

亜急性小脳変性症における血中抗神経組織抗体の検討

新潟大学脳研究所神経内科学教室（主任：宮武 正教授）

田 中 恵 子

Antibodies to Brain Proteins in Paraneoplastic Cerebellar Degeneration

Keiko TANAKA

*Department of Neurology, Brain Research Institute, Niigata
University (Director: Prof. Tadashi MIYATAKE)*

This is a report of two patients with subacute cerebellar degeneration associated with cancer whose sera showed antibody activities against nervous tissue elements. Using an immuno-blotting method, the serum of a 68-year-old man with subacute cerebellar degeneration and malignant lymphoma reacted with rat cerebral 250-kd and 110-kd and cerebellar 110-kd acidic cytoplasmic proteins. The serum IgG of the second patient, a 50-year-old woman, who had subacute cerebellar degeneration, Lambert-Eaton myasthenic syndrome and small cell cancer of the lung showed antibody activities to rat cerebral and cerebellar 98-kd neutral cytoplasmic protein and 68-kd membrane protein. These sera did not react with the proteins prepared from human and rat brain obtained several hours after death, which indicated that these antigen proteins were easily degraded and needed to be prepared quickly after death with protease inhibitors.

These patients' sera did not react with proteins prepared from rat liver, kidney, spleen, heart muscle and diaphragm and the antigen proteins reacted with these sera might be brain specific. Control sera did not react with any of the brain proteins. The serum of each patients recognized different antigens. Other reported antigens in the literature are also different which indicates those proteins reacting with serum antibody are variable individually among patients with subacute cerebellar degeneration.

Key words: subacute cerebellar degeneration, Lambert-Eaton myasthenic syndrome, serum antibody, brain proteins, immunoblotting
亜急性小脳変性症, 血中抗神経組織抗体.

Reprint requests to: Keiko Tanaka, Department
of Neurology, Brain Research Institute, Niigata
University, Niigata, 951 JAPAN

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所神経内科

田中 恵子

はじめに

悪性腫瘍の患者に脳脊髄炎、亜急性小脳変性症、多発性神経炎、筋炎、運動ニューロン疾患あるいは視神経炎などの神経障害を伴うことがあり、paraneoplastic syndrome と総称されている¹⁾。これらは腫瘍の直接浸潤によるものではないことから腫瘍の remote effect と言われ、その病因として栄養障害説、代謝異常説、中毒説、免疫説など様々な推察がなされてきた。近年これらの paraneoplastic syndrome の患者血清中に、神経組織に反応する抗体活性を認めたとの報告がなされ、また血漿交換療法を行なうことにより神経症状の改善する例があるなど、本症の神経症状の発現に免疫学的機序の関与が強く示唆されている。著者は2例の亜急性小脳変性症の患者について、血清中の抗神経組織抗体の検討を行なったので報告する。

症 例

症例1 68歳の男性で、昭和46年4月胃癌のため胃全摘術を受けた後は著変がなかった。昭和56年9月より全身倦怠感、同10月より動揺視、同11月には不安定歩行となり2週間の間に歩行困難となった。同11月30日当科に入院したが、一般身体所見に異常は認めず、神経学的に両眼の外転制限と側方視時の nystagmus、四肢および体幹の小脳性失調、下肢深部腱反射の亢進を認めた。

検査成績では、一般血液、尿、生化学的検査で異常所見はなかったが、髄液中の蛋白が 86mg/dl、IgG が 20.5mg/dl と増加していた。胸部レ線、胃透視は異常がなかった。頭部 CT では、脳幹、小脳が萎縮していた。Prednisolone を投与したが、神経症状は徐々に進行した。昭和57年3月、後腹膜腫瘍が発見され鼠蹊部でリンパ節の腫大が認められ、リンパ節生検により悪性リンパ腫 (non-Hodgkin, diffuse, large cell type) の診断が下された。腫瘍は徐々に拡大し、同11月8日死亡した。剖検にて亜急性小脳変性症であることが確認された。

症例2 倉橋ら²⁾の報告した例で、50歳の女性である。昭和57年9月より四肢の脱力感、ふらつき歩行、言葉のもつれなどが出現し、58年2月には独歩不能となった。神経学的に小脳性失調症、著明な易疲労性を認め、電気生理学的に Lambert-Eaton myasthenic syndrome (LEMS) と診断された。血漿交換療法により小脳症状がわずかに改善したものの独歩不能のまま経過し、同年9月肺小細胞癌が発見された。

方 法

1. 神経組織抗原の作成

Lewis rat をエーテルにて浅麻酔し、断頭後直ちに大脳および小脳をとり出し、2倍容の 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM phenyl methyl sulfonyl fluoride, 1 mM iodo acetoamide および leupeptin, pepstatin をそれぞれ 10 μg/ml 加えた氷冷リン酸緩衝液 (pH 7.4) (PBS) の中でホモジェナイズした。次いで 100,000 × g で 60 分間遠心し上清 (細胞質分画) と沈渣 (膜成分含有分画) とに分け、後者はホモジェナイズと遠心を2度繰り返した後、SDS sample buffer (10% glycerol, 5% β-mercaptoethanol, 2.3% SDS, 0.0625 M Tris-HCl pH 6.8)³⁾ に溶解させ、90°C 5 分間加熱しさらに 2 分間 sonication を行なった。各分画につき 7.5% SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動および二次元電気泳動を行なった。二次元電気泳動は O' Farrell ら⁴⁾ の方法に従ったが、等電点泳動ゲルの ampholine 組成は pH 2.5~4 を 0.2%, pH 3.5~10 を 1.6%, pH 9~11 を 0.6% とし、ゲルの直径は 3.5mm、長さは 60mm とした。二次元目には、一次元目に同時に泳動したゲル2本を1枚の SDS ゲルプレートにのせて泳動した。電気泳動後のゲルは、Towbin ら⁵⁾ の方法に従ってニトロセルロース紙に電気的に転写した (プロット)。SDS ゲル電気泳動後プロットしたものは、それぞれの抗原につき1レーンずつアミドブラックで染色し、他は免疫染色に用いた。二次元電気泳動後プロットしたものは2本の等電点泳動ゲルの一方はアミドブラック染色、他方は免疫染色を行ない、反応したスポットを蛋白泳動図上のスポットと対応させた。

ヒトの脳は死亡後6時間でもとり出された、非中枢神経疾患剖検例を用いた。死後変化を検討する目的で、屠殺後6時間放置し採取した rat 脳も同様に処理した。また、断頭直後の rat から取り出した肝、腎、脾、心筋、横隔膜も抗原として用いた。

抗原蛋白の神経組織内局在を検討するため、rat の脳は採取後直ちにドライアイス・イソペンタン中で凍結し、クリオスタットにて連続切片を切り出し、一部はヘマトキシリン・エオジン染色を行ない、他は -30°C 真空吸引下で凍結乾燥切片とした。凍結乾燥切片は真空下で室温に戻した後、実体顕微鏡下で染色標本と対応させながら目的とする組織部分を切り分け、SDS sample buffer に溶解させ加熱、sonication 後電気泳動に供した^{6) 7) 8)}。

抗原が糖蛋白である可能性を考え、その活性部位が糖鎖かペプチド部分かを検討するために、rat 脳の細胞質分画と脱脂後の膜分画とを Edge ら⁹⁾の方法に従って deglycosylation を行なった。すなわち anisole 250 μ l と trifluoromethanesulfonic acid 500 μ l を混合し、0°C に冷却した後、同混液 250 μ l に 1yo-philize した各分画の蛋白質を 1mg 溶解し、30秒間窒素ガスを通した後 0°C で3時間攪拌した。反応液は倍量のジエチルエーテルで希釈し-40°C に冷却後、等量の50%ピリジン溶液を加えエーテル層を分取した。エーテル抽出は2回繰り返し、抽出液は 2mM ピリジン酢酸緩衝液 (pH 5.5) に透析した後、電気泳動を行なった。

2. 免疫染色

ブロット後のニトロセルロース紙は、150mM NaCl と 3% bovine serum albumin を加えた 10mM

Tris-HCl (pH 7.4) (TBSA) 中で、室温、一夜振とうした後、一次抗体として患者および対照血清を 10% decomplemented goat serum を含む TBSA で 100 倍から 1000 倍に希釈し、37°C で 3 時間反応させた。患者の髄液は原液のまま同様に反応させた。対照として、健康人 6 名、晩発性小脳萎縮症 2 例、オリブ、橋、小脳萎縮症 6 例、神経症状のない悪性リンパ腫 1 例、重症筋無力症 5 例、パーキンソン病などの他の神経疾患 8 例の血清を用いた。二次抗体は 125 I をラベルした抗ヒト IgG および IgM, IgF(ab')₂ を 1 μ Ci/ml の濃度で 37°C、2 時間反応させた。 125 I のラベルは Iodo-gen (1, 3, 4, 6-Tetrachloro-3 α , 6 α -diphenylglycoluril) を 10 分の 1 含むクロロフォルム溶液をエバポレートした後、Iodo-gen とその 20 倍量の抗ヒト IgG (goat) (TAGO, Inc., Burlingame, CA, USA), または抗ヒト IgM goat F(ab')₂ (TAGO) および 200 μ Ci

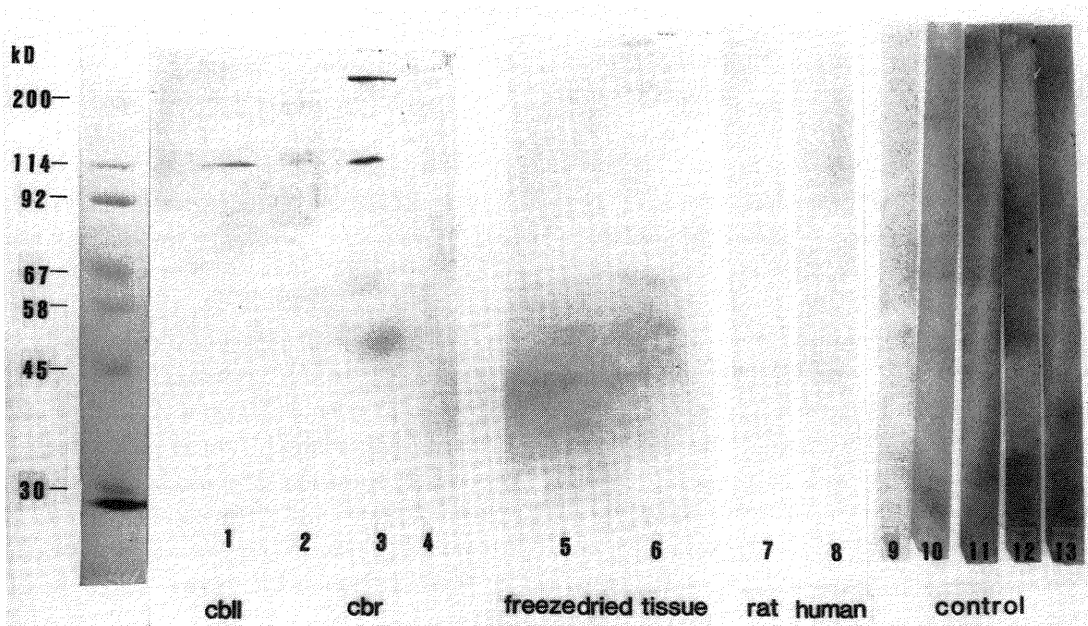


Fig. 1 Immunostaining of brain proteins (autoradiograph).

Lanes 1 to 8 were incubated with the serum of the first patient. Blotted proteins are as follows: lanes 1 and 3, soluble cytoplasmic proteins of rat cerebellum and cerebrum, respectively; lanes 2 and 4, cytoskeletons and membrane-containing fraction of rat cerebellum and cerebrum, respectively; lanes 5 and 6, dissolved freeze-dried tissue of rat cerebellar cortex containing Purkinje cells and the other part, respectively; and lanes 7 and 8, soluble cytoplasmic proteins of rat and human cerebellum, respectively, obtained several hours after death. The patient serum reacted only with the 110kd band of cerebellar (lane 1) and 250kd and 110kd bands of cerebral (lane 3) soluble cytoplasmic proteins prepared quickly with protease inhibitors. Lanes 9 to 13 show that the control sera from five normal adults did not react with the blotted cerebellar cytoplasmic proteins of rat.

の ^{125}I を加え、 4°C で20分間穏やかに攪拌した混液を用いた¹⁰⁾。

各抗体との反応後ニトロセルロース紙は TBS で激しく振とうし、15分毎に計6回洗った。洗浄後のニトロセルロース紙は乾燥させ、LKB Ultrafilm ^3H に密着させて -80°C に48時間静置した後現像した。

結 果

症例1の血清は rat の大脳および小脳細胞質分画の110kd と大脳細胞質分画の250kd のバンドに反応した。膜分画の蛋白質とは反応せず、ヒト脳および死後6時間で処理した rat 脳も染色されなかった。凍結乾燥切片から切り出した小脳 Purkinje 細胞を含む部分、またその他の部分との反応もみられなかった(図1)。二次元電気泳動後プロットしたものの免疫染色では110kd は酸性の等電点を示した。アミドブラックで染色した蛋白泳動図と対応させてみると、110kd 酸性スポットに対応するものは含量の少ない minor な蛋白質と思われた(図2)。

症例2の血清 IgG は rat の大脳および小脳の細胞

質分画に存在する 98kd および膜分画の 68kd のバンドと反応した。症例1と同様、死後数時間を経て調整されたヒト脳および rat 脳とは反応が見られなかった。また rat の肝、腎、脾、心筋、横隔膜とも反応するバンドは得られなかった。deglycosylation 後のペプチド部分を電気泳動したものとの反応も見られなかった(図3)。二次元電気泳動のプロットでは、98kd は中性の、68kd はやや塩基性の等電点を呈していた(図4)。一次抗体に髄液を用いた検討では、rat 脳の細胞質および膜分画のプロットに反応するバンドは認められなかった。また、対照血清はいずれも rat の大脳、小脳の蛋白質とは反応しなかった。

考 察

paraneoplastic syndrome の患者血清中に神経組織に対する抗体活性を認めたとの報告がなされている。免疫組織化学的手法で示されているものとしては、Wilkinson ら¹¹⁾ の肺癌に sensory polyneuropathy を伴った例で、大脳、小脳、脊髄の神経細胞の細胞質が広範に染色されたという報告がある。また、Trotter

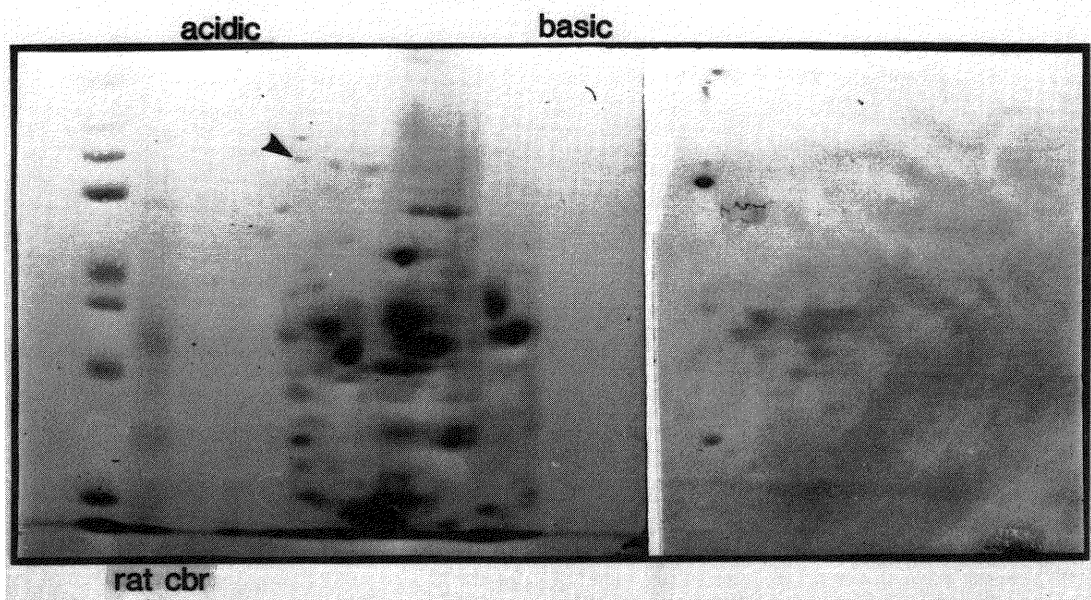


Fig. 2 Immunostaining of brain proteins blotted after two-dimensional gel electrophoresis.

These 2D blots were stained with amido black (left) and with patient serum developed autoradiographically (right). Arrowhead indicates the counterpart of the spot reacted with the patient serum. Blotted proteins were soluble cytoplasmic fraction of rat cerebrum. The one hundred ten-kd acidic spot was clearly stained with the patient serum.

ら¹²⁾, Greenlee ら¹³⁾, Jaeckle ら¹⁴⁾ はそれぞれホジキン病, 卵巣癌, 乳癌などに小脳性失調症を伴った例で小脳の Purkinje 細胞の胞体が, また Graus ら¹⁵⁾ は肺癌に sensory polyneuropathy を伴った例で神経細胞の核が染色されたと報告している. Immuno-blotting 法で示しているのは (表1), Grunwald ら¹⁶⁾ の報告で, 肺癌に視神経炎を伴った2例で腫瘍細胞と網膜の神経細胞の両者で同じバンドが染色されたことから, paraneoplastic syndrome の血中抗体は腫瘍と神経組織との共通抗原であろうと推定している. 亜急性小脳変性症を呈した例としては, Brown ら¹⁷⁾ の肺癌に伴った例で大脳・小脳・脊髄に広汎に存在する 85kd のバンドが, Cunningham ら¹⁸⁾ の乳癌, 卵巣癌に伴った7例で単離 Purkinje 細胞の細胞質に存在すると 62 と 64kd および 34 と 38kd のバンドが染色

されたとの報告がある. 著者の2例でも染色されたバンドはこれらの報告例と異なっており, 本症で出現する抗神経組織抗体が認識する抗原は一樣ではない. Cunningham ら¹⁸⁾ は同様に行なった検討で, 同じ亜急性小脳変性症の病像をとりながら肺癌や悪性リンパ腫例では抗 Purkinje 細胞抗体は認めなかったことを示しており, 本症で出現する抗体は腫瘍の種類により, また症例により異なるものかもしれない. また, これら血中抗体は必ずしも神経症状と対応した部位のみと反応する訳ではなく, 特に immunoblotting 法ではより広汎な部位が認識されることが多い. immunoblotting 法では, detergent を加えて電気泳動することにより in situ での立体構造を分離し, 隠されていた抗原が露出することも考えられ, in situ では標的抗原とはならないものにも反応してしまい, 免疫組織化学的手法によ

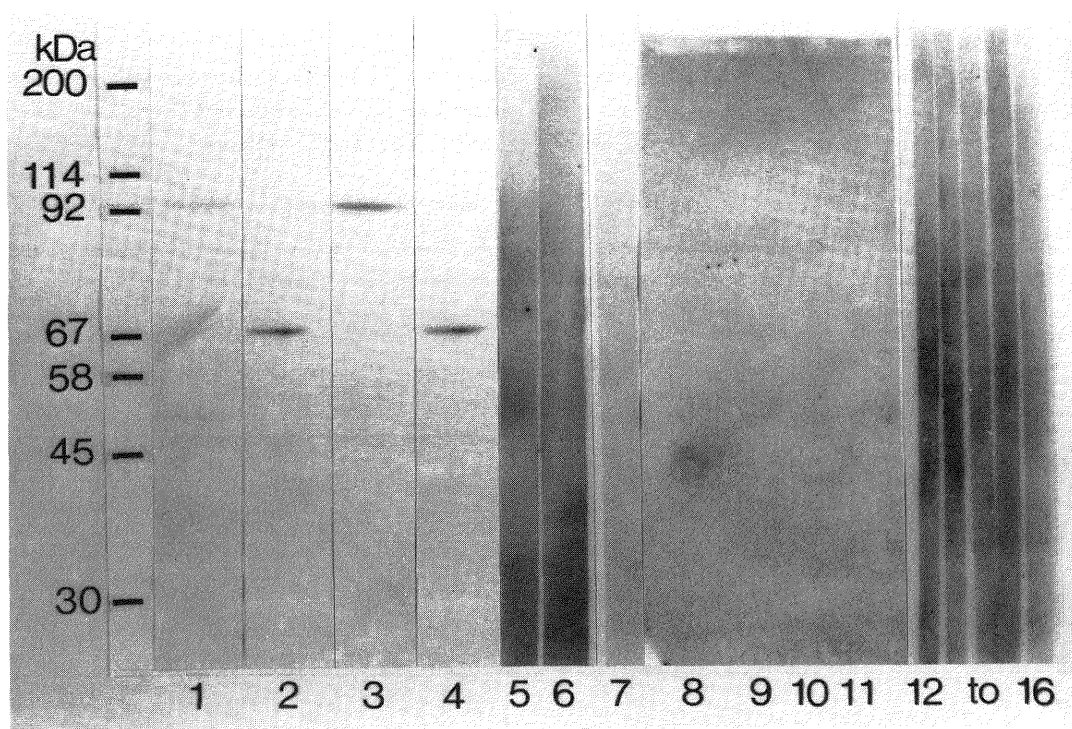


Fig. 3 Immunotaining of brain proteins.

The second patient serum reacted with 98kd cytoplasmic and 68kd membrane proteins of rat brain. Lanes 1 and 2: rat cerebral cytoplasmic and membrane proteins, respectively, lanes 3 and 4: rat cerebellar cytoplasmic and membrane proteins, respectively, lanes 5 and 6: human and rat cerebral proteins prepared several hours after death, respectively, lane 7: deglycosylated rat cerebral cytoplasmic proteins, lanes 8 to 11: homogenates of rat liver, kidney, spleen and heart muscle in order. Lanes 1 to 11 were reacted with the serum of the patient. Lanes 12 to 16: rat cerebellar cytoplasmic proteins were blotted and reacted with the control sera (12 and 13: sera of normal healthy adults, 14 to 16: sera of the patients with spinocerebellar degeneration).

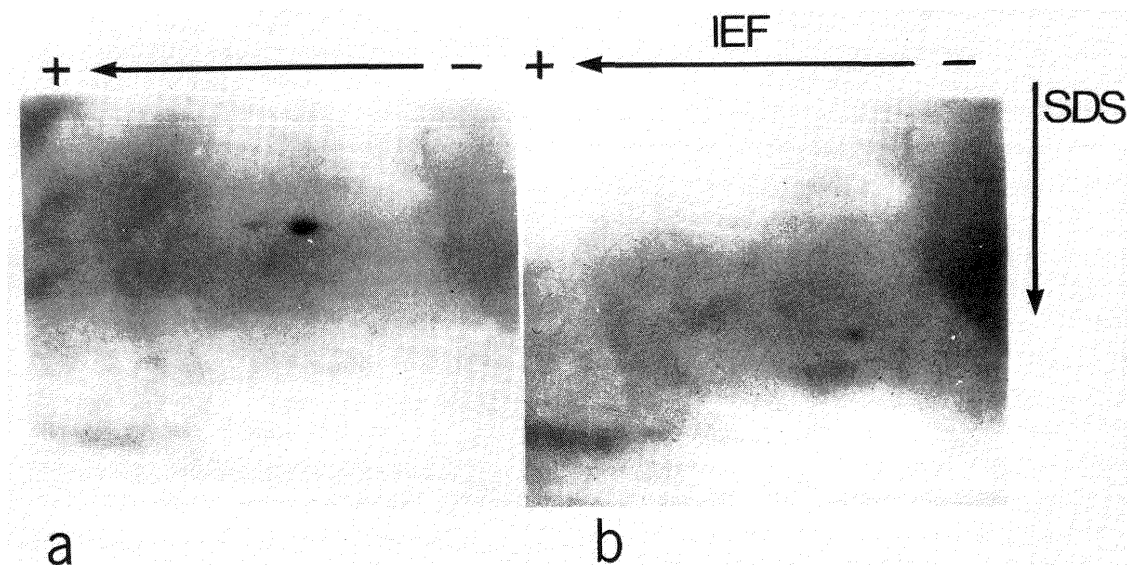


Fig. 4 Reaction of serum antibodies in the patient with brain antigens (two-dimensional gel electrophoresis).

The serum of the patient reacted with (a) 98kd neutral cytoplasmic and (b) 68kd rather basic membrane proteins of rat cerebellum.

Table 1 Immunologic study in paraneoplastic syndromes in the literature.

	Grunwald	Brown	Jaekle/cunningham	Our case 1	Our case 2
Neoplasm	lung Ca.	lung Ca.	Ovarian Ca. Breast Ca.	non Hodgkin lymphoma	lung Ca.
Neurological manifestation	visual dysfunction	cerebellar syndrome	cerebellar syndrome	cerebellar syndrome	cerebellar syndrome, LEMS
Number of cases	2	1	7	1	1
Immunological method					
1) Histochemistry	retinal neuron	cytoplasm of neuron	cytoplasm	cytoplasm	
cerebrum		+	-	-	
cerebellum		+	purkinje	purkinje	
spinal cord	tumor cell	+		-	
2) Blotting	Case 1 retina 65kD, 20kD tumor cell line 65kD Case 2 retina 205kD, 145kD tumor cell line 145kD	cerebrum cerebellum→85kD spinal	Purkinje 62/64kD 34/38kD	cerebrum 250kD, 125kD cerebellum 125kD	cerebrum cerebellum cytoplasm 98kD membrane 68kD

る結果と異なることもありうる。

本症の血中抗体は腫瘍と神経系との共通抗原に対する可能性も考えられるが、腫瘍関連抗原として糖鎖が注目されている。著者症例の血清は deglycosylation 後のペプチド部分との反応は得られず、神経組織より抽出した糖脂質との反応は得られなかった(宮谷ら、未発表データ)ので、糖蛋白の糖鎖に対する可能性が示唆された。paraneoplastic syndrome で血中自己抗体として報告されたものの中に、糖鎖が抗原と同定されたものはない。monoclonal gammopathy に神経障害を伴ったものでは、様々な糖鎖抗原が報告されている。IgM paraproteinemia を伴う polyneuropathy の例では、sulfated glucuronyl glycolipid¹⁹⁾, disialosyl ganglioside²⁰⁾, sialosyl lactosaminyl paragloboside²¹⁾ などの糖脂質やコンドロイチン硫酸などのムコ多糖²²⁾ に対する抗体が見い出されている。また運動ニューロン疾患様の病像を呈し、血清中に GM₁ と GD_{1b} に対する抗体が見い出された例²³⁾ もある。これらの症例で、paraprotein が神経障害の発現に関与するとの直接の証明はなされていない。しかし最近 Hays ら²⁴⁾ は、myelin-associated glycoprotein (MAG) に対して抗体活性を有する IgM paraproteinemia を伴った polyneuropathy の患者血清で、動物に passive transfer が可能であったと報告している。paraneoplastic syndrome でも LEMS では患者血清を用いた動物への passive transfer に成功しており²⁵⁾、血漿交換療法を行なった LEMS 患者で筋無力症状に改善がみられる²⁶⁾ など、抗体依存性の組織障害機序が、種々の神経疾患で関与している証拠が蓄積されている。ただ、著者の症例1のように、亜急性小脳変性症例では血中抗体が神経細胞の細胞質に存在する抗原を認識しており、これらの抗体が細胞障害性に働くためには、あらかじめ細胞膜を損傷させる別の機序が必要と思われる。また、これらの例の髄液中に血清にみられたと同じ抗体が存在することは証明されていない。ただ、髄液中の抗体含量は微量と思われ、この点に関しては更に鋭敏な方法による検討が必要である。

著者の症例2では、LEMS を伴っていた。Lang ら²⁷⁾、Fukunaga ら²⁸⁾ は LEMS 症例の血清 IgG が、神経終末のシナプス前膜に対してカルシウム拮抗作用を有することを示している。著者の症例2の血清は、横隔膜の筋ホモジェネートに対して反応するバンドは得られなかったが、筋全体ではシナプス膜蛋白、更にはカルシウムチャンネルの蛋白質含量は少ないためと思われ、

シナプス部を単離精製するなど感度を高める操作が必要と思われた。

myelin basic protein, glial fibrillary acidic protein, S-100 などその特性がよく判っている神経組織特異蛋白質が報告されているが²⁹⁾、症例1および2の血清が反応した抗原は分子量などからこれらとは異なっており、今後その特性を明らかにしていく必要がある。

また、患者血清が反応した抗原は死後数時間を経て処理した場合は反応がみられなくなることより、死後変化で容易に崩壊するものと思われ、その preparation には十分な注意が必要と思われた。

本研究を御指導下さいました新潟大学脳研究所神経内科宮武正教授に深謝致します。また、御協力下さいました新潟大学脳研究所神経化学佐武明教授、新潟大学脳研究所神経内科佐藤修三講師、田中正美、山崎元義、豊島至(現秋田大学第一内科講師)、山本彰夫(現秋田大学第一内科)先生、弘前大学第三内科倉橋幸造先生、弘前大学脳研究所神経内科松永宗雄教授に深謝致します。

本研究の一部は、厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班の援助による。

参 考 文 献

- 1) Henson, R.A. and Urich, H.: Cancer and nervous system: the neurological manifestations of systemic malignant disease. Oxford, Blackwell, 1982, pp. 311~451.
- 2) 倉橋幸造, 阿部泰久, 栗原愛一郎, 武部和夫, 松永宗雄: Eaton-Lambert 型神経筋ブロックを伴った亜急性小脳変性症に対する血漿濾過(plasma cascade filtration)治療, 臨床神経, 26: 137~142, 1986.
- 3) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680~685, 1970.
- 4) O'Farrell, P.Z., Goodman, H.M. and O'Farrell, P.H.: High resolution two-dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. Cell, 12: 1133~1142, 1977.
- 5) Towbin, H., Staehelin, T. and Gordon, J.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 4350~4354, 1979.
- 6) 豊島 至, 林 秀明, 田中恵子, 宮武 正: 凍結乾

- 燥切片のマイクロ電気泳動—家兎後根神経節細胞の蛋白質分析, 医学のあゆみ, 124: 1061~1063, 1983.
- 7) 豊島 至, 福原信義, 熊本俊秀, 田中恵子, 宮武正: Rimmed vacuole を有する筋線維の蛋白質に関する研究, 脳神経, 35: 771~775, 1983.
 - 8) Toyoshima, I., Tanaka, K., Fukuhara, N., Kumamoto, T. and Miyatake, T.: Dissection and electrophoretic protein analysis of single muscle fibers from histologically identified freeze-dried sections: Application to muscle fibers with rimmed vacuoles. Biomed. Res., 4: 459~466, 1983.
 - 9) Edge, A.S.B., Faltynek, C.R., Hof, L., Reichert, L.E.Jr. and Weber, P.: Deglycosylation of glycoproteins by trifluoromethanesulfonic acid. Annual. Biochem., 118: 131~137, 1981.
 - 10) Fraker, P.J. and Speck, J.C.Jr.: Protein and cell membrane iodinations with a sparing soluble chloroamide, 1, 3, 4, 6-Tetrachloro-3, 6-Diphenylglycoluril. Biochem. Biophys. Res. Commun., 80: 849~857, 1978.
 - 11) Wilkinson, P.C. and Zeromski, J.: Immunofluorescent detection on antibodies against neurons in sensory carcinomatous neuropathy. Brain, 88: 529~538, 1965.
 - 12) Trotter, J.L., Hendin, B.A. and Osterland, C.K.: Cerebellar degeneration with Hodgkin disease: an immunological study. Arch. Neurol., 33: 660~661, 1976.
 - 13) Greenlee, J.E. and Brashear, H.R.: Antibodies to cerebellar Purkinje cells in patients with paraneoplastic cerebellar degeneration and ovarian carcinoma. Ann. Neurol., 14: 609~613, 1983.
 - 14) Jaekle, K.A., Graus, F., Houghton, A., Cardon-Cardo, C., Nielsen, S.L. and Posner, J.B.: Autoimmune response of patients with paraneoplastic cerebellar degeneration to a Purkinje cell cytoplasmic protein antigen. Ann. Neurol., 18: 592~600, 1985.
 - 15) Graus, F., Cordon-Cardo, C. and Posner, J.B.: Neuronal antinuclear antibody in sensory neuropathy from lung cancer. Neurology, 35: 538~543, 1985.
 - 16) Grunwald, G.B., Klein, R., Simmonds, M.A. and Kornguth, S.E.: autoimmune basis for visual paraneoplastic syndrome in patients with small/cell lung carcinoma. Lancet, i: 658~661, 1985.
 - 17) Brown, R.H.Jr., Ronthal, M., Come, S., Abend, W., Storel, A., Ogonowski, M. and Weiner, H.L.: Antibodies to 85,000 dalton protein in paracarcinomatous cerebellar degeneration. Neurology, 35 (suppl.): 288, 1985.
 - 18) Cunningham, J., Graus, F., Anderson, N. and Posner, J.B.: Partial characterization of the Purkinje cell antigens in paraneoplastic cerebellar degeneration. Neurology, 36: 1163~1168, 1986.
 - 19) Chou, D.K.H., Ilyas, A.A., Evans, J.E., Costello, C., Quarles, R.H. and Jungalwala, F.B.: Structure of sulfated glucuronyl glycolipids in the nervous system reacting with HNK-1 antibody and some IgM paraproteins in neuropathy. J. Biol. Chem., 261: 11717~11725, 1986.
 - 20) Ilyas, A.A., Quarles, R.H., Dalakas, M.C., Fishman, P.H. and Brady, R.O.: Monoclonal IgM in a patient with paraproteinemic polyneuropathy binds to gangliosides containing disialosyl groups. Ann. Neurol., 18: 655~659, 1985.
 - 21) Miyatani, N., Baba, H., Sato, S., Nakamura, K., Yuasa, T. and Miyatake, T.: Antibody to sialosyllactosaminyl paragloboside in a patient with IgM paraproteinemia and polyneuropathy. J. Neuroimmunol., 14: 189~196, 1987.
 - 22) Sherman, W.H., Latov, N., Hays, A.P., Takatsu, M., Nemni, R., Galassi, G. and Osserman, E.F.: Monoclonal IgM antibody precipitating with chondroitin sulfate from patients with axonal polyneuropathy and epidermolysis. Neurology, 33: 192~201, 1983.
 - 23) Freddo, L., Yu, R.K., Latov, N., Donofrio, P.D., Hays, A.P., Greenberg, H.S., Albers, J.W., Allessi, A.G. and Keren, D.:

- Gangliosides GM₁ and GD_{1b} are antigens for IgM M-protein in a patient with motor neuron disease. *Neurology*, 36: 454~458, 1986.
- 24) Hays, A.P., Latov, N., Takatsu, M. and Sherman, W.H.: Experimental demyelination of nerve induced by serum of patients with neuropathy and anti-MAG IgM M-protein. *Neurology*, 37: 242~256, 1987.
- 25) Lang, B., Newsom-Davis, J., Prior, C. and Wray, D.: Antibodies to motor nerve terminals: An electrophysiological study of a human myasthenic syndrome transferred to mouse. *J. Physiol. (Lond.)*, 344: 335~345, 1983.
- 26) Newsom-Davis, J. and Murray, M.F.: Plasma exchange and immunosuppressive drug treatment in the Lambert-Eaton myasthenic syndrome. *Neurology*, 34: 480~485, 1984.
- 27) Lang, B., Newsom-Davis, J., Prior, C. and Wray, D.: Effect of passively transferred Lambert-Eaton myasthenic syndrome antibodies on the calcium sensitivity of transmitter release in the mouse. *J. Physiol. (Lond.)*, 357: 28p, 1984.
- 28) Fukunaga, H., Engel, A.G., Lang, B., Newsom-Davis, J. and Vincent, A.: Passive transfer of Lambert-Eaton myasthenic syndrome with IgG from man to mouse depletes the presynaptic membrane active zones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 7636~7640, 1983.
- 29) McIlmain, H. and Bachelard H.S.: *Biochemistry and the central nervous system*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1985, pp. 223~243.

(昭和62年3月4日受付)