

(8) ALPD の腫瘍組織には正常の T 細胞が高レベルで浸潤しており、浸潤 T 細胞の一部は CCR4 を発現すること、(9) ALPD の腫瘍組織には FOXP3 陽性の制御性 T 細胞も高レベルで浸潤しており、これらは高頻度で CCR4 を発現していること、(10) PTL D の腫瘍組織でも同様に T 細胞浸潤、CCR4 陽性細胞浸潤、FOXP3 陽性細胞浸潤が見られるが、ALPD と比較してその数は極めて弱いこと(それは PTL D では強い免疫抑制剤の影響でそもそも T 細胞が極端に減少しているためであると考えられる)、などを明らかにした。

これらの結果は ALPD が PTL D と同様の EBV 感染 B 細胞の異常増殖に基づく疾患であることを支持し、さらに腫瘍細胞の産生する特定のケモカインが反応性の T 細胞浸潤や制御性 T 細胞の浸潤を誘導すること、制御性 T 細胞の浸潤は腫瘍細胞の免疫回避に寄与している可能性があること、などを初めて明らかにした重要な研究成果である。また今回の結果は ALPD と cHL や通常の DLBCL との鑑別診断にも役立つ知見を提供する。すなわち、(1) ALPD の病理組織像は cHL (特に mixed cellularity type) のそれとよく似ているが、ALPD の腫瘍細胞は cHL の RS 細胞と異なって CD20 や CD72a といった B 細胞マーカーが陽性であることに加えて形態的にも著明な不均一性を示すこと、また(2) ALPD は他の DLBCL と異なって EBER 陽性であるほか RS 様の大型腫瘍細胞が CCL17/CCL22 陽性であること、などである。

このように本論文は EBV 関連腫瘍や腫瘍免疫学に新たな知見を加え、さらに B 細胞リンパ腫の分野での ALPD に対する理解や鑑別診断にも貢献するものであり、十分学位論文に値すると判断された。

氏名	上田 昌美
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医第957号
学位授与の日付	平成20年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Bickerstaff 型脳幹脳炎における抗ガングリオンシド抗体の反応特異性の検討：Miller Fisher 症候群、Guillain-Barré 症候群との比較
論文審査委員 (主査)	教授 楠 進
(副主査)	教授 加藤 天美
(副主査)	教授 重吉 康史

【目的】

抗グングリオシド抗体の高頻度に上昇する疾患のなかで、BBE のみが中枢神経障害を伴うのは何故かという観点から、抗体の反応性を検討した。

【方法】

抗 GQ1b IgG 抗体陽性 BBE 25 例、MFS39 例、GBS29 例の血清を GQ1b と GT1a に対する相対的な抗体活性の比較、他の抗グングリオシド抗体の陽性頻度、リン脂質添加による抗 GQ1b 抗体活性の影響、他のグングリオシドと GQ1b の形成する複合体に対する抗体活性について比較検討した。抗体の測定には ELISA 法を用いた。

【結果】

BBE と MFS では GBS に比較して、抗 GQ1b および抗 GT1a IgG 抗体以外の抗グングリオシド抗体を伴う率が低く、GQ1b 活性が GT1a 活性より強い症例が多かった。また PA 添加では BBE では MFS や GBS に比較して PA 添加で抗体活性の上昇する例が有意に少なく、また GQ1b を含むグングリオシド複合体に特異性をもつ抗体の陽性率も有意に低かった。

【考察】

グングリオシド複合体に対する反応性の検討から、BBE における抗 GQ1b 抗体は、他のグングリオシドの共存下に立体構造の変化した抗原ではなく、GQ1b そのものの糖鎖構造に強く反応する抗体、GQ1b の糖鎖に対する特異性がより強い抗体であることがわかる。MFS や GBS でもそのような抗体がみられていることから、このような GQ1b に対する特異性の高い抗体の上昇は、BBE を引き起こす十分条件ではないが、必要条件であると考えられる。GT1a よりも GQ1b に対する抗体活性が相対的に高かった。PA 添加による抗体活性の増強効果をうけなかった。などの今回の BBE における抗体についての結果も、BBE では GQ1b そのものに対する特異性の強い抗体が上昇していることと合致する所見である。抗体が作用して障害を及ぼすためには、抗原に結合することが必要であるが、中枢神経においては GQ1b の存在様式が末梢神経と異なり、GQ1b に特異性の高い抗体でなければ結合できない可能性が考えられる。また GQ1b に特異性の高い抗体が、抗原に強固に結合することが中枢神経障害発症の条件である可能性もある。

【結論】

BBE における中枢神経障害発症のメカニズムのひとつとして、抗体の反応特異性が重要であることが示された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成 19 年 月 日 公表予定	出版物名
	公 表 内 容	近畿大学医学雑誌 第 32 巻 第 3 号
	全 文	平成 19 年 月 日 発行予定

【目的】

グングリオシドに対する抗体は Guillain-Barré 症候群(GBS)、その亜型である Miller Fisher 症候群(MFS)などの自己免疫性末梢神経障害で認められる。抗 GQ1b IgG 抗体は MFS および眼球運動麻痺や失調を伴う GBS で高頻度に検出されるが、Bickerstaff 型脳幹脳炎( BBE )でも高率に陽性となる。同じ GQ1b を標的とする抗体が上昇しながら、なぜ一部の例で中枢神経障害もきたすのかは未だ不明である。本研究では、この問題に関して血中の抗グングリオシド抗体の特異性に焦点を当てて検討した。近年 MFS において、GQ1b を含むグングリオシド複合体(GSC)に対する抗体も報告されているため、抗 GSC 抗体も含めて検討した。

【対象・方法】

1) 対象

1995 年 10 月から 2006 年 12 月までに抗体検査依頼のあった検体について、GM1 , GM2 , GM3 , GD1a , GD1b , GD3 , GT1b , GQ1b , GT1a の 9 種類の糖脂質抗原を用いて抗体活性を ELISA 法で測定した。抗 GQ1b IgG 抗体が陽性であった BBE25 例 MFS39 例 GBS29 例を検討の対象とした。

2) 抗体測定

単独のグングリオシドに対する抗体測定:グングリオシド 0.2 μg 抗原として用い、ELISA 法にて測定した。

PA との混合抗原に対する抗体測定:ELISA 用マイクロプレート上に GQ1b と phosphatidic acid (PA)各 0.1 μg の混合抗原(GQ1b/PA)、および GQ1b 単独抗原 0.2 μg を固相化し、ELISA 法にて抗体測定した。

GSC に対する抗体測定:GQ1b と GM1 および、GQ1b と GD1a を各 0.1 μg 混合した抗原(以下 GQ1b / GM1 , GQ1b / GD1a 抗原)を固相化し、上記の ELISA 法で抗体活性を測定した。既法に基づき(1)、混合抗原に対する補正 OD 値が、各単独抗原に対するものより 0.2 以上大きい場合に、その二種類のグングリオシドの形成するエピトープに特異性をもつ抗体が存在すると判定し、抗 GSC 抗体陽性とした。

BBE, GBS, MFS の 3 群間で、抗 GQ1b 抗体価、他の抗体の陽性率、抗

GQ1b 抗体と抗 GT1a 抗体の活性の比較、GQ1b 抗原に PA 添加した場合の抗体活性の変化、抗 GSC 抗体の陽性率を BBE, MFS, GBS で比較検討した。

抗 GQ1b 抗体活性の群間比較には、Kruskal Wallis 順位検定を用いた。GQ1b と GT1a に対する抗体活性の比較、他の抗ガングリオシド抗体陽性頻度、リン脂質添加による抗 GQ1b 抗体活性の影響、抗 GSC 抗体の陽性率の 3 群での比較には、 $m \times n$  カイ二乗検定を用い、3 群間で有意差があった場合にそれぞれ Fisher exact probability にて有意差を確認した。  $p < 0.05$  の場合を有意差ありと判定した。

#### 【結果】

抗 GQ1b IgG 抗体活性に 3 群間で有意な差はなかった ( $p=0.07$ )。抗 GQ1b 抗体活性が抗 GT1a 抗体活性よりも高いものの割合は BBE25 例中 20 例 80%、GBS29 例中 14 例 48.3%、MFS39 例中 21 例 79.5% で GBS に比し BBE と MFS では抗 GQ1b 活性が抗 GT1a 活性より高いものが有意に多かった (GBS:BBE  $P=0.016$ , GBS:MFS  $P=0.007$ )。GQ1b と GT1a 以外の抗体の陽性率は、BBE では 25 例中 1 例 4%、GBS29 例中 13 例 44.8%、MFS39 例中 6 例 15.4% であり、GBS では GQ1b, GT1a 抗体以外の抗体陽性率は BBE と MFS に比し有意に高かった (GBS:BBE  $P=0.001$ , GBS:MFS  $P=0.007$ )。PA 添加にて GQ1b 抗体活性価が上昇する率は、BBE では 25 例中 5 例 20%、GBS29 例中 15 例 51.7%、MFS39 例中 18 例 58.1% で BBE ではほかの 2 群に比し有意に PA 添加での抗体価が増強するものの率が低かった (BBE:GBS  $P=0.016$ , BBE:MFS  $P=0.033$ )。抗 GSCs 抗体陽性率は GBS29 例のうち 12 例 41.4%、MFS39 例のうち 14 例 35.8%、BBE では 25 例のうち 1 例 4.0% で、BBE では他の 2 群より有意に低値であった。(BBE:GBS  $P=0.001$ , BBE:MFS  $P=0.003$ )

#### 【考察】

抗 GSC 抗体の検討から、BBE における抗 GQ1b 抗体は、他のガングリオシドの共存下に立体構造の変化した抗原ではなく、GQ1b そのものの糖鎖構造に強く反応する抗体、GQ1b の糖鎖に対する特異性がより強い抗体であることがわかった。MFS や GBS でもそのような抗体がみられていることから、このような GQ1b に対する特異性の高い抗体の上昇は、BBE を引き起こす十分条件では

ないが、必要条件であると考えられた。GT1a よりも GQ1b に対する抗体活性が相対的に高いこと、PA 添加により抗体活性の増強が少ないこと、なども BBE では GQ1b そのものに対する特異性の強い抗体が上昇していることと合致する所見である。中枢神経においては GQ1b の存在様式が末梢神経と異なり、GQ1b に特異性の高い抗体でなければ結合できない可能性が考えられる。しかし中枢神経障害をきたす要因については、抗体の反応性以外にも様々なメカニズムが考えられ、今後さらに詳細な検討が必要である。

審査委員は論文内容の審査ならびに公聴会 (平成 20 年 1 月 30 日) での審査を行った結果、本論文を博士 (医学) 学位論文に値するものと認めた。