axon reflex test : QSART) のスコアが抗 GQ1b 抗体と関連することや⁵⁵、その病態に抗 GQ1b 抗体が密接にかかわっている Fisher 症候群の 8 割以上で無症候性の自律神経障害を認めることも定量的心血管系自律神経機能評価で確認されている⁵⁶。

以上のように自律神経障害と抗 GQ1b 抗体の関連性が示唆される報告は散見されることから、GBS における自律神経障害は、自律神経組織に存在する GQ1b に抗 GQ1b 抗体が直接的に作用することによる免疫学的機序によって発症している可能性が示唆

される。しかし、ヒト自律神経組織における、GQ1b を始めとした各種糖脂質の局在について検討した報告はない。ヒト以外の動物の自律神経組織における糖脂質の局在に関してはラット迷走神経下神経節、上頸神経節に GM3, GD3, GD1b, GT1b が豊富に存在することは示されているが⁵⁷, GBS で自律神経障害との関連が示唆されている GQ1b の局在に関しては評価されていない。

第 4 節 研究の目的

GBS における自律神経障害は急性期では交感神経亢進症状の高血圧や頻脈などが多く^{33,34,37,38}, Sympathetic hyperactivity と呼ばれる交感神経系の過活動状態となり、急速な進行と生命リスクを伴う場合もある⁴²。さらに、GBS における自律神経障害は人工呼吸器装着と関連することも示されており^{33,45,46}, 自律神経障害は GBS の重症化の誘因となりうる。しかし、GBS において自律神経障害がどのような免疫学的機序で生じるかに関しては、ヒトでも動物でも分かっておらず、GBS 剖検例や、EAN の病理変化に自己抗体が関連するのかは不明である⁴⁹⁻⁵²。一方で、自律神経障害と抗 GQ1b 抗体の関連性が示唆される報告は散見されており^{53,54}, 抗 GQ1b 抗体による免疫学的機序でその障害が生じている可能性が考えられる。

GBS における自律神経障害がどのような免疫学的機序で生じているか示すことができれば、その病態解明や今後の治療につながる可能性がある。本研究では GBS におけ

る自律神経障害の免疫学的機序を明らかにすることを目的として、特に抗 GQ1b 抗体に注目し、自律神経障害を呈する GBS の臨床像と免疫学的背景の検討を行った。

まず、自律神経障害を呈する GBS の臨床的特徴を明らかにし、そのような特徴と関連する抗糖脂質抗体があるのか、あるとすればどのような自己抗体であるのかを検討した。次に、迷走神経求心性線維のニューロンが存在する迷走神経下神経節、交感神経節後線維のニューロンが存在する上頸神経節、副交感神経節後線維のニューロンが存在する腸管神経叢を含む腸管をラットから採取し、免疫組織化学染色で GQ1b が局在するかを調べた。さらに、GBS 患者血清から抽出した IgG 検体がそれらの自律神経組織に対して結合活性を示すのかについても検討した。

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（承認番号：4074）。さらに、実験動物を用いた研究に関しては、防衛医科大学校動物実験倫理委員会の承認を得て行った（承認番号 21005）。

第2章 対象と方法

第1節 自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連

(1) 対象患者

2011 年 2 月から 2012 年 10 月までに近畿大学医学部神経内科で収集した Brighton 診断基準⁵⁸（レベル 1 から 3）を満たす GBS の中で自律神経障害を呈する連続 50 例（GBS-dysautonomia : GBS-DA）、2008 年 10 月から 2013 年 7 月までに防衛医科大学学校神経内科で収集した自律神経障害を伴わない同基準を満たす GBS 連続 50 例（GBS-control : GBS-C）を対象にした⁵⁸。血清中自己抗体測定目的で送付された血清試料と同時に送られてきた患者に対する臨床情報を利用した。

(2) 臨床情報の評価

臨床情報は各主治医が記載した臨床調査票（付録）を用いて収集した。自律神経障害は血圧変動（高血圧、低血圧、起立性低血圧）、脈拍変動（頻脈、徐脈）、膀胱直腸障害（尿閉、便秘）、発汗障害（発汗亢進、発汗低下）、その他に分けて分類した。患者の重症度は Hughes Functional Grading Scale (FS) に基づいて評価した（FS-0 : 正常, FS-1 : 軽微な神経症候, FS-2 : 支持なしで 5m 歩行が可能, FS-3 : 支持があれば 5m 歩行が可能, FS-4 : 歩行不能あるいは車いすに限定, FS-5 : 人工呼吸器, FS-6 : 死亡）⁵⁹。患者背景、先行感染、脳脊髄液蛋白量、脳神経障害、運動障害、感覚障害、重症度などを評価し GBS-DA 群と GBS-C 群の間で比較検討した。GBS-DA 群では、各施設で施行し

評価された神経伝導検査の結果を利用できる場合は、その結果を Hadden の基準にもとづき primary demyelinating (脱髄型), primary axonal (軸索型), Equivocal に、Ho の診断基準にもとづき AIDP, AMAN, unclassified に分類した^{7,8}。

(3) 抗糖脂質抗体測定

各症例の血清に対して、11 種の糖脂質抗原 (GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b, GD3, GalNAc-GD1a, asialo-GM1 (GA1), および galactocerebroside (Gal-C)) と上記の単独抗原 2 種を混合した 49 種類の糖脂質複合体抗原に対する血清抗体を ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法にて測定した。ELISA 法は過去の報告に従って行った⁶⁰。すなわち、各抗原 200ng (糖脂質複合体抗原は各 100ng を混合) ずつ ELISA プレート (Corning, NY, USA) に固相化し、1%牛血清アルブミンでブロッキングした。1 次抗体として 40 倍に希釈した各患者の血清を加え、2 次抗体として HRP 標識抗ヒト IgG 抗体 (MP biomedical, OH, USA) (1 : 500) を用いた。発色は o-フェニレンジアミン二塩酸塩 (40mg/dL) (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) に 2 分間反応させた。8N 硫酸で反応を停止させ、Microplate reader (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) を用いて光学密度 (optical density : OD) を測定した。OD 値は、抗原を固相化しないウェルの OD 値を差し引いて補正した。補正 OD 値が 0.1 以上の場合、抗体陽性と定義した (単独抗原に対して陽性の場合、その補正 OD 値より 0.2 以上大きい場合、抗糖脂質複合体抗体陽性とした)。

(4) 統計学的解析

2 群間の比率の検定には χ^2 乗独立性の検定あるいは Fisher の直接確率計算法を用いた. 患者の年齢, 髄液中蛋白濃度は Student-t 検定, ピーク時の重症度 (FS) は Mann-Whitney 検定を用いた. 両側検定で p 値が 0.05 未満の場合を有意差ありと判定した. 抗糖脂質抗体の解析では Bonferroni 補正法を用いた. 以上の解析には統計ソフト JMP Pro 14 (SAS Institute, NC, USA) を用いた.

第 2 節 自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討

(1) 自律神経組織の採取

二酸化炭素で安楽死させた雄性 SD 系ラット (8 週齢) の頸部から総頸動脈に並走する迷走神経, 交感神経幹をその神経節を含めて摘出し, 実体顕微鏡下において迷走神経下神経節, 上頸神経節を個別に採取した (図 1). また, 開腹し空腸も自律神経を含む組織として採取した. 採取した組織は適量の PBS で洗浄後, O.C.T Compound (Sakura Finetek Japan, Tokyo, Japan) を用いて包埋皿に包埋し, 液体窒素を用いて凍結した.

(2) 免疫組織化学染色による検討

採取した迷走神経下神経節, 上頸神経節, 空腸の凍結ブロックをクリオスタットで 10 μ m 厚の薄切切片とし, スライドガラス (MAS コートスライドガラス, 松浪硝子工業, Osaka, Japan) に貼り付け, 室温で 60 分間乾燥させた. その後, -20°C のアセト

ンで 5 分間固定し，60 分間乾燥させ，PBS で 5 分間 3 回洗浄した．10%正常ヤギ血清で 30 分間ブロッキングを行い，非特異的な反応をブロックするために Avidin/Biotin Blocking Kit (Vector Laboratories, CA, USA) も使用した．1 次抗体としてマウス IgM 抗 GQ1b モノクローナル抗体 GMR13 (抗 GQ1b モノクローナル抗体) (Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan) (1 : 50, 20 μ g/ml) を 4℃で一晩反応させた．PBS で 5 分間 3 回洗浄後，2 次抗体としてビオチン標識抗マウス IgM 抗体 (Vector Laboratories) (1 : 100) を 37℃で 1 時間反応させた．PBS で 5 分間 3 回洗浄後に Vectastain Elite ABC-HRP Kit (Vector Laboratories) を用いてアビジン-ビオチン複合体に常温で 30 分間反応させた．PBS で 5 分間 3 回洗浄後に 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) を用いて発色を行い，脱水後にカナダバルサム (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) を用いて封入した．コントロールとして，抗 GQ1b モノクローナル抗体の代わりに正常マウス IgM (Chemicon International, CA, USA) (1 : 50, 20 μ g/ml) を使用して，同様のプロトコルで免疫組織化学染色を行った．さらに，コリン作動性ニューロンのマーカーとして抗 Choline Acetyltransferase (ChAT) 抗体，ノルアドレナリン作動性ニューロンのマーカーとして抗 Tyrosine Hydroxylase (TH) 抗体を使用した免疫組織化学染色も行った^{61,62}．ブロッキング液に 1%牛血清アルブミン，1 次抗体と 2 次抗体に抗 ChAT 抗体 (Millipore, MA, USA) (1 : 500) と HRP 標識抗ヤギ IgG 抗体 (Vector Laboratories) (1 : 300)，もしくは抗 TH 抗体 (Chemicon International)

(1 : 500) と HRP 標識抗ウサギ IgG 抗体 (Vector Laboratories) (1 : 300) を用いて同様のプロトコルで実施した (Avidin/Biotin Blocking Kit, Vectastain Elite ABC-HRP Kit は使用していない).

(3) 糖脂質除去標本を用いた検討

迷走神経下神経節と上頸神経節の薄切切片を -20°C のアセトンで 5 分間浸漬して固定し, 30 分間乾燥後, メタノール : クロロホルム = 1 : 1 混液に 30 秒間浸漬して糖脂質成分を除去した. PBS で 5 分間 3 回洗浄後, 第 2 章, 第 2 節 (2) の項目に準じて抗 GQ1b モノクローナル抗体, 抗 ChAT 抗体, 抗 TH 抗体の反応性を検討した.

(4) 免疫組織化学的二重染色による検討

ブロッキング液には Blocking One (Nacalai Tesque) を使用し, 第 2 章, 第 2 節 (2) の項目に準じてブロッキングまで実施し, 非特異的な反応をブロックするために Avidin/Biotin Blocking Kit も使用した. 抗 GQ1b モノクローナル抗体 (1 : 50) と抗 ChAT 抗体 (1 : 100) もしくは抗 TH 抗体 (1 : 100) の混合液を 4°C で一晩反応させた. PBS で 5 分間 3 回洗浄後, ビオチン標識抗マウス IgM 抗体 (1 : 100) を 37°C で 1 時間反応させた. PBS で 5 分間 3 回洗浄後に Fluorescein 標識ストレプトアビジン (Vector Laboratories) (1 : 100) と Alexa Fluor594 標識抗ヤギ IgG 抗体 (Molecular Probes Eugene, OR, USA) (1 : 250) もしくは Rhodamine Red-X 標識抗ウサギ IgG 抗体 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, PA, USA) (1 : 100) の混合液に 37°C

で 1 時間反応させた。PBS で 5 分間 3 回洗浄し Fluoromount/Plus (Diagnostic BioSystems, CA, USA) で封入後に蛍光顕微鏡 (BZ-X710, Keyence, Osaka, Japan) で観察した。

第 3 節 GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討

(1) 対象患者

2012 年 12 月から 2020 年 7 月までに防衛医科大学校神経内科で収集した Brighton 診断基準（レベル 1 から 3）を満たす GBS 患者の血清試料と各主治医が記載した臨床調査票を利用した。患者血清において 11 種の糖脂質抗原（GM1, GM2, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b, GQ1b, GD3, GalNAc-GD1a, GA1, Gal-C）と上記の単独抗原 2 種を混合した糖脂質複合体抗原に対する血清抗体を第 2 章、第 1 節（3）と同様に ELISA 法にて測定した。自律神経障害の有無、抗糖脂質抗体の結果から、GBS 患者を以下の 4 群に分類し、それぞれ連続 6 例ずつを本研究の対象とした。

GBS-DA-GQ1b（+）群：自律神経障害を呈し抗 GQ1b 抗体陽性例、

GBS-DA-ab（-）群：自律神経障害を呈するが抗糖脂質抗体陰性例、

GBS-C-GQ1b（+）群：自律神経障害を伴わないが抗 GQ1b 抗体陽性例、

GBS-C-ab（-）群：自律神経障害を伴わず抗糖脂質抗体陰性例。

(2) GBS 患者血清のラット自律神経組織に対する結合活性と抗糖脂質抗体との関連性

の検討

第2章, 第2節(1)で採取したラット迷走神経下神経節, 上頸神経節, 空腸の凍結ブロックをクリオスタットで10 μ m厚の薄切切片とし, MASコートスライドガラスに貼り付け, 室温で60分間乾燥させた. その後, -20℃のアセトンで5分間固定し60分間乾燥させ, PBSで5分間3回洗浄し, 10%正常ヤギ血清で30分間ブロッキングを行った. 1次抗体として MelonTM Gel IgG Spin Purification Kit (Thermos Scientific, IL, USA) で IgG 精製を行った患者血清 (1:500) を 4℃で一晩反応させた. PBS で 5 分間 3 回洗浄後, 2 次抗体として Alexa Fluor 488 標識抗ヒト IgG 抗体 (Jackson ImmunoResearch Laboratories) (1:500) を 37℃で 1 時間反応させた. PBS で 5 分間 3 回洗浄し Fluoromount/Plus で封入した. 健常者 6 例の血清でも同様なプロトコルで免疫組織化学染色を実施した. 蛍光顕微鏡 (BZ-X710) を用いて同一条件 (20 倍, 露光時間 1/3 秒) で撮影した. イメージ解析ソフト (BZ-X Analyzer, Keyence) で各組織ごとに同一条件で評価し, 健常者血清による免疫組織化学染色よりも神経細胞の蛍光強度が強い場合を結合活性ありと判定した. この結合活性を各群で評価し, 抗糖脂質抗体との関連性も検討した. 2 群間の比率の検定には第2章, 第1節(4)と同様に χ^2 乗独立性の検定あるいは Fisher の直接確率計算法を用いた.

第3章 結果

第1節 自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連

(1) 自律神経障害の内容と頻度

GBS-DA 群の自律神経障害の内容と頻度を表 1 に示す。血圧変動は 50 例のうち 32 例 (64%) に認め、重複を含め起立性低血圧が 21 例 (42%)、高血圧が 13 例 (26%)、低血圧が 5 例 (10%) であった。脈拍変動は 15 例 (30%) に認め、8 例 (16%) に頻脈、7 例 (14%) に徐脈を認めた。膀胱直腸障害は 27 例 (54%) に認め、評価できた範囲では尿閉、便秘をそれぞれ 8 例 (16%) ずつ認めた。発汗障害は 10 例 (20%) に認め、6 例 (12%) に発汗亢進、4 例 (8%) に発汗低下を認めた。その他の自律神経症状として 1 例 (2%) にインポテンツを認めた。

(2) 各群の臨床的特徴の分析

各群の臨床的特徴を表 2 に示す。両群間の比較において性別や年齢に有意差は認めなかった。GBS-DA 群は GBS-C 群と比較して、呼吸器感染症が先行する頻度 (24 例 : 48%) が優位に高かった ($p=0.006$)。また、GBS-DA 群では 50 例中 36 例 (72%) に脳神経障害を認め、特に外眼筋麻痺 (24 例 : 48%) や球麻痺 (23 例 : 46%) の頻度が高かった。重症度に関しては、GBS-DA 群でピーク時の重症度が有意に高くなっており ($FS=4.1\pm1.0$)、人工呼吸器装着例が有意に多かった (18 例 : 38%, $p=0.0027$)。GBS-DA 群の電気生理学検査に関して、評価できた 20 例中、Hadden の基準では脱髄型が

14 例 (70%) ,軸索型が 2 例 (10%) であり, Ho の基準では AIDP 12 例 (60%), AMAN 3 例 (15%) であった (表 3).

(3) 各群の抗糖脂質抗体 (IgG) の頻度

GBS-DA 群 50 例のうち 22 例 (44%) は抗糖脂質抗体陽性でこれは GBS-C 群 (33 例 : 66%) より有意に頻度が低かった ($p=0.027$) (以降, GBS-DA 群のうち抗糖脂質抗体陽性の 22 例を GBS-DA-抗体陽性群, GBS-C 群のうち抗糖脂質抗体陽性の 33 例を GBS-C-抗体陽性群と定義する).

GBS-DA-抗体陽性群, GBS-C-抗体陽性群の抗糖脂質抗体 (IgG) の頻度を表 4 に示す. 抗糖脂質抗体の種類としては GBS-DA-抗体陽性群では抗 GQ1b 抗体が 12 例 (55%) で認められ GBS-C-抗体陽性群 (4 例 : 12%) と比較して Bonferroni 補正でも有意に頻度が高かった ($p=0.0007$). その他, 抗 GT1a 抗体や抗 GT1b 抗体も GBS-DA 群で高頻度に認めているが, Bonferroni 補正では有意差を認めなかった.

抗 GQ1b 抗体の頻度が有意に高かったため, GQ1b 抗原もしくは GQ1b を含む糖脂質複合体抗原に対する抗体を GQ1b 関連抗体と定義し, その評価も実施した. 抗 GQ1b 抗体陽性例には GQ1b を含む糖脂質複合体に対する抗体が重複して陽性となる例も含まれており, GQ1b 関連抗体陽性例ではさらに GQ1b を含む糖脂質複合体に対する抗体のみが陽性であった例も含まれる. GBS-DA-抗体陽性群では, GQ1b 関連抗体陽性例は抗 GQ1b 抗体陽性例に GQ1b を含む糖脂質複合体に対する抗体のみが陽性であった

2 例が加わった 14 例 (64%) で, GBS-C-抗体陽性群の 9 例 (27% : GQ1b を含む糖脂質複合体に対する抗体のみが陽性であった 5 例を含む) と比較して有意に頻度が高かった ($p=0.0074$). GQ1b 関連抗体に含まれる抗糖脂質複合体抗体の内訳は重複を含めて GBS-DA 群では抗 GM1/GQ1b 抗体 5 例, 抗 GM2/GQ1b 抗体 1 例, 抗 GD1a/GQ1b 抗体 1 例, 抗 GD1b/GQ1b 抗体 1 例, 抗 GQ1b/Gal-C 抗体 1 例, 抗 GA1/GQ1b 抗体 6 例であり, GBS-C 群では抗 GM1/GQ1b 抗体 4 例, 抗 GD1b/GQ1b 抗体 3 例, 抗 GA1/GQ1b 抗体 8 例であった.

人工呼吸器装着と関係すると言われている抗 GD1a/GD1b 抗体, 抗 GD1b/GT1b 抗体は³¹, GBS-DA 群で抗 GD1b/GT1b 抗体が 2 例, GBS-C 群で抗 GD1a/GD1b 抗体 1 例で, 両群とも頻度は低かった.

GQ1b 関連抗体と自律神経障害の関連について, GBS-DA 群の GQ1b 関連抗体陽性例 (GBS-DA-GQ1b (+) 群), GQ1b 関連抗体陰性例 (GBS-DA-GQ1b (-) 群) の自律神経障害の発生頻度を比較した. GBS-DA-GQ1b (+) 群では頻脈 (36%) を高頻度に認めた ($p=0.024$) (表 1). 同群間でその他の臨床情報と GQ1b 関連抗体との関連についても検討したところ, GBS-DA-GQ1b (+) 群では先行する呼吸器感染症や外眼筋麻痺, 人工呼吸器装着, 球麻痺を示す割合が GBS-DA-GQ1b (-) 群より高い傾向があった (先行する呼吸器感染症のみ有意差あり). GBS-C 群の GQ1b 関連抗体陽性例 (GBS-C-GQ1b (+) 群) でも, GQ1b 関連抗体陰性例 (GBS-C-GQ1b (-) 群) と比

較して、外眼筋麻痺や人工呼吸器装着、球麻痺を示す割合が高い傾向を認めた（外眼筋麻痺のみ有意差あり）（表 2）。

第 2 節 自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討

（1）自律神経組織における GQ1b の局在

迷走神経下神経節では、確認できた神経細胞すべてに抗 GQ1b モノクローナル抗体で染色性を認め、正常マウス IgM では特異的な染色性を認めなかった。抗 ChAT 抗体では多くの神経細胞に染色性を認め、抗 TH 抗体では神経細胞の一部のみに強い染色性を認めた（図 2）。上頸神経節でも確認できた神経細胞すべてに抗 GQ1b モノクローナル抗体で染色性を認めたが、迷走神経下神経節での染色性より弱かった。また、正常マウス IgM では特異的な染色性を認めなかった。抗 ChAT 抗体では神経細胞に明らかな染色性は認めず、抗 TH 抗体では神経細胞全般に染色性を認めた（図 3）。空腸では、腸管神経叢の神経細胞、神経線維の染色性は抗 GQ1b モノクローナル抗体と正常マウス IgM でほぼ同じであり、特異的な染色性を示さなかった。抗 ChAT 抗体、抗 TH 抗体では腸管神経叢の神経線維に特異的な染色性を認めた（図 4）。

（2）糖脂質除去標本を用いた免疫組織化学染色

メタノール：クロロホルム＝1：1 混液の処理により、神経組織の糖脂質を除去した迷走神経下神経節、上頸神経節切片を用いて検討した結果、抗 GQ1b モノクローナル抗

体による神経細胞の染色性は消失した（図 2C, 3C）。一方，抗 ChAT 抗体，抗 TH 抗体による神経細胞の染色性は消失しなかった。

（3）抗 ChAT 抗体および抗 TH 抗体との共局在

迷走神経下神経節では抗 GQ1b モノクローナル抗体と抗 ChAT 抗体の結合部位は大部分で一致し，抗 GQ1b モノクローナル抗体と抗 TH 抗体の結合部位は一部で一致していた（図 5）。上頸神経節では抗 GQ1b モノクローナル抗体と抗 TH 抗体の結合部位は大部分で一致していた（図 6）。一方，空腸では抗 GQ1b モノクローナル抗体による反応性を認めず，抗 ChAT 抗体，抗 TH 抗体のみが腸管神経叢の神経線維に反応していた（図 7）。

第 3 節 GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討

（1）GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性

ラット自律神経組織に対する血清から抽出した IgG 検体の結合活性の代表例（症例 1）を図 8 に示す。症例 1 血清から抽出した IgG 検体は，健常者血清から抽出した IgG 検体よりも，迷走神経下神経節，上頸神経節，腸管神経叢に対して強く反応（蛍光強度増大）しており，方法（第 2 章，第 3 節（2））で定義した通り，この状態を「結合活性あり」と判断した。図 9 で見られるように，GBS-DA-GQ1b（+）群患者血清から抽出した IgG 検体は，6 例中 5 例でラット迷走神経下神経節に対して結合活性を呈した。

検討した4群の患者血清から抽出した IgG 検体の自律神経組織に対する結合活性を表5に示す。自律神経症状を有した群の血清から抽出した IgG 検体（全12）のうち10検体がラット自律神経組織への結合活性を示した一方、自律神経障害のなかった群の検体（全12）では4検体しか結合活性を示さなかった（ $p=0.013$ ）。また、ラット迷走神経下神経節に対して結合活性を認めた血清検体の帰属症例のうち抗 GQ1b 陽性症例が6例あり、そのうち5例が自律神経障害を有していた。一方でラット上頸神経節に対して結合活性を認めた血清検体の帰属症例のうち抗 GQ1b 陽性症例は3例であり、糖脂質抗体陰性例（8例）より頻度が低かった。腸管神経叢に対して結合活性を認める症例は各群0から2例の間であった。

（2）抗 GQ1b 抗体と併存する抗糖脂質抗体

抗 GQ1b 抗体陽性の全12症例における併存する抗糖脂質抗体を表6に示す。GBS-DA-GQ1b（+）群では抗 GD1b 抗体併存例（6例中4例）が GBS-C-GQ1b（+）群（6例中0例）と比較して有意差はないが高頻度であった（ $p=0.061$ ）。両群とも抗 GT1a 抗体併存例が多く（GBS-DA-GQ1b（+）群：3例，GBS-C-GQ1b（+）群：5例），糖脂質複合体抗体では抗 GA1/GQ1b 抗体（GBS-DA-GQ1b（+）群：5例，GBS-C-GQ1b（+）群：3例）や抗 GM1/GQ1b 抗体（GBS-DA-GQ1b（+）群：2例，GBS-C-GQ1b（+）群：2例）を認める例が多かった。

第4章 考察

本研究では、自律神経障害を呈する GBS 症例の臨床的特徴と自己抗体との関係性について検討した。その結果、自律神経障害を示す GBS 症例は起立性低血圧、高血圧を認める頻度、重症となる割合が高く、人工呼吸器装着例やそのリスク因子である球麻痺症状を呈することが多く、また、抗糖脂質抗体陽性群では抗 GQ1b 抗体、GQ1b 関連抗体陽性例が高頻度であることが明らかとなった。加えて、GQ1b 抗原が自律神経組織中に局在することをラット神経組織にて初めて明らかにし、自律神経障害を呈する GBS 例の血中 IgG は自律神経組織に結合活性を持つ頻度が高いという結果を得た。これらの結果について以下に考察する。

第1節 自律神経障害を伴う GBS の臨床的特徴と出現する抗糖脂質抗体との関連

(1) GBS における自律神経障害

本研究において、GBS における自律神経障害は起立性低血圧、高血圧の頻度が高かった。これは GBS における自律神経障害の既報告と同様な傾向であった^{33,34,37,38}（表 7）。GBS における自律神経障害は脱髄型と軸索型で臨床像が異なると言われており、心臓血管系の交感神経亢進症状は、脱髄型で多い症状とされている。その機序については不明な点が多いが、迷走神経は節前性の有髄線維が長いため、脱髄の障害を受けやすいことが原因の一つと考えられている¹⁰。また GBS における起立性低血圧は急性期に交感神経亢進症状を背景に出現すると考えられており⁶³、起立性低血圧も脱髄型 GBS

と関連している可能性がある。本研究においては GBS-DA 群では電気生理学的に評価できた範囲では脱髄型の頻度（Hadden の基準：70%）が日本での既報告（Hadden の基準：45%）より高くなっており，高血圧，起立性低血圧が多かったことに影響していると考える。

（2）自律神経障害を呈する GBS の抗糖脂質抗体

GBS-DA 群では抗糖脂質抗体の陽性率は低かったが（22 例：44%），抗体陽性例の中では抗 GQ1b 抗体（12 例：55%）の頻度が高かった。Kusunoki らの自律神経障害を呈した GBS 症例 88 例の検討で，抗糖脂質抗体は 21 例（24%）で陽性となり，陽性例の中では抗 GQ1b 抗体が 10 例（48%）と最も高頻度であったと報告されており，本研究と同様の傾向であった⁵³。この既報告では頻度の報告にとどまっていたが，本研究ではさらに症例対照研究で有意差をもって上記の結果を示すことができた。

本研究では抗糖脂質複合体抗体についても検討を行い，GQ1b 関連抗体（14 例：64%）の頻度が高かった。GQ1b 関連抗体に含まれる抗糖脂質複合体抗体の種類について，GBS-DA 群では，抗 GM1/GQ1b 抗体（5 例）と抗 GA1/GQ1b 抗体（6 例）が高頻度であり，両抗体の頻度はほぼ同じであった。一方で GBS-C 群においては，抗 GA1/GQ1b 抗体（8 例）が抗 GM1/GQ1b 抗体（4 例）より多く認めた。両抗体は抗 GQ1b 抗体陽性患者に同時に認めることが多い抗体である。それは，GM1/GQ1b，

GA1/GQ1b の末端糖鎖が同じであり、両抗体が同一のエピトープに反応するためと考えられている。しかし、GA1/GQ1b のみに反応することもあり、抗 GA1/GQ1b 抗体は内部糖鎖のエピトープにも反応すると想定されている^{64,65}。本研究では、GBS-DA 群と GBS-C 群で両抗体が異なった割合で認めており、反応しているエピトープが違っている可能性がある。この反応しているエピトープの違いが自律神経障害の有無に影響したと考える。

(3) 自律神経症状を認める GBS 例の臨床像と抗 GQ1b 抗体の関連について

本研究では、GBS-DA 群では呼吸器感染の先行が多く（48%）、外眼筋麻痺（48%）や球麻痺（46%）の頻度が高く、重症で（FS: 4.1 ± 1.0 ）人工呼吸器装着例が多い（38%）という特徴を認めた。これまで、GBS で抗 GQ1b 抗体陽性例では、陰性例と比較して、呼吸器感染の先行や外眼筋麻痺、球麻痺、人工呼吸器装着などの割合が高いことが報告されており^{17,26,66,67}、本研究でも、GBS-DA 群、GBS-C 群ともに GQ1b 関連抗体陽性群では同抗体陰性群よりもこれらの臨床症状を示す割合が高い傾向を認めた。さらに、GBS-DA 群と GBS-C 群を比較すると、GBS-DA 群でこれらの臨床症状を示す割合が高く、これは GBS-DA 群で抗 GQ1b 抗体、GQ1b 関連抗体の頻度が高いためであると考えられた。また、自律神経障害を認める GBS 例で人工呼吸器装着例やそのリスク因子である球麻痺が多いことは既報告でも確認されている^{33,45,46,68}。本研究では GBS-DA 群で人工呼吸器装着例や球麻痺が多いことに加えて、抗 GQ1b 抗体、GQ1b 関連抗体が

高頻度であることも同時に確認し、さらに GQ1b 関連抗体が陽性の場合、人工呼吸器装着や球麻痺を認める割合はさらに高くなることも確認した。このことから、自律神経障害を呈する GBS の一部では GQ1b 関連抗体が呼吸機能に影響を与える組織にも作用している可能性が示唆される。

また、GQ1b 関連抗体と自律神経障害との関連について検討したところ、GQ1b 関連抗体が頻脈と有意に関連していた。このことは、GQ1b 関連抗体による呼吸機能障害に伴って頻脈が出現している可能性や、GQ1b 関連抗体が頻脈に関連する交感神経や迷走神経、またその神経節などに作用する可能性が示唆される。抗 GQ1b 抗体と自律神経障害に関する既報告では、抗 GQ1b 抗体がコリン作動性交感神経節後線維に作用し、発汗障害が生じると考えられている⁵⁵。コリン作動性交感神経節後線維は温熱発汗神経系の神経線維であり、本研究で認めた頻脈とは関連しないため、抗 GQ1b 抗体の標的となる自律神経組織は複数存在すると考えられる。

第 2 節 自律神経組織における GQ1b の局在に関する検討

(1) ラット自律神経組織における GQ1b の局在

本研究で GQ1b はラット迷走神経下神経節と上頸神経節の神経細胞に局在しているが、腸管神経叢には非常に微量であるか、発現していないことを確認した。

ラット自律神経組織における糖脂質に関して、自律神経組織中の糖脂質を薄層クロマ

トグラフィーで評価することによって、迷走神経下神経節、上頸神経節に GM3, GD3, GD1b, GT1b が豊富に存在することが示されていたが⁵⁷、組織内の局在部位については明らかにされていなかった。本研究によって、ラット迷走神経下神経節、上頸神経節の神経細胞に GQ1b が局在することが示された。また、DAB 発色による評価で、迷走神経下神経節のほうが上頸神経節よりも強い染色性を認めており、特に迷走神経下神経節で GQ1b が豊富に局在している可能性が示唆された。腸管神経叢も DAB 発色では抗 GQ1b モノクローナル抗体により薄く染色されているが、正常マウス IgM でも同様な染色性を認め、さらに、蛍光標識抗体による染色では抗 GQ1b モノクローナル抗体の反応性を認めなかったことから、DAB 発色で認めた染色性は非特異的な反応であり、腸管神経叢における GQ1b は非常に微量であるか、発現していないと判断した。

抗原抗体反応を利用して糖脂質の局在を確認する場合には、抗糖脂質抗体が構造の類似した糖脂質に交叉反応を示すことを考える必要がある。例えば、ヒト血清中抗 GQ1b 抗体は構造的に類似した GT1a と交叉反応することが知られており、モノクローナル抗体においても IgG 抗 GQ1b モノクローナル抗体 7F5 は GT1a と交叉反応することが知られている⁶⁹。しかし、本研究で使用したマウス IgM 抗 GQ1b モノクローナル抗体 GMR13 は GT1a と交叉反応しないことが確認されており⁷⁰、同抗体による反応性を認めることは GQ1b の局在を正しく反映していると考えられる。

本研究で迷走神経下神経節、上頸神経節の神経細胞に GQ1b が局在することは示さ

れたが、神経細胞のどこに局在するのかは評価できていない。糖脂質は、細胞質でつくられた糖ヌクレオチド(糖にヌクレオチドが結合)及び、小胞体で合成されたセラミド、短鎖の糖脂質が、ゴルジ装置に運ばれ各種転移酵素の働きで糖鎖の延長やシアル酸化が行われて合成される⁷¹。ゴルジ装置で合成された糖脂質は、細胞膜へ輸送され主に脂質ラフトに集中して局在し¹³、最終的には細胞質に戻りリソソームで分解される⁷²。このような糖脂質の分布、合成・代謝経路から類推すると、**GQ1b** は神経細胞の細胞膜に最も多く局在している可能性が高く、ゴルジ体、その輸送過程の分泌小胞、分解の場であるリソソームなどにも存在している可能性が考えられる。

(2) 動物種間のガングリオシド局在の違いについて

本研究ではラット迷走神経下神経節、上頸神経節の神経細胞に **GQ1b** が局在することを確認した。糖脂質の分布は動物種によって共通のものと多様性があるものがあるが、ヒト同組織においても同様な局在を認めると考える。なぜならば、糖脂質は機能性蛋白質の活性修飾、ホルモン・サイトカインなどの受容体、細胞相互の認識分子など多様な役割を持っており、各臓器を構成する細胞の機能と密接に結びついている糖脂質は動物種間でその分布は共通していると考えられているためである^{73,74}。例えば、動物とヒトで局在が同じことが確認されている組織の例として、**GD1b** はヒトおよびラット、家兎の後根神経節細胞に局在していることが確認されている^{15,57,75}。また、**GalNAc-GD1a** もヒトおよびラットの運動神経軸索に局在することが確認されている^{16,76}。迷走神経下

神経節，上頸神経節の神経細胞はそれぞれ自律神経機能に関連し，各種ホルモンの作用を受けている神経細胞であり，ヒトとラットでガングリオシドの分布が共通している可能性があり，ヒトにおいても迷走神経下神経節，上頸神経節の神経細胞に GQ1b が局在することが示唆される．

第 3 節 GBS 患者血清の自律神経組織に対する結合活性の検討

(1) GBS 患者血清の自律神経組織への結合活性について

本研究では，ラット自律神経組織に結合活性を持つ GBS 患者 IgG 検体が存在すること，自律神経障害を呈する GBS 例の IgG 検体でこの結合活性を有する頻度が高いことが示された．このことから，自律神経障害を呈する GBS 患者の自己抗体が自律神経組織に直接作用する可能性が示された．さらに，迷走神経下神経節に対して結合活性を認めた血清検体の帰属症例のうち抗 GQ1b 陽性症例が 6 例あり，そのうち 5 例が自律神経障害を有していた．このことは自律神経障害を呈す GBS 患者血清の抗 GQ1b 抗体が迷走神経下神経節の GQ1b 局在部位に直接作用し，自律神経障害発症に関わっていることを示唆している．一方で，抗 GQ1b 抗体陽性であるが，自律神経障害を認めない群では迷走神経下神経節に対して結合活性を認める頻度は低かった（6 例中 1 例）．自律神経障害を認める群と結果が異なる原因の一つとして，両群の抗 GQ1b 抗体の反応特異性が異なる可能性が考えられる．例えば，GQ1b は外眼筋支配神経の傍絞輪部ミエ

リンに局在するが、抗 GQ1b 抗体陽性患者全例で外眼筋麻痺を認めるわけではなく、GD1b はヒト後根神経節細胞に局在するが抗 GD1b 抗体陽性患者のすべてで運動失調を認めるわけではない。この反応性の違いは、標的糖脂質のどの糖鎖構造を認識するか、あるいは糖脂質複合体でのみ発現する糖鎖構造を認識するのかなど抗体の反応特異性の違い、あるいは標的糖脂質抗原周囲の脂質・糖脂質環境の違いによって生じると考えられる^{15,29,30,77}。本研究では GBS-DA-GQ1b (+) 群で抗 GD1b 抗体併存例が高頻度に認められており、抗 GD1b 抗体を生じさせるような周囲の糖脂質環境が抗 GQ1b 抗体の自律神経組織への結合活性に影響している可能性がある。以上の理由によって、自律神経障害を認めない群の抗 GQ1b 抗体は、自律神経障害を認める群と違って、迷走神経下神経節上の GQ1b に対しては結合活性が低いのかかもしれない。この現象を解明するには、感覚神経と運動神経では GM1 のセラミド部分の脂肪酸の長さが異なるように⁷⁸、各自律神経組織における GQ1b の構造解析も必要である。

また、上頸神経節に対して結合活性を認めた血清検体の帰属症例のうち抗 GQ1b 陽性症例は 3 例であり、糖脂質抗体陰性例（8 例）より頻度が低かった。本研究では IgG 精製血清を用いているため、上頸神経節に対しては抗 GQ1b 抗体よりも患者血清中の今回検討した抗糖脂質抗体以外の IgG 自己抗体の結合活性が高い可能性が示唆される。本研究ではすべての糖脂質について調べたわけではなく、今回検討していない糖脂質に対する抗体が反応した可能性がある。また、近年、蛋白抗原を標的とする抗モエシン抗

体なども GBS における自己抗体として報告されており⁷⁹、糖脂質抗体陰性例の血中 IgG も蛋白抗原に反応した可能性もある。

第 4 節 総合考察

(1) 自律神経症状を認める GBS 例の呼吸器障害と抗 GQ1b 抗体の関連について

我々の今回の研究では、自律神経障害を示す GBS 症例は人工呼吸器装着例が多く、血清抗糖脂質抗体では抗 GQ1b 抗体陽性例が多いことが明らかとなった。さらに、呼吸調整に関連している迷走神経求心路の神経節である迷走神経下神経節に GQ1b が局在し^{47,48}、自律神経障害を認める GBS 患者血清がその組織に結合活性を示すことも確認した。これらの結果から、GBS における呼吸器障害の機序の一つとして、抗 GQ1b 抗体が迷走神経下神経節に作用して、大動脈小体の化学受容器、肺伸展受容器の情報を孤束核へ伝える迷走神経求心路が障害され、呼吸調整異常による呼吸器障害が生じている可能性が示された^{47,48}。また、迷走神経求心路の障害は GBS における交感神経過活動状態にも関連していると言われており⁴²、GQ1b 関連抗体陽性群で頻脈が有意に高頻度であったことも同抗体が迷走神経下神経節に作用して生じた結果であると考えられる。既報告では抗 GQ1b 抗体が呼吸器障害をきたす機序として、横隔膜に対する直接作用や球麻痺による舌根沈下等が仮説として提示されているが^{24,25,80}、今回我々の検討からは抗 GQ1b 抗体による免疫学的機序を介した自律神経組織への障害作用が示唆された。

以上のように、自律神経障害と人工呼吸器装着とは抗 GQ1b 抗体を介した 1 つの事象の別々の側面である可能性が示唆される。すなわち、抗 GQ1b 抗体が一方では自律神経障害性に働き、もう一方では呼吸調節障害や脳神経障害による球麻痺、横隔膜筋力低下を引き起こすことで、人工呼吸器を必要とするほどの呼吸器障害を誘発するのだと考え得る。今回の我々の研究結果は、長く人工呼吸器装着のリスクとして認知されてきた自律神経障害が、どのように人工呼吸器に至る呼吸器障害を引き起こすのか、という疑問に一つの回答を与えうるものであると思われる。

(2) 今後の展望

GBS における人工呼吸器装着例に自律神経障害を認める頻度が有意に高いとの報告は多数存在するが^{45,46,80-82}、自律神経障害は GBS の人工呼吸器装着の予測因子として広く利用されているわけではない^{9,83-85}。その理由の一つに、自律神経障害の客観的評価の難しさが挙げられる。治療経過で見られる血圧変動や心拍変動をどこまで有意にとらえるのか、経過中に症例の瞳孔散大や発汗異常に気付くことができるか、といった症状定義と評価基準の設定や、症状の掬い上げの困難さが自律神経障害を標準的な予後予測因子とすることを難しくしている可能性がある。本研究においても、自律神経症状の拾い上げは各症例の主治医からの報告に依存しており、本来よりも過少にしか自律神経障害が捉えられていない可能性がある。明確な症状定義を基盤とした前向き研究が今後は必要と考えられ、そのような研究により自律神経障害を予後予測因子として用いるこ

とが可能となると思われる。

本研究でラット迷走神経下神経節，上頸神経節の神経細胞に GQ1b が局在し，患者血清中の抗 GQ1b 抗体がそれら自律神経組織と直接反応する可能性を示唆する結果が得られた。以上からは，抗 GQ1b 抗体と自律神経組織との免疫反応が，GBS での自律神経障害の原因のひとつである可能性が考えられ，抗 GQ1b 抗体を標的とした治療に応用できる可能性がある。抗 GQ1b 抗体を標的とする治療としては，免疫吸着療法において吸着リガンドにトリプトファンを使用した吸着カラムの方がフェニルアラニンを使用した吸着カラムよりも抗 GQ1b 抗体を効率よく除去できたとの報告や，合成ジシアルガラクトースを利用した抗 GQ1b 抗体を効率よく吸収する新規の免疫吸着剤の研究もおこなわれている^{86,87}。抗 GQ1b 抗体に由来する自律神経障害を示す GBS では，このような吸着剤を用い抗 GQ1b 抗体を効率的に除去することにより，重篤な自律神経障害や呼吸器障害を予防もしくは治療しうる可能性があると思われる。

今後は動物の自律神経組織の初代培養細胞などを用いて，抗 GQ1b 抗体陽性患者血清やモノクローナル抗体を作用させることで細胞障害が惹起されるか，されるとすれば，患者血清からの抗 GQ1b 抗体除去がその障害に影響を及ぼすかなどを検証したいと考えている。

第5章 結論

- (1) 自律神経障害を呈する GBS では人工呼吸器装着例や球麻痺合併例が多いことを追認した.
- (2) 自律神経障害を認め抗糖脂質抗体陽性の GBS では抗 GQ1b 抗体, GQ1b 関連抗体陽性例が高頻度に見られた.
- (3) ラット迷走神経下神経節, 上頸神経節の神経細胞に GQ1b 局在が見られたことより, ヒトの同名神経節にも GQ1b が局在する可能性が示唆された.
- (4) 自律神経障害を呈する GBS 患者の血中 IgG は自律神経組織への結合活性が高い可能性がある.

謝辞

稿を終えるにあたり，本研究の機会を与えていただき，本研究におけるご指導ならびに本研究論文のご高閲を賜りました，防衛医科大学校内科学講座教授 池脇克則先生，同准教授 鈴木一詩先生，同助教 本郷悠先生，同解剖学講座教授 小林靖先生，同生理学講座教授 守本祐司先生，埼玉医科大学総合医療センター脳神経内科教授 海田賢一先生に深謝致します。

検体の選別に関してご尽力いただきました，近畿大学医学部脳神経内科名誉教授 楠進先生，同講師 桑原基先生，統計解析の手法に関してご指導賜りました，防衛医科大学学校数学研究室教授 中村好宏先生，抗体測定および病理標本作成に関してご尽力いただきました，防衛医科大学校防衛医学研究センター生体情報・治療システム研究部門 小牟田縁先生，同神経抗加齢血管内科実験助手 三宅恵子様，対象症例の臨床情報をご提供いただきました多くの共同研究施設の先生方，血清検体の解析の機会を与えてくださった患者様方に深謝致します。

略語一覧

AIDP : acute inflammatory demyelinating polyneuropathy, 急性炎症性脱髄性ポリニューロパチー

AMAN : acute motor axonal neuropathy, 急性運動性軸索型ニューロパチー

ChAT : Choline Acetyltransferase, コリンアセチルトランスフェラーゼ

DAB : 3, 3'-diaminobenzidine, 3, 3'-ジアミノベンジジン

EAN : experimental allergic neuritis, 実験的自己免疫性神経炎

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay, 酵素結合免疫吸着アッセイ

FS : Hughes Functional Grading Scale, Hughes の機能グレード尺度

GA1 : asialo-GM1, アシアロ GM1

Gal-C : galactocerebroside, ガラクトセレブロシド

GBS : Guillain-Barré syndrome, ギラン・バレー症候群

GBS-C : GBS-control, 律神経障害を伴わない GBS

GBS-DA : GBS-dysautonomia, 自律神経障害を呈する GBS

IVIg : intravenous immunoglobulin, 経静脈的免疫グロブリン療法

OD : optical density, 光学密度

PE : plasma exchange, 血漿交換法

PRES : posterior reversible encephalopathy syndrome, 可逆性後頭葉白質脳症

QSART : quantitative sudomotor axon reflex test, 定量的軸索反射性発汗検査

TH : Tyrosine Hydroxylase, チロシンヒドロキシラーゼ

引用文献

- 1 van Doorn PA, Ruts L, Jacobs BC. Clinical features, pathogenesis, and treatment of Guillain-Barré syndrome. *Lancet Neurol* 2008; **7**: 939–950.
- 2 Govoni V, Granieri E. Epidemiology of the Guillain-Barré syndrome. *Curr Opin Neurol* 2001; **14**: 605–613.
- 3 Hughes RA, Cornblath DR. Guillain-Barré syndrome. *The Lancet* 2005; **366**: 1653–1666.
- 4 Winer JB, Hughes RA, Osmond C. A prospective study of acute idiopathic neuropathy. I. Clinical features and their prognostic value. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; **51**: 605–612.
- 5 Bensa S, Hadden RDM, Hahn A, Hughes R a. C, Willison HJ. Randomized controlled trial of brain-derived neurotrophic factor in Guillain-Barré syndrome: a pilot study. *Eur J Neurol* 2000; **7**: 423–426.
- 6 McKhann GM, Cornblath DR, Griffin JW, Ho TW, Li CY, Jiang Z, Wu HS, Zhaori G, Liu Y, Jou LP, Liu TC, Gao CY, Mao JY, Blaser MJ, Mishu B, Asbury AK. Acute motor axonal neuropathy: A frequent cause of acute flaccid paralysis in China. *Ann Neurol* 1993; **33**: 333–342.
- 7 Ho TW, Mishu B, Li CY, Gao CY, Cornblath DR, Griffin JW, Asbury AK, Blaser MJ, McKhann GM. Guillain-Barré syndrome in northern China Relationship to *Campylobacter jejuni* infection and anti-glycolipid antibodies. *Brain* 1995; **118**: 597–605.
- 8 Hadden RDM, Cornblath DR, Hughes R a. C, Zielasek J, Hartung H-P, Toyka KV, Swan AV, Group TPEG-BST. Electrophysiological classification of guillain-barré syndrome: Clinical associations and outcome. *Ann Neurol* 1998; **44**: 780–788.
- 9 Durand M-C, Porcher R, Orlikowski D, Aboab J, Devaux C, Clair B, Annane D, Gaillard J-L, Lofaso F, Raphael J-C, Sharshar T. Clinical and electrophysiological predictors of respiratory failure in Guillain-Barré syndrome: a prospective study. *Lancet Neurol* 2006; **5**: 1021–1028.
- 10 Asahina M, Kuwabara S, Suzuki A, Hattori T. Autonomic function in demyelinating

- and axonal subtypes of Guillain–Barré syndrome. *Acta Neurol Scand* 2002; **105**: 44–50.
- 11 Kusunoki S, Kaida K, Ueda M. Antibodies against gangliosides and ganglioside complexes in Guillain–Barré syndrome: New aspects of research. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj* 2008; **1780**: 441–444.
 - 12 鈴木康夫, 安藤進. *ガングリオシド研究法〈1〉*. 学会出版センター, 1995.
 - 13 Lopez PH, Schnaar RL. Gangliosides in cell recognition and membrane protein regulation. *Curr Opin Struct Biol* 2009; **19**: 549–557.
 - 14 Kaida K, Kusunoki S. [Immune-mediated neuropathy and anti-glycolipid antibodies]. *Brain Nerve Shinkei Kenkyu No Shinpo* 2013; **65**: 413–423.
 - 15 Kusunoki S, Mashiko H, Mochizuki N, Chiba A, Arita M, Hitoshi S, Kanazawa I. Binding of antibodies against GM1 and GD1b in human peripheral nerve. *Muscle Nerve* 1997; **20**: 840–845.
 - 16 Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. GalNAc-GD1a in human peripheral nerve: Target sites of anti-ganglioside antibody. *Neurology* 2003; **61**: 465–470.
 - 17 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**: 1911–1911.
 - 18 Kusunoki S, Chiba A, Kanazawa I. Anti-GQ1b IgG antibody is associated with ataxia as well as ophthalmoplegia. *Muscle Nerve* 1999; **22**: 1071–1074.
 - 19 Liu J-X, Willison HJ, Pedrosa-Domellöf F. Immunolocalization of GQ1b and Related Gangliosides in Human Extraocular Neuromuscular Junctions and Muscle Spindles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; **50**: 3226–3232.
 - 20 Chiba A, Kusunoki S, Shimizu T, Kanazawa I. Serum IgG antibody to ganglioside GQ1b is a possible marker of Miller Fisher syndrome. *Ann Neurol* 1992; **31**: 677–679.
 - 21 Mori M, Kuwabara S, Fukutake T, Yuki N, Hattori T. Clinical features and prognosis of Miller Fisher syndrome. *Neurology* 2001; **56**: 1104–1106.

- 22 Ito M, Kuwabara S, Odaka M, Misawa S, Koga M, Hirata K, Yuki* N. Bickerstaff's brainstem encephalitis and Fisher syndrome form a continuous spectrum. *J Neurol* 2008; **255**: 674–682.
- 23 Odaka M, Yuki N, Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K, Kuwabara S. Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain–Barré syndrome. *Brain* 2003; **126**: 2279–2290.
- 24 Plomp JJ, Molenaar PC, O'Hanlon GM, Jacobs BC, Veitch J, Daha MR, Van Doorn PA, Van Der Meché FGA, Vincent A, Morgan BP, Willison HJ. Miller Fisher anti-GQ1b antibodies: α -Latrotoxin-like effects on motor end plates. *Ann Neurol* 1999; **45**: 189–199.
- 25 Halstead SK, Zitman FMP, Humphreys PD, Greenshields K, Verschuuren JJ, Jacobs BC, Rother RP, Plomp JJ, Willison HJ. Eculizumab prevents anti-ganglioside antibody-mediated neuropathy in a murine model. *Brain* 2008; **131**: 1197–1208.
- 26 Kaida K, Kusunoki S, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Kanazawa I. Anti-GQ1b antibody as a factor predictive of mechanical ventilation in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2004; **62**: 821–824.
- 27 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 GM1 ganglioside-like structure. *J Exp Med* 1993; **178**: 1771–1775.
- 28 Rees JH, Gregson NA, Hughes RAC. Anti-ganglioside GM1 antibodies in guillain-barré syndrome and their relationship to *Campylobacter jejuni* infection. *Ann Neurol* 1995; **38**: 809–816.
- 29 Hongo Y, Kaida K, Komuta Y, Takazaki H, Yamazaki K, Suzuki K. Cholesterol-added antigens can enhance antiglycolipid antibody activity: Application to antibody testing. *J Neuroimmunol* 2021; **356**: 577580.
- 30 Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Ganglioside complexes as new target antigens in Guillain–Barré syndrome. *Ann Neurol* 2004; **56**: 567–571.
- 31 Kaida K, Morita D, Kanzaki M, Kamakura K, Motoyoshi K, Hirakawa M, Kusunoki S. Anti-ganglioside complex antibodies associated with severe disability in GBS. *J*

- Neuroimmunol* 2007; **182**: 212–218.
- 32 Kuijf ML, Godschalk PCR, Gilbert M, Endtz HP, Tio-Gillen AP, Ang CW, van Doorn PA, Jacobs BC. Origin of ganglioside complex antibodies in Guillain–Barré syndrome. *J Neuroimmunol* 2007; **188**: 69–73.
 - 33 Chakraborty T, Kramer CL, Wijdicks EFM, Rabinstein AA. Dysautonomia in Guillain–Barré Syndrome: Prevalence, Clinical Spectrum, and Outcomes. *Neurocrit Care* 2020; **32**: 113–120.
 - 34 Singh NK, Jaiswal AK, Misra S, Srivastava PK. Assessment of autonomic dysfunction in Guillain-Barré syndrome and its prognostic implications. *Acta Neurol Scand* 1987; **75**: 101–105.
 - 35 Ah R. Guillain-Barre syndrome. *Contemp Neurol Ser* 1991; **34**: 73–105.
 - 36 Doets AY, Verboon C, van den Berg B, Harbo T, Cornblath DR, Willison HJ, Islam Z, Attarian S, Barroso FA, Bateman K, Benedetti L, van den Bergh P, Casasnovas C, Cavaletti G, Chavada G, Claeys KG, Dardiotis E, Davidson A, van Doorn PA, Feasby TE, Galassi G, Gorson KC, Hartung H-P, Hsieh S-T, Hughes RAC, Illa I, Islam B, Kusunoki S, Kuwabara S, Lehmann HC, Miller JAL, Mohammad QD, Monges S, Nobile Orazio E, Pardo J, Pereon Y, Rinaldi S, Querol L, Reddel SW, Reisin RC, Shahrizaila N, Sindrup SH, Waqar W, Jacobs BC, IGOS Consortium. Regional variation of Guillain-Barré syndrome. *Brain* 2018; **141**: 2866–2877.
 - 37 Ruts L, Drenthen J, Jongen JLM, Hop WCJ, Visser GH, Jacobs BC, Doorn PA van, Group O behalf of the DGS. Pain in Guillain-Barré syndrome: A long-term follow-up study. *Neurology* 2010; **75**: 1439–1447.
 - 38 Lichtenfeld P. Autonomic dysfunction in the Guillain-Barré syndrome. *Am J Med* 1971; **50**: 772–780.
 - 39 WINER JB, HUGHES RAC. Identification of Patients at Risk of Arrhythmia in the Guillain-Barré Syndrome. *QJM Int J Med* 1988; **68**: 735–739.
 - 40 Berg B van den, Bunschoten C, Doorn PA van, Jacobs BC. Mortality in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2013; **80**: 1650–1654.
 - 41 Sutter R, Mengiardi B, Lyrer P, Czaplinski A. Posterior reversible encephalopathy as the initial manifestation of a Guillain–Barré syndrome. *Neuromuscul Disord*

- 2009; **19**: 709–710.
- 42 國本雅也. Syndromes of autonomic overactivity. *BRAIN Med*; **24**: 121–126.
- 43 宇尾野広義, 入來正躬. 最新自律神経学. 新興医学出版社, 2007.
- 44 Lee K-H, Ho T-H, Lee J-T, Lin L-F, Chang W-C, Shih C-C, Yang F-C. Paralytic ileus as the presenting symptom for Guillain-Barré syndrome: a case report. *J Int Med Res* 2020; **48**: 0300060519893169.
- 45 Sundar U, Abraham E, Gharat A, Yeolekar ME, Trivedi T, Dwivedi N. Neuromuscular respiratory failure in Guillain-Barre Syndrome: evaluation of clinical and electrodiagnostic predictors. *J Assoc Physicians India* 2005; **53**: 764–768.
- 46 Islam Z, Papri N, Ara G, Ishaque T, Alam AU, Jahan I, Islam B, Mohammad QD. Risk factors for respiratory failure in Guillain-Barré syndrome in Bangladesh: a prospective study. *Ann Clin Transl Neurol* 2019; **6**: 324–332.
- 47 仲田祐, 新田澄郎, 藤村重文, 小林俊介, 小池加保児, 近藤丘, 斉藤泰紀, 谷田達男. 迷走神経遮断と呼吸反射. 日本胸部疾患学会雑誌 1989; **27**: 119–128.
- 48 西野卓. 呼吸困難の発生メカニズム. リハビリテーション医学 2017; **54**: 936–940.
- 49 Kanda T, Hayashi H, Tanabe H, Tsubaki T, Oda M. A fulminant case of Guillain-Barré syndrome: topographic and fibre size related analysis of demyelinating changes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; **52**: 857–864.
- 50 Matsuyama H, Haymaker W. Distribution of lesions in the Landry-Guillain-Barré syndrome, with emphasis on involvement of the sympathetic system. *Acta Neuropathol (Berl)* 1967; **8**: 230–241.
- 51 Haymaker W, Kebnohan JW. THE LANDRY-GUILLAIN-BARRÉ SYNDROME: A CLINICOPATHOLOGIC REPORT OF FIFTY FATAL CASES AND A CRITIQUE OF THE LITERATURE. *Medicine (Baltimore)* 1949; **28**: 59.
- 52 Morey MK, Wiley CA, Hughes RAC, Powell HC. Autonomic nerves in experimental allergic neuritis in the rat. *Acta Neuropathol (Berl)* 1985; **67**: 75–80.
- 53 楠進. Guillain-Barre 症候群と自律神経障害. 自律神経 2010; **47**: 195–197.

- 54 坂井利行, 近藤昌秀, 富本秀和, 山岸裕子. 尿閉と便秘を随伴し, Fisher 症候群に pharyngeal-cervical-brachial variant がオーバーラップした 1 例. 臨床神経学 2016; **56**: 694–697.
- 55 Kuzumoto Y, Shioyama M, Kihara M, Kusunoki S. Abnormal sudomotor axon reflex and antiganglioside antibodies. *Muscle Nerve* 2006; **33**: 828–829.
- 56 Lyu R-K, Tang L-M, Hsu W-C, Chen S-T. Quantitative cardiovascular autonomic function study in Fisher syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; **73**: 333–335.
- 57 Atsushi H, Tamotsu T, Mitsuyoshi I, Masato A, Yutaka N. Differences in neuronal lipid composition between superior cervical ganglia and nodose ganglia of the rat. *Biochim Biophys Acta BBA - Lipids Lipid Metab* 1988; **960**: 427–434.
- 58 Fokke C, van den Berg B, Drenthen J, Walgaard C, van Doorn PA, Jacobs BC. Diagnosis of Guillain-Barré syndrome and validation of Brighton criteria. *Brain* 2014; **137**: 33–43.
- 59 Hughes RAC, Newsom-Davis JM, Perkin GD, Pierce JM. CONTROLLED TRIAL OF PREDNISOLONE IN ACUTE POLYNEUROPATHY. *The Lancet* 1978; **312**: 750–753.
- 60 Kusunoki S, Chiba A, Kon K, Ando S, Arisawa K, Tate A, Kanazawa I. N-acetylgalactosaminyl GD1a is a target molecule for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 1994; **35**: 570–576.
- 61 Morales MA, Holmberg K, Xu ZQ, Cozzari C, Hartman BK, Emson P, Goldstein M, Elfvin LG, Hökfelt T. Localization of choline acetyltransferase in rat peripheral sympathetic neurons and its coexistence with nitric oxide synthase and neuropeptides. *Proc Natl Acad Sci* 1995; **92**: 11819–11823.
- 62 Kummer W, Bachmann S, Neuhuber WL, Hänze J, Lang RE. Tyrosine-hydroxylase-containing vagal afferent neurons in the rat nodose ganglion are independent from neuropeptide-Y-containing populations and project to esophagus and stomach. *Cell Tissue Res* 1993; **271**: 135–144.
- 63 新美由紀. Guillain-Barre 症候群急性期の自律神経機能異常. 神経内科. 2013; **78**: 62–67.
- 64 Ogawa G, Kaida K, Kusunoki S, Ueda M, Kimura F, Kamakura K. Antibodies to

- ganglioside complexes consisting of asialo-GM1 and GQ1b or GT1a in Fisher and Guillain–Barré syndromes. *J Neuroimmunol* 2009; **214**: 125–127.
- 65 Kanzaki M, Kaida K, Ueda M, Morita D, Hirakawa M, Motoyoshi K, Kamakura K, Kusunoki S. Ganglioside complexes containing GQ1b as targets in Miller Fisher and Guillain–Barré syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; **79**: 1148–1152.
 - 66 Odaka M, Yuki N, Hirata K. Anti-GQ1b IgG antibody syndrome: clinical and immunological range. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; **70**: 50–55.
 - 67 Shahrizaila N, Kokubun N, Sawai S, Umapathi T, Chan Y-C, Kuwabara S, Hirata K, Yuki N. Antibodies to single glycolipids and glycolipid complexes in Guillain–Barré syndrome subtypes. *Neurology* 2014; **83**: 118–124.
 - 68 Green C, Baker T, Subramaniam A. Predictors of respiratory failure in patients with Guillain–Barré syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Med J Aust* 2018; **208**: 181–188.
 - 69 Yamamoto H, Tsuji S, Nagai Y. Tetrasialoganglioside GQ1b Reactive Monoclonal Antibodies: Their Characterization and Application for Quantification of GQ1b in Some Cell Lines of Neuronal and Adrenal Origin(S). *J Neurochem* 1990; **54**: 513–517.
 - 70 Ozawa H, Kotani M, Kawashima I, Tai T. Generation of one set of monoclonal antibodies specific for b-pathway ganglio-series gangliosides. *Biochim Biophys Acta BBA - Lipids Lipid Metab* 1992; **1123**: 184–190.
 - 71 安藤進. 脳機能とガングリオシド—新たに登場したニューロンの活性物質. 共立出版, 1997.
 - 72 Riboni L, Tettamanti G, 秀好東. ガングリオシドの代謝回転と代謝調節物質の産生. *Trends Glycosci Glycotechnol* 1993; **5**: 1–11.
 - 73 岩森 正男, 永井克孝. 糖鎖の分析法・2 糖脂質の構造とその多様性. 臨床検査 1987; **31**: 183–192.
 - 74 岩森正男, 永井克孝. 糖脂質オリゴ糖鎖の構造と機能. 有機合成化学協会誌 1992; **50**: 464–478.
 - 75 Kusunoki S, Hitoshi S, Kaida K-I, Arita M, Kanazawa I. Monospecific anti-GD1b IgG is required to induce rabbit ataxic neuropathy. *Ann Neurol* 1999; **45**: 400–403.

- 76 Taguchi K, Ren J, Utsunomiya I, Aoyagi H, Fujita N, Ariga T, Miyatake T, Yoshino H. Neurophysiological and immunohistochemical studies on Guillain-Barré syndrome with IgG anti-GalNAc-GD1a antibodies—effects on neuromuscular transmission. *J Neurol Sci* 2004; **225**: 91–98.
- 77 Kaida K, Kamakura K, Ogawa G, Ueda M, Motoyoshi K, Arita M, Kusunoki S. GD1b-specific antibody induces ataxia in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2008; **71**: 196–201.
- 78 Ogawa-Goto K, Funamoto N, Abe T, Nagashima K. Different Ceramide Compositions of Gangliosides Between Human Motor and Sensory Nerves. *J Neurochem* 1990; **55**: 1486–1493.
- 79 Sawai S, Satoh M, Mori M, Misawa S, Sogawa K, Kazami T, Ishibashi M, Beppu M, Shibuya K, Ishige T, Sekiguchi Y, Noda K, Sato K, Matsushita K, Kodera Y, Nomura F, Kuwabara S. Moesin is a possible target molecule for cytomegalovirus-related Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 2014; **83**: 113–117.
- 80 Lawn ND, Fletcher DD, Henderson RD, Wolter TD, Wijdicks EFM. Anticipating Mechanical Ventilation in Guillain-Barré Syndrome. *Arch Neurol* 2001; **58**: 893–898.
- 81 Netto AB, Taly AB, Kulkarni GB, Rao GUM, Rao S. Prognosis of patients with Guillain-Barré syndrome requiring mechanical ventilation. *Neurol India* 2011; **59**: 707.
- 82 López-Hernández JC, Jorge de Saráchaga A, Briseño-Godínez ME, May-Mas RN, Bazán-Rodríguez L, León-Manriquez E, Cruz-Pérez J, Becerra-Hernández I, Vargas-Cañas ES. Deltoid Muscle Strength and Autonomic Dysfunction as Independent Risk Factors for Invasive Mechanical Ventilation in Patients with Guillain-Barré Syndrome. *Int J Neurosci* 2022; : 1–13.
- 83 Walgaard C, Lingsma HF, Ruts L, Drenthen J, van Koningsveld R, Garssen MJP, van Doorn PA, Steyerberg EW, Jacobs BC. Prediction of respiratory insufficiency in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2010; **67**: 781–787.
- 84 Kuitwaard K, de Gelder J, Tio-Gillen AP, Hop WCJ, van Gelder T, van Toorenenbergen AW, van Doorn PA, Jacobs BC. Pharmacokinetics of intravenous immunoglobulin and outcome in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 2009; **66**: 597–603.

- 85 Saifudheen K, Jose J, Gafoor VA, Musthafa M. Guillain-Barré syndrome and SIADH. *Neurology* 2011; **76**: 701–704.
- 86 Yuki N. Tryptophan-immobilized column adsorbs immunoglobulin G anti-GQ1b antibody from Fisher's syndrome: A new approach to treatment. *Neurology* 1996; **46**: 1644–1651.
- 87 Willison HJ, Townson K, Veitch J, Boffey J, Isaacs N, Andersen SM, Zhang P, Ling C, Bundle DR. Synthetic disialylgalactose immunoadsorbents deplete anti - GQ1b antibodies from autoimmune neuropathy sera. *Brain* 2004; **127**: 680–691.

図表

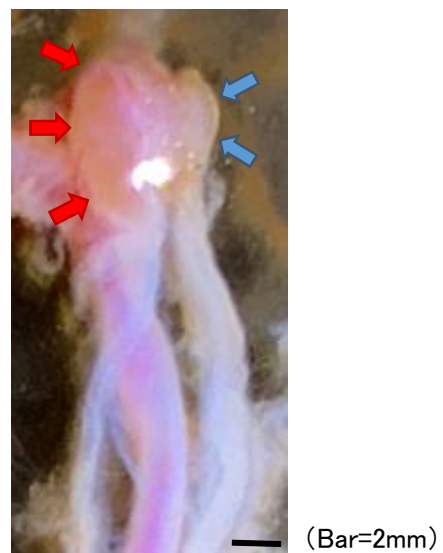


図 1. ラット迷走神経下神経節, 上頸神経節の肉眼像

総頸動脈と並走する迷走神経, 交感神経幹を剖出し, その神経節である迷走神経下神経節 (青矢印), 上頸神経節 (赤矢印) を採取した.

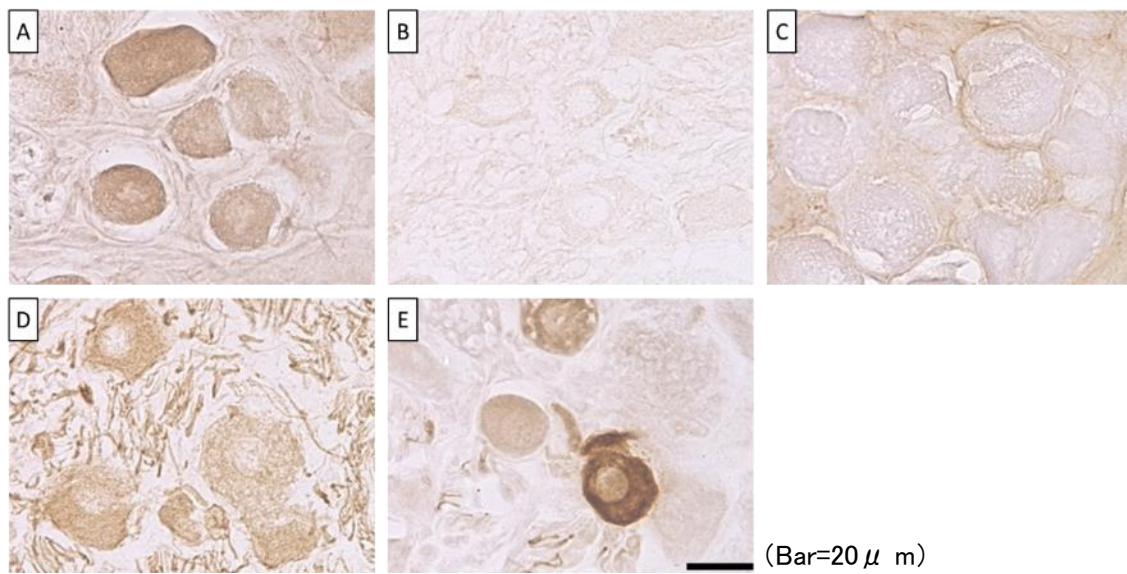


図 2. ラット迷走神経下神経節の免疫組織化学染色

A. 抗 GQ1b 抗体染色:神経細胞に染色性を認める, B. 正常マウス IgM による染色:特異的な染色性を認めない, C. 抗 GQ1b 抗体染色(糖脂質除去標本):染色性の消失を認める, D. 抗 ChAT 抗体染色:神経細胞に染色性を認める, E. 抗 TH 抗体染色:神経細胞の一部のみに強い染色性を認める.

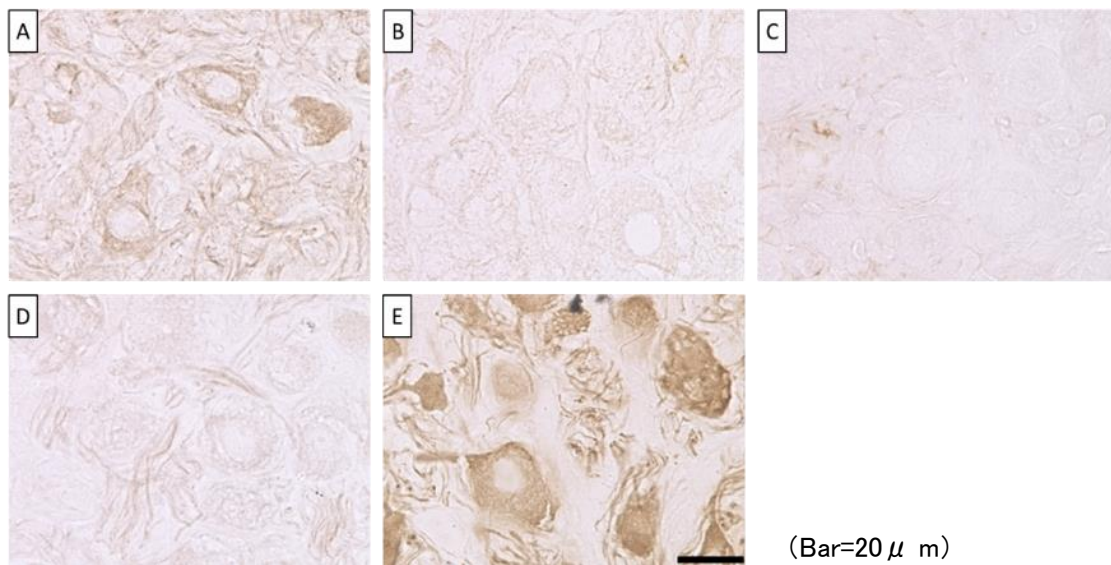


図 3. ラット上頸神経節の免疫組織化学染色

A. 抗 GQ1b 抗体染色：神経細胞に染色性を認める, B. 正常マウス IgM による染色：特異的な染色性を認めない, C. 抗 GQ1b 抗体染色（糖脂質除去標本）：染色性の消失を認める, D. 抗 ChAT 抗体染色：神経細胞に明らかな染色性を認めない, E. 抗 TH 抗体染色：神経細胞に染色性を認める.

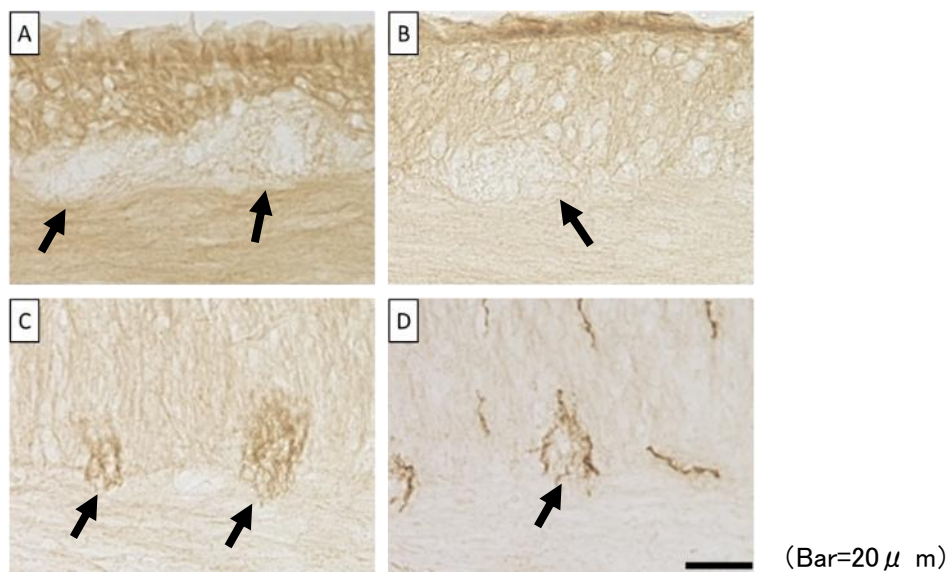
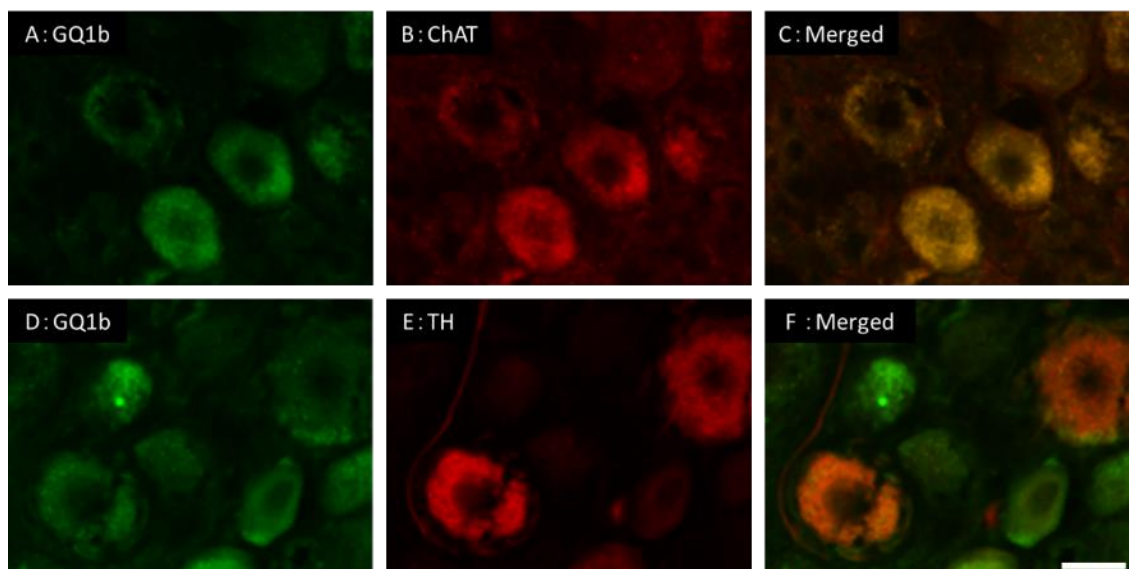


図 4. ラット空腸の免疫組織化学染色

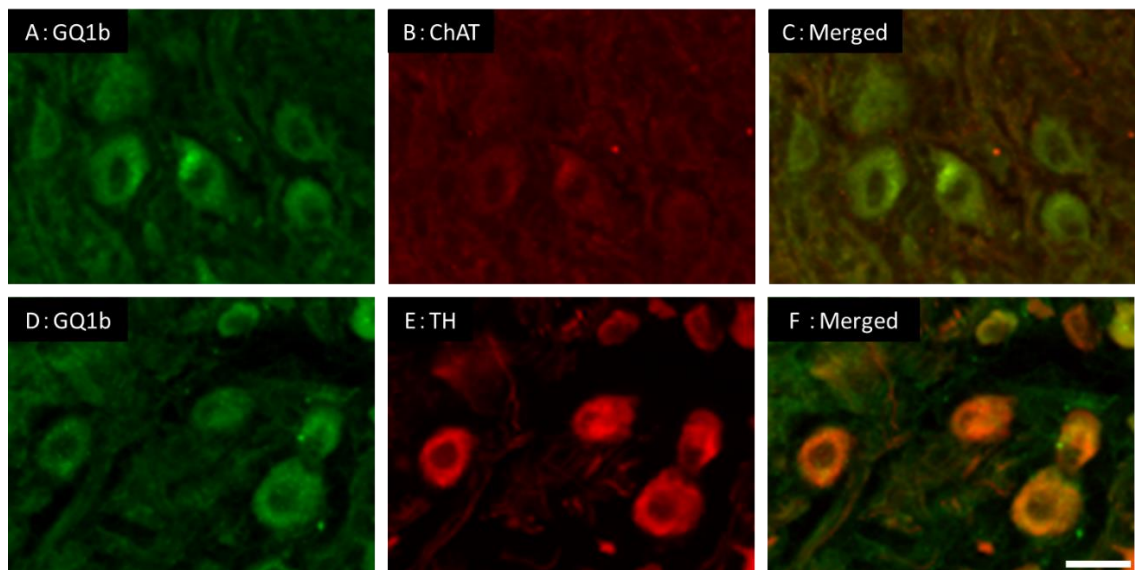
A. 抗 GQ1b 抗体染色:腸管神経叢に特異的な染色性を認めない(矢印), B. 正常マウス IgM による染色:腸管神経叢に特異的な染色性を認めない(矢印), C. 抗 ChAT 抗体染色:腸管神経叢の神経線維に染色性を認める(矢印), D. 抗 TH 抗体染色:腸管神経叢の神経線維に染色性を認める(矢印).



(Bar=20 μ m)

図 5. ラット迷走神経下神経節の免疫組織化学的二重染色

A. 抗 GQ1b 抗体染色, B. 抗 ChAT 抗体染色, C. A と B の重ね合わせ像: 結合部位は大部分で一致, D. 抗 GQ1b 抗体染色, E. 抗 TH 抗体染色, F. D と E の重ね合わせ像: 結合部位は一部で一致.



(Bar=20 μ m)

図 6. ラット上頸神経節の免疫組織化学的二重染色

A. 抗 GQ1b 抗体染色, B. 抗 ChAT 抗体染色: 染色性を認めない, C. A と B の重ね合わせ像, D. 抗 GQ1b 抗体染色, E. 抗 TH 抗体, F. D と E の重ね合わせ像: 結合部位は大部分で一致.

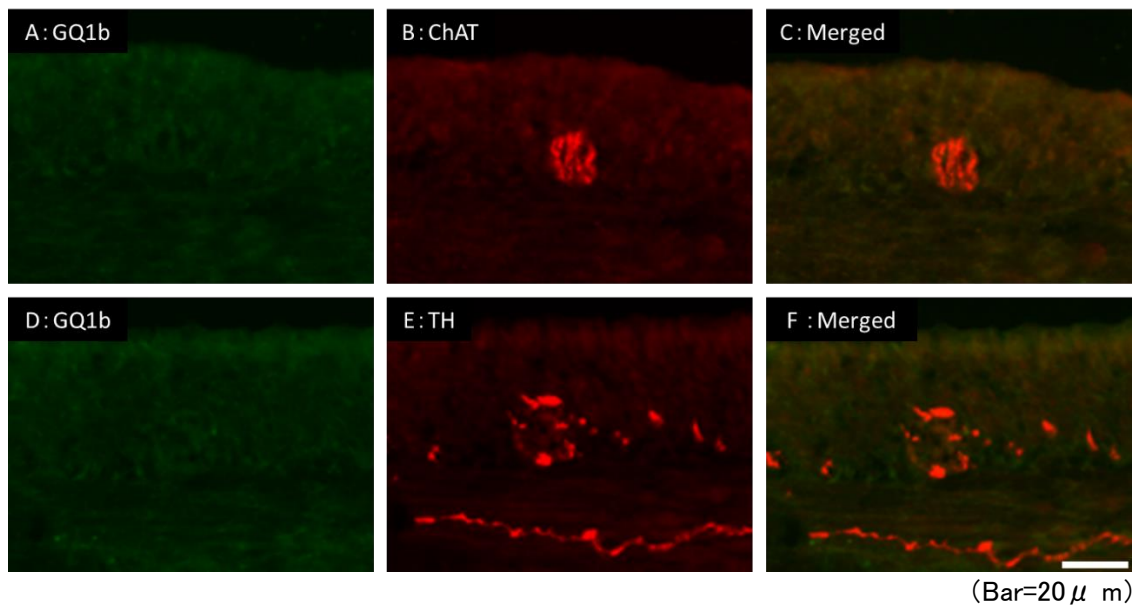


図 7. ラット空腸の免疫組織化学的二重染色

A. 抗 GQ1b 抗体染色: 染色性を認めない, B. 抗 ChAT 抗体染色, C. A と B の重ね合わせ像, D. 抗 GQ1b 抗体染色: 染色性を認めない, E. 抗 TH 抗体. F. D と E の重ね合わせ像.

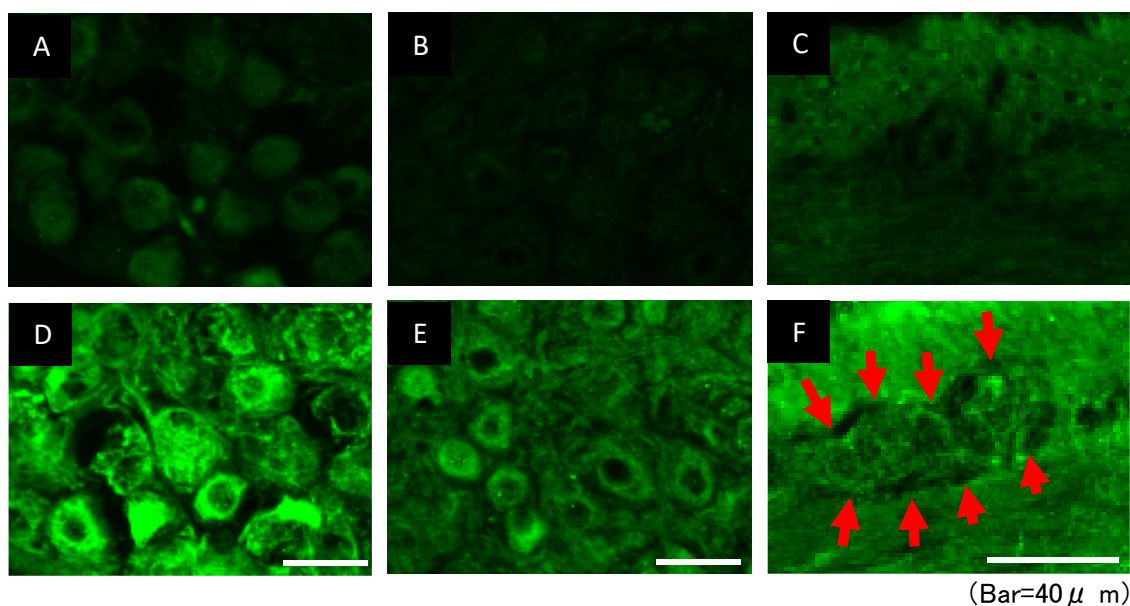


図8. ラット自律神経組織に対する患者血清から抽出したIgG検体の結合活性

組織: (A,D)迷走神経下神経節, (B,E)上頸神経節, (C,F)腸管神経叢(矢印)

(A,B,C) 健常者血清から抽出した IgG 検体で処理: すべての組織で蛍光強度が低い, (D,E,F)

症例1患者血清から抽出した IgG 検体で処理: 迷走神経下神経節, 上頸神経節, 腸管神経叢
で蛍光強度が強い(方法で示した定義より「結合活性あり」).

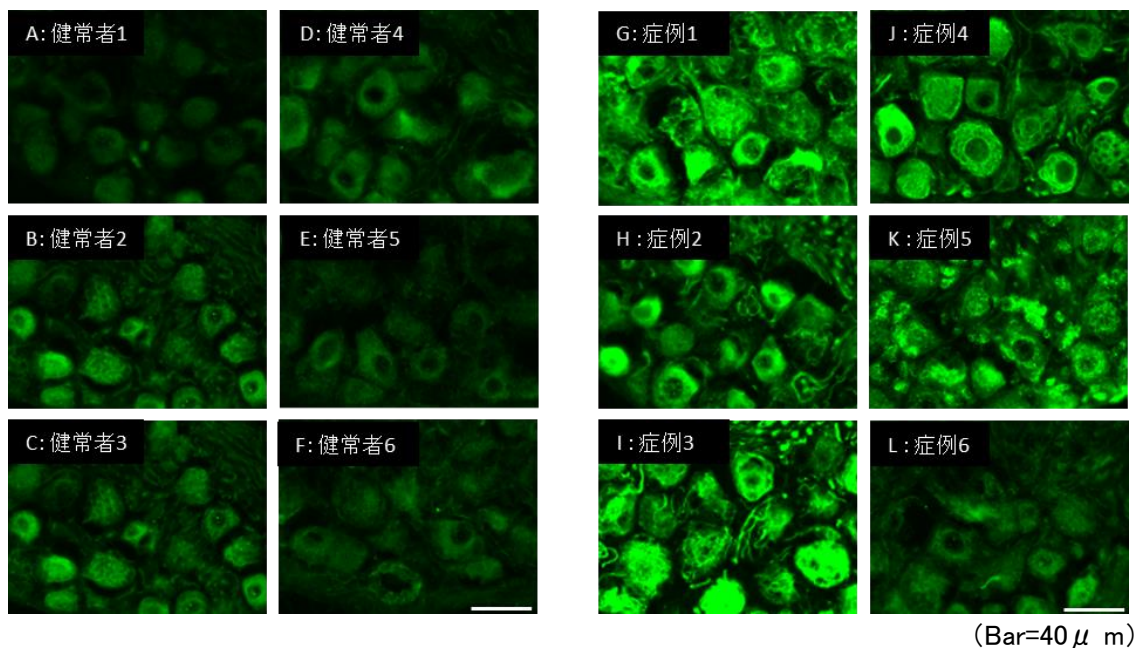


図9. ラット迷走神経下神経節に対する健常者・患者血清から抽出したIgG検体の結合活性

組織: 迷走神経下神経節

(A,B,C,D,E,F) 健常者血清から抽出した IgG 検体で処理, (G,H,I,J,K,L) GBS-DA-GQ1b(+) 群

患者血清から抽出した IgG 検体で処理

A. 健常者 1, B. 健常者 2, C. 健常者 3, D. 健常者 4, E. 健常者 5, F. 健常者 6, G. 症例 1,

H. 症例 2, I. 症例 3, J. 症例 4, K. 症例 5, L. 症例 6: 症例 1,2,3,4,5 患者血清から抽出した

IgG 検体との結合活性が見られる.

表 1. GBS-DA 群の自律神経障害の内容と頻度

自律神経障害	GBS-DA n=50, no.(%)	GBS-DA-GQ1b(+) n=14, no.(%)	GBS-DA-GQ1b(-) n=36, no.(%)	p 値
血圧変動	32 (64%)	10 (71%)	22 (61%)	n.s.
高血圧	13 (26%)	5 (36%)	8 (22%)	n.s.
低血圧	5 (10%)	2 (14%)	3 (8%)	n.s.
起立性低血圧	21 (42%)	5 (36%)	16 (44%)	n.s.
脈拍変動	15 (30%)	6 (43%)	9 (25%)	n.s.
頻脈	8 (16%)	5 (36%)	3 (8%)	0.024
徐脈	7 (14%)	2 (14%)	5 (14%)	n.s.
膀胱直腸障害	27 (54%)	7 (50%)	20 (56%)	n.s.
尿閉	8 (16%)	3 (21%)	5 (14%)	n.s.
便秘	8 (16%)	1 (7%)	7 (19%)	n.s.
発汗障害	10 (20%)	4 (29%)	6 (17%)	n.s.
発汗亢進	6 (12%)	3 (21%)	3 (8%)	n.s.
発汗低下	4 (8%)	1 (7%)	3 (8%)	n.s.
その他				
インポテンツ	1 (2%)	0 (0%)	1 (3%)	n.s.

GBS-DA=GBS-dysautonomia; GQ1b(+)=抗GQ1b関連抗体陽性;
GQ1b(-)=GQ1b関連抗体陰性; n.s. = not significant.

表 2. GBS-DA 群と GBS-C 群の臨床的特徴

	GBS-DA n=50	GBS-C n=50	p 値	GBS-DA- GQ1b(+) n=14	GBS-DA- GQ1b(-) n=36	p 値	GBS-C- GQ1b(+) n=9	GBS-C- GQ1b(-) n=41	p 値
年齢; mean±SD(歳)	46.7±23.3	42.8±21.4	n.s.	42.3±20.9	48.4±24.2	n.s.	42.2±15.6	42.9±22.7	n.s.
性別;男性/女性	33/17	30/20	n.s.	11/3	22/14	n.s.	7/2	23/18	n.s.
先行感染, no. (%)	44 (88%)	33 (66%)	0.009	13 (93%)	31 (86%)	n.s.	8 (89%)	25 (61%)	n.s.
呼吸器感染	24 (48%)	11 (22%)	0.006	11 (79%)	13 (36%)	0.006	2 (22%)	9 (22%)	n.s.
消化器感染	16 (32%)	18 (36%)	n.s.	2 (14%)	14 (39%)	n.s.	5 (56%)	13 (32%)	n.s.
脳神経障害, no. (%)	36 (72%)	24 (48%)	0.014	12 (86%)	24 (67%)	n.s.	6 (67%)	18 (44%)	n.s.
外眼筋麻痺: III,IV,VI	24 (48%)	6 (12%)	<0.001	9 (64%)	15 (42%)	n.s.	5 (56%)	1 (2%)	<0.001
顔面神経麻痺: VII	20 (40%)	16 (32%)	n.s.	6 (43%)	14 (39%)	n.s.	3 (33%)	13 (32%)	n.s.
球麻痺: IX,X,XII	23 (46%)	10 (20%)	0.006	9 (64%)	14 (39%)	n.s.	3 (33%)	7 (17%)	n.s.
脳脊髄液蛋白, Mean±SD(mg/dL)	n=45 105±124	n=43 102±123	n.s.	n=13 88±163	n=32 111±106	n.s.	n=7 54.7±36.8	n=36 111±132	n.s.
筋力低下	n=45	n=48		n=12	n=33		n=7	n=41	
近位優位	12 (27%)	2 (4%)	0.002	6 (50%)	6 (18%)	0.039	0 (0%)	0 (0%)	n.s.
遠位優位	16 (36%)	26 (54%)	n.s.	3 (25%)	13 (39%)	n.s.	4 (57%)	24 (59%)	n.s.
感覚障害	n=43	n=48		n=10	n=33		n=8	n=40	
no. (%)	25 (58%)	14 (29%)	0.003	5 (50%)	20 (61%)	n.s.	2 (25%)	12 (30%)	n.s.
表在覚, no. (%)	21 (49%)	11 (23%)	0.007	3 (30%)	18 (55%)	n.s.	0 (0%)	11 (28%)	n.s.
深部覚, no. (%)	14 (33%)	5 (10%)	0.007	4 (40%)	10 (30%)	n.s.	2 (25%)	3 (8%)	n.s.
ピーク時の重症度(FS)	n=48	n=46		n=13	n=35		n=7	n=39	
mean±SD	4.1±1.0	3.0±1.4	<0.001	4.2±1.2	4.09±0.89	n.s.	3.4±1.7	3.0±1.3	n.s.
FS-1, no. (%)	0 (0%)	8 (17%)	0.003	0 (0%)	0 (0%)		2 (29%)	6 (15%)	n.s.
FS-2, no. (%)	5 (10%)	10 (22%)	n.s.	2 (15%)	3 (9%)	n.s.	0 (0%)	10 (26%)	n.s.
FS-3, no. (%)	3 (6%)	4 (7%)	n.s.	0 (0%)	3 (9%)	n.s.	1 (0%)	4 (10%)	n.s.
FS-4 (歩行不能), no. (%)	22 (46%)	19 (41%)	n.s.	5 (42%)	17 (50%)	n.s.	3 (43%)	16 (42%)	n.s.
FS-5 (人工呼吸器), no. (%)	18 (38%)	5 (11%)	0.003	6 (46%)	12 (34%)	n.s.	2 (29%)	3 (8%)	n.s.

GBS-DA=GBS-dysautonomia; GBS-C=GBS-control; FS=Hughes Functional Grading Scale; n.s. = not significant.

表 3. GBS-DA 群の電気生理学的検討による病型分類

GBS-DA n=20	Haddenの 基準 no.(%)	Hoの 基準 no.(%)
脱髄型/AIDP	14 (70%)	12 (60%)
軸索型/AMAN	2 (10%)	3 (15%)
Equivocal/unclassified	4 (20%)	5 (25%)

GBS-DA =GBS-dysautonomia ;

AIDP=acute inflammatory demyelinating polyneuropathy;

AMAN=acute motor axonal neuropathy.

表 4. GBS-DA-抗体陽性群と GBS-C-抗体陽性群の抗糖脂質抗体（IgG）の頻度

糖脂質抗体	GBS-DA -抗体陽性 n=22	GBS-C -抗体陽性 n=33	p値
抗GQ1b抗体	12 (55%)	4 (12%)	0.0007*
抗GT1a抗体	10(46%)	6(18%)	0.029
抗GD1a抗体	8 (36%)	10 (30%)	0.64
抗GD1b抗体	8 (36%)	11 (33%)	0.82
抗GT1b抗体	6 (27%)	2 (6%)	0.029
抗Gal-C抗体	6 (27%)	3 (9%)	0.074
抗GalNAc-GD1a抗体	5 (23%)	11 (33%)	0.40
抗GD3抗体	4 (18%)	1 (3%)	0.056
抗GA1抗体	4 (18%)	12 (36%)	0.15
抗GM1抗体	3 (14%)	14 (42%)	0.024
抗GM2抗体	3 (14%)	3 (9%)	0.60

*Bonferroni補正の有意水準(0.0045)で有意差あり

GBS-DA =GBS-dysautonomia; GBS-C =GBS-control;

抗体陽性=糖脂質抗体陽性.

表 5. 検討した 4 群の患者血清から抽出した IgG 検体のラット自律神経組織に対する結合活性

各群 (n=6)	結合活性を認める症例数			
	迷走神経 下神経節	上頸 神経節	腸管 神経叢	左記の いずれか
GBS-DA-GQ1b(+)	5	2	1	5
GBS-DA-ab(-)	3	5	2	5
GBS-C-GQ1b(+)	1	1	0	1
GBS-C-ab(-)	1	3	2	3

GBS-DA=GBS-dysautonomia; GBS-C=GBS-control;
GQ1b(+)=GQ1b抗体陽性; ab(-)=抗糖脂質抗体陰性.

表 6. 抗 GQ1b 抗体と併存する抗糖脂質抗体

各群 (n=6)	併存する抗糖脂質抗体			GQ1b関連抗体		
	GD1b	GT1a	その他*	GA1/GQ1b	GM1/GQ1b	GD1a/GQ1b
GBS-DA-GQ1b(+)	4	3	1	5	2	0
GBS-C-GQ1b(+)	0	5	2	3	2	1

*GM1, GD1a, GT1b, GalNAc-GD1a.

GBS-DA=GBS-dysautonomia; GBS-C=GBS-control; GQ1b(+)=GQ1b抗体陽性.

表 7. GBS の自律神経障害の内容と頻度

	Lichtenfeld ³⁸ n=28	Singh ³⁴ n=24	Ruts ³⁷ n=156	Chakraborty ³³ n=71	本研究 n=50
高血圧	17(60%)	8(33%)	107(69%)	27(39%)	13 (26%)
低血圧			17(11%)	26(37%)	5 (10%)
起立性低血圧	12(43%)	7(35%)			21 (42%)
頻脈	14(50%)	8(33%)	60(38%)	18(26%)	8 (16%)
徐脈	6(21%)	2(4%)	14(9%)	1(1%)	7 (14%)
膀胱機能障害	8(30%)	5(21%)	30(19%)	17(24%)	8 (16%)
腸管運動障害	1(4%)		70(45%)	30(42%)	8 (16%)
発汗障害		3(13%)		7(10%)	10 (20%)

付録

各施設の主治医に送付したアンケート

(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) 病名 :

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

ii) ☐ その他、あるいは不明 ()

c. ☐ Cytomegalovirus ☐ Epstein-Barr virus

d. ☐ その他 ()

3. 臨床症狀

・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) (該当するものにレを付けて下さい.)

☐ Distal ☐ Proximal ☐ Global (proximal = distal)

□Mixed (上肢：近位優位，下肢：遠位優位など) MMT:

・ピーク時の運動障害 (Functional score; F-score = Hughes grading scale)

F-score : 第 病日

 $\square 0 = \text{healthy}$

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

□2 = able to walk 5m or more without assistance

☐3 = able to walk 5m or more with a walker or support

□4 = bedridden or chair-bound

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

 $\square 6 = \text{dead}$

握力：右 kg 左 kg

- ・筋萎縮：□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（ ）
- ・来院時の腱反射：□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（ ）

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ください.)
その他の検査異常 (神経伝導検査を除く) :

□副腎皮質ステロイド：