

# ボツリス中毒が疑われたギランバレー症候群の1症例

山口 仁孝、田中 良徳、田栗 利紹、石崎 修造、萱場 正一

## A case of the Guillan-Barre syndrome (GBS) following *Campylobacter jejuni* enteritis that it doubted *Clostridium botulinum* poisoning.

Yoshitaka YAMAGUCHI, Yoshinori TANAKA, Toshitsugu TAGURI, Shyuzo ISHIZAKI and shyouchi KAYABA

One patient who presented ophthalmoplegia externa and respiratory paralysis was reported from the medical institution. As for this patient, it doubted clostridium botulinum poisoning from this clinical manifestation strongly.

We presumed *Clostridium botulinum* poisoning and Guillan-barre syndrome(GBS), and microbiological reference was done about the fece with doing serologic reference for the patient's serum.

As the result of these references, *Campylobacter jejuni* (group D) was detected in the fece. And anti-*Campylobacter* antibody and the anti-ganglioside antibody during the patient's serum, significant rise was confirmed. The bacteria which separated this time absorbed an anti-ganglioside antibody during the patient's serum.

From these results, last case was diagnosed as the GBS following *Campylobacter jejuni* enteritis.

Key words: Guillan-Barre syndrome(GBS), ganglioside, *Campylobacter jejuni*

キーワード: ギランバレー症候群(GBS)、ガングリオシド、キャンピロバクター・ジェジュニ

### はじめに

ギランバレー症候群(GBS)は、上気道炎や胃腸炎などの後に急性に発症する四肢筋力低下・深部腱反射消失を主徴とする末梢神経障害として知られている。GBS患者の約2/3では、各種ウイルスや細菌の先行感染が認められ、血中には神経細胞表面に豊富に存在する酸性糖脂質(ガングリオシド)に対する自己抗体が認められることから、先行感染微生物の交叉抗原に感作した自己免疫性神経疾患と考えられている。<sup>1)2)</sup>

最も高率に認められる先行感染微生物としては、食中毒菌の *Campylobacter jejuni* で、病原体が明らかかな GBS患者の約1/3で感染が確認され、発症者より分離された菌体の LPS にはガングリオシド様構造が存在していることが明らかにされている。<sup>2)3)</sup>

今回、病勢極期に外眼筋麻痺・呼吸麻痺を呈し、ボツリス中毒が疑われた GBS患者糞便より *C.jejuni* を分離し、その細菌学的検索を行ったので報告する。

### 発生概要

平成12年10月16日、国立N病院医師よりボツリス中毒疑いの患者発生届け出の提出を受け、調査を開始した。患者は23歳男性で10月6日頃に下痢が認められたのち、12日夜に眼球運動異常、嚥下障害、構音障害が発現し、16日には上下肢不動・深部腱反射消失・反応障害・眼球運動消失で重体となった(表1)。

表1:患者経過

10/6: 下痢症状、10/10: 全身蕁麻疹(投薬治癒)
10/12: 眼瞼下垂、瞳孔異常、嚥下障害、構音障害
10/13: 瞳孔散大、便秘
10/14: 眼球運動消失(・・・ボツリス菌中毒疑い)
10/16: 反応障害、上下肢不動、深部腱反射消失(重体) 血漿交換療法実施後ボツリス多価血清投与
10/17: 上下肢可動、11/3: 散瞳、口腔内麻痺(頭部麻痺)

材料および方法

臨床経過よりボツリス中毒およびギランバレー症候群が疑われたため、血清および糞便について検査を行った。

1. 患者直採便検査(10/13、16採取)

(1)ボツリス毒素検査(マウス毒性試験)(図1)

接種液:直接および増菌培養液遠心上清。

(2)ボツリス菌およびキャンピロバクター培養検査(図2)

直接および増菌培養。

(3)分離株の試験

(a)性状検査、血清型別試験。

(b)遺伝子比較解析試験。

表2に示すD群5株、その他5血清型7株について、FUJIMOTOらの方法<sup>4)</sup>を参考にRAPDおよびPFGE(制限酵素 Sal I, Sma I)により遺伝子の

比較解析を行った。(図3)

(c)免疫電子顕微鏡による観察

常法に従い、PLP固定・アクリル樹脂包埋した後超薄切片を作成し、抗ガングリオシドマウスIgMを一次抗体、直径10nm金コロイド標識抗マウスヤギIgGを二次抗体としてpost-embedding間接法により染色し透過型電子顕微鏡により観察した。

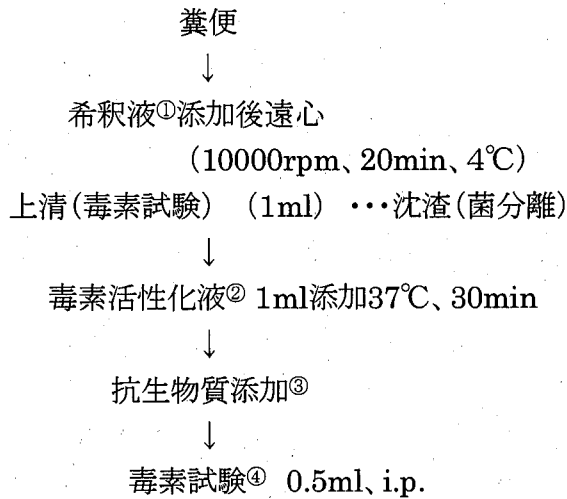
2. 血清検査(10/13、16採取)(他機関にて実施)

(1)ボツリス毒素検査(マウス毒性試験)および(2)キャンピロバクター抗体検査(ELISA)・・・東京都衛研

(3)ガングリオシド抗体検査(ELISA)・・・東京大学医学部附属病院

3. 分離株の患者血清ガングリオシド抗体吸収試験・・・東京大学医学部附属病院

図1 ボツリス毒素検査



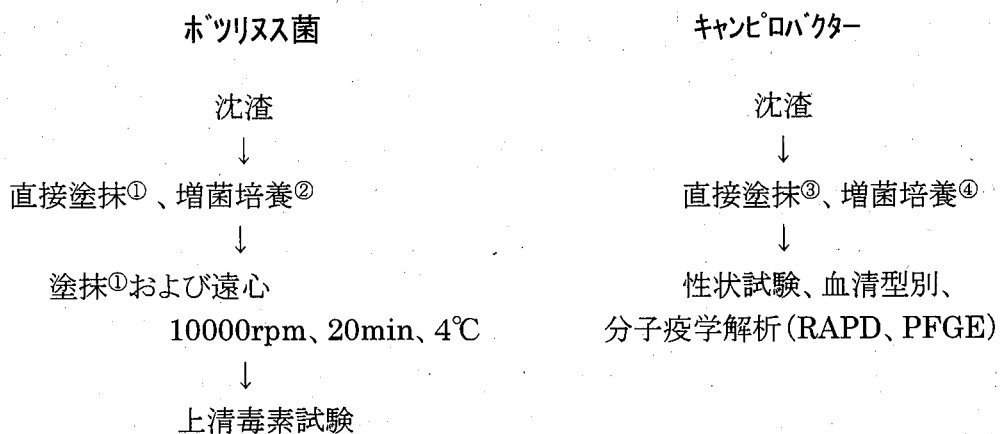
- ①0.2%ゼラチン加0.03MNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>緩衝液 (ph6.0~6.2)サンプルg×1/10~10ml
- ②2%トリプシン0.001NHCl溶液(ph6.0)
- ③ストレプトマイシン(100μg/ml) ペニシリンG(100IU/ml)

処理方法		試験数(匹)
A	上清無処理	3
B*	抗毒素中和液(A, B, E, F)	3
C	陰性対照(希釈液)	3

\*

各抗毒素希釈血清(10IU/ml)	上清無処理液
0.2ml(2IU)	0.5ml
室温、1hr	

## 図2 培養検査



	培地	培養温度	培養時間
①	5%ウマ血液加GAM寒天	37℃	48hrs
①	5%卵黄加GAM寒天	37℃	48hrs
②	0.1%可溶性澱粉加クックミート培地 (pH7.2) →①	37℃	48hrs
③	CCDA培地 (微好気培養)	42℃	48hrs
④	プレスト培地 (微好気培養) →③	42℃	24hrs

表2 RAPD・PFGE比較株の血清型

菌株No.	血清型		由来
	Penner	Lior	
1	D群	UT <sup>①</sup>	GBS
2	D群	UT	GBS
3	D群	UT	GBS
4	D群	UT	鶏肉1
5	D群	UT	鶏肉2
6	D群	UT	鶏肉3
7	D群	1	食中毒事例1
8	D群	1	食中毒事例1
9	Y群	NT <sup>②</sup>	食中毒事例2
10	U群	NT	食中毒事例3
11	A群	NT	ATCC29428
12	A群	NT	小児下痢症事例1
13	L群	NT	小児下痢症事例2
14	B群	NT	小児下痢症事例3
15	B群	NT	小児下痢症事例4

①UT=Untypable    ②NT=Not tested

結果

当所における患者直採便の試験結果では、ボツリヌス菌および毒素は検出されず、16日採取便より *C.jejuni* D群が分離された。また、血清検査においてもボツリヌス毒素陰性、キャンピロバクター抗体、ガングリオト抗体陽性および分離株の患者血清ガングリオト抗

体吸収試験陽性であったことにより、キャンピロバクター腸炎後 GBS と診断された(表3、4、5)。

分離したキャンピロバクターの遺伝子について比較解析した結果、いずれの株とも相同性は認められなかった(図4)。また、金コロイドを用いた免疫染色では、菌体表面に陽性所見が観察された。(図5)

表3 検査結果

No.	採便日	ボツリヌス				キャンピロバクター <sup>②</sup>
		卵GAM <sup>②</sup> 48時間	血液GAM <sup>②</sup> 48時間	CM <sup>②</sup> → 血液GAM	毒素 試験 <sup>①</sup>	
1	10/13	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2	10/16	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性

①マウス接種 24 時間観察:糞便遠心(10000rpm, 30min, 4°C)上清液、48 時間増菌液遠心(10000rpm, 30min, 4°C)上清液

②糞便遠心(10000rpm, 30min, 4°C)沈渣

表4 血清検査結果(他機関)

No.	採血日	ボツリヌス 毒素試験	カンピロバク ー抗体検査 <sup>①</sup>	ガングリオト抗体検査 <sup>②</sup>	分離株のガ ングリオト抗 体吸収試験
1	10/13	陰性	6400 倍		
2	10/16	陰性	12800 倍	3+:GD3, GT1a, GQ1b 2+:GD1a, 1+:GT1b	陽性

①陽性≧3200 倍、②通常は陰性

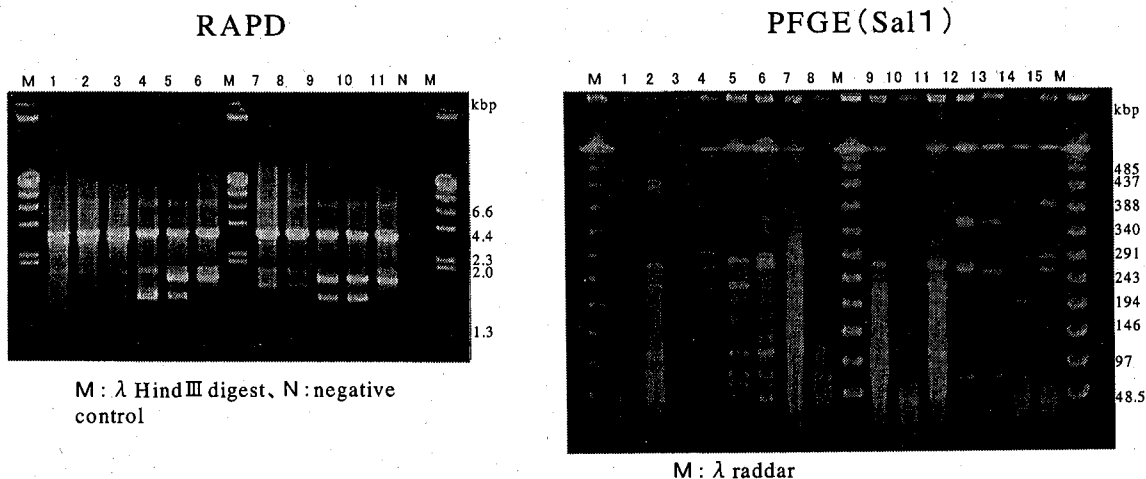
表5 *C.jejuni* 性状試験結果

試験項目	10/16 採便
発育試験(CCDA, BA) (42°C:25°C:好気)	+: - : -
オキシダーゼ:カタラーゼ	+: +
懸濁標本(運動性)	ラセン菌(コルクスクリュー)
ラテックス凝集(スライド法, テンカ生研)	+
馬尿酸分解(Hwang 法)	+
ブドウ糖分解(CTA 培地)	-
薬剤感受性試験(ナルジクス酸 30 μg:セフトロキシム 30 μg)	S:R
1%グリシン発育	+
硫化水素産生(ろ紙法:TSA)	+: -
菌 種	<i>C.jejuni</i>
血清型別(PHA 法-テンカ生研:Liior 型別-熊本県保環研)	D 群: UT*

\*D 群=4, 13, 16, 43, 50 型(Penner の血清型)

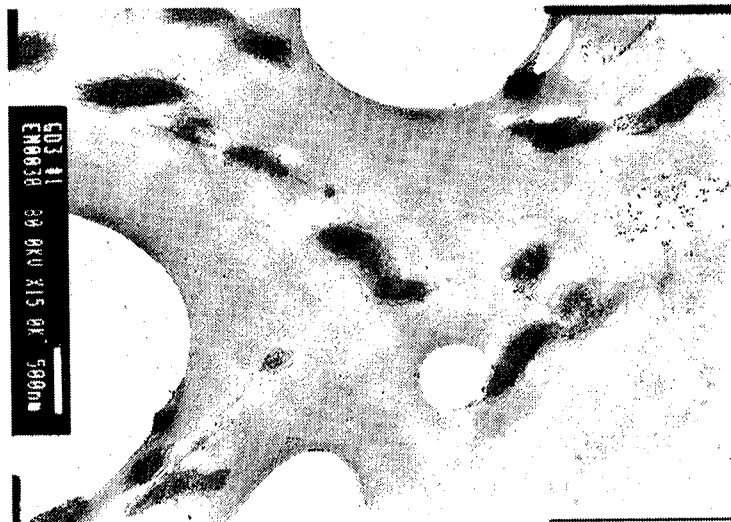
UT=Untypable

図4 遺伝子解析結果



Lane No.1-3: GBS isolate, 4-6: chicken, 7-15: food-borne outbreaks, 11: reference culture (ATCC29428)

図5 免疫電顕写真



Primary antibody: anti-GD3 mouse IgM

5. 考 察

今回の症例では、筋力低下や麻痺が四肢遠位部から上行性に認められる一般の GBS とは逆に、頸部・眼球から下行性に発現した経過や血中グングリオシト抗体のパターンは、GBS の亜型である

pharyngeal - cervical - brachial ( PCB ) weakness の重症例や Fisher's syndrome に類似していた<sup>5)</sup>。このような症例の初期においては、臨床的にボツヌス中毒や重症筋無力症との鑑別が困難で、本症例では極期の筋電図検査において軸索型

GBS が強く疑われたものの、ボツヌス中毒の可能性も考慮し、ボツヌス毒素抗血清が投与された。

今回のように左右対称性の急性進行性筋力低下が認められる場合は、ボツヌス菌・毒素のみの検査にとどまらず、キャンピロバクター腸炎後 GBS の可能性も考慮して麻痺が進行する以前に血中キャンピロバクター抗体やガングリオン抗体検査による迅速な診断を行うことが重要と思われた。また、従来から GBS 発症原因については、個々の先行感染微生物の免疫特異

性よりも患者生体側の要因が大きいものと考えられている<sup>6)</sup>が、今回分離した株についてはガングリオン様抗原特異性があるものの詳細については不明である。今後さらに実験動物による再現性試験<sup>7)</sup>や免疫学のおよび遺伝子レベルでの解析を継続し検討する必要があるものと思われる。

#### 参 考 文 献

- 1) Yuki N, et al: Acute axonal polyneuropathy associated with anti-GM1 antibodies following Campylobacter enteritis., *Neurology*, Dec; 40(12), 1900-1902, (1990)
- 2) Yuki N, et al: A bacterium lipopolysaccharide that elicits Guillan-Barre syndrome has a GM1 ganglioside-like structure., *J Exp Med*, Nov 1; 178(5), 1771-1775, (1993)
- 3) Aspinall GO, et al: Lipopolysaccharides from Campylobacter jejuni associated with Guillan-Barre syndrome patients mimic human gangliosides in structure., *Infect Immun*, May; 62(5), 2122-2125, (1994)
- 4) Fujimoto S, et al: Restriction fragment length polymorphism analysis and random amplified polymorphic DNA analysis of Campylobacter jejuni strains isolated from patients with Guillan-Barre syndrome., *J Infect Dis*, Oct; 176(4), 1105-1108, (1997)
- 5) Chiba A, et al: Serum IgG antibody to ganglioside GQ1b is a possible marker of Miller Fisher syndrome., *Ann Neurol*, Jun 31(6): 677-679, (1992)
- 6) Ma JJ, et al: HLA and T-cell receptor gene polymorphisms in Guillan-Barre syndrome., *Neurology*, Aug 51(2), 379-384, (1998)
- 7) Ang CW, et al: Campylobacter jejuni lipopolysaccharides from Guillan-Barre syndrome patients induce IgG anti-GM1 antibodies in rabbits., *J Neuroimmunol*, May 1; 104(2), 133-138, (2000)