

200500813 A (1/2)

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の
解明から新たな治療法確立に向けた研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

(1/2冊)

主任研究者 高橋幸利

平成18(2006)年 3月

目 次 (1/2冊)

I. 総括研究報告

急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた研究

高橋幸利 ----- 1

(資料) 急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究の症例登録基(案)・登録票(案)

II. 分担研究報告

1. 小児の急性脳炎(広汎性脳炎)におけるGluR ϵ 2自己抗体と予後の関連:第一報
高橋 幸利 ----- 17
2. 急性限局性脳炎(辺縁系脳炎)におけるGluR ϵ 2自己抗体と予後の関連:第一報
高橋 幸利 ----- 20
3. グルタミン酸受容体自己免疫の基礎的検討
森 寿 ----- 23
4. 当初、統合失調症と診断された抗GluR ϵ 2抗体陽性脳炎の2小児例
湯浅 龍彦 ----- 26
5. 本研究班で扱う辺縁系脳炎の枠組みと登録基準の提案
湯浅 龍彦 ----- 28
6. インフルエンザ脳症を含む小児の急性脳炎・脳症の実態調査
森島 恒雄 ----- 35
7. 抗グルタミン酸受容体 ϵ 2抗体陽性の急性脳炎患者の臨床および免疫組織学的特徴に関する検討
犬塚 貴 ----- 39
8. 当科で経験した非ヘルペス性辺縁系脳炎
岡本 幸市 ----- 41
9. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の診断基準,疫学に関する検討 一自験例を含めて一
梶 龍兒 ----- 45
10. 前縦隔奇形種によると思われる傍腫瘍性辺縁系脳炎の1例
熊本 俊秀 ----- 47
11. 橋本脳症患者血清中の抗神経抗体の検出とその抗原検索に関する研究
栗山 勝 ----- 51

12. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の臨床的研究 庄司紘史	-----	53
13. 脳炎様症状を主徴とする傍腫瘍性神経症候群での抗神経抗体に関する研究 田中 恵子	-----	57
14. 当院における急性脳炎の疫学的検討ー若年成人における非ヘルペス性脳炎の 検討ー 中島 健二	-----	59
15. 急性散在性脳脊髄炎および非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液中サイトカインの 検討 古川 漸	-----	63
16. エンテロウイルス中枢神経感染症診断へのPCR法の応用 細矢光亮	-----	67
17. 非ヘルペス性辺縁系脳炎における髄液中ケモカインの解析 中嶋 秀人	-----	71
18. HHV-6脳炎の病態解明 吉川 哲史	-----	74
19. 若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(Acute Juvenile Female Non-Her petic encephalitis: AJFNHE)における髄液中サイトカインと抗抗グルタメ ート受容体抗体の検出 亀井 聡	-----	76
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	79

目 次 (2/2冊)

IV. 研究成果の刊行物・別刷

I 総括研究報告

急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた
研究

主任研究者 高橋 幸利

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部長

研究要旨

急性に脳炎症状を呈する急性脳炎の中には、病態から分類すると、①ウイルス直接侵襲（1次性）脳炎・脳症、②傍感染性脳炎・脳症、③傍腫瘍性脳炎・脳症、④全身性膠原病合併脳炎・脳症、⑤その他・分類不能があると思われる。亀井（研究協力者）らによると、原因ウイルスのはっきりしているものが30%、原因の分からないものが50%を占めているとされ、①ウイルス直接侵襲による1次性脳炎以外の症例の正確な病態の解明、病態に基づいた治療法の開発、その鑑別診断の確立が、第一線の脳炎診療で望まれている。

主に②傍感染性脳炎・脳症に属すると考えられる症例で、小児期に意識障害・痙攣重積で発病する脳炎（広汎性脳炎）では、GluR2自己抗体が後遺症に関与している可能性が明らかとなり、成人期に軽度の意識障害で始まる辺縁系脳炎などの限局性脳炎では、GluR2自己抗体が発病に関与している可能性が示唆された。今後の更なる検討が待たれる。また、少数例の検討ではあるが、非ヘルペス性辺縁系脳炎では、髄液中IL-6の上昇にかかわらずIFN γ の上昇はみとめず、ウイルスの中枢神経系への直接侵襲でない可能性が示唆された。

③傍腫瘍性脳炎・脳症では、93例中の16例の血清でHu, Yo, Ri, Ma-2, CRMP-5,あるいはamphiphysin抗体が認められた。今後、症例を集積して、抗体と臨床像および合併腫瘍の種類の間を明らかにする。

④全身性膠原病合併脳炎・脳症の範疇に属する橋本脳症では、 α -enolase蛋白のN末端部位に対してのみ、橋本脳症患者血清が疾患特異性に反応することが示唆された。

このように②-④においては自己免疫が関与している可能性が大きく、自己免疫介在性脳炎の病態を検討し、より良い治療、早期診断を確立することが可能と思われる。その結果、急性脳炎の予後を大きく改善できる可能性がある。

次年度より研究班で前方視的に症例を登録し、免疫治療法（ステロイド治療・パルス治療・IVIG治療）の効果の検討、自己免疫介在性脳炎の診断基準・早期治療マニュアルの作成を行っていくための多施設共同研究を行う。そのための症例登録基準（案）（資料1）・登録調査票（案）（資料2）を現在作成し、意見交換を行っているところである。

これらの研究結果は、学問的に検討過程にあり、即臨床応用できる段階ではないことに、ご注意願いたい。

分担研究者：

森 寿、富山大学大学院医学系研究科分子神経科学、教授

湯浅 龍彦、国立精神神経センター国府台病院、神経内科、部長

森島 恒雄、岡山大学大学院医歯学総合研究科病態機構学 小児医科学、教授

犬塚 貴、岐阜大学大学院医学研究科 神経内科・老年学分野、教授

岡本 幸市、群馬大学医学部神経内科学講座、神経内科学、神経病理学、教授

梶 龍兒、徳島大学医学部付属病院高次脳神経診療部、教授

熊本 俊秀、大分大学医学部脳・神経機能統御講座（内科学第三）、教授

栗山 勝、福井大学第2内科（神経内科）、教授

庄司 紘史、久留米大学医学部第一内科学、教授

田中 恵子、新潟大学脳研究所神経内科、助教授

中島 健二、鳥取大学教授医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科部門、教授

古川 漸、山口大学医学部生殖・発達・感染医学講座、小児科学、アレルギー学、教授、副医学部長

細矢 光亮、福島県立医科大学医学部小児科、講師

研究協力者：

亀井 聡、日本大学医学部内科学講座神経内科部門、助教授

吉川 哲史、藤田保健衛生大学医学部小児科、助教授

中嶋 秀人、大阪医科大学第一内科、助手

A. 研究目的

亀井（研究協力者）らによる1990年を中心とした全国大病院調査では、脳炎の入院患者は年間2200人ほどあり、原因ウイルスのはっきり

しているものが30%（20%が単純ヘルペス、2.5%が水痘帯状疱疹ウイルス）、細菌性が6%、原因の分からないものが50%を占めている。ウイルス性のうち単純ヘルペス脳炎等は抗ウイルス剤による治療法があるが、多くの脳炎は特異的治療法がないもので、対症療法的に治療されているのが現状であろう。小児の脳炎では10%程度が死亡あるいは重度障害になり、軽度の障害も加えると、脳炎の後遺症に苦しむ患者・家族はかなりの数に上る。最近、ウイルス抗原のPCRによる同定、ウイルス培養などが普及し、ウイルス直接CNS侵襲が確実に、診断あるいは否定できるようになり、傍感染性脳炎症例、傍腫瘍症候群による脳炎症例、橋本脳症例、膠原病に伴う脳炎症例などの存在が明らかになってきた。ウイルス直接侵襲による1次性脳炎以外の症例の正確な病態の解明、病態に基づいた治療法の開発、その鑑別診断の確立が、第一線の脳炎診療で望まれている。

表1. 急性（亜急性）脳炎・脳症の分類（案）

- ①ウイルス直接侵襲（1次性）脳炎・脳症
- ②傍感染性脳炎・脳症
- ③傍腫瘍性脳炎・脳症
- ④全身性膠原病合併脳炎・脳症
- ⑤その他・分類不能

我々は、今までに報告のない中枢神経系で重要な役割を担っているグルタミン酸受容体（GluR） $\epsilon 2$ に対する自己抗体を測定する高感度システムを開発した。このGluRe2自己抗体をはじめとして、傍腫瘍症候群で報告のあるYo抗体、Hu抗体、Ri抗体、Ma-2抗体、CRMP-5抗体、VGKC抗体、amphiphysin抗体、さらには橋本脳症で見つかった α -enolase蛋白のN末に対する抗体など神経自己免疫に関係する種々の自己抗体が測定可能になっている。またラット脳を用いて施行した免疫組織化学的分析による未知の抗原に対する自己抗体の解析も可能になっている。

これらの自己抗体の検討から、最近では自己免疫が介在しているのではないかと思われる症例の報告が見られるようになってきている。

急性脳炎症例において、GluR2を主体とした中枢神経系発現分子に対する自己免疫関与の研究を進め、自己免疫介在脳炎の診断法の確立、免疫学的な観点からの新たな脳炎治療法の確立につなげることは、精神障害・高次脳機能障害・肢体不自由などに苦しむ症例が減少することにつながり、大きな意義があると考えている。

B. 研究方法

初年度にあたる今年度は、2005年7月末の交付基準額決定通知を受けて、表2に示すように幹事会・キックオフミーティング等を行い、研究計画を策定し、2006年度の本格的な研究活動に向けて議論を行ってきた。

これらの会議の中で、急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた研究のために、①急性脳炎の自然経過・疫学調査、②急性脳炎症例の免疫病態

の解明、③免疫治療法（ステロイド治療・パルス治療・IVIg治療）の効果の検討、

表2. 班会議

- | | | |
|---------------------|----------------|-------------|
| ① 研究班幹事会 | 日時：2005年8月25日 | 場所：経団連会館. |
| ② 研究班キックオフミーティング | 日時：2005年10月21日 | 場所：東京 九段会館. |
| ③ 2005年度班会議・分担研究者会議 | 日時：2005年12月2日 | 場所：経団連会館. |
| ④ 症例登録のための準備会議 | 日時：2006年3月11日 | 場所：経団連会館. |

④自己免疫介在性脳炎の診断基準・早期治療マニュアルの作成という4つの大きな研究項目を策定し、研究方法を検討、分担について話し合いを行ってきた(図1)。

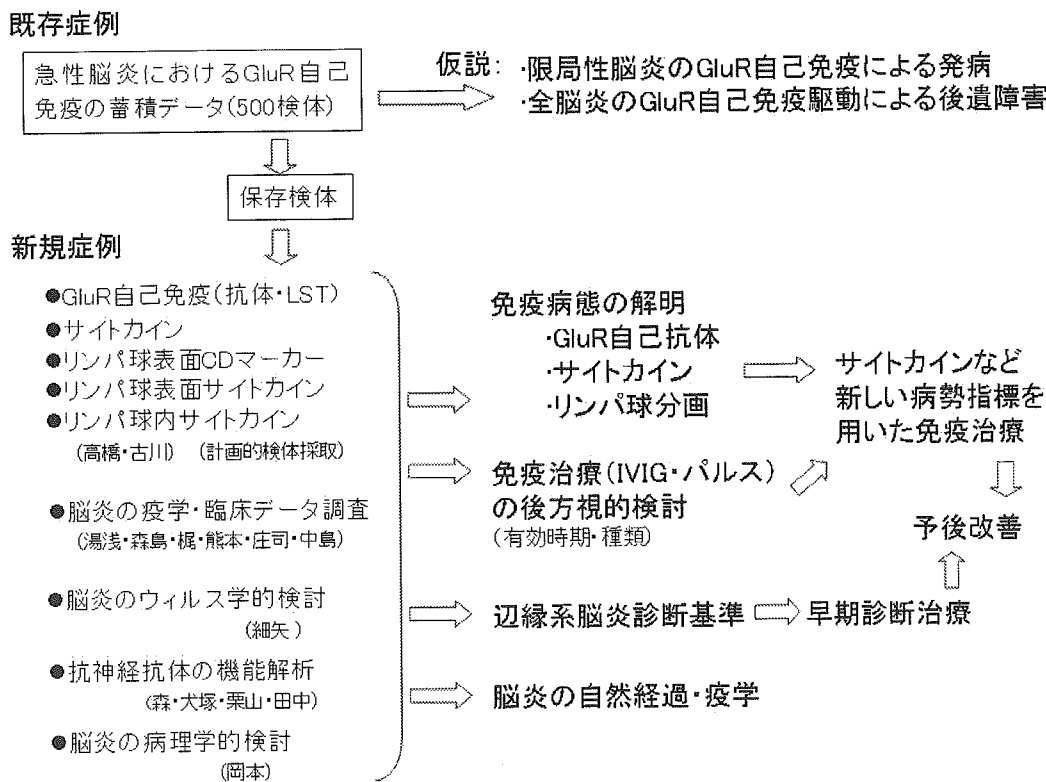


図1. 研究戦略

1. 急性脳炎の自然経過・疫学調査

急性あるいは亜急性脳炎の症状を呈する症例の発生頻度、さらにはその中で自己免疫が関係すると思われる症例の割合を明らかにすることを目的に行う。

小児は、ウイルスのはっきり判明しているもの、そうでないものに分けて、国立感染症研と共同研究で全国調査(年間1000例)を行い、疫学データを集積解析する(分担:森島)。

HHV-6脳炎について、全国の小児科を標榜する3357病院を対象にアンケート調査を行い、後遺症等について検討する(分担:吉川)。

成人症例は、鳥取県における疫学調査を行い、急性(亜急性)脳炎の発生率を把握する(分担:中島)。また、分担研究者・研究協力者の施設を中心に前向きに症例を登録し、急性脳炎における①ウイルス直接侵襲(1次性)脳炎・脳症、②傍感染性脳炎・脳症、③傍腫瘍性脳炎・脳症、④全身性膠原病合併脳炎・脳症、⑤その他・分類不能の割合を明らかにする。この割合と鳥取県でのデータから、日本における②-④の自己免疫が介在している可能性のある脳炎の成人症例数を推定する。

2. 急性脳炎症例の免疫病態の解明

ア. 既知の抗原に対する自己抗体の測定

GluR2・GluR82自己抗体: NIH3T3細胞中にてreverse tetracycline-controlled transactivator (rtTA)を用いた遺伝子発現系により合成したGluR2・GluR82の全長蛋白を抗原として、自己抗体の有無を検査する(分担:高橋・亀井)。

Hu, Yo, Ri, Ma-2, CRMP-5, amphiphysin 抗体: 融合蛋白を抗原としたELISAで確定診断を行う(分担:田中)。

α -enolase蛋白のN末端部位抗体: 哺乳類細胞で作製・精製した α -enolase

蛋白のN末端部位を用いて免疫ブロットを行い同定する(分担:栗山)。

イ. サイトカインの測定

髄液ではinterleukin-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-10、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1)、interferon γ (IFN γ)をELISAキットで測定する(分担:古川・亀井)。

ウ. ケモカインの測定

ケモカインの測定はIL-8, MIP-1 α , RANTES, MCP-1の4項目について行い、ELISAキット(Endogen社)を用いて行う(分担:中島秀人)。

エ. 免疫組織化学的分析による抗GluR2自己抗体の解析

自己抗体を有する血清を一次抗体として、ラット脳に対し免疫組織化学的分析を行い、自己抗体の反応する抗原の分布から自己抗体の特異性を検討する(分担:犬塚)。

オ. NMDA型GluR ζ 1サブユニットに対する自己免疫モデルマウス開発

モデルマウスを作成し、GluR自己免疫病態を基礎的に検討する(分担:森)。

カ. ウイルス直接侵襲の確認

中枢神経系へのウイルス直接侵襲の有無について、PCR法を用いて検討する(分担:細矢・吉川)。

キ. 病理学的解析

脳炎の剖検症例で、組織学的に病態を解析する(分担:岡本)。

3. 免疫治療法(ステロイド治療・パルス治

療・IVIG治療)の効果の検討

分担研究者・研究協力者の施設を中心に前向きに症例を登録した群あるいはこれまでに集積した症例群で、急性脳炎の予後を免疫治療法(ステロイド治療・パルス治療・IVI G治療など)との関連で検討する(分担:岡本・梶・高橋)。

4. 自己免疫介在性脳炎の診断基準・早期治療マニュアルの作成

分担研究者・研究協力者の施設を中心に前向きに症例を登録し、そのデータから自己免疫介在性脳炎の診断基準・治療マニュアルの作成を行う(分担:犬塚・熊本・岡本・庄司・湯浅)。

5. GluR ϵ 2抗体測定 of 迅速化

現在、GluR ϵ 2・GluR δ 2自己抗体の測定はウエスタンを用いており、数日の検査日数を要しており、脳炎の経過を考えると、診療に役立つデータとするには、測定 of 迅速化が不可欠である。哺乳類細胞で高発現するプラスミドpCAGGSにGluR遺伝子を接続したベクターを構築し、HEK293細胞に導入し発現を検討する。発現があれば精製した後、ELISA法での自己抗体測定 of 系を確立する(分担:森)。

(倫理面への配慮)

文書による説明同意を得られた症例において自己抗体を測定した。遺伝子組換え実験ならびに動物実験は、組換えDNA実験安全委員会ならびに動物実験委員会に研究申請したのち行った。

C. 研究結果

1. 急性脳炎 of 自然経過・疫学調査

1994年から2005年の12年年間に鳥取大学医学部付属病院脳神経内科に入院となった急性脳炎および感染性脳症疫学的調査をおこなっ

た。12年間に32名の急性脳炎・脳症患者が入院となった。その内訳については、ヘルペス性脳炎は4例(14%)、非ヘルペス性急性脳炎18例(62%)、脳幹脳炎3例(10%)、急性脳症2例(6.9%)、VZV脳炎1例(3.4%)、HTLV-I関連脳炎1例(3.4%)、中枢性ループス1例(3.4%)であった(中島)。

次に、50歳未満の若年成人に認められた非ヘルペス性急性脳炎13例において臨床症状・検査および経過等を解析した。3例の死亡例があり、10例の予後良好例と比較検討した。予後不良因子として①20代後半～30代前半の発症年齢、②女性、③4、5月の発症、④精神症状で発症後に痙攣重積、⑤入院時の意識障害、⑥Babinski徴候の存在、⑦血清CRPの軽度上昇、⑧髄液細胞の経時的増加、⑨髄液蛋白高値、⑩IgG index高値、⑪MRI異常所見、⑫脳波で突発波の存在(特に周期性放電)があげられた(中島)。

HHV-6脳炎 of 全国調査を行い、年間180例ほどの発症が予測され、約半数が後遺症を残すことが明らかになった(吉川)。

小児における疫学調査は現在データ解析中である。

2. 急性脳炎症例 of 免疫病態 of 解明

(ア) 急性脳炎での抗GluR ϵ 2自己抗体 of 意義 of 検討

強い意識障害・痙攣重積で発病する小児に多い広汎性脳炎では、GluR ϵ 2抗体が髄液中に回復期から後遺症期に出現することが分かった。この自己抗体が出現すると、後遺症としてのてんかん・知能障害が多いことが分かった。髄液GluR ϵ 2抗体 of 出現に繋がる因子としては、入院治療開始後の痙攣重積($p=0.02$ 、フィッシャー直接確率)・IVIG治療($p=0.04$ 、フィッシャー直接確率)が有意であった。髄液GluR ϵ 2抗体 of 出現を防止できる有効な治療法は見出せていないが、痙攣重積を来たさないことが重要と思われる(高橋)。

急性脳炎の内、軽度の意識障害で始まる辺縁系脳炎などの限局性脳炎では、髄液中のGluR2抗体は発病初期に出現し、予後とは有意な関連が見られないことが分かった。GluR自己免疫が限局性脳炎の発病時期に機能し、何らかの発病メカニズムに参与している可能性が想定された。限局性脳炎では、22例中3例(13.6%)が軽度の認知記憶障害を来たしたのみで、予後は広汎性脳炎に比較して、比較的良好であった。認知記憶障害につながる因子としては、痙攣重積が有意であった(高橋)。

若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(Acute Juvenile Female Non-Herpetic encephalitis: AJFNHE) 7例中6例にて抗GluR2抗体を検出し、AJFNHEは、ウイルス感染を契機として宿主側の自己免疫的な機序を介し抗GluR抗体を含む自己抗体により重篤化した脳炎・脳症である可能性が高いと推定した(亀井)。

前縦隔奇形種に伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎症例で、血中・髄液中の抗GluR抗体が病初期に陽性で、経過中に陰性化した症例の報告があり、今後多数例での傍腫瘍性辺縁系脳炎における、GluR2自己免疫の検討をしていきたい(熊本)。

(イ) 傍腫瘍症候群とHu, Yo, Ri, Ma-2, CRMP-5, amphiphysin抗体

傍腫瘍症候群による辺縁系脳炎(およびその他の脳炎)を疑われた93例の血清で自己抗体を検索したところ、抗体陽性者は延べ16例で、①Hu抗体 6例(6/93, 肺小細胞癌 4例, うち1例でVGCC抗体陽性LEMSを合併, 肺小細胞癌以外の肺癌 2例), ②amphiphysin抗体 1例(1/93, 胆管癌), ③CRMP-5抗体1例(1/10, 肺小細胞癌), ④VGKC抗体 3例(3/41, 卵巣癌 1例 unknown 2例), ⑤VGCC抗体 5例(5/41, 肺小細胞癌 2例、うちLEMS合併2例, 肺小細胞癌以外

の肺癌、2例、うちLEMS合併1例, unknown 1例)であった(田中)。

(ウ) 橋本脳症と α -enolase蛋白のN末端部位抗体

二次元免疫ブロットとプロテオミクス法を用いて、6例の橋本脳症患者血清中に存在する抗神経抗体が α -enolaseを標的抗原とすることを明らかにした。さらに哺乳類細胞で発現・精製した組み換え α -enolase蛋白を用いた免疫ブロットを行い、 α -enolase蛋白のN末端部位に対してのみ、橋本脳症患者血清が疾患特異性に反応(5/6, 84%)することが示唆された(栗山)。

(エ) サイトカインの測定

急性散在性脳脊髄炎(acute disseminated encephalomyelitis; ADEM18例)・非ヘルペス性辺縁系脳炎(NHLE10例)の髄液中サイトカインを測定した。ADEMでは急性期の髄液中IL-6、IL-10、TNF- α 、sTNFR1は18例中それぞれ16例、13例、3例、11例で上昇していた。IL-10とsTNFR1には正の相関があった($r = 0.78$, $p < 0.01$)。sTNFR1上昇群のミエリン塩基性蛋白(MBP)はsTNFR1正常群の値に比して有意に高値だった($p < 0.05$)。髄液中IL-1 β とIFN γ の上昇はみられなかった。NHLEでは髄液中IL-6は全例で上昇をみとめたが、髄液中IFN γ の上昇はみられなかった。ADEMの急性期ではIL-6、TNF- α が関与する炎症が中枢神経系内で短時間生じ、それに呼応しての抗炎症性サイトカインであるIL-10の産生が示唆された。NHLEではまだ少数例の検討ではあるが、髄液中IL-6の上昇にかかわらずIFN γ の上昇はみとめず、本症の病態はウイルスの中枢神経系への直接侵襲でない可能性が示唆された(古川)。

(オ) ケモカインの測定

非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液中では、無菌性髄膜炎、脱髄性疾患とはパターンが異なるケモカインが見られ、他の炎症性中枢神経疾患とは異なる免疫学的病態が存在する可能性が示唆された（中島秀人）。

(カ) 免疫組織化学的分析による抗GluRε2自己抗体の解析

髄液中GluRε2IgM抗体が陽性を示した4例（NHLE=3例，etiology-unknown meningoencephalitis=1例）中3例において血清GluRε2IgMおよびIgG抗体が陽性を示した。この3例の血清を用いた免疫組織化学的分析では3例全てで、海馬および大脳皮質の神経細胞の細胞質と樹状突起近位部が染色された。Western blottingに使用したのと同じGluRε2抗原を用いた吸着試験では、上記部位における免疫反応性は著明に減少した。免疫組織学的に患者血清が染色性を有した部位は、過去の報告では前脳部位とされるGluRε2抗原の発現部位に矛盾するものではなかった（犬塚）。

(キ) NMDA型GluRε1サブユニットに対する自己免疫モデルマウス開発

モデルマウスの作製のために、GluRε1の細胞外領域と、抗原性が非常に高い破傷風毒素との融合蛋白の発現ベクターを構築した。この発現ベクターと、免疫を賦活化するためのサイトカインであるGM-CSFならびにFlt3Lの発現ベクターをジーンガンによりマウス皮内に直接遺伝子導入する方法で免疫を行い、モデルマウスの作成を進めている（森）。

(ク) ウイルス直接侵襲の確認

無菌性髄膜炎、熱性痙攣、急性脳炎・脳症より採取した髄液検体におけるエンテロウイルス遺伝子の有無を検討した。その結果、無菌性髄膜炎171検体中143検体（83.

6%）、熱性痙攣41検体中12検体（29.3%）、原因不明の急性脳炎・脳症髄液16検体中2検体（12.5%）に、エンテロウイルス遺伝子を検出した。PCR法はエンテロウイルス中枢神経系感染症の診断に非常に有効であった（細矢）。

(ケ) 病理学的解析

今年度は剖検症例の標本の集積を行った。

3. 免疫治療法（ステロイド治療・パルス治療・IVIG治療）の効果の検討

(ア) これまでに集積した広汎性脳炎タイプ症例群における検討。

小児に多い、強い意識障害・痙攣重積で発病する広汎性脳炎22例の検討では、髄液GluRε2抗体の形成に関連する因子としては、入院治療開始後の痙攣重積（ $p=0.02$ 、フィッシャー直接確率）・IVIG治療（ $p=0.04$ 、フィッシャー直接確率）が有意であった。よって、痙攣重積やIVIG治療がGluRε2抗体形成につながり、予後不良となる可能性があるが、多数例での検討が必要である。パルス治療、静脈麻酔治療とGluRε2抗体形成は有意な関係は見られなかった。IVIG治療を行った5例全例でてんかんが発病し、IVIGを行なわなかった17症例では9例でてんかんが発病したのみであったが、フィッシャー直接確率は $p=0.076$ と有意ではなかった。てんかん発病のない8例には、片麻痺+四肢麻痺の3例、重度知的障害となった2例が含まれ、後遺障害が全体として強いにもかかわらず、てんかんが発病していない特徴が見られた。IVIG治療とてんかんの関係については、今後症例を増やして検討する必要がある（高橋）。

(イ) これまでに集積した限局性脳炎タイプ

症例群における検討。

成人に多い、軽度の意識障害で始まる辺縁系脳炎などの限局性脳炎は、ステロイド治療・パルス治療・静脈麻酔治療・IVIG治療と、後遺症としての認知記憶障害との関係を24例で検討した。ステロイド治療を行った11例中5例に、行わなかった10例中7例に認知記憶障害が見られた ($p=0.245$)。パルス治療を行った6例中3例に、行わなかった15例中9例に認知記憶障害が見られた ($p=0.523$)。IVIG治療を行った2例中1例に、行わなかった19例中11例に認められた ($p=0.685$)。静脈麻酔を行った症例で5例中4例に、行わなかった症例では16例中8例に認知記憶障害が認められた ($p=0.257$)。今後各治療の実施時期等を含めた、詳しい多数例での検討を行う予定である (高橋)。

急性期にステロイドパルス療法を行った非ヘルペス性辺縁系脳炎6例のうち5例で意識レベルの改善、痙攣発作の軽減、記憶障害の改善などの効果を示した (岡本)。

4. 自己免疫介在性脳炎の診断基準・早期治療マニュアルの作成

今年度は表2に示す会合の中で、次年度以降本格的に研究を開始するための討議を行った (湯浅・庄司・熊本・岡本・田中・犬塚・高橋)。

5. GluRe2抗体測定の迅速化

GST融合蛋白を、GluRと1のアミノ末端領域をいくつかの断片に分断して発現を試みたがほとんど発現せず、アミノ末端全体を融合蛋白として発現させた場合の発現効率が、最も高かった。しかしながら、現在の条件では、発現量が少なく安定的なELISAの構築は困難と考えられるので、大量発現と精製の条件検討を進め

ている。また培養細胞に発現させたGluRサブユニットを用いて、患者血清でのウェスタンブロット法による抗体検出の条件検討を進めている (森)。

D. 急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究

分担研究者・研究協力者の施設を中心に前向きに症例を登録し、急性脳炎の予後を免疫治療法 (ステロイド治療・パルス治療・IVIG治療など) との関連で検討する。さらにはそれらのエビデンスを元に自己免疫介在性脳炎の診断基準・治療マニュアルの作成を行う。多施設共同研究のための症例登録基準 (案) (資料1) を現在作成し、意見交換を行っているところである。また、症例の登録データについても検討し、登録調査票 (案) (資料2) を現在作成し、意見交換を行っているところである (湯浅・庄司・熊本・岡本・田中・犬塚・高橋)。

E. 考察と結論

急性に脳炎症状を呈する急性脳炎の中には、病態から分類すると、①ウイルス直接侵襲 (1次性) 脳炎・脳症、②傍感染性脳炎・脳症、③傍腫瘍性脳炎・脳症、④全身性膠原病合併脳炎・脳症、⑤その他・分類不能があると思われる。

主に②傍感染性脳炎・脳症に属すると考えられる症例で、小児期に意識障害・痙攣重積で発病する脳炎 (広汎性脳炎) では、GluRe2自己抗体が後遺症に関与している可能性が明らかとなり、成人期に軽度の意識障害で始まる辺縁系脳炎などの限局性脳炎では、GluRe2自己抗体が発病に関与している可能性が示唆された。今後の更なる検討が待たれる。まだ少数例の検討ではあるが、非ヘルペス性辺縁系脳炎では髄液中IL-6の上昇にかかわらずIFN γ の上昇はみとめず、ウイルスの中枢神経系への直接侵襲でない可能性が示唆された。

③傍腫瘍性脳炎・脳症では、93例中の16例の

血清でHu, Yo, Ri, Ma-2, CRMP-5, あるいはamphiphysin抗体が認められた。今後、症例を集積して、抗体と臨床像および合併腫瘍の種類の間を明らかにする。

④全身性膠原病合併脳炎・脳症の範疇に属する橋本脳症では、 α -enolase蛋白のN末端部位に対してのみ、橋本脳症患者血清が疾患特異性に反応することが示唆された。

このように②-④においては自己免疫が関与している可能性が大きく、自己免疫介在性脳

炎の病態を検討し、より良い治療、早期診断を確立することが可能と思われる。その結果、急性脳炎の予後を大きく改善できる可能性がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

資料 1

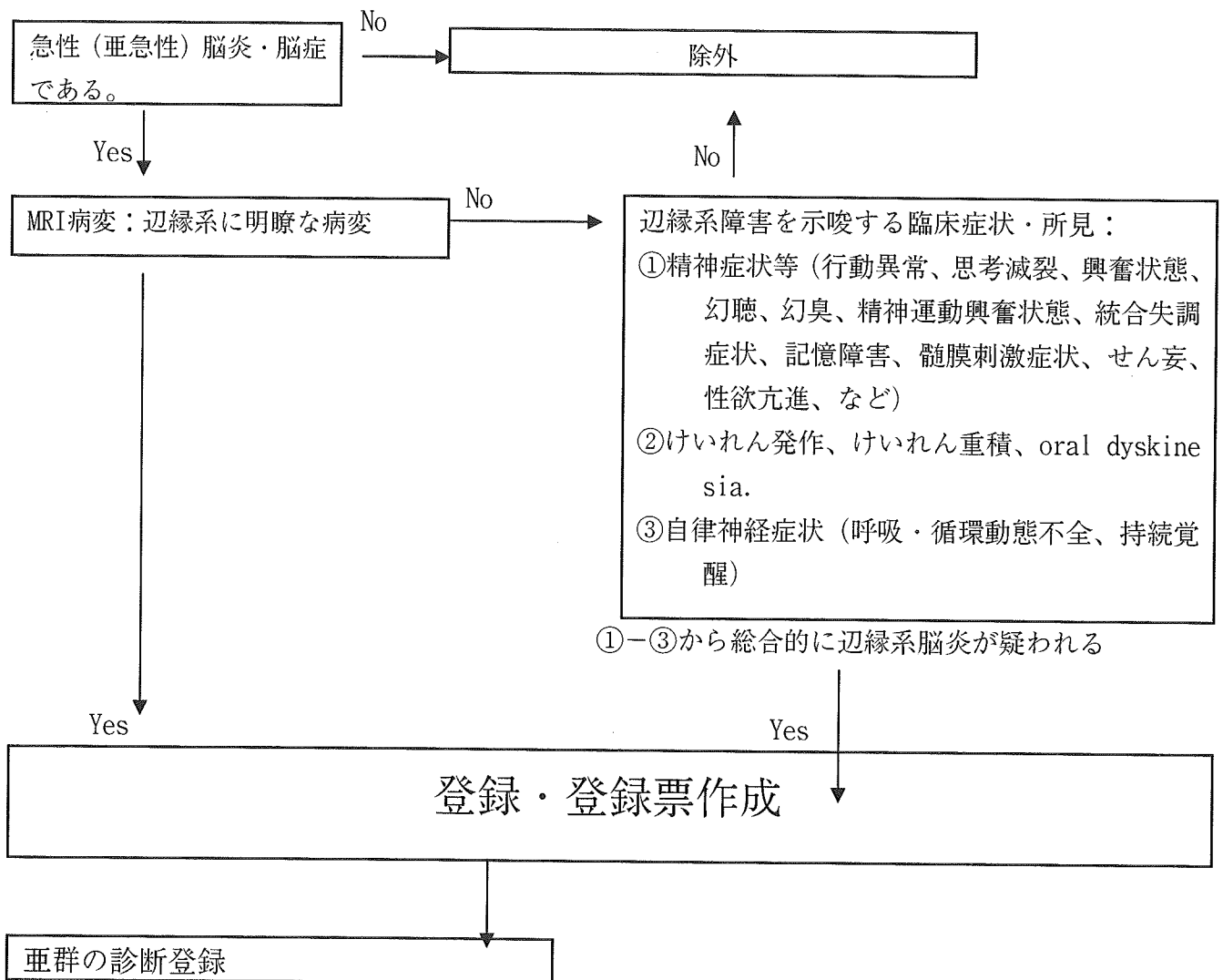
「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究」

I) 急性辺縁系脳炎症例登録基準（亜急性の症例を含む）（案）

登録の対象は原則として16歳以上の内科領域患者とする。

班員、研究協力者、およびその関連施設の症例を登録する。

（登録基準A）



- ①ウイルス直接侵襲（1次性）脳炎・脳症
- ②傍感染性脳炎・脳症
- ③傍腫瘍性脳炎・脳症
- ④全身性膠原病合併脳炎・脳症
- ⑤その他・分類不能

急性辺縁系脳炎亜群の診断は、登録票のデータ等に基づき、以下の診断登録基準を参考に行う。②-⑤が自己免疫介在性脳炎の可能性を有する。

①ウイルス性辺縁系脳炎の診断登録基準（細矢先生）

<概念>

辺縁系脳炎登録基準に合致する症例であって、発症にウイルス感染の関与が証明されたものをウイルス性辺縁系脳炎とする。

<診断基準>

単純ヘルペスウイルスの中枢神経感染が証明されたものをヘルペス性辺縁系脳炎、単純ヘルペスウイルス感染が証明されず、その他のウイルスの中枢神経感染が証明されたものを非ヘルペス性ウイルス性辺縁系脳炎とする。その診断基準は以下の通りである。

1) ヘルペス性辺縁系脳炎

以下のいずれかが証明された場合

- ①髄液中に単純ヘルペスウイルスDNAが検出される。
- ②髄液中に単純ヘルペスウイルス抗原が検出される。
- ③髄液中に単純ヘルペスウイルス抗体価の著明な上昇（血清／髄液<20）を認める。
- ④経時的に採取した血清・髄液で単純ヘルペスウイルス抗体の4倍以上の増加を認める。

2) 非ヘルペス性ウイルス性辺縁系脳炎

- 1) の基準を満たさず、かつ髄液中に単純ヘルペスウイルス1・2以外のウイルス遺伝子が検出された場合、あるいはウイルスが分離された場合を非ヘルペス性ウイルス性辺縁系脳炎とする。

<必要な検査>

1 PCR法実施施設

ヘルペスウイルス科の検出は、藤田保健衛生大学小児科（吉川哲史）において、エンテロウイルス属、パラミクソウイルス科、アデノウイルス属の検出は、福島県立医科大学小児科（細矢光亮）において行う。

2 髄液検体の保存と輸送

ウイルス検出用の髄液検体は、 -80°C の超低温槽に保存し、凍結融解を繰り返さない。出来る限り発症早期の検体を、0.5ml程度保存しておくことが望ましい。同時に採取した血清検体があれば、同様に保存する。

輸送には、厚手の発泡スチロールの箱に大量のドライアイスを含めて蓋をシールして、凍結のまま主任研究者のもとに送付する。

3 結果報告

現在のところ、リアルタイムに結果を報告することは困難である。

したがって、単純ヘルペスウイルスの診断については、従来通り各施設にて対応する。その他のウイルスについては、各年度末までにすべての結果を報告する。

②傍感染性辺縁系脳炎・脳症または⑤その他・分類不能の特徴を有する症例
(湯浅先生、高橋)

<概念>

亜群のうち①③④などの既知の疾患カテゴリーに入らない疾患であって、MR画像所見、あるいは、臨床症状から辺縁系脳炎が疑われる。

コメント：

自己免疫介在性脳炎・若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎 (AJFNHE) と呼ばれてきた脳炎が該当する。

血清抗体価の有意な上昇や、臨床的に名だたる感染症の先行があり、確実にウイルス感染症に合併して起こった脳炎も含まれる。

<特徴>

① 臨床の特徴

1. 比較的若年 (女性>男性) を冒す(但し、年齢基準は設けない)。
2. 感冒様症状などの前駆症状が見られることが多い。
3. 急性・亜急性に発症する脳炎、脳症である。
4. 辺縁系症状 (フローチャートの辺縁系障害を示唆する臨床症状・所見を参照) を有する。

② 検査の特徴

1. 髄液の軽度の異常 (細胞数と髄液蛋白軽度上昇)
2. MRI の異常 (辺縁系に異常所見を認めることがある)

③ 生物学的な特徴

抗GluRe2抗体が証明されることがある。

④ 髄液のウイルス培養陽性・PCR 陽性にてウイルス直接 CNS 侵襲が証明された症例・傍腫瘍性機転がある場合は除く。

<必要な検査>

1. 血清・髄液中のグルタミン酸受容体 (GluR ϵ 2・GluR δ 2) に対する自己抗体の測定

コメント：血清・髄液 (2 ml) を凍結でお送りください。

2. 血液・髄液中のサイトカイン

IL-2、IFN γ 、IL-4、TNF α 、IL-12、Granzyme Bなどを測定しています。

③傍腫瘍性辺縁系脳炎・脳症の診断登録基準（田中恵子先生）

<概念>

担瘤患者に生じる急性・亜急性脳炎・脳症であるが、神経症状発症時には悪性腫瘍が見つからない場合も多く、以下の特徴を有すものを登録する。

<診断基準>

1) 臨床の特徴

- ア) 壮年期の男女（男性は testicular cancer に伴い若年発症がある）
- イ) 数日から 12 週程度の経過で症状が亜急性に進行する
- ウ) 大脳辺縁系の症候を主軸とし、小脳失調・四肢感覚障害・筋力低下など他の症候を合併することがある
- エ) 過去 5 年以内に悪性腫瘍の既往・存在がある
- オ) 悪性腫瘍の治療に関連した神経症状の改善あるいは進行停止がある

2) 検査の特徴

- ア) 髄液に炎症性変化を認める
- イ) MRI で辺縁系などの異常を認めることが多い（一過性の場合もある）。

3) 抗体の証明

- ア) 本症に特異的な抗体（Yo/Hu/Ri/Ma-2/CRMP-5/VGKC/amphiphysin）を検出する
- イ) 本症で出現したと報告された、上記以外の抗体に一致する特徴を有する抗体を検出する

診断確実例：1-オ+3-イ 又は 3-ア

診断疑い例：上記以外の条件では他の病態が除外される場合

<必要な検査>

1. 抗 Yo抗体
2. 抗 Hu抗体
3. 抗 Ri 抗体
4. 抗 CV2(CRMP-5)抗体
5. 抗 VGKC抗体
6. 抗 Ma-2抗体
7. 抗 amphiphysin抗体

コメント 1：Paraneoplastic neurological syndromeで既報の抗体で、血清2-3mlを凍結して送っていただいております。抗Yo・Hu抗体は、これらの抗体の共通認識構造を含みリコンビナント蛋白を抗原としたELISAでの特異的反応を見えています。その他は神経組織を抗原とした免疫組織化学およびウェスタンブロットでの染色パターンから判断しています。

コメント 2：代表的症状・所見（田中先生作成予定）

資料2 登録調査票 (案)

		記入例
患者番号		H17高橋-1-001-1
施設名		静岡てんかん・神経医療センター
性		男
急性脳炎脳症発症年齢(歳)		0.6
現在の年齢(歳)		2.5
亜群の診断(①-⑤)		
急性脳炎脳症の原因	感染症:	インフルエンザ
	予防接種:	
	その他:	
	腫瘍の有無	
初発神経症状		幻聴
前駆症状から脳炎症状出現までの日数		5
発病様式(広汎性脳炎型・限局性脳炎型)		限局性脳炎
発病時辺縁系症状・所見		あり:せん妄
急性期入院期間(日数)		50
急性期けいれん重積		あり・なし
急性期治療	人工呼吸器	あり・なし
	抗ウィルス剤	アシクロビル
	ガンマグロブリン通常	あり・なし
	ガンマグロブリン大量療法	あり・なし
	プレドニン治療	あり・なし
	デキサメサゾン治療	あり・なし
	ステロイドパルス治療	あり・なし
	PB大量療法(非経静脈)	あり・なし
	ミダゾラム持続療法	あり・なし
	チオペンタールNa持続療法(ラボナール)	あり・なし
	ペントバルビタール持続療法(ネプタール)	あり・なし
	その他の治療	血漿交換
	腫瘍の治療	抗がん剤・手術・ほか
合併症		血栓症・DIC・ほか
予後:退院時・6か月・1年・等で報告		
Bathelの評価表スコア合計(20点満点)		15

てんかん発作の評価表スコア	2
精神症状の評価表スコア	2
知的障害の評価表スコア	1
記憶障害の評価表スコア	1
運動障害の評価表スコア	1

検査-1

ウイルスPCR	髄液HSV+
有意なウイルス抗体価変動	HSV1

画像検査

diffusion画像変化	10病日出現
Flair画像変化	12病日出現

自己抗体

髄液GluR ϵ 2抗体IgM	11病日+、30病日-
髄液GluR ϵ 2抗体IgG	11病日+、30病日+
血清GluR ϵ 2抗体IgM	未検査
血清GluR ϵ 2抗体IgG	未検査
髄液GluR δ 2抗体IgM	未検査
髄液GluR δ 2抗体IgG	未検査
血清GluR δ 2抗体IgM	未検査
血清GluR δ 2抗体IgG	未検査

傍腫瘍症候群

Hu抗体
Ri抗体
Ma-2抗体
CRMP-5抗体
VGKC抗体
amphiphysin抗体

サイトカイン

IL-6
IFN γ

Ⅱ 分担研究報告