

Glycotope Mimicry between Human Ganglioside and Bacterial Lipopolysaccharide Induces Autoimmune Neuropathy

ガングリオシドとリポ多糖の糖鎖相同性が自己免疫性ニューロパチーを惹起する

Yuki, Nobuhiro

Department of Neurology, Dokkyo University School of Medicine, Kitakobayashi 880, Mibu,
Shimotsuga, Tochigi 321-0293, Japan

FAX: 81-282-86-5884, E-mail: yuki@dokkyomed.ac.jp

Key words: *molecular mimicry, ganglioside, lipopolysaccharide, Campylobacter jejuni, Guillain-Barré syndrome*

Abstract

Some patients have developed Guillain-Barré syndrome after the administration of bovine brain ganglioside. Patients with Guillain-Barré syndrome subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis frequently have the IgG antibody to GM1 ganglioside. Miller Fisher syndrome, a variant of Guillain-Barré syndrome, is associated with IgG antibody to GQ1b ganglioside. My colleagues and I showed the existence of molecular mimicry between GM1 and the lipopolysaccharide of *C. jejuni* isolated from a patient with Guillain-Barré syndrome, and between GQ1b and *C. jejuni* lipopolysaccharides from patients with Miller Fisher syndrome. The glycotope mimicry between infectious agents and gangliosides may function in the production of anti-ganglioside antibodies and the development of Guillain-Barré syndrome and Miller Fisher syndrome.

要約

ウシ脳ガングリオシド注射後にギラン・バレー症候群患者が発生した。一方、カンピロバクター・ジェジュニ腸炎後の発症するギラン・バレー症候群患者では、GM1 ガングリオシドに結合する IgG クラスの自己抗体がしばしば検出される。ギラン・バレー症候群の亜型とみなされているフィッシャー症候群では、GQ1b ガングリオシドに反応する IgG クラスの自己抗体が上昇している。われわれは、ギラン・バレー症候群患者から分離されたカンピロバクターのリポ多糖と GM1 との糖鎖相同性の存在を明らかにした。さらに、フィッシャー症候群患者から分離されたりポ多糖と GQ1b との糖鎖相同性も見出した。病原体とガングリオシドの糖鎖相同性が、抗ガングリオシド抗体産生とそれに引き続いて起こるギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群発症に関与しているにちがいない。

A. Introduction

Guillain-Barré syndrome (GBS) is the most common cause of acute neuromuscular paralysis in persons in developed countries. Two-thirds of GBS patients develop the syndrome following various infections. Infection due to gram-negative bacterium *Campylobacter jejuni*, a leading cause of acute diarrheal illness, commonly precedes the development of GBS (1). The hypothesis that anti-neural antibodies may function in the development of GBS is supported by the observation that plasma exchange elicits a beneficial response. The dependence of GBS on "molecular mimicry" between infectious agents and surface components of peripheral nerves has been postulated.

B. Guillain-Barré Syndrome

B-1. Autoantibody to GM1 Ganglioside

Gangliosides are highly expressed in the nervous tissues and are considered as cell surface molecules implicated in various biological cellular functions. There have been several reports of motor neuron disease and multifocal motor neuropathy

A. 緒言

ギラン・バレー症候群は、先進国における、急速に四肢の筋力低下をきたす疾患の中で最も頻度が高い。ギラン・バレー症候群患者の3分の2に種々の感染が先行する。なかでも、急性下痢症の主要な原因であるグラム陰性かん菌カンピロバクター・ジェジュニ感染が、ギラン・バレー症候群発症に先行することが多い(1)。ギラン・バレー症候群の治療として血漿交換が有効であることから、末梢神経に対する自己抗体がギラン・バレー症候群発症に関与すると考えられてきた。ギラン・バレー症候群の発症において、先行感染の病原体と末梢神経の「糖鎖相同性」の存在が想定されていた。

B. ギラン・バレー症候群

B-1. GM1ガングリオシドに対する自己抗体

ガングリオシドは神経系に豊富に存在し、細胞表面の分子として種々の生物学的機能を担っている。一部の運動ニューロン疾患と多発性運動ニューロパチーにおいて、IgM クラスの自己抗体を有する症例が報告された(2, 3)。Ilyas ら(4)と Inuzuka

associated with IgM antibody to GM1 ganglioside (2, 3). Ilyas *et al.* (4) and Inuzuka *et al.* (5) reported that several GBS patients who showed sensory dysfunction had autoantibodies to gangliosides except for the GM1 ganglioside.

GBS patients often have sensory impairment; however, patients with GBS subsequent to *C. jejuni* enteritis show no or minimal sensory disturbance. My colleagues and I (6) reported that 2 patients with GBS following *C. jejuni* infection had high IgG anti-GM1 antibody titers in the acute phase of the illness. No anti-GM1 antibody was detected in patients who had *C. jejuni* enteritis that was not followed by GBS. The association of IgG anti-GM1 antibody with GBS subsequent to *C. jejuni* enteritis has been established by others (7-9).

B-2. Molecular Mimicry between GM1 and *C. jejuni* Lipopolysaccharide

Ganglioside extracted from bovine brain tissue has been widely given for several neurologic disorders throughout Western Europe and South America. Since my colleagues and I first reported on amyotrophic lateral sclerosis-like disorder following ganglioside therapy (10), there has been an increasing number of reports of patients who developed GBS after receiving bovine brain ganglioside (11, 12). This development suggests an antecedent infectious agent with a ganglioside-like structure as a cause of GBS. By Penner's method, *C. jejuni* seems to be serotyped on the difference in the lipopolysaccharide (LPS). Kuroki *et al.* (13) and my colleagues and I (14) showed that a specific Penner's serotype (PEN), PEN 19 was frequently isolated from GBS patients. Thus, the current study included an investigation into whether GM1 epitope is present in the LPS from PEN 19 *C. jejuni*.

LPS was extracted from PEN 19 *C. jejuni* that had been isolated from a GBS patient by use of the hot phenol-water technique. Thin-layer chromatography with immunostaining showed that cholera toxin which specifically recognizes the GM1-oligosaccharide reacted with the LPS fraction (15), indicating that the LPS has the GM1 epitope. The LPS showing the binding activity of the cholera toxin was purified by a silica-bead column chromatography. Gas-liquid chromatography-mass spectrometric analysis showed that the purified LPS contained galactose (Gal), *N*-acetylgalactosamine (GalNAc), and *N*-acetylneuraminic acid (NeuAc), which are sugar components of GM1 ganglioside. ¹H nuclear magnetic resonance methods revealed that the oligosaccharide structure (Gal β1-3 GalNAc β1-4 [NeuAc α2-3] Gal β) protruded from the LPS core. My colleagues and I showed that this terminal structure (Gal β1-3 GalNAc β1-4 [NeuAc α2-3] Gal β) is identical to the terminal tetrasaccharide of the GM1 ganglioside (Fig. 1) (16), and the study was the first to demonstrate the existence of molecular mimicry between nerve tissue and the infectious agent isolated from a GBS patient. Moreover, its findings supported the probability of there being an adverse reaction after ganglioside ad-

ら(5)は、感覚障害を伴うギラン・バレー症候群患者数例においてGM1以外のガングリオシドに対する自己抗体を検出した。

ギラン・バレー症候群はしばしば感覚障害を伴うが、カンピロバクター腸炎後のギラン・バレー症候群は感覚障害を伴わないか、伴っても軽微である。われわれはこうした臨床的特徴に着目して、カンピロバクター感染後ギラン・バレー症候群患者2例の急性期においてIgG抗GM1抗体が上昇していることを見出した(6)。カンピロバクター腸炎のみでギラン・バレー症候群にならなかった患者では、抗GM1抗体は検出されなかった。カンピロバクター腸炎後ギラン・バレー症候群とIgG抗GM1抗体との関係は、他のグループにより追試・確認された(7-9)。

B-2. カンピロバクターのリポ多糖とGM1との糖鎖相同性

ウシ脳から抽出されたガングリオシドが、種々の神経疾患の治療薬として西欧、南米で広く使用されていた。ガングリオシド治療後に発症した筋萎縮性側索硬化症様の患者をわれわれが報告して以降(10)、ウシ脳ガングリオシド注射後に発症したギラン・バレー症候群患者の報告が相次いだ(11, 12)。こうした副作用症例の存在から逆に、ギラン・バレー症候群の先行感染の病原体がガングリオシド様構造を有することが示唆された。カンピロバクターはPennerの血清型別法によりさらに分けられるが、血清型はリポ多糖の糖鎖構造の違いを反映していると考えられている。Kurokiら(13)とわれわれは(14)、特定の血清型PEN 19型がギラン・バレー症候群患者から高頻度で分離されることに気づいた。そこで、PEN 19型リポ多糖がGM1エピトープを有するという作業仮説を立てた。

ギラン・バレー症候群患者から分離されたPEN 19型カンピロバクターから、温水・フェノール法によりリポ多糖を抽出した。薄層クロマトグラム免疫染色でGM1オリゴ糖を特異的に認識するコレラ毒素がリポ多糖画分に反応したことから、カンピロバクターのリポ多糖がGM1エピトープを有することが示唆された(15)。シリカビーズクロマトグラフィーを用いて、コレラ毒素が反応するリポ多糖画分を精製した。ガスクロマトグラフィー・質量分析により、精製リポ多糖がGM1ガングリオシドの糖鎖成分であるガラクトース(Gal)、*N*-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、*N*-アセチルノイラミン酸(NeuAc)を含んでいることが確認された。プロトン NMR により、オリゴ糖(Galβ1-3 GalNAcβ1-4 [NeuAcα2-3] Galβ)構造がリポ多糖のコアから伸びていることが明らかにされた。われわれは、リポ多糖の末端の構造(Galβ1-3 GalNAcβ1-4 [NeuAcα2-3] Galβ)がGM1の末端の4糖の構造と完全に一致していることを明らかにした(図1)(16)。この研究により、ギラン・バレー症候群患者から分離された病原体と神経とが糖鎖相同性を有することが明らかにされた。さらに、この発見により、ガングリオシド注射後の副作用の可能性が支持された。Wirguinら(17)は、IgM抗GM1モノクローナ

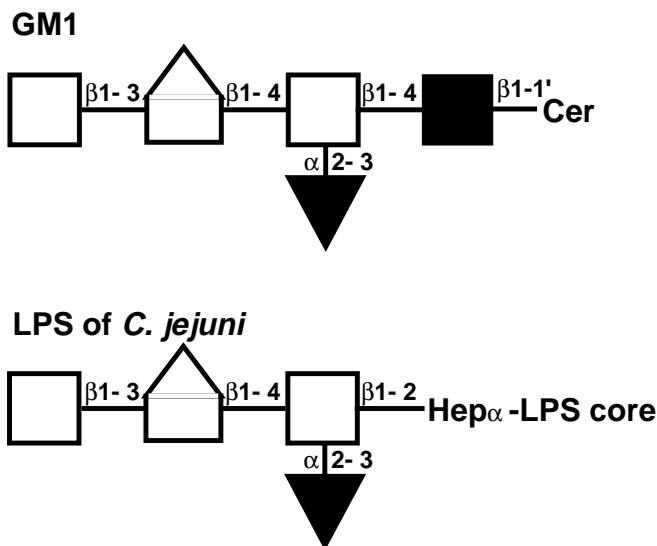


Fig. 1. Molecular mimicry between GM1 ganglioside and *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharide.
Terminal tetrasaccharide occupies the nonreducing end of GM1 and the lipopolysaccharide. Cer, ceramide; □, Galactose; △, *N*-acetylgalactosamine; ◻, Glucose; ◼, *N*-acetylneuraminic acid.

ministration. Wirguin *et al.* (17) reported that IgM anti-GM1 monoclonal antibody reacted with LPS of *C. jejuni*. Oomes *et al.* (18) showed that IgG anti-GM1 antibody was absorbed by *C. jejuni*.

Willison and Veitch (19) showed that the IgG subclass distribution of anti-GM1 antibodies is limited mainly to IgG1 and IgG3 in GBS. Because IgG antibodies to bacterial polysaccharide generally are restricted to the IgG2 subclass, they assumed that either the general rules for the immune response to LPS were broken in the GBS patients or an alternative antigen had yet to be identified. To clarify whether the LPS participates in the production of IgG anti-GM1 antibody, we investigated the subclasses of IgG antibody to the LPS that bears GM1-like structure (20). They were predominantly restricted to IgG1 and IgG3. Therefore, the GM1-like LPS may be an immunogen that functions in the production of IgG anti-GM1 antibody. Subclasses IgG1 and IgG3 are characteristic of a T-cell dependent antibody response, and helper T-cells may be associated with the production of IgG anti-GM1 antibody.

B-3. Association of PEN 19 *C. jejuni* with IgG Anti-GM1 Antibody

Aspinall *et al.* (21) reported that LPS from PEN 4 has GD1a-like structure, and that LPSs from PENs 1, 23, and 36 have GM2-like structures. They concluded that these differences in sugar sequences and linkage types are sufficient to account for the serological differences. In contrast, my colleagues and I (22) showed that monoclonal anti-GM1 and anti-GD1a antibodies reacted with PENs 1, 4, and 19 *C. jejuni* LPSs. We therefore proposed that Penner's serotyping system is not dependent

ル抗体がカンピロバクターのリポ多糖に結合することを報告した。Oomesら(18)は、IgG抗GM1抗体がカンピロバクター菌体で吸収されることを示した。

WillisonとVeitchは(19)、IgG抗GM1抗体のサブクラスが主としてIgG1とIgG3に限られていることを報告した。細菌の多糖類に対するIgGのサブクラスは一般的にIgG2に限られているので、リポ多糖への免疫応答の一般的原則が破綻したか、まだ見つかっていない別の免疫原が存在するか、のいずれかであると彼らは考えた。リポ多糖がIgG抗GM1抗体の産生に関与しているかどうかを明らかにするためにGM1様リポ多糖に対するIgG抗体のサブクラスを検討したところ、IgG1とIgG3に限られていた(20)。したがって、GM1様リポ多糖が免疫原としてIgG抗GM1抗体の産生に関与している可能性が示唆された。サブクラスIgG1とIgG3はT細胞依存性の免疫応答に特徴的なので、ヘルパーT細胞がIgG抗GM1抗体産生に関与しているのかもしれない。

B-3. PEN 19型カンピロバクターとIgG抗GM1抗体の相関

Aspinallら(21)は、PEN4型カンピロバクターのリポ多糖がGD1a様構造を、PEN1型、23型、36型カンピロバクターのリポ多糖がGM2様構造を有することを報告し、こうした糖鎖構造の違いが血清型を規定していると結論づけた。これに対してわれわれは、抗GM1、抗GD1aモノクローナル抗体がPEN1型、4型、19型カンピロバクターのリポ多糖に反応し、Pennerの血清型別法はリポ多糖のガングリオシド様構造の違いを反映しているわけではないことを示した(22)。その後Aspinallら(23)も、PEN4

on differences in the ganglioside-like oligosaccharide structures of the LPSs. Aspinall *et al.* (23) reached the same conclusion as they noted that the LPSs of PEN 4 and 19 have the same ganglioside-like structure and that there is structural variability among the low-molecular-weight LPSs from 3 PEN 19 strains.

Kuroki *et al.* (24) reported that 10 of 12 isolates (83%) from GBS patients belonged to PEN 19, while this serotype accounts for fewer than 2% of *C. jejuni* strains in Japan. The association of PEN 19 with GBS, however, had been controversial (1, 24). Therefore, my colleagues and I (25) serotyped *C. jejuni* isolates from GBS and enteritis patients: PEN 19 was more frequently isolated from the GBS patients (16/31 isolates, 52%) than from the enteritis patients (11/215 isolates, 5%) (25). Next, we investigated whether PEN 19 *C. jejuni* is associated with IgG anti-GM1 antibody. The frequency of IgG anti-GM1 antibody titers of 500 or more among GBS patients with PEN 19 *C. jejuni* was significantly higher than that among GBS and Miller Fisher syndrome patients with non-PEN 19 *C. jejuni*. The statistical association of PEN 19 with GBS exists (25). Aspinall *et al.* (26) reported that a hyaluronic acid-like repeat unit of LPS is an antigenic determinant of PEN 19. Glycosaminoglycans, including hyaluronic acid, may play an important role in the development of autoimmune diseases (27). I speculate that the hyaluronic acid-like structure helps the GM1-like LPS to induce the production of the IgG anti-GM1 antibody and the subsequent development of GBS.

B-4. Pathogenic Role for Anti-GM1 Antibodies

GM1 epitope is present at the neuromuscular junction (28) and the nodes of Ranvier (29). Immunization of rabbits with GM1 resulted in elevated serum anti-GM1 antibody titers and induced a neuropathy with conduction block and immunoglobulin deposits at the nodes of Ranvier (30). IgM anti-GM1-positive sera from patients with multifocal motor neuropathy induced block of conduction when injected, either with or without additional complement, intraneurally into rat sciatic or tibial nerve (31, 32). Partial conduction block was induced by anti-GM1 antibody-positive human and rabbit sera in an *in vitro* rat sciatic nerve preparation (33). Sera from patients with multifocal motor neuropathy and IgM anti-GM1 antibody blocked distal motor nerve conduction in mice (34). Rabbit anti-GM1 antibody alters the kinetics of K⁺ channels and suppresses voltage-sensitive Na⁺ currents, thereby interfering with the function of the Na⁺ channels at the nodes of Ranvier (35). In our co-culture system of rat motoneurons and human muscle cells, mouse IgM anti-GM1 MAb (GMB16) as well as human IgG anti-GM1 antibody rapidly suppressed spontaneous firing, end-plate potentials, and muscle contraction (36). Their rapid recovery when the anti-GM1 antibodies were removed is evidence that this antibody has the ability to inhibit motoneuron excitability without producing morphological changes.

型、19型カンピロバクターのリポ多糖が同じガングリオシド様構造を有し、3株のPEN 19型カンピロバクターの低分子量リポ多糖の構造がまちまちであったことから、われわれと同じ結論に達した。

Kuroki ら(24)は、本邦カンピロバクター腸炎患者からは2%も分離されないPEN 19型のカンピロバクターがギラン・バレー症候群患者から分離された12株中10株(83%)を占めていたことを報告した。しかしながら、PEN 19型カンピロバクターがギラン・バレー症候群と関係するかについては意見が分かれていた(1,24)。そこでわれわれも、ギラン・バレー症候群患者、腸炎患者から分離されたカンピロバクターの血清型別を行った(25)。PEN 19型のカンピロバクターは、ギラン・バレー症候群では31株中16株(52%)で分離され、腸炎では215株中11株で分離され、ギラン・バレー症候群で有意に高頻度で分離された。次に、PEN 19型のカンピロバクターがIgG抗GM1抗体と相関するかを検討した。PEN 19型のカンピロバクターが分離されたギラン・バレー症候群ではPEN 19型以外のカンピロバクターが分離されたギラン・バレー症候群とフィッシャー症候群に比べて、IgG抗GM1抗体の陽性率が有意に高いことが示された。PEN 19型はギラン・バレー症候群と統計学的に相関する(25)。Aspinall ら(26)は、ヒアルロン酸様の繰り返し構造を有するリポ多糖がPEN 19型の抗原決定基であると報告した。ヒアルロン酸を含むグリコサミノグリカンが、自己免疫疾患の発症に重要とする報告もある(27)。ヒアルロン酸様構造が存在するとGM1様リポ多糖によるIgG抗GM1抗体産生を促して、ギラン・バレー症候群発症に至るのかもしれない。

B-4. 抗GM1抗体の病的役割

GM1 エピトープは、神経・筋接合部やRanvier絞輪に発現している(28,29)。GM1をウサギに免疫することにより、血清抗GM1抗体価が上昇し、伝導ブロックを伴ったニューロパチーを生じ、Ranvier絞輪に免疫グロブリンが沈着した(30)。多巣性運動ニューロパチー患者の血清IgM抗GM1抗体をラットの坐骨神経、けい骨神経内に注入することにより、補体の有無に関わらず電気的伝導をブロックした(31,32)。ヒト、ウサギ血清抗GM1抗体により、ラット坐骨神経の部分的な伝導がブロックされた(33)。IgM抗GM1抗体活性を有する多巣性運動ニューロパチー患者血清により、マウスの神経・筋接合部の伝導がブロックされた(34)。ウサギ抗GM1抗体が、カリウムチャンネルの動態を変え、電位依存性ナトリウム電流を抑制し、Ranvier絞輪におけるナトリウムチャンネル機能を障害する(35)。ラット運動ニューロンとヒト筋細胞の共培養系に、マウス抗GM1モノクローナル抗体(GMB16)やヒトIgG抗GM1抗体を添加することにより、自然発火、終板電位、筋の自動収縮が抑制された(36)。自然発火、終板電位、筋の自動収縮は、抗GM1抗体を除去することにより速やかに回復した。このことは、抗GM1抗体が形態学的変化をきたさずに運動ニューロンの興奮性を障害できることを意味する。

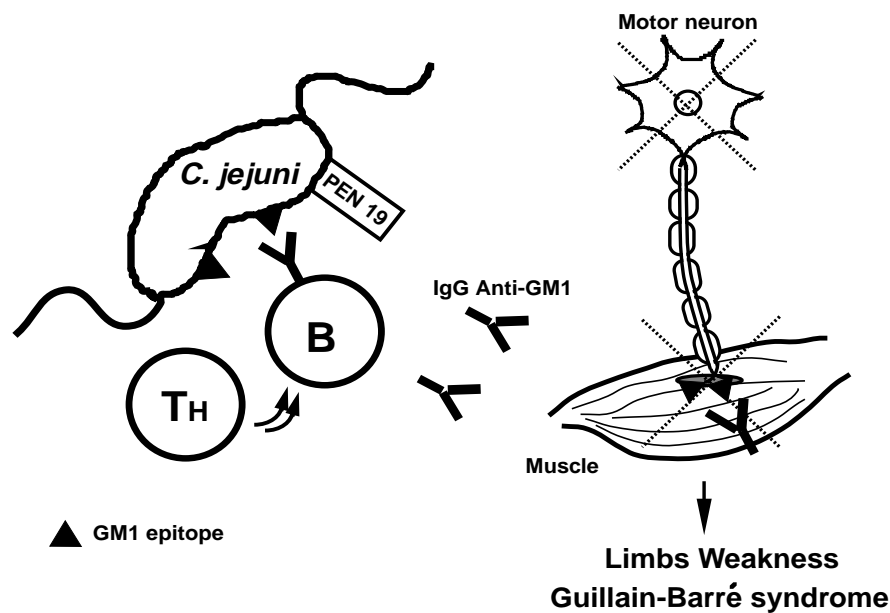


Fig. 2. Pathogenesis of Guillain-Barré syndrome associated with IgG anti-GM1 antibody subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. (1) Infection by *C. jejuni* that bears the GM1-like lipopolysaccharide associated with the serotypic determinant of PEN 19 (a hyaluronic acid-like repeat unit of lipopolysaccharide) induces high production of IgG anti-GM1 antibodies with help of T cells. (2) IgG anti-GM1 antibodies bind to motor nerve terminal axons, inhibits motoneuron excitability, and produces the development of muscular weakness.

B-5. Pathogenesis of GBS Associated with IgG Anti-GM1 Antibody

I speculate the pathogenesis of GBS associated with IgG anti-GM1 antibody after *C. jejuni* enteritis to be as follows (37): Infection by *C. jejuni* that bears a GM1-like LPS induces high production of IgG1 and IgG3 anti-GM1 antibodies with the help of T cells in patients who have a particular immunogenetic background (Fig. 2). IgG anti-GM1 antibody binds to the motor nerve terminal axons, inhibits motoneuron excitability, and produces muscular weakness. IgG1 and IgG3 are much more effective than the other two IgG subclasses for triggering effector functions. Binding of the IgG1 and IgG3 anti-GM1 antibodies readily causes degeneration of the motor axon from its terminals. In addition, the anti-GM1 antibody, which can bind at nodes of Ranvier, might produce failure of conduction.

B-6. Molecular Mimicry between *C. jejuni* LPSs and Minor Gangliosides (GalNAc-GD1a and GM1b)

Kusunoki *et al.* (38) suggested that *N*-acetylgalactosaminyl GD1a (GalNAc-GD1a) is a target molecule for serum antibody in some patients with GBS subsequent to *C. jejuni* enteritis. My colleagues and I confirmed this relationship. An absorption test indicated the presence of the GalNAc-GD1a epitope in *C. jejuni* LPS (39). We assume that *C. jejuni*, which bears the GalNAc-GD1a epitope, is also the immunogen and that these gangliosides are target molecules for the autoantibody in certain pa-

B-5. IgG 抗 GM1 抗体を伴うギラン・バレー症候群の発症機序
カンピロバクター腸炎後に IgG 抗 GM1 抗体を伴うギラン・バレー症候群の発症機序を次のように推測している(37)。GM1 様リポ多糖を有するカンピロバクターに感染し、特殊の免疫遺伝学的背景を有する患者において T 細胞のヘルプを受けて IgG1、IgG3 抗 GM1 抗体が産生される(図2)。IgG 抗 GM1 抗体は運動神経終末部の軸索に結合し、運動ニューロンの興奮性を障害し、筋力を低下させる。IgG1 と IgG3 は、他のふたつの IgG サブクラスよりもエフェクター機能に優れている。IgG1、IgG3 抗 GM1 抗体は、運動神経終末部の軸索を容易に変性させる。それに加えて、抗 GM1 抗体は Ranvier 絞輪に結合して伝導障害を惹起するのであろう。

B-6. カンピロバクターのリポ多糖と微量ガングリオシド (GalNAc-GD1a と GM1b) の糖鎖相同性

Kusunoki ら(38)は GalNAc-GD1a もカンピロバクター腸炎後ギラン・バレー症候群患者血清中に含まれる抗体の標的分子となりうることを示し、われわれも追試・確認した。さらに、吸収試験によりカンピロバクターリポ多糖が GalNAc-GD1a エピトープを有することも示した(39)。GalNAc-GD1a エピトープを有するカンピロバクターは免疫原として働き、GalNAc-GD1a はギラン・バレー症候群患者の自己抗体の標的分子となっているのであろう。

tients with GBS.

Some patients have developed GBS after being administered the GM1 fraction isolated from bovine brain (40). Hirabayashi *et al.* (41) purified a minor ganglioside GM1b from the bovine brain GM1 fraction. Kusunoki *et al.* (42) proposed GM1b to be a new antigen for serum antibody in GBS. My colleagues and I showed that anti-GM1b IgG antibody is associated with GBS after *C. jejuni* enteritis (43). To evaluate the hypothesis that GM1b is an immunogen, we determined whether the GM1b epitope was present in *C. jejuni* isolated from a patient with GBS associated with anti-GM1b antibody. Immunostaining with anti-GM1b MAb NA-6 indicated that the LPS of the *C. jejuni* strain does have the GM1b epitope. We speculate that an injection of bovine GM1 fraction that contains GM1b, as well as infection by an agent that bears the GM1b epitope, induces production of the anti-GM1b antibody which functions in the development of GBS in some patients.

C. Miller Fisher Syndrome

Miller Fisher syndrome is characterized by the acute onset of ophthalmoplegia, ataxia, and areflexia. It is considered a variant of GBS because some patients who present with Miller Fisher syndrome then progress to GBS. This suggests that an autoimmune mechanism similar to that of GBS is involved in the pathogenesis of Miller Fisher syndrome. Chiba *et al.* (44) found that Miller Fisher syndrome is associated with IgG anti-GQ1b antibody, which Willison *et al.* and my colleagues and I later confirmed (45, 46). Chiba *et al.* (47) then showed that anti-GQ1b monoclonal antibody strongly stains the paranodal regions of the extramedullary portion of the oculomotor, trochlear, and abducens nerves, and weakly stains the deep cerebellar nuclei.

Some patients develop Miller Fisher syndrome subsequent to *C. jejuni* infection (48). My colleagues and I isolated 2 *C. jejuni* strains from patients who had anti-GQ1b antibody in the acute phase of Miller Fisher syndrome (49). To clarify the pathogenesis of Miller Fisher syndrome and to test the molecular mimicry hypothesis, we investigated whether the GQ1b epitope is present in *C. jejuni* LPSs. Anti-GQ1b monoclonal antibodies (GMR13 and 7F5) reacted with both LPS fractions, indicating that the LPSs extracted from *C. jejuni* bear the GQ1b epitope (50). This was the first report of molecular mimicry between GQ1b and an antecedent infectious agent of Miller Fisher syndrome. Jacobs *et al.* (51) reported that IgG anti-GQ1b antibody recognized surface epitope on *C. jejuni* from patients with Miller Fisher syndrome. The subclasses of IgG antibodies to the GQ1b-like LPS were restricted to IgG1 and IgG3 in Miller Fisher syndrome patients, as were the antibodies to GM1-like LPS in GBS patients (20). My colleagues and I showed that 5 out of 7 isolates from patients with Miller Fisher syndrome patients belonged to PEN 2 (25); moreover, PEN 2 *C. jejuni* was isolated from 2 GBS patients, both of whom initially had pre-

ウシ脳から単離された GM1 画分を注射された後にギラン・バレー症候群患者が発生した(40)。Hirabayashi ら(41)は、ウシ脳 GM1 画分から微量ガングリオシド GM1b を精製した。Kusunoki ら(42)は、GM1b がギラン・バレー症候群患者血清の標的分子であることを見出した。われわれは、IgG 抗 GM1b 抗体もカンピロバクター腸炎後ギラン・バレー症候群と関係があることを示した(43)。GM1b が免疫原であるという仮説を検定するために、抗 GM1b 抗体を有するギラン・バレー症候群患者から分離されたカンピロバクターが GM1b エピトープを有するか、検討した。抗 GM1b モノクローナル抗体 NA6 を用いた免疫染色により、カンピロバクターのリポ多糖が GM1b エピトープを有することが示された。GM1b を含むウシ脳 GM1 画分や GM1b エピトープを有する病原体に感染し、抗 GM1b 抗体が産生され、ギラン・バレー症候群発症に至る場合もあろう。

C. フィッシャー症候群

フィッシャー症候群は、急性に発症する眼筋麻痺、運動失調、腱反射消失を特徴とする。フィッシャー症候群として発症してギラン・バレー症候群に進展する例も存在することから、ギラン・バレー症候群の亜型と考えられている。フィッシャー症候群の発症にもギラン・バレー症候群と同様の自己免疫的機序が想定される。Chiba ら(44)は、フィッシャー症候群と IgG 抗 GQ1b 抗体との相関を発見し、Willison ら(45)とわれわれ(46)により追試・確認された。Chiba ら(47)はさらに、抗 GQ1b モノクローナル抗体が動眼・滑車・外転神経の髄外部の Ranvier 絞輪近傍を強く染色し、深部小脳核を弱く染色することを示した。

カンピロバクター腸炎後に発症するフィッシャー症候群患者も存在する(48)。われわれは、急性期に抗 GQ1b 抗体を有したフィッシャー症候群患者2例からカンピロバクターを分離した(49)。フィッシャー症候群の発症機序解明と糖鎖相同性仮説検証のために、カンピロバクターのリポ多糖が GQ1b エピトープを有するか、検討を加えた。抗 GQ1b モノクローナル抗体(GMR13, 7F5)はリポ多糖に反応し、カンピロバクターから抽出したリポ多糖が GQ1b エピトープを有することが示された(50)。これは、フィッシャー症候群の先行感染の病原体と GQ1b との糖鎖相同性に関する最初の報告である。Jacobs ら(51)は、フィッシャー症候群から分離されたカンピロバクターの菌体表面に IgG 抗 GQ1b 抗体が認識するエピトープが存在することを報告した。フィッシャー症候群において、GQ1b 様リポ多糖に対する IgG 抗体のサブクラスは IgG1 と IgG3 に限局しており、ギラン・バレー症候群における GM1 様リポ多糖に対するサブクラスと同様であった(20)。われわれはフィッシャー症候群から7株のカンピロバクターを分離し、うち5株が PEN 2 型であった(25)。ギラン・バレー症候群患者からも2株カンピロバクターが分離されたが、2例とも病初期にはフィッシャー症候群の病像を呈していた。

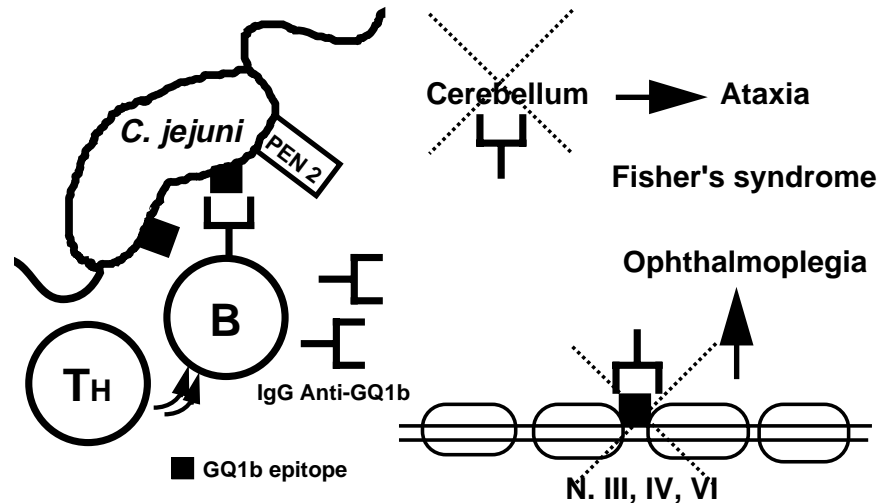


Fig.3. Pathogenesis of Miller Fisher syndrome associated with IgG anti-GQ1b antibody subsequent to *Campylobacter jejuni* enteritis. (1) Infection by *C. jejuni* that bear GQ1b-like lipopolysaccharide associated with the serotypic determinant of PEN 2 induces high production of IgG anti-GQ1b antibodies with the help of T cells. (2) IgG anti-GQ1b antibodies bind to the oculomotor, trochlear, and abducens nerves, and to deep cerebellar nuclei causing external ophthalmoplegia and cerebellar ataxia.

sented as having Miller Fisher syndrome. The frequency of IgG anti-GQ1b antibody in PEN 2-isolated GBS and Miller Fisher syndrome was significantly higher than that in non-PEN 2-isolated GBS and Miller Fisher syndrome. The serotypic determinant of PEN 2 may help the GQ1b-like LPS to produce the IgG anti-GQ1b antibody.

I speculate that infection by *C. jejuni* that bears GQ1b-like LPS associated with the serotypic determinant induces excessive production of IgG anti-GQ1b antibody with the help of T cells; moreover, that this autoantibody binds to the oculomotor, trochlear, and abducens nerves, and to the deep cerebellar nuclei causing external ophthalmoplegia and cerebellar ataxia in patients with Miller Fisher syndrome (Fig. 3) (37)

D. Conclusion

Molecular mimicry between *C. jejuni* LPSs and gangliosides was shown in GBS and its variant Miller Fisher syndrome. Li *et al.* (52) reported that numerous chickens infected with a PEN 19 *C. jejuni* isolate from a GBS patient developed paralysis, and that in their nerves Wallerian-like degeneration similar to seen in the human form of GBS subsequent to *C. jejuni* infection (53). My colleagues and I are trying to make the animal model by sensitization with the GM1-like LPS.

References

1. Rees, J.H., Soudain, S.E., Gregson, N.A., and Hughes, R.A.C. (1995) *N. Engl. J. Med.* **333**, 1374–1379
2. Freddo, L., Yu, R.K., Latov, N., Donofrio, P.D., Hays, A.P., Greenberg, H.S., Albers, J.W., Alessi, A.G., and Keren, D. (1986) *Neurology* **36**, 454–458
3. Pestronk, A., Cornblath, D.R., Ilyas, A.A., Baba, H., Quarles, R.H., Griffin, J.W., Alderson, K., and Adams, R.N. (1988) *Ann. Neurol.* **24**, 73–

ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群における IgG 抗 GQ1b 抗体の頻度は、PEN 2 型が分離された場合の方が 2 型以外が分離された場合より高かった。

PEN 2 型の抗原決定基と GQ1b 様リポ多糖を有するカンピロバクターに感染し、T 細胞のヘルプを受けて IgG 抗 GQ1b 抗体が産生され、IgG 抗 GQ1b 抗体が動眼・滑車・外転神経と深部小脳核に結合し、外眼筋麻痺と小脳性運動失調を呈するのであろう。

D. 結論

ギラン・バレー症候群とフィッシャー症候群におけるカンピロバクターのリポ多糖とガングリオシドとの糖鎖相同性が明らかにされた。Liら(52)はギラン・バレー症候群から分離された PEN 19 型カンピロバクターをニワトリに経口摂取させ、運動麻痺が生じた。神経は Waller 様変性を呈し、カンピロバクター腸炎後ギラン・バレー症候群に類似する組織像(53)が得られた。われわれは現在、GM1 様リポ多糖を感作することによる動物モデルを樹立すべく研究を進めている。

4. Ilyas, A.A., Willison, H.J., Quarles, R.H., Jungalwala, F.B., Cornblath, D.R., Trapp, B.D., Griffin, D.E., Griffin, J.W., and McKhann GM. (1988) *Ann. Neurol.* **23**, 440–447
5. Inuzuka, T., Miyatani, N., Baba, H., Tanaka, M., Tanaka, K., Sato, S., Nakamura, K., and Miyatake, T. (1988) *Acta Neurol. Scand.* **78**, 53–57
6. Yuki, N., Yoshino, H., Sato, S., and Miyatake, T. (1990) *Neurology* **40**, 1900–1902
7. Kornberg, A.J., Pestronk, A., Bieser, K., Ho, T.W., McKhann, G.M., Wu, H.S., and Jiang, Z. (1994) *Ann. Neurol.* **35**, 234–237
8. Rees, J.H., Gregson, N.A., and Hughes, R.A.C. (1995) *Ann. Neurol.* **38**, 809–816
9. Visser, L.H., van der Meché, F.G.A., van Doorn, P.A., Meulstee, J., Jacobs, B.C., Oomes, P.G., Kleyweg, R.P., and the Dutch Guillain-Barré Study Group. (1995) *Brain* **118**, 841–847
10. Yuki, N., Sato, S., Miyatake, T., Sugiyama, K., Katagiri, T., and Sasaki, H. (1991) *Lancet* **337**, 1109–1110
11. Latov, N., Koski, C.L., and Walicke, P.A. (1991) *Lancet* **338**, 757
12. Schönhöfer, P.S. (1991) *Lancet* **338**, 757
13. Kuroki, S., Haruta, T., Yoshioka, M., Kobayashi, Y., Nukina, M., and Nakanishi, H. (1991) *Pediatr. Infect. Dis.* **10**, 149–151
14. Yuki, N., Sato, S., Fujimoto, S., Yamada, S., Tsujino, Y., Kinoshita, A., and Itoh, T. (1992) *Muscle Nerve* **15**, 968–969
15. Yuki, N., Handa, S., Taki, T., Kasama, T., Takahashi, M., Saito, K., and Miyatake T. (1992) *Biomed. Res.* **13**, 451–453
16. Yuki, N., Taki, T., Inagaki, F., Kasama, T., Takahashi, M., Saito, K., Handa, S., and Miyatake, T. (1993) *J. Exp. Med.* **178**, 1771–1775
17. Wirguin, I., Suturkova-Milosevic, L., Della-Latta, P., Fisher, T., Brown, R.H.Jr., and Latov, N. (1994) *Ann. Neurol.* **35**, 698–703
18. Oomes, P.G., Jacobs, B.C., Hazenberg, M.P.H., Bänffer, J.R.J., and van der Meché, F.G.A. (1995) *Ann. Neurol.* **38**, 170–175
19. Willison, H.J., and Veitch, J. (1994) *J. Neuroimmunol.* **50**, 159–165
20. Yuki, N., Ichihashi, Y., and Taki, T. (1995) *J. Neuroimmunol.* **60**, 161–164
21. Aspinall, G.O., McDonald, A.G., Raju, T.S., Pang, H., Moran, A.P., and Penner, J.L. (1993) *Eur. J. Biochem.* **213**, 1017–1027
22. Yuki, N., Taki, T., Takahashi, M., Saito, K., Tai, T., Miyatake, T., and Handa, S. (1994) *Infect. Immun.* **62**, 2101–2103
23. Aspinall, G.O., McDonald, A.G., Pang, H., Kurjanczyk, L.A., and Penner J.L. (1994) *Biochemistry* **33**, 241–249
24. Kuroki, S., Saida, T., Nukina, M., Haruta, T., Yoshioka, M., Kobayashi, Y., and Nakanishi, H. (1993) *Ann. Neurol.* **33**, 243–247
25. Yuki, N., Takahashi, M., Tagawa, Y., Kashiwase, K., Tadokoro, K., and Saito, K. (1997) *Ann. Neurol.* **42**, 28–33
26. Aspinall, G.O., McDonald, A.G., and Pang, H. (1994) *Biochemistry* **33**, 250–255
27. Hansen, C., Otto, E., Kuhlemann, K., Forster, G., and Kahaly, G.J. (1996) *Clin. Exp. Rheumatol.* **14**(Suppl 15): S59–S67
28. Schluep, M., and Steck, A.J. (1988) *Neurology* **38**, 1890–1892
29. Corbo, M., Quattrini, A., Latov, N., and Hays, A. (1993) *Neurology* **43**, 809–814
30. Thomas, F.P., Trojaborg, W., Nagy, C., Santoro, M., Sadiq, S.A., Latov, N., and Hays, A.P. (1991) *Acta Neuropathol.* **82**, 378–383
31. Santoro, M., Uncini, A., Corbo, M., Staugaitis, S.M., Thomas, F.P., Hays, A.P., and Latov, N. (1992) *Ann. Neurol.* **31**, 385–390
32. Uncini, A., Santoro, M., Corbo, M., Lugaresi, A., and Latov, N. (1993) *Muscle Nerve* **16**, 610–615
33. Arasaki, K., Kusunoki, S., Kudo, N., and Kanazawa, I. (1993) *Muscle Nerve* **16**, 587–593
34. Roberts, M., Willison, H.J., Vincent, A., and Newsom-Davis, J. (1995) *Ann. Neurol.* **37**, 436–442
35. Takigawa, T., Yasuda, H., Kikkawa, R., Shigeta, Y., Saida, T., and Kitasato, H. (1995) *Ann. Neurol.* **37**, 436–442
36. Kobayashi, T., Michikawa, M., Park-Matsumoto, Y.C., Kameda, N., Yuki, N., and Miyatake, T. (1993) *Can. J. Neurol. Sci.* **20**(Suppl. 4): S134
37. Yuki, N. (1998) *J. Periph. Nerv. Syst.* **3**, 3–18
38. Kusunoki, S., Chiba, A., Kon, K., Ando, S., Arisawa, K., Tate, A., and Kanazawa, I. (1994) *Ann. Neurol.* **35**, 570–576
39. Yuki, N., Taki, T., and Handa, S. (1996) *J. Neuroimmunol.* **71**, 155–161
40. Landi, G., D'Alessandro, R., Dossi, B.C., Ricci, S., Simone, I.L., and Ciccone, A. (1993) *Br. Med. J.* **307**, 1463–1464
41. Hirabayashi, Y., Hyogo, A., Nakao, T., Tsuchiya, K., Suzuki, Y., Matsumoto, M., Kon, K., and Ando, S. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 8144–8151
42. Kusunoki, S., Iwamori, M., Chiba, A., Hitoshi, S., Arita, M., and Kanazawa, I. (1996) *Neurology* **47**, 237–242
43. Yuki, N., Tagawa, Y., Irie, F., Hirabayashi, Y., and Handa, S. (1997) *J. Neuroimmunol.* **74**, 30–34
44. Chiba, A., Kusunoki, S., Shimizu, T., and Kanazawa, I. (1992) *Ann. Neurol.* **31**, 677–679
45. Willison, H.J., Veitch, J., Paterson, G., and Kennedy, P.G.E. (1993) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **56**, 204–206
46. Yuki, N., Sato, S., Tsuji, S., Ohsawa, T., and Miyatake, T. (1993) *Neurology* **43**, 414–417
47. Chiba, A., Kusunoki, S., Obata, H., Machinami, R., and Kanazawa, I. (1993) *Neurology* **43**, 1911–1917
48. Takano, H., and Yuki, N. (1995) *J. Neurol.* **242**, 255–256
49. Yuki, N., Ichikawa, H., and Doi, A. (1995) *J. Pediatr.* **126**, 55–57
50. Yuki, N., Taki, T., Takahashi, M., Saito, K., Yoshino, H., Tai, T., Handa, S., and Miyatake, T. (1994) *Ann. Neurol.* **36**, 791–793
51. Jacobs, B.C., Endtz, H.Ph., van der Meché, F.G.A., Hazenberg, M.P., Achtereekte, H.A.M., and van Doorn, P.A. (1995) *Ann. Neurol.* **37**, 260–264
52. Li, C.Y., Tian W.Q., Liu, R.C., and Yang, C. (1996) *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **61**, 279–284
53. Griffin, J.W., Li, C.Y., Ho, T.W., Tian, M., Gao, C.Y., Xue, P., Mishu, B., Cornblath, D.R., Macko, C., McKhann, G.M., and Asbury, A.K. (1996) *Ann. Neurol.* **39**, 17–28

Received on March 29, 1999, accepted on April 25, 1999

Profile of the Author



Nobuhiro Yuki was born in 1962 and graduated from the School of Medicine, Niigata University in 1987. He received his Ph.D. about the pathogenesis of Guillain-Barré syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis in 1993. Now he is assistant professor of neurology at Dokkyo University School of Medicine in Tochigi, Japan.

Since seeing a patient with Guillain-Barré syndrome subsequent to *C. jejuni* enteritis in 1989, he has been studying the pathogenesis and the pathogenic significance of anti-ganglioside antibodies in other neurological disorders. He found IgG anti-GM1 antibody in sera from those patients during the acute phase of the illness, and the molecular mimicry between GM1 and lipopolysaccharide of *C. jejuni* isolated from those patients. Currently, he is trying to establish an animal model of Guillain-Barré syndrome following *C. jejuni* infection. His final goal is to develop better treatments for Guillain-Barré syndrome.