

IgG anti-GM1 monoclonal antibody の運動神経・筋接合部における 免疫組織化学的・電気生理学的研究

堀田 紗綾子

【緒言】

Guillain-Barré Syndrome (GBS) は、四肢麻痺や腱反射消失を特徴とする炎症性多発神経炎であるが、発症前には呼吸器感染や下痢症状といった感染症が先行することが多い。感染症の主な原因菌として、急性下痢症では *Campylobacter jejuni* (*C.jejuni*) が知られている。*C.jejuni* が GBS 発症の原因となる機序として、*C.jejuni* のリポオリゴ糖がガングリオシドの一種である GM1 の末端糖鎖と共通する構造を有しており、*C.jejuni* に感染することにより産生された抗 GM1 抗体が、運動神経軸索上に存在する GM1 と交叉反応することで神経伝導障害が惹起される、とする分子相同性仮説が提唱されている。

そこで本研究では、IgG 抗 GM1 モノクローナル抗体 (抗 GM1 抗体) の神経伝導に及ぼす影響を電気生理学的に、また神経組織に対する結合性を免疫組織化学的に検討した。

【実験方法】

(1) 神経筋接合部モデルの作製

Wistar 系雌性ラット (妊娠 17 日齢) から無菌的に胎児を摘出し、脊髄および大腿筋を採取した。脊髄は水平断に薄切、大腿筋は細切して collagenase 処理後、これらを約 1 週間共培養した。

(2) 自発性筋活動電位 (spontaneous muscle action potential: AP) の測定

神経筋接合部モデルにおける AP に及ぼす抗 GM1 抗体の影響を、微小電極法を用いて検討した。得られた AP は Microelectrode Amplifier で増幅し、Memory Oscilloscope を介して記録した。

(3) 横隔膜神経・筋接合部標本を用いた免疫組織化学的検討

ラットの横隔膜神経・筋接合部標本における抗 GM1 抗体の結合部位と、 α -Bungarotoxin (α -BuTx)、neurofilament 200kDa (NF)、S100 protein (S100)、Syntaxin、N-type あるいは P/Q-type 電位依存性カルシウムチャネル (VGCCs) の発現部位を、免疫蛍光染色により比較した。

【結果・考察】

(1) 抗 GM1 抗体の AP に及ぼす影響

神経筋接合部モデルにおける AP は、抗 GM1 抗体 (1:200) では変化しなかったが、抗 GM1 抗体 (1:100) により control と比較して著しく抑制された。この抑制は、抗体の洗浄除去により control と同程度にまで回復した (Fig.1)。また、GM1 の生合成に必要な GM2 合成酵素をノックダウンしたモデルにおいては、抗 GM1 抗体 (1:100) による AP の抑制はみられなかった。これにより、抗 GM1 抗体はガングリオシドとしての

GM1 に結合し、AP を抑制していることが示唆された。

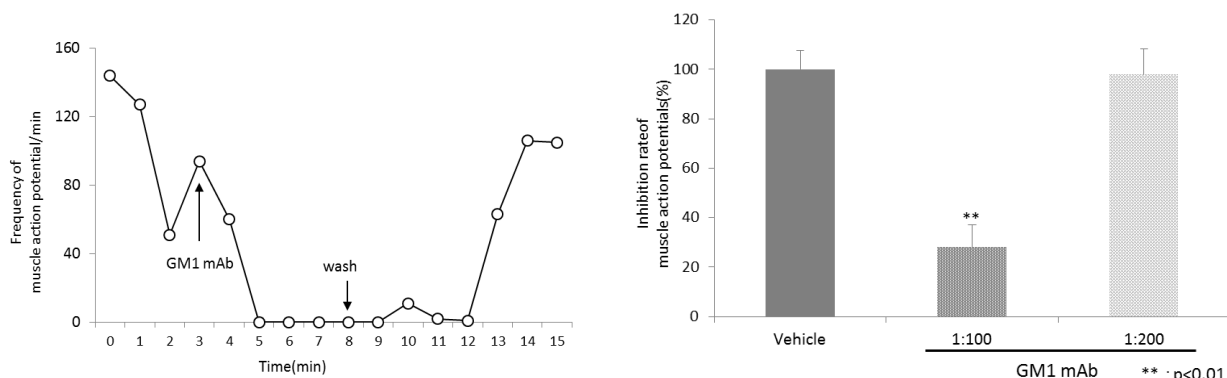


Fig.1 抗 GM1 抗体添加時の自発性筋活動電位頻度の変化

(2) VGCCs 阻害剤の前処置が抗 GM1 抗体による AP 抑制作用に及ぼす影響

神経筋接合部モデルに N-type VGCCs の阻害剤である ω -conotoxin を前処置した場合、抗 GM1 抗体 (1:100) による AP 抑制作用は顕著に減弱した。一方、P/Q-type VGCCs 阻害剤である ω -agatoxin の前処置では、抗 GM1 抗体 (1:100) による AP 抑制作用の減弱は軽度であった。このことから、抗 GM1 抗体による AP 抑制作用には N-Type および P/Q-Type VGCCs のいずれも関与しているが、その関与は N-Type VGCCs の方が優位であることが示唆された。

(3) 抗 GM1 抗体の結合部位に関する免疫組織化学的検討

横隔膜神経・筋接合部標本において、抗 GM1 抗体はプレシナプスの神経軸索に発現する NF と重なって染色された。さらに、シュワン細胞およびシナプス小胞のマーカーである S100、Syntaxin の発現部位とも相同性が認められた。しかし、ポストシナプスのアセチルコリン受容体に結合する α -BuTx と、抗 GM1 抗体の結合部位は一致しなかった。また、抗 GM1 抗体の結合部位は N-type および P/Q-type VGCCs の発現部位とも合致することが明らかとなった。

【結論】

抗 GM1 抗体は、軸索やシュワン細胞といった神経のプレシナプス側の構成要素と結合することが明らかとなった。また、N-type および P/Q-type VGCCs とともに結合し、主に N-Type VGCCs を介して AP を抑制することが明らかとなった。以上の結果から、抗 GM1 抗体価が上昇するタイプの GBS 患者では、これらの事象が運動障害の発症や進展に寄与している可能性が示唆された。

【本研究の誌上発表】

- 1) Hotta S. et al., Exp Ther Med. in press (2014)
- 2) Hotta S. et al., Neurol Sci. 35 : 205-213 (2014)