

Brain Dev in press

7. Suenaga N, Ichiyama T, Kubota M, Isumi H, Tohyama J, Furukawa S. Roles of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. J Neurol Sci in press

8. Honda R, Ichiyama T, Maeba S, Sunagawa S, Furukawa S. Male siblings with tibia-metacarpal type of chondrodysplasia punctata without maternal factors. Brain Dev in press

## 2. 学会発表

1. 市山高志. 教育講演. 小児神経疾患とサイトカイン. 第49回日本小児神経学会. 大阪. 2007.7.5-7
2. 市山高志. シンポジウム. サイトカインからみたけいれん重積型急性脳症の病態. 第49回日本小児神経学会. 大阪. 2007.7.5-7
3. 市山高志. シンポジウム. 検体検査による

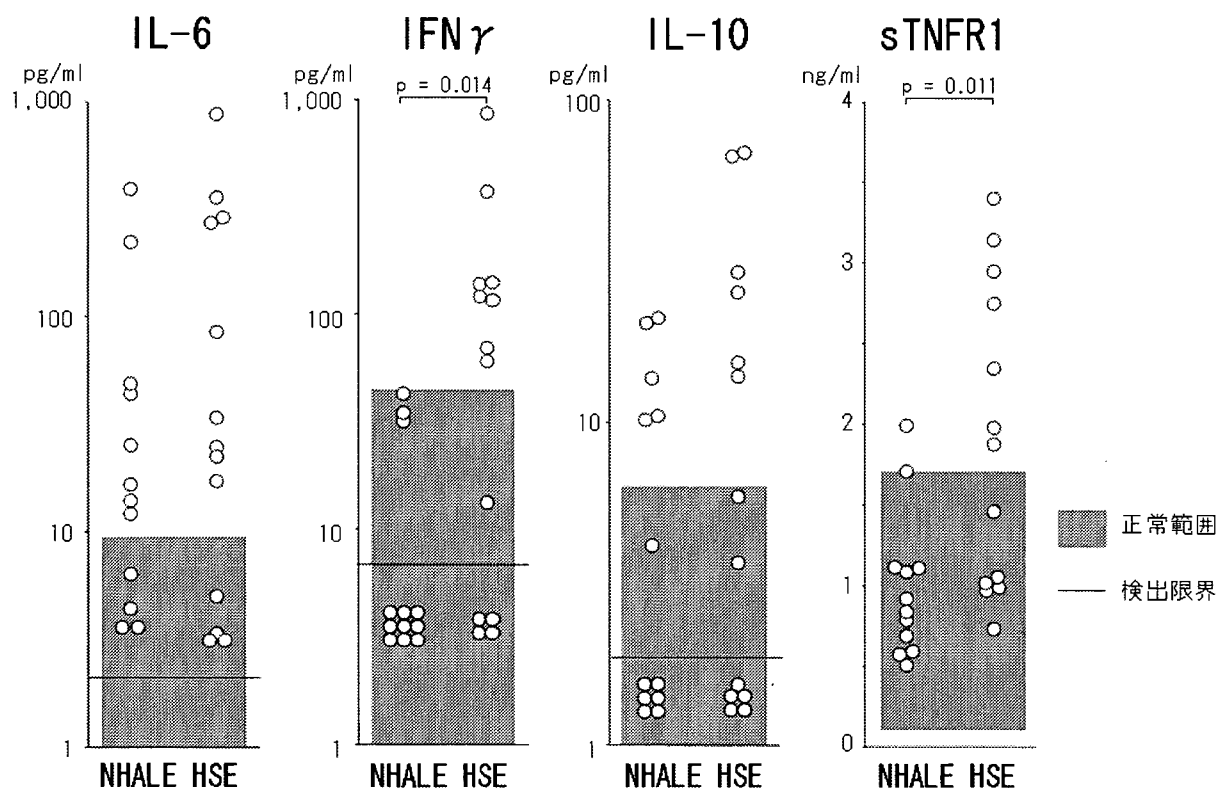
発達障害の鑑別診断. 第42回日本発達障害学会. 山口. 2007.8.4-5

4. 市山高志. シンポジウム. 臨床免疫からみたSSPE. 第12回日本神経感染症学会. 福岡. 2007.10.12-13

5. 市山高志, 松重武志, 梶本まどか, 友近喜代子, 松原知代, 古川 漸. 細菌性髄膜炎におけるdexamethasone療法時の髄液中soluble TNF receptor 1とinterleukin-6の動態. 第39回日本小児感染症学会. 横浜. 2007.11.9-11

## H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



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

## 傍腫瘍性神経症候群における血清サイトカインの検討

分担研究者 田中 恵子

国立病院機構西新潟中央病院 統括診療部・神経部長

### 研究要旨

傍腫瘍性神経症候群 (paraneoplastic neurological syndrome: PNS) は悪性腫瘍患者の1%前後に発症するまれな疾患である。本症の多くの例で腫瘍と罹患神経組織に反応する特徴的な自己抗体が産生されるが、このような免疫動態を生じる機序や発症者の免疫学的背景は充分明らかになっていない。昨年の本班会議では抗Yo/Hu抗体陽性PNSおよびLambert-Eaton筋無力症候群患者の免疫学的背景要因として、制御性T細胞の機能分子の発現に異常があることを報告した。今回はその結果として生じうるリンパ球の機能動態を検討する目的で、PNS患者血清中のサイトカインパターンを解析した。

研究協力者：谷 卓（国立病院機構西新潟中央病院神経内科）

#### A. 研究目的

傍腫瘍性神経症候群 (PNS) は、癌に対して生じた免疫反応が、共通の抗原を表出する神経組織を攻撃することにより生じる神経障害と考えられている。同一組織型の腫瘍を有する担癌患者においてもPNSを発症する症例は限られており、そこには何らかの宿主要因が存在すると考えられるが、PNSにおける宿主要因に関する報告は、現在のところほとんどない。この要因として昨年度、末梢性自己免疫寛容に重要な働きをするCD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>制御性T細胞 (Treg; regulatory T cell) の解析し、PNSにおける宿主要因としてTregの機能異常の存在することを明らかにした。今回はその結果として生じる、PNS患者血清中のサイトカインパターンを解析した。

#### B. 研究方法

本邦諸施設から抗神経抗体解析を目的に当施設に寄せられた血清のうち、Hu抗体陽性PNS (Hu-PNS) 19例、Yo抗体陽性PNS (Yo-PNS) 10例、癌のみで神経症状なし (Ca only) 7例の血

清を用いた。

方法は、Bio-Plex Suspension Array System を用いてIL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, Eotaxin, FGF basic, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , MCP-1 (MCAF), MIP-1a, MIP1-b, PDGF-bb, Rantes, TNF- $\alpha$ , VEGFの各サイトカイン濃度を検討した。測定は、Human Cytokine 27-plex Premixed Kit のサイトカインスタンダードを、0.20, 0.78, 3.13, 12.5, 50, 200, 800, 3200 pg/ml の8濃度について標準曲線を作成し、サンプルの蛍光値を外挿して計算した。

(倫理面への配慮)

サイトカイン測定のための血液採取に関しては、目的・方法について詳細な説明を行い、同意を得た。

#### C. 研究結果

測定したサイトカインのうち、Hu-PNSで増加しCa onlyとの間で優位差を認めたものはFGF basicのみであり、Yo-PNSで増加しCa onlyとの間で優位差を認めたものはIL-5であった。また、Hu-PNSで増加しYo-PNSとの比較で優位差が見られたものはFGF basicおよびPDGF-bbであつ

た。このほか統計学的に優位差は得られなかったものの、Hu-PNS群でCa-onlyに比し増加が見られたものはIL-5, IL-7, IL-9, IL-13, Yo-PNSでCa-onlyに比し増加していたのはIP-10であった。

#### D. 考察

Hu-PNSおよびYo-PNSでは神経症状発症早期から高力価の自己抗体が産生される。今回の結果は、抗体産生系の亢進を反映するサイトカイン群の増加が認められたことから、昨年度報告したようにPNSでは免疫制御系の破綻により過剰な免疫応答が生じていることが確認された。またHu-PNSとYo-PNS間での差違は、Hu-PNS群で、腫瘍増生時に産生されるサイトカインの増加が高度であることから、Hu抗体を生じる背景に腫瘍予後の不良な肺小細胞癌があることと関連があるものと考えられた。

#### E. 結論

PNSでは免疫制御系の破綻により過剰な免疫応答が生じていることが確認された。またHu-PNSとYo-PNS間での差違は、Hu-PNS群で、腫瘍増生時に産生されるサイトカインの増加が高度であることから、Hu抗体を生じる背景に腫瘍予後の不良な肺小細胞癌があることと関連があるものと考えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. K. Tanaka, T. Tani, M. Tanaka, T. Saito, J. Idezuka, M. Yamazaki, M. Tsujita, T. Nakada, K. Sakimura, M. Nishizawa: Anti-aquaporin 4 antibody in Japanese multiple sclerosis with long spinal cord lesions. *Multiple Sclerosis* 2007, 13: 850-855
2. Y. Nakatani, K Kawakami, T Nagaoka, I Utsunomiya, K Tanaka, H Yoshino, T Miyatake, K Hoshi, K. Taguchi: Ca<sup>2+</sup> channel currents inhibited by serum from select patients with Gillain-Barre syndrome. *Eur Neurol* 57:11-18, 2007.

ents with Gillain-Barre syndrome. *Eur Neurol* 57:11-18, 2007.

3. Tanaka K, Sato A, Kasuga K, Kanazawa M, Yanagawa K., Umeda M, Tada M Tanaka M., and Nishizawa M.: Chronic myositis with cardiomyopathy and respiratory failure associated with mild form of organ-specific autoimmune diseases *Clin Rheumatol* 26:1917-1919, 2007

4. M. Kanazawa, T. Shimohata, K. Tanaka, M. Nishizawa: Clinical features of patients with myasthenia gravis associated with autoimmune diseases *Eur J Neurol* 2007 doi:10.1111/j.1468-1331.2007.01978.x

5. K Okada, S Tsuji, K Tanaka: Intermittent intravenous immunoglobulin successfully prevents relapses of neuromyelitis optica. *Int Med* 46:1671-1672, 2007

6. Terajima K, Matsuzawa H, Tanaka K, Nishizawa M, Nakada T.: Cell-oriented analysis *in vivo* using diffusion tensor imaging for normal-appearing brain tissue in multiple sclerosis. *NeuroImage* 37:1278-1285, 2007

7. 石原智彦、小澤鉄太郎、根本麻知子、新保淳輔、五十嵐修一、田中恵子、西澤正豊：イヌ回虫性脊髄炎の1例。日本内科学会雑誌 96(1): 141-143, 2007

##### 2. 学会発表

田中恵子 多発性硬化症における抗アクアポリン4抗体の診断的意義。第48回日本神経学会総会シンポジウム 2007年5月16日

##### 3. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

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

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

研究協力者 中嶋 秀人

清恵会病院内科 部長（大阪医科大学第一内科）

研究要旨

ケモカインは炎症部位への細胞浸潤に作用する白血球遊走因子であると共に様々の免疫調節機能を有しており、感染・炎症性脳疾患においても種々のケモカインがその病態に関与していると考えられる。今回、非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液を用いてIL-8, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, IP-10, MCP-1, sTNF-R1など7つのケモカイン, サイトカインを測定。非ヘルペス性辺縁系脳炎とヘルペス脳炎, 無菌性髄膜炎, 脱髄性疾患・急性散在性脳脊髄炎とのケモカイン・サイトカイン値を比較した。NHLE, HSE, AM間では, IL-8とsTNF-R1ではNHLEで高値を, MIP-1 $\alpha$ , RANTESではAMが高くなる傾向が見られたが, ケモカインの上昇パターンに明らかな偏りは認められなかった。また, 抗GluR抗体陽性群と陰性群との比較では, 全ての項目で陰性群に比し陽性群で高くなる傾向が認められた。NHLEには自己免疫が関与する症例が多く存在すると考えられるが, 原因, 病態は多岐にわたる。ケモカインの上昇パターンと各種自己抗体の有無との関連について検討することも今後の課題と考える。

A. 研究目的

近年, 非ヘルペス性辺縁系脳炎報告に抗グルタミン受容体抗体(抗GluR抗体)やKチャネルに対する抗体(抗VGKC抗体)など自己抗体の検出例があり注目される。その病態としてウイルス直接侵襲以外に, 傍感染性, 傍腫瘍性, 全身性膠原病に伴う脳炎・脳症などが自己免疫の関与が想定され, ケモカイン・サイトカインの解析を通して免疫学的検討を行うことは, 非ヘルペス性辺縁系脳炎の病態を検討する上で意義がある。

今回われわれは非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液を用いてIL-8, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, IP-10, MCP-1, sTNF-R1など7つのケモカイン, サイトカインとこれらケモカインに影響を与える因子として酸化ストレスを考え, 酸化ストレスマーカーの一つである8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)を測定した。ケモカインと髄液細胞数との相関性, 非ヘルペス性辺縁系脳炎とヘルペス脳炎, 無菌性髄膜炎, 脱髄性疾患・急性散在性脳脊

髄炎とのケモカイン・サイトカイン値を比較し, 非ヘルペス性辺縁系脳炎における髄液中の各種ケモカインの意義と疾患鑑別の可能性について検討した。

B. 研究方法

対象は非ヘルペス性辺縁系脳炎(NHLE) 9例, ヘルペス脳炎(HSE) 6例, 無菌性髄膜炎(AM) 5例, 急性散在性脳脊髄炎(ADEM) 5例, 非炎症性神経疾患(NIND) 9例。いずれも大阪医科大学第一内科入院中に患者の同意のもと髄液を採取して一般検査施行後に-80℃保存した検体を使用した。ケモカインとサイトカインの測定はIL-8, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, IP-10, MCP-1, sTNF-R1, GM-CSFの7項目について, さらに酸化ストレスマーカーとして8-OHdGをELISAキット(Endogen, R&D)を用いて, 一次抗体吸着した96-well ELISAプレートに髄液50 $\mu$ lを添加。二次抗体反応後に発色反応を行いマイクロプレートリーダーにて吸光度を測定して

ケモカイン濃度 (pg/ml) を求めた。  
(倫理面への配慮)

同意を得られた症例について検体採取を行い、  
研究を行った。

表1. 各疾患のケモカイン・サイトカイン濃度

	Chemokines · Cytokines (pg/ml)							
	IL-8	sTNF-R1	MIP-1 $\alpha$	RANTES	IP-10	MCP-1	GM-CSF	8-OHdG
NHLE	251.9 $\pm$ 135.1	835.2 $\pm$ 188.5	31.0 $\pm$ 29.7	30.82 $\pm$ 51.8	1366 $\pm$ 1106	1133 $\pm$ 260.9	ND	ND
HSE	125.3 $\pm$ 102.7	717.1 $\pm$ 223.9	18.6 $\pm$ 8.1	30.82 $\pm$ 32.6	885.8 $\pm$ 1048	880.7 $\pm$ 315.0	ND	ND
AM	237.4 $\pm$ 56.3	766.5 $\pm$ 171.0	87.5 $\pm$ 91.4	172.5 $\pm$ 137.9	595.2 $\pm$ 205.4	1183 $\pm$ 198.0	ND	ND
ADEM	120.2 $\pm$ 85.7	806.6 $\pm$ 106.0	35.1 $\pm$ 16.5	48.80 $\pm$ 66.2	2136 $\pm$ 752.6	229.9 $\pm$ 130.1	ND	ND
NIND	23.1 $\pm$ 10.7	408.6 $\pm$ 60.6	1.4 $\pm$ 2.8	1.4 $\pm$ 1.9	371.6 $\pm$ 69.1	453.4 $\pm$ 309.0	ND	ND

C. 研究結果

非ヘルペス性辺縁系脳炎, ヘルペス脳炎, 無菌性髄膜炎, 急性散在性脳脊髄炎, 非炎症性神経疾患の髄液中IL-8, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, IP-10, MCP-1, sTNF-R1, GM-CSF, 8-OHdGを測定し比較検討したところ, GM-CSFと8-OHdG以外の項目において, 非ヘルペス性辺縁系脳炎, ヘルペス脳炎, 無菌性髄膜炎, 急性散在性脳脊髄炎の4群はいずれも測定可能で(表1), 中枢内の炎症, 自己免疫機序による病態を反映していると考えられた。

ケモカインの上昇パターンとして急性散在性脳脊髄炎ではIP-10が最も高く, 逆にMCP-1は最も低下した(図1)。これまで多発性硬化症の解析に於いてTh1関連ケモカイン(IP-10など)が上昇し, Th2関連ケモカイン(MCP-1)が低下することが報告されているが, 急性散在性脳脊髄炎と多発性硬化症には脱髄性疾患としてTh1に関連した共通の病態があると考えられた。

性髄膜炎の3群間では, MIP-1 $\alpha$ , RANTESでは無菌性髄膜炎が高値を(図2), IL-8では非ヘルペス性辺縁系脳炎で高くなる傾向が見られたが(図3), ケモカインの上昇パターンに明らかな偏りは認められなかった。

本研究でケモカイン, サイトカインの測定が行われた各疾患群のうち9例で抗GluR抗体が測定され, 5例で陽性(NHLE 3例, HSE 1例, ADEM

図1.

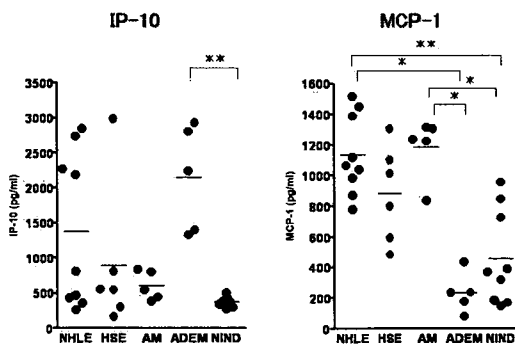


図2.

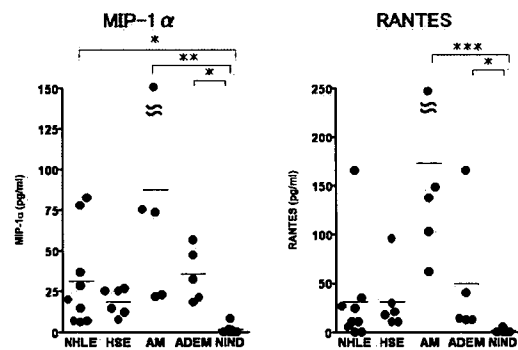
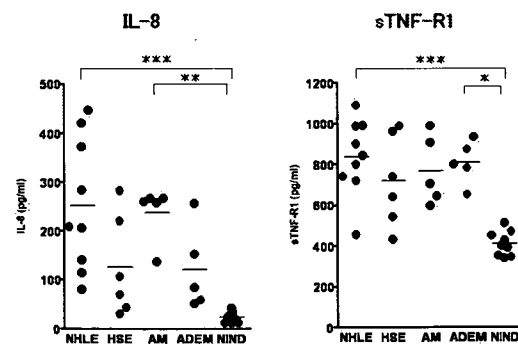


図3.



非ヘルペス性辺縁系脳炎, ヘルペス脳炎, 無菌

表2. 抗GluR抗体陽性群と陰性群との比較

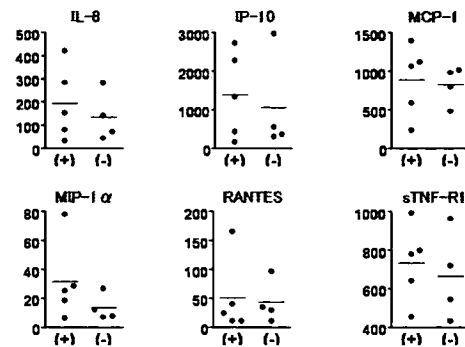
抗GluR抗体陽性		抗GluR抗体陰性	
NHLE	3例	NHLE	3例
HSE	1例	HSE	1例
ADEM	1例		

1例), 4例で陰性(NHLE 3例, HSE 1例)であったので(表2), 抗GluR抗体陽性群と陰性群とでケモカイン値を比較し, 自己免疫機序の関与について検討した。その結果, 抗GluR抗体陽性群では陰性群に比し全ての項目で高くなる傾向が認められた(図4)。

#### D. 考案

白血球遊走因子として知られるケモカインは近年, 白血球遊走因子の他にリンパ球の分化誘導, サイトカインの産生調整作用にも注目されている。中枢神経の脱髄性疾患である多発性硬化症はその病態においてCD4T細胞を介する細胞性免疫が関与しており, その中でもTh1細胞が重要な役割を担っている。多発性硬化症患者の髄液検体を用いたケモカインの解析ではIP-10やMIP-1 $\alpha$ などTh1反応に関連したケモカインが上昇することが知られており, またMCP-1はそのレセプターであるCCR2を発現し, その病態に深く関与するとされるT細胞が血液脳関門を越えて中枢神経内に侵入する際にCCR2により中和されて減少することが知られている。本研究において急性散在性脳脊髄炎の髄液では多発性硬化症と同じくIP-10の上昇とMCP-1の低下が認められ, この現象は他の疾患群には認められず, 急性散在性脳脊髄炎と多発性硬化症というTh1に関連した脱髄性疾患の病態における特徴であり, 非ヘルペス性辺縁系脳炎における自己免疫機序にはTh1反応を介した細胞

図4. 抗GluR抗体陽性群と陰性群との比較



性免疫の関わりはないと考えられた。非ヘルペス性辺縁系脳炎とヘルペス脳炎とで各種ケモカイン値を比較したところ有意な差は認められなかったが, IL-8値が非ヘルペス性辺縁系脳炎で高い傾向が見られた。IL-8は好中球に対する白血球遊走因子であるが, 視神経脊髄型多発性硬化症でも組織の障害が高度の場合にIL-8が上昇することが報告されており, 非ヘルペス性辺縁系脳炎においても遷延例や重症例ではIL-8が上昇している可能性が考えられた。

本研究では自己免疫機序, 特に抗GluR抗体の産生に関連して特異的なケモカイン, サイトカインが関連していないか, また酸化ストレスの影響がないかを検討するため, 抗GluR抗体陽性群と陰性群とで比較したところ有意さはなかったが測定可能な6つのケモカイン, サイトカインではいずれも抗GluR抗体陽性群で高くなる傾向が見られた。このことは自己抗体産生に関連して中枢内でこれらケモカイン・サイトカインを介した炎症免疫反応が高まっていること示唆していると考えられるが, 症例数が少なくさらなる検討が必要とする。

#### E. 結論

非ヘルペス性辺縁系脳炎には自己免疫が関与する症例が多く存在すると考えられるが, 原因, 病態は多岐にわたる。ケモカインの上昇パターンと各種自己抗体の有無との関連について検討することも今後の課題と考える。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Nakajima H, Sugino M, Kimura F, Hanafusa T, Ikemoto T, Shimizu A: Increased in trathecal chemokine receptor CCR2 expression in multiple sclerosis. *Biomaker Insight* 2: 463-468. 2007
- Nakajima H, Hosoya M, Takahashi Y, Matsuyama K, Tagami M, Ishida S, Furutama D, Sugino M, Kimura F, Shinoda K, Hanafusa T: A chronic progressive case of enteroviral limbic encephalitis associated with autoantibody to glutamate receptor  $\epsilon 2$ . *Eur Neurol* 57: 238-240. 2007
- Nakajima H, Hosokawa T, Sugino M, Kimura F, Hanafusa T, Ikemoto T, Shimizu A: The effect of Interferon-beta1b on expression of CXCR3 on circulating T cells in multiple sclerosis patients. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (proceedings) 79-83. 2007
- 中嶋秀人: 単純ヘルペス感染と脊髄炎、*Annual Review神経*2007:p106-113, 中外医学社, 東京 2007
- 中嶋秀人: HSV2型脊髄炎・髄膜炎. ヘルペス脳炎 -診療ガイドラインに基づく診断基準と治療指針- (日本神経感染症学会編). :

p93-103, 中山書店, 東京 2007

- 細川隆史, 中嶋秀人, 高崎智彦, 杉野正一, 木村文治, 花房俊昭: 髄液から日本脳炎ウイルスが検出された無菌性髄膜炎の1例. *臨床神経* 47: 109-111, 2007
- 中嶋秀人, 宇野田喜一, 山根一志, 伊藤 巧, 北岡治子: 2006年夏季に発症した成人の無菌性髄膜炎の検討. *大阪医科大学雑誌* 66 : 156-161, 2007

### 2. 学会発表

- 中嶋秀人 杉野正一 木村文治 花房俊昭. 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. 第48回日本神経学会総会 (2007/05/16-18, 名古屋)
- 中嶋秀人. <教育講演>単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン (成人). 第12回日本神経感染症学会総会 (2007/10/12-13, 福岡, 九州大学医学部百年講堂)

## G. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

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

HHV-6脳炎・脳症の発症メカニズム解析

研究協力者 吉川哲史  
藤田保健衛生大学医学部小児科 准教授

研究要旨

HHV-6初感染時の脳炎症例に対する有効な治療法確立を目指し、HHV-6脳炎の髄液中ウイルス量、サイトカイン濃度の解析を行った。HHV-6脳炎・脳症19例中5例（26.3%）でCSF中からHHV-6 DNAが検出（2.25-178.5 copies/ml）されたが、コントロール群では陽性例はなかった。CSF中サイトカイン及びMMP-9については、HHV-6脳炎・脳症のCSF中IL-8、IL-6、MMP-9が非HHV-6 FC群と比較して有意に高値を示した。さらにHHV-6脳炎・脳症患者のCSF中IL-8濃度は、HHV-6 FC群より有意に高値を示した。HHV-6脳炎患者髄液では、ウイルスDNAが検出されるとしてもその量は少なく、局所での炎症性サイトカインが病態に重要な役割を演じていることが推測された。

A. 研究目的

HHV-6は、生後6ヶ月から1歳にかけて殆どの乳児に初感染し突発性発疹症を引き起こす。さらに初感染後宿主体内に潜伏感染し、臓器移植などにより免疫抑制状態に陥ると再活性化する。一般に予後良好な疾患ではあるが、初感染時の合併症の中では熱性痙攣の頻度が比較的高く、稀に脳炎、脳症を起こす。また、骨髄移植をはじめとする免疫抑制状態下の患者においても、中枢神経系合併症を起こすことが知られている。特に最近、画像診断上海馬に異常所見を認め、記憶障害を伴う症例の報告が相次いでおり注目に値する。中枢神経系合併症発症機序としては、ウイルスによる中枢神経系への直接侵襲とpost-infectiousな脳炎発症メカニズムがあると推測される。

HHV-6脳炎・脳症は、我々が実施した全国調査の結果から、年間約80例程度の発生があり、そのうち半数に重い神経学的後遺症を残すことが明らかになった。本研究ではHHV-6脳炎・脳症の発症メカニズムを解明するために、脳脊髄液

（CSF）中ウイルスDNA量とサイトカイン、MMP-9濃度について検討した。

B. 研究方法

対象は血清学的診断あるいは血清中のHHV-6 DNA検出によって診断された、HHV-6脳炎・脳症19例、HHV-6初感染時の複雑型熱性痙攣5例（HHV-6 FC群）およびHHV-6感染を否定された複雑型熱性痙攣19例（非HHV-6 FC群）の3群。いずれも発症後48時間以内にCSFを採取されている。CSF中HHV-6 DNA量はreal-time PCR法により測定。また、CSF中サイトカイン量（IL-8、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ 、IL-12p70）はCytometric Bead Arrayによって、CSF中MMP-9はELISA（Amersham Biosciences）によって測定した。

（倫理面への配慮）

尚、本研究は本学倫理審査委員会により承認され、検体採取に際しては患児の保護者からの同意を得た後測定した。



### C. 研究結果

3群間において年齢、性別に有意差はなかった。HHV-6脳炎・脳症19例中5例（26.3%）でCSF中からHHV-6 DNAが検出（2.25-178.5 copies/ml）されたが、他の2群では陽性例はなかった。CSF中サイトカイン及びMMP-9については、HHV-6脳炎・脳症のCSF中IL-8（578.4±735.2 vs. 151.9±106.9 pg/ml,  $P=0.008$ ）、IL-6（63.1±103.3 vs. 14.1±11.3 pg/ml,  $P=0.032$ ）及びMMP-9（10.6±7.9 vs. 6.3±5.5 pg/ml,  $P=0.004$ ）が非HHV-6 FC群と比較して有意に高値を示した。さらにHHV-6脳炎・脳症患者のCSF中IL-8濃度は、HHV-6 FC群より有意に高値を示した（578.4±735.2 vs. 151.9±106.9 pg/ml,  $P=0.025$ ）が、IL-6（ $P=0.057$ ）、MMP-9（ $P=0.069$ ）を含めその他のサイトカインについては、HHV-6 FC群と比較して有意な差を認めなかった。また、HHV-6 FC群、非HHV-6 FC群間ではCSF中のこれらバイオマーカー濃度に差はなかった。さらにHHV-6脳炎・脳症には有熱期から神経症状が出現する型（一次性脳炎）と解熱後の発疹期に神経症状が出現する型（免疫関連脳炎）に分けられるが、この2群間でCSF中の6種類のサイトカイン、MMP-9濃度に有意差はなかった。

### D. 考察

HHV-6脳炎・脳症の発症には、ウイルスの中樞神経系への直接侵襲よりは、サイトカインを介した中樞神経局所での炎症反応が脳炎・脳症発症に重要な役割を演じていると考えられる。治療法を考える上で、インフルエンザ脳症に準じた抗サイトカイン療法を中心とした治療の有用性が示唆される。

### E. 結論

HHV-6初感染時の脳炎発症に、炎症性サイトカインが重要な役割を演じていることが示唆

された。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Rapid detection of Epstein-Barr virus DNA by loop-mediated isothermal amplification method. Iwata S, Shibata Y, Kawada J, Hara S, Nishiyama Y, Morishima T, Ihira M, Yoshikawa T, Asano Y, Kimura H. *J Clin Virol* 37:128-133, 2006
2. Human herpesvirus 6 reactivation and inflammatory cytokines in patients with drug induced hypersensitivity syndrome. Yoshikawa T, Fujita A, Yagami A, Suzuki K, Matsunaga K, Ihira M, Asano Y. *J Clin Virol* 37: S92-96, 2006..
3. Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by the loop-mediated isothermal amplification method. Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Fujita A, Sugata K, Suga S, Ohashi M, Nishimura N, Ozaki T, Asano Y, Yoshikawa T. *J Clin Virol* 2007 39:22-6.
4. Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay. Wada K, Kubota N, Ito Y, Yagasaki H, Kato K, Yoshikawa T, Ono Y, Ando H, Fujimoto Y, Kiuchi T, Kojima S, Nishiyama Y, Kimura H. *J Clin Microbiol.* 2007 45:1426-32.
5. Rapid detection of human herpesvirus 8 DNA using loop-mediated isothermal amplification. Kuhara T, Yoshikawa T, Ihira M, Watanabe D, Tamada Y, Katano H, Asano Y, Matsumoto Y. *J Virol Method* 2007 144: 79-85.
6. Human herpesvirus 6 infection in adult living related liver transplant recipients. Ohashi M, Sugata K, Ihira M, Asano Y, Egawa H, Takada Y, Uemoto S, Yoshikawa T. *Liver Transplant* 2008 14:100-9.
7. Single episode of Behcet's disease-like symptoms caused by herpes simplex virus reactivation. Sugata K, Enomoto Y, Sugiyama H, Fujita A, Miyake F, Asano Y, Yoshikawa T. *Pediatr Intern* (in press)

#### 2. 学会発表

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
分担研究報告書

1. 吉川哲史、河村吉紀、菅田 健、臼井千絵、須賀定雄、浅野喜造 HHV-6 脳炎、脳症の発症機構解析 第 12 回日本神経感染症学会 2007 年 10 月 12 日～13 日、福岡
2. 吉川哲史 教育講演 6、単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン 第 12 回日本神経感染症学

会 2007 年 10 月 12 日～13 日、福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

知的財産権の出願・登録は行っていない。

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

グルタミン酸受容体自己免疫の基礎的検討

分担研究者 森 寿  
富山大学大学院医学薬学研究部 教授

研究要旨

急性脳炎の新たな自己抗原スクリーニング系の開発を目的に、T7ファージディスプレイ法を用いて、急性脳炎患者血清抗体に反応する抗原分子のスクリーニングを行い、NOLC1蛋白質を同定しELISA法を構築した。

A. 研究目的

急性脳炎の病理、病態の分子機構を明らかにすることは、新たな治療法の開発や後天的な精神・身体障害を軽減し、国民福祉に貢献する重要な課題である。我々は急性脳炎の発症機構について、グルタミン酸受容体(GluR)に焦点をあてた研究を進めている。GluRチャネルは、脳高次機能の基礎と考えられるシナプス可塑性、神経回路形成に深く関わる分子である。一方でGluRチャネルの異常な活性化は急性、慢性の脳疾患で観察される神経細胞死において中心的役割を果たしている。我々は、小児の慢性進行性持続性部分てんかん症例の血清及び髄液中にNMDA型GluR $\alpha$ 2サブユニットに対する自己抗体を見出し、この疾患に関わる可能性を示唆した。本研究は、グルタミン酸受容体自己免疫の基礎的検討をすすめるために、1) GluRチャネルサブユニットに対する新たな自己抗体スクリーニング系の開発、ならびに 2) 急性脳炎患者血清抗体が認識している抗原分子を同定するためにヒト脳由来cDNAを発現する組換えT7ファージライブラリーを用いたスクリーニングと得られたクローンの解析を目的として研究をすすめるものである。本年度は 2)の課題に関して研究成果が得られた。

B. 研究方法

T7ファージキャプシド上に発現させたヒト脳cDNA由来融合蛋白を、脳炎患者血清を用いて網羅的にスクリーニングした。まず、ヒト脳由来cDNAを組み込んだT7ファージライブラリーを用いて、正常者血清抗体とは反応せず、脳炎患者血清抗体と特異的に反応するクローンの選択を行った。さらに、得られたcDNAクローン由来組換え蛋白質を用いてELISA法を確立した。（倫理面への配慮）

本研究には遺伝子組換え実験が含まれるので、本学の組換えDNA実験安全委員会に研究申請を行い、第二種使用等拡散防止措置の確認を受けて実施した。また、使用した急性脳炎患者血清ならびに正常者血清は、本学小児科との共同研究として本学倫理委員会に研究申請を行い、承認を受けた後に、インフォームドコンセントのもとに採取されたものを使用した。

C. 研究成果

ヒト脳由来cDNAを組み込んだT7ファージライブラリーを用いて、正常者血清抗体と反応するクローンを除いた後に、脳炎患者血清抗体と特異的に反応するクローンの濃縮を進めた。その結果、新たに脳炎患者血清抗体に反応するク

ローンとしてNucleolar and coiled-body phosphoprotein 1 (NOLC1, NM\_004741)を同定した。このNOLC1DNA断片を大腸菌発現ベクターに挿入し、組換え蛋白質を発現精製し、ELISA プレートを作製した。患者群混合血清と健常者群混合血清を用いてELISAを実施した結果、患者群血清ではコントロールの $\beta$ -galactosidase蛋白質に対する反応に比してNOLC1蛋白質に対し有意に高い反応を示した。さらに、患者個人の血清を希釈し、ELISAを行なった結果、用いた15サンプルのうち1つで、1600倍希釈した血清を用いてもNOLC1蛋白質に対する強い反応が検出された。また、この研究成果の他に、脳内D-セリンの解析とFocal adhesion kinase (FAK)のコンディショナルノックアウトマウスの解析を行ない報告した。

#### D. 考察

T7ファージライブラリーから脳炎患者血清抗体に反応するクローンとしてNOLC1タンパク質を同定した。患者サンプル中の1つがNOLC1に非常に高い反応性を示し、このサンプルはRasmussen型脳炎の患者由来であったが、同じ患者由来血清の異なる時点の採血血清では高値を示していなかった、従ってNOLC1に対する自己抗体の出現は、Rasmussen型脳炎の特定の状況や治療経過を反映したものである可能性が考えられた。今後、試料数を増やしてNOLC1抗体の存在を検討するとともに、今回のスクリーニングで得られたクローンの解析を進める必要があると考えられた。

#### E. 結論

T7ファージ発現系を用いて、脳炎血清中に存在する抗体が認識する分子として、NOLC1を同定しELISAを構築した。今後、脳炎病態とNOLC1抗体の機能的意義について検討する必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

- 1) Zhao Ying-Luan, 森寿、哺乳類中枢神経系におけるD-セリンの役割、神経研究の進歩、57巻、p725-730、2007年
- 2) 高野志保, 森寿、グルタミン酸受容体の分子生物学、医学のあゆみ、223巻、p265-269、2007年
- 3) Effects of FAK ablation on cerebellar foliation, Bergmann glia positioning and climbing fiber territory on Purkinje cells. Watanabe F., Miyazaki, T., Takeuchi, T., Fukaya, M., Nomura, T., Noguchi, S., Mori, H., Sakimura, K., Watanabe, M., Mishina, M. Eur. J. Neurosci., 27, 836-854 (2008)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

CNSループス患者における新規抗神経抗体の検出と認識抗原の同定

分担研究者 犬塚 貴

岐阜大学大学院医学系研究科 神経内科・老年学分野教授

研究要旨

CNSループス患者6名と健常者12名の血清中に存在する抗神経抗体を二次元免疫ブロット法により検出した。一人あたりの抗体反応スポット数はCNSループス患者で約6～12個、健常者で約2～38個であった。そのうち健常者血清に反応せずCNSループス患者の血清に反応した抗体反応スポットは9個であった。これらのスポットに対し高感度ナノLC-MS/MSシステムを用い、このうちの6個の抗原蛋白を同定した。

A. 研究目的

CNSループス患者の血清中より疾患特異的な抗神経抗体を検出し、その認識抗原を同定することにより同疾患のバイオマーカーを確立する。

サンプルとして使用したラット脳に関しては、岐阜大学大学院医学系研究科動物実験委員会の承認を得た上で施行した。

B. 研究方法

アメリカリウマチ学会の診断基準を満たしたCNSループス患者6名と健常者12名の血清を用い、二次元免疫ブロッティングを施行し抗神経抗体を検出した。ラット大脳ホモジネートより作製した膜蛋白および細胞内可溶性蛋白画分を抗原として用い、一次元目等電点電気泳動用のゲルに13cm, pH4-7のプレキャストゲルを使用した。同時に2枚のゲルで展開し、1枚をCBBで染色し他方の免疫ブロットスポットとマッチングを行った。一致したスポットのうち健常者血清に反応せずCNSループス患者の血清に反応したスポットにつきゲル内トリプシン消化を行いLC-MS/MSシステムによりペプチドのアミノ酸配列を解析した。さらにそこから得られた結果を、データベース検索により抗神経抗体の認識抗原蛋白を同定した。

C. 研究結果

一人あたりの抗体反応スポット数はCNSループス患者で約6～12個、健常者で約2～38個であった。そのうち健常者血清に反応せずCNSループス患者の血清に反応したスポットは9個であった。これらの抗体反応スポットに対し質量分析を施行した結果、Stress-70 protein、Rab GDP dissociation inhibitor alpha、Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha、L-lactate dehydrogenase B chain、F-actin-capping protein subunit alpha-2、Rab GDP dissociation inhibitor betaの計6種類の蛋白を同定した。

（倫理面への配慮）

D. 考察

CNSループスにおけるバイオマーカーの確立のためには、今回同定したこれらの抗原蛋白につき、さらに多数のコントロール血清を用いて疾患特異

性を確認する必要がある。また今回検索範囲に入らなかったpH7以上の塩基性蛋白に対する検討が必要であると考えた。

#### E. 結論

二次元免疫プロットおよび高感度ナノLC-MS/MSシステムを用い健常者血清には存在せずCNSループス患者血清中に存在する抗体認識抗原蛋白としてストレス蛋白、小胞輸送に関連する蛋白、ミトコンドリア代謝に関連する蛋白、解糖系酵素、細胞骨格に関連する蛋白の計6種類を同定した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1、論文発表

- Kimura A, Sakurai T, Suzuki Y, Hayashi Y, Watanabe O, Arimura K, Takahashi Y, Hozumi I, Inuzuka T: Autoantibodies against Glutamate Receptor  $\epsilon_2$ -Subunit Detected in a Subgroup of Patients with Reversible Autoimmune Limbic Encephalitis. *Eur Neurol.* 2007;58:152-158.
- Kimura A, Sakurai T, Tanaka Y, Hozumi I, Takahashi K, Takemura M, Saito K, Seishima M, Inuzuka T. Proteomic analysis of autoantibodies in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus patient with white matter hyperintensities on brain MRI. *Lupus.* 2008;17:16-20.
- Kimura A, Sakurai T, Koumura A, Suzuki Y, Tanaka Y, Hozumi I, Nakajima H, Ichiyama T, Inuzuka T. Longitudinal analysis of cytokines and chemokines in the cerebrospinal fluid of a patient with neuro-Sweet disease presenting with recurrent encephal meningitis. *Internal Medicine.* 2008;47:135-141.
- 木村暁夫、保住 功、高橋幸利、犬塚 貴：

抗GluR  $\epsilon_2$ 抗体陽性成人急性脳炎患者の臨床的特徴ならびに免疫組織学的解析 医学のあゆみ 2007;223;300-301.

##### 2、学会発表

- 木村暁夫、櫻井岳郎、山田 恵、香村彰宏、林 祐一、田中優司、保住 功、犬塚 貴. CNS lupus患者における2D-immunoblotting, LC-MS/MSを用いた抗神経抗体認識抗原の解析. 第48回日本神経学会総会 名古屋 2007, 5, 16
- 木村暁夫、香村彰宏、櫻井岳郎、鈴木欣宏、田中優司、保住 功、犬塚 貴. 非傍腫瘍性非ヘルペス性辺縁系脳炎患者における抗神経組織抗体の解析. 第19回日本神経免疫学会学術集会 金沢 2007, 4, 13

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

## 急性辺縁系脳炎・脳症が疑われた剖検例の海馬の免疫組織学的検討と、患者 髄液中での抗 GluR $\delta$ 2 抗体の検討

分担研究者 岡本 幸市  
群馬大学 脳神経内科学 教授

### 研究要旨

急性辺縁系脳炎・脳症が疑われた 4 剖検例と虚血による海馬病変のみられた 11 例の海馬領域を病理組織学的に比較検討した。急性辺縁系脳炎・脳症の海馬病変は、残存神経細胞の形態と抗 GluR2 抗体に対する染色性からは、単なる虚血によるものとしては説明困難と思われた。市販の抗 GluR  $\delta$  2 抗体は、マウス小脳 GluR  $\delta$  2 タンパク質と特異的に結合した。これに対し、8 例の患者（オプソクローヌス 1 例、脳炎 5 例、ALS 2 例）髄液を用いたいずれのレーンでも、GluR  $\delta$  2 タンパク質を特異的に認識するバンドはみられなかった。

研究協力者：坂野晴彦<sup>2</sup>，吉田眞理<sup>3</sup>，高玉真光<sup>4</sup>，鈴木 豊<sup>5</sup>，高山清彦<sup>6</sup>，平井宏和<sup>6</sup>（1 群馬大学神経内科，2 名古屋大学神経内科，3 愛知医大加齢研神経病理，4 老年病研究所附属病院，5 伊勢崎市民病院病理 6 群馬大学神経生理学）

### A. 研究目的

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の剖検報告は少ない<sup>1)・4)</sup>。以下の 3 点を明らかにすることを目的として研究を行った。1) 急性辺縁系脳炎・脳症の海馬病変を虚血による海馬病変と比較検討する。2) 急性辺縁系脳炎・脳症の病態にグルタミン酸受容体 (GluR) 自己抗体が関与していることが示唆されているので、市販の抗 GluR 抗体を用いて剖検例を検索する。3) 脳炎例で髄液中に抗 GluR  $\delta$  2 抗体が存在するか否かを試験的に検討する。

### B. 研究方法

昨年度報告した症例の中から、三重大学例を除く 4 例(症例 1:43 歳女性(老年病研究所例)，

全経過 28 日，症例 2:27 歳女性(名古屋大学・愛知医大例)，全経過 50 日，症例 3:32 歳女性(前田らの報告例)，全経過 25 日，症例 4:59 歳女性(伊勢崎市民例)，肺癌があり全経過 11 ヶ月)の海馬領域と、老年病研究所附属病院での剖検例から虚血による海馬病変のみられた 11 例(54 歳～90 歳，全経過 17 日～11 ヶ月)，海馬に病変のみられない対照 5 例のホルマリン固定パラフィン切片に対して、AMPA 型の抗 GluR2 ポリクロナール抗体 (Epitomics) と、抗 NMDAR2B モノクロナール抗体を用いて免疫染色をした。マウスの大脳と小脳のタンパク質 5  $\mu$ g を各レーンに流し、患者髄液、市販の抗 GluR  $\delta$  1/2 抗体 (Chemicon) で membrane を 60 分間反応させ、2 次抗体で 45 分間反応させた。

(倫理面への配慮)

剖検例は、遺族から承諾書を得ており、組織は丁重に取り扱った。

### C. 研究結果

虚血 14 日～17 日後では、海馬 CA1 には断血性変化や神経細胞周囲に空胞化がみられ、慢性期例では星膠細胞の増生が顕著であった。症例 1 では海馬の神経細胞脱落と gliosis を認めたが、残存神経細胞には断血性変化はみられなかった。症例 2 と 3 では神経細胞に断血性変化はみられなかった。症例 4 では神経細胞脱落と肥はん型星膠細胞の増生が高度であった。

今回用いた市販の抗 NMDAR2B 抗体による免疫染色では、前処理をしてもヒトの側頭葉では陽性所見は得られなかった。

抗 GluR2 抗体を用いた検討では、対照例の CA1 領域では neuropil に陽性所見がみられたが神経細胞には陽性所見はみられなかった。虚血による CA1 病変では、慢性期例で neuropil での GluR2 の発現低下と神経細胞に発現増加がみられた。傍腫瘍性症候群が考えられた症例 4 では CA1 の残存神経細胞に GluR2 の発現がみられたが、急性辺縁系脳炎・脳症が疑われた他の症例 1～4 では同部位の神経細胞には発現増加はほとんどみられなかった。

市販の抗 GluR  $\delta$  2 抗体は、マウス小脳 GluR  $\delta$  2 タンパク質と特異的に結合した。これに対し、8 例の患者（オプソクロームス 1 例、脳炎 5 例、ALS 2 例）髄液を用いたいずれのレーンでも、GluR  $\delta$  2 タンパク質を特異的に認識するバンドはみられなかった（図）。

### D. 考察

今回の急性辺縁系脳炎・脳症が疑われた 4 剖検例と虚血による海馬病変との比較した結果、4 剖検例の海馬病変は、残存神経細胞の形態と抗 GluR2 抗体に対する染色性からは、単なる虚血による海馬病変としては説明困難と思われた。

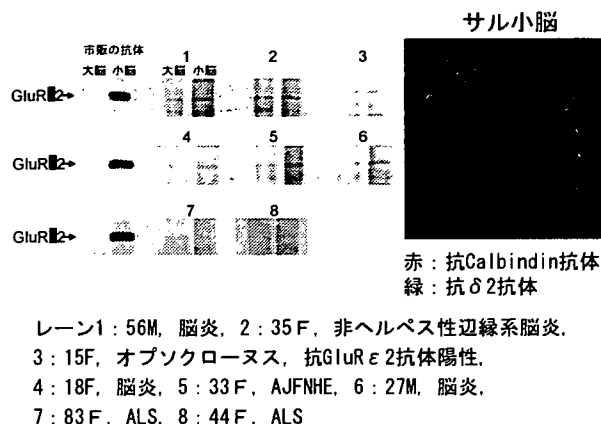


図 患者髄液と市販の抗 GluR  $\delta$  1/2 抗体による検討

急性辺縁系脳炎・脳症の剖検例の報告はなお少なく、さらに症例数を増して検討する必要がある。また最近、卵巣奇形腫との関連性も指摘されており<sup>5)</sup>、卵巣奇形種合併例と非合併例との比較検討も必要である。

今回の検討ではマウスの GluR  $\delta$  2 タンパク質を用いたため、患者髄液中の自己抗体（抗ヒト GluR  $\delta$  2 抗体）と反応しなかった可能性がある。今後ヒトの GluR  $\delta$  2 をクローニングし、ヒト GluR  $\delta$  2 タンパク質を用いて患者髄液中の抗 GluR  $\delta$  2 抗体の有無を調べる必要がある。

### E. 結論

急性辺縁系脳炎・脳症が疑われた 4 剖検例と虚血による海馬病変のみられた 11 例の海馬領域を病理組織学的に比較検討した結果、急性辺縁系脳炎・脳症の海馬病変は、残存神経細胞の形態と抗 GluR2 抗体に対する染色性からは、単なる虚血によるものとしては説明困難と思われた。

### F. 文献

- 1) Mochizuki Y et al: Neurosci Lett, 94: 5, 2006.
- 2) 牧 聡樹ら: 日本神経病理学会 (抄), 2004.



- 3) 前田 進ら：最新医学, 29:568, 1974.
- 4) 亀井 聡：神経進歩, 48:827, 2004.
- 5) Dalmau J et al: Ann Neurol, 61:25, 2007.

#### G. 健康危険情報

特になし.

#### H. 研究発表

##### 1.論文発表

- 1) Okamoto K, Yamazaki T, Banno H, Sobue G, Toshida M, Takatama M: Neuropathological studies of patients with possible non-herpetic acute limbic encephalitis and so-called acute juvenile female non-herpetic encephalitis. Internal Medicine, (in press).
- 2) 岡本幸市：急性辺縁系脳炎・脳症の病理. 医学のあゆみ, 223:291-294, 2007.

##### 2.学会発表

なし

#### I. 知的所有権の取得状況

##### 1.特許取得

なし

##### 2.実用新案登録

なし

##### 3.その他

なし

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

## 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の剖検例の病理学的検討

分担研究者 栗山 勝

福井大学医学部病態制御医学内科学2 教授

### 研究要旨

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（non-herpetic acute limbic encephalitis: NHALE）が注目されているが、その剖検報告は極めて少ない。今回我々は、合併症のために死亡したNHALEの剖検症例を経験したので病理学的検討を行った。脳病理所見は、臨床症状が極めて重篤である割に所見は軽度であり、扁桃体、海馬、尾状核の一部に軽度～中等度のgliosis、神経細胞の萎縮・変性、脱落を認めたが、リンパ球浸潤などの炎症性変化はごく軽度であった。これは、岡本らの報告症例（平成18年度本学会報告）の病理所見と類似しており、一つの臨床病理学的一群を形成すると考えられる。

研究協力者：濱野忠則<sup>1)</sup>、佐藤慶史郎<sup>1)</sup>、松永晶子<sup>1)</sup>、米田 誠<sup>1)</sup>、大越忠和<sup>2)</sup>、内木宏延<sup>2)</sup>、高橋幸利<sup>3)</sup>、山田光則<sup>4)</sup>（<sup>1)</sup>福井大学医学部内科学2、<sup>2)</sup>同 分子病理学、<sup>3)</sup>国立静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部・小児科、<sup>4)</sup>新潟大学脳研究所 病理学）

### A. 研究目的

今回我々は、合併症のために死亡した非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（non-herpetic acute limbic encephalitis: NHALE）の剖検症例を経験したので病理結果を報告する。

### B. 研究方法

症例：39歳女性。リンパ節腫大、発熱の4日後、異常行動が出現。その翌日に意識障害と全身痙攣が出現し当院に搬送された。入院時の髄液検査では、細胞数6 /  $\mu$ l、蛋白52 mg/dl、糖 127mg/dlであった。頭部MRIは経過中異常所見を認めなかった。入院後アシクロビル、デキサメタゾンによる加療を開始。痙攣のコントロールが不良であり、人工呼吸

管理下で各種抗てんかん薬を投与された。しかし、第38病日目から著明な皮疹、肝機能障害、急性腎不全が出現し薬剤性過敏症候群による多臓器不全を疑い、抗てんかん薬を全て中止し、持続濾過透析、mPSLパルス療法、血漿交換を施行した。しかし第44病日にはMRSA肺炎に伴う敗血症性ショック、DICを発症。第76病日に死亡した。

（倫理面への配慮）

抗GluR抗体の測定にあたっては、国立静岡てんかん・神経医療センター倫理委員会において承認を受けた。研究については患者本人への十分な説明を行い、文書で同意を得ている。個人の情報は決して表に出ることがないように細心の注意を払い、プライバシーの保護には十分に配慮した。

### C. 研究結果

血清学的検討：

髄液HSV・VZVのPCR、および抗体価は陰性であった。HHV-6・HHV-7のPCRは2度の測定とも陰性であった。血清中各種自己抗体は全て

陰性。抗GluR抗体に関しては、入院時の血清IgG-ε2抗体(+)、IgM-ε2(±)、剖検時、血清IgG-ε2抗体(-)、IgM-ε2(+)、であり、髄液中の抗体はいずれも陰性であった。

#### 病理学的検討：

直接死因は両側気管支肺炎であり、一部CMV感染巣を認めた。肝腫大高度で肝内胆汁うっ滞を認め、軽度の腎腫大、尿細管壊死を認めた。また、悪性腫瘍、卵巣の奇形腫は認めなかった。脳重は1,300gで軽度浮腫状であった。組織所見では全体的にうっ血が目立ち、扁桃体、海馬CA-1、CA-3、CA-4領域、尾状核の一部に軽度～中等度のgliosis、及び神経細胞の萎縮・変性、脱落を認めた。リンパ球の浸潤は穿通枝周囲にごく軽度認めるに留まった。線条体、大脳皮質にAlzheimer II型グリアの出現も認めた。なお、剖検時の髄液培養では細菌、抗酸菌、真菌は検出されなかった。

#### D. 考察

1. 多臓器不全、および重症肺炎を来し死亡したため、脳炎そのものの予後は不明であるが、検査結果や経過からはNHALEであると考えられた。
2. 抗GluR抗体と病態との関わりは明らかでなかった。
3. 病理所見は、臨床症状が極めて重篤である割に炎症所見に乏しく、海馬・扁桃体に神経細胞の脱落・変性、gliosisが認められ、岡本らの報告例（平成18年度本班会議報告、Neuroinfection, 2006）の病理所見と類似していた。

#### E. 結論

NHALEの中で臨床病理学的一群を形成すると

考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) M. Yoneda, A. Fujii, A. Ito, H. Yokoyama, H. Nakagawa, M. Kuriyama. High prevalence of serum autoantibodies against the amino terminal of α-enolase in Hashimoto's encephalopathy. *J Neuroimmunol* 2007;185:195-200.
- 2) H. Nakagawa, M. Yoneda, A. Fujii, K. Kinomoto, and M. Kuriyama. Hashimoto's encephalopathy presenting with progressive pure cerebellar ataxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2007;78:196-7.

##### 2. 学会発表

- 1) 栗山勝, 米田誠. 非ヘルペス性辺縁系脳炎. 自己免疫性病因の立場から. 第12回日本神経感染症学会. 福岡, 2007. 10.
- 2) 佐藤慶史郎, 濱野忠則, 三田建一郎, 松永晶子, 前田亜佐<sup>1)</sup>, 井川正道, 横山広美, 山村修, 米田誠, 大越忠和, 内木宏延, 高橋幸利, 山田光則, 栗山勝. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1剖検例. 第12回日本神経感染症学会 2007. 10 福岡.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

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

## 脳炎、脳症に対する新しいMRI撮像方法による画像解析の試み

分担研究者 梶 龍兒 徳島大学神経内科 教授

### 研究要旨

これまでにわれわれは多発性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、クロイツフェルト・ヤコブ病におけるDTI、MRS解析を行ってきた。今回の自験例（脳炎・脳症）に対する検討でも臨床経過を反映しており、これら新しいMRI撮像方法は病態の把握、モニタリングに有用である可能性が高い。これは血清・髄液などを用いたマーカーとともに臨床的意義の高いものであり、非侵襲的な診断ツールとして今後もデータを集積していきたい。

研究協力者：中根俊成（徳島大学神経内科）

#### A. 研究目的

脳炎、脳症の診断、病態の把握に画像検査の寄与が大きいことは知られている。なかでも頭部MRI検査は一般的な検査であるが、近年は拡散テンソル画像（DTI）、MRスペクトロスコピー（MRS）など新しい撮像方法は、通常のMRIに付加する情報が期待されている。今回は脳炎、脳症の自験例についてDTIによるADC（apparent diffusion coefficient）およびFA（fractional anisotropy）解析、MRSにおけるデータと症状経過の関連を検討したので報告する。

#### B. 研究方法

頭部MRI検査：3T MR装置としてGE社製Signa 3.0T VH/i 頭部用標準コイル、データ処理にはGE社製AW4.2を用いた。テンソル画像の撮像条件は $b = 1000 \text{ s/mm}^2$ 、slice厚4mm、MPG 6軸、matrix 128x128、1NEXとした。ここで得られた拡散テンソル画像をもとにADC map、FA mapを作成し、それぞれにおいて水の拡散の激しさ（浮腫の評価など）、神経線維の拡散異方性の程度について数値を求めた。これらは従来行われてきた頭部MRI検査（T1強調画像、T2強調画像、FLAIR、ガドリニウム増強T1強調画像）に追加して施行された。MRSではデータはsingle voxel法およびchemical shift

imaging法にて関心領域を設定した部位より収集した。Single voxel法では各々 $15 \times 15 \times 15 \text{ mm}^3$ の関心領域を脱髄巣に設定した。得られたスペクトラムよりCholine, Creatin, N-acetyl aspartateなどのピークを同定した。

（倫理面への配慮）

患者から同意を得た後、症例情報を検討した。

#### C. 研究結果：症例

- ① 症例1：70歳、女性。進行性多巣性白質脳症（PML）の1例であったが、従来のMR撮像で病的変化の強い箇所ではDTIにてADC値の上昇、FA値の低下、MRSにてNAAの低下を認めた。これはPMLによる病理変化と合致するものであり、すべての病変部が一樣に同じ構造変化をたどるものではないことがわかった。
- ② 症例2：19歳、男性。骨肉腫の術前化学療法（メソトレキセート（MTX）大量療法）を施行しており、当日の頭部MRI拡散強調像にて両側半卵円中心に対称性の高信号域を認めMTX脳症と診断した。症状は一過性であったが、この数日間の変化としてADCおよびFAの一過性の低下を認めた。しかし症状改善とともにこれらの値も正常範囲内に復した。

#### D. 考察、結論