

## 抗グルタミン酸受容体抗体と急性脳炎・脳症

Autoantibodies against glutamate receptors in acute encephalitis and encephalopathy



高橋幸利(写真) 山崎悦子

Yukitoshi TAKAHASHI<sup>1,2</sup> and Etsuko YAMASAKI<sup>1</sup>国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター<sup>1</sup>, 岐阜大学医学部小児病態学<sup>2</sup>

◎ウイルス直接侵襲によらない急性脳炎の病態メカニズムには不明な点が多い。神経症状出現時に意識障害が軽度で辺縁系症状で発症する限局性脳炎型症例と、初発直後より重度の意識障害がみられる広汎性脳炎型症例に分類し、グルタミン酸受容体(GluR)に対する自己抗体を検討した。限局性脳炎型の髄液中の抗GluR $\epsilon$ 2抗体は発病初期に陽性となり、N末端エピトープを含むのに対し、広汎性脳炎型では回復期・慢性期に陽性化する症例が多い。以上より、限局性脳炎型では感染により産生された抗体がGluR $\epsilon$ 2分子とも反応する特性を有し、血管の透過性亢進などにより中枢神経系に至り脳炎病態の一部に関与している可能性がある。



急性脳炎, 急性脳症, 辺縁系脳炎, グルタミン酸受容体, 自己抗体

急性脳炎は年間2,000人前後発生しているものと思われ、亀井らによる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2,200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%, 原因のわからないものが50%を占めている<sup>1)</sup>。ウイルス性のうち単純ヘルペス脳炎などはウイルスの直接侵襲が神経細胞に及ぶことがわかっているが、ウイルス性でも神経細胞内にウイルスがみつからない場合も多く、そのようなウイルス性脳炎の病態は不明である。また、成人では感染の先行なく脳炎症状がはじまり原因不明に分類される症例も多く、急性脳炎・脳症の病態は未解明な点が多い。

## 抗グルタミン酸受容体抗体研究のはじまり

グルタミン酸受容体(GluR)に対する自己抗体の研究は、AMPA型GluR3に対する自己抗体がRasmussen脳炎患者血清中に存在することを1991年にRogersらが見出したのを契機にはじまった<sup>2)</sup>(「サイドメモ」参照)。NMDA型GluRのひとつで

あるマウスGluR $\epsilon$ 2は胎生期には広く中枢神経系に発現し、生後は前脳に限局するサブユニットで、NMDA受容体依存的シナプス可塑性と記憶・学習にかかわる重要な分子である。

著者らは、GluR $\epsilon$ 2に対する自己抗体高感度測定系と抗GluR $\epsilon$ 2自己抗体のエピトープ解析シス

サイド  
メモ

## Rasmussen脳炎

Rasmussen脳炎とは、神経症状のない健常人に何らかの先行感染症(上気道炎・急性扁桃炎など)があった後に難治てんかんが発病し、①epilepsia partialis continua(EPC)・複雑部分発作などのてんかん発作が難治に経過、②ゆっくり進行する片麻痺と退行、③一側性の神経画像変化、④血管周囲炎症細胞浸潤・マイクログリア結節などの限局性脳炎の組織所見などを特徴とし、亜急性の経過をとる進行性の疾患である。Rasmussen症候群では抗GluR3抗体以外に抗GluR $\epsilon$ 2抗体、抗acetylcholine receptor  $\alpha$ 7 subunit抗体、抗munc-18抗体などもみつかり、細胞障害性T細胞の発病時における役割がより重視されてきている。

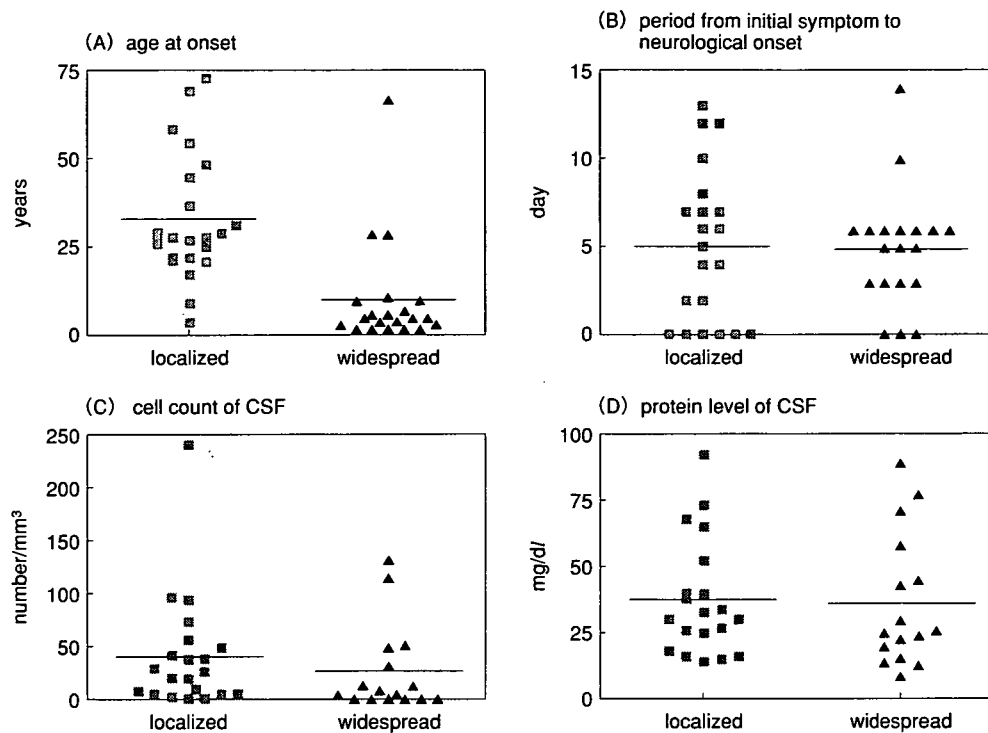


図 1 限局性脳炎型、広汎性脳炎型の臨床特徴  
 A：発病年齢，B：発病から神経症状出現までの日数，C：髄液細胞数，D：髄液蛋白濃度。

テムを構築し、まず Rasmussen 症候群において測定を開始した<sup>3)</sup>。Rasmussen 症候群が持続性部分てんかん (epilepsia partialis continua : EPC) を特徴とする疾患であるために、依頼検体のなかには EPC を呈する急性脳炎・脳症の患者検体も含まれた。そのため 15 例の EPC 報告症例中 3 例 (症例 6, 12, 13) は急性脳炎による症例で、3 例中 2 例で抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体の存在を認めた<sup>3)</sup>。そのため、急性脳炎でも抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体が何らかの病態への関与を行っている可能性が示唆され、EPC を呈さない急性脳炎・脳症における検討を開始した。その結果、急性脳炎・脳症 13 例中 7 例の血清中に抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体を認め、抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体陽性例では難治なてんかん発作・知能障害・運動麻痺を後遺症として残しやすいことを報告した<sup>4)</sup>。

#### 限局性脳炎型と広汎性脳炎型

急性脳炎の発病初期の臨床症状から、46 例を限局性脳炎型 (localized) と広汎性脳炎型 (widespread) に分類した<sup>5-7)</sup>。限局性脳炎型 (24 例) は神経症状出

現時に意識障害が軽度で、精神症状、幻覚、単発の痙攣発作などの辺縁系症状を示す症例で、臨床症状からは急性辺縁系脳炎 (ALE) に合致する症例である。広汎性脳炎型 (22 例) は神経症状出現時より重度の意識障害がみられるもので、痙攣重積などに初期から陥ることが多い臨床型である。発病年齢は限局性脳炎型 ( $33.0 \pm 18.4$  歳)、広汎性脳炎型 ( $10.2 \pm 15.3$  歳) と大きく異なるが、発病から神経症状出現までの日数 (限局性脳炎型:  $5.0 \pm 4.4$  日、広汎性脳炎型:  $4.9 \pm 3.4$  日)、髄液細胞数 (限局性脳炎型:  $61.7 \pm 114.0 / \text{mm}^3$ 、広汎性脳炎型:  $26.9 \pm 10.4 / \text{mm}^3$ )、髄液蛋白 (限局性脳炎型:  $37.6 \pm 21.8 \text{ mg/dl}$ 、広汎性脳炎型:  $36.4 \pm 24.9 \text{ mg/dl}$ ) と有意差はない (図 1)。これら 46 症例で抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体について検討した。

#### 急性脳炎・脳症の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体出現時期

血清中の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体は限局性脳炎型 14 例中 11 例 (78.6%)、広汎性脳炎型 20 例中 16 例 (80.0%) と多くの症例で認められ、陽性率は臨床

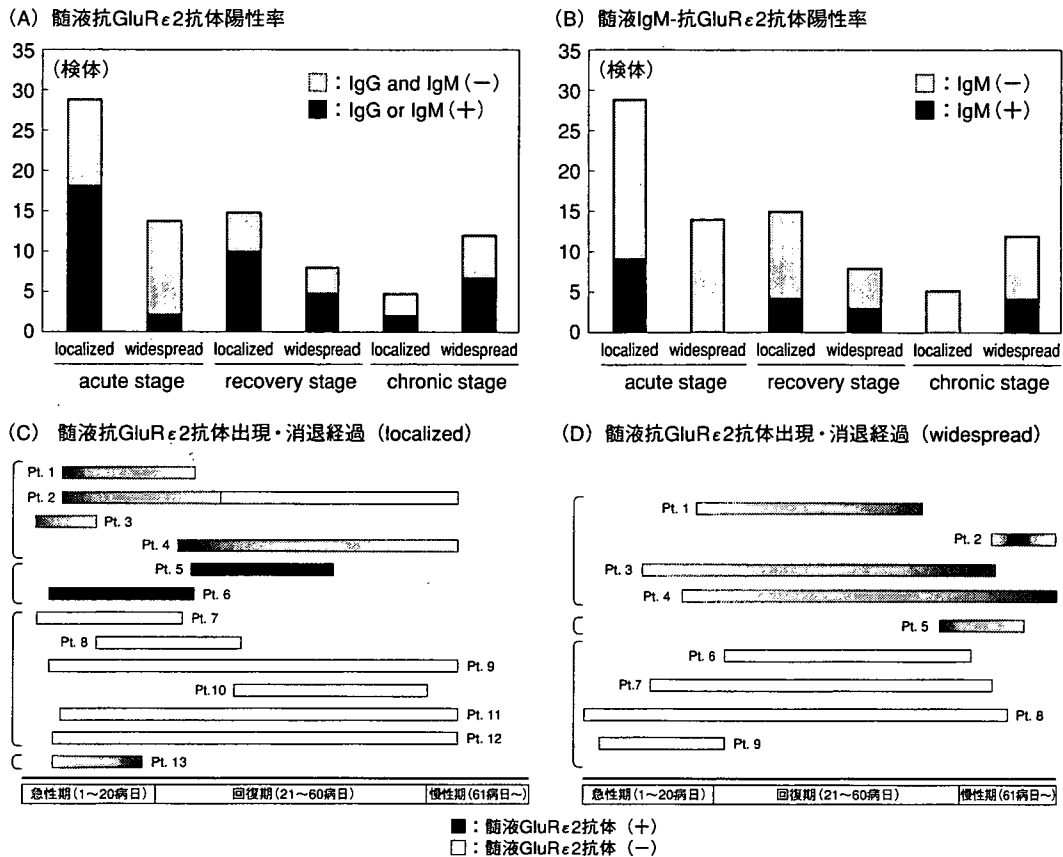


図 2 限局性脳炎型、広汎性脳炎型の髄液抗GluRε2抗体の特徴

- A: 髄液抗GluRε2抗体測定症例中のIgG型、IgM型どちらかが陽性の検体数と、両者が陰性の検体数を病期ごとに示す。急性期(acute stage)は神経症状出現後0~20日、回復期(recovery stage)は神経症状出現後20~60日、慢性期(chronic stage)は神経症状出現後61日以降。
- B: 髄液IgM型抗GluRε2抗体測定症例中の陽性の検体数と陰性の検体数を病期ごとに示す。
- C: 髄液抗GluRε2抗体を複数回測定できた限局性型症例での抗体の出現・消退。
- D: 髄液抗GluRε2抗体を複数回測定できた広汎性型症例での抗体の出現・消退。

病型(限局性・広汎性)や予後とは関連がみられなかった<sup>7)</sup>。

髄液中の抗GluRε2抗体は限局性脳炎型20例中16例(80.0%)で、広汎性脳炎型19例中10例(52.6%)で認められた。抗GluRε2抗体の出現率と予後との関連は限局性脳炎型では有意な関連はみられなかったが、広汎性脳炎型では関連がみられ( $p=0.03$ , フィッシャー直接確率), 抗GluRε2抗体が陽性であると予後が不良となる傾向がみられた<sup>7)</sup>。髄液中の抗GluRε2抗体の陽性率を、神経症状出現時を起点として病型ごとに検討すると、限局性脳炎型では急性期-回復期に陽性率が高いのに対し、広汎性脳炎型では急性期より21日以降の回復期-慢性期に陽性率が高い(図2-A)。髄液

中のIgM-抗GluRε2抗体の陽性率でみてみると、限局性脳炎型では急性期-回復期にのみ陽性で、慢性期に陽性となる症例はないのに対し、広汎性脳炎型では急性期に陽性となる検体はない(図2-B)。髄液の抗GluRε2自己抗体を複数回測定できた限局性型症例での出現・消退をみてみると、4例は陽性から陰性化、2例は陽性のまま、1例は急性期に陰性から陽性化した(図2-C)。一方、広汎性脳炎型症例では急性期陰性の3例が回復期・慢性期に陽性化を確認できた(図2-D)。

広汎性脳炎型の髄液中の抗GluRε2抗体は、後遺障害のなかでは知的障害( $p=0.03$ , Mann-Whitney's U test), てんかん( $p<0.01$ , フィッシャー直接確率)の出現と関連があり、運動障害と

は関連がみられなかった。限局性脳炎型の髄液中の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体は、後遺障害(知的障害・てんかん・運動障害)とは有意な関連がみられなかった<sup>8,9)</sup>。

### 抗GluR $\epsilon$ 2抗体エピトープ解析

髄液中抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体のエピトープを比較すると、限局性脳炎型では急性期 4 例中 4 例、慢性期 1 例中 1 例で細胞外ドメインの N 末端がエピトープとなっていたのに対し、広汎性脳炎型では急性期 4 例中 0 例、慢性期 5 例中 1 例で N 末端がエピトープとなっていたにすぎない<sup>7)</sup>。

### 抗GluR $\epsilon$ 2抗体の急性脳炎・脳症における役割

限局性脳炎型では多くの症例が辺縁系症状で発症し、髄液中の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体は急性期から回復期に出現し、細胞外ドメインである N 末端エピトープを含んでいた。これらのことから、感染によりあるいは感染に伴う二次的刺激で産生された抗体が GluR $\epsilon$ 2 分子とも交差反応する特性を有するため、抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体として血清中に検出され、血管の透過性が脳炎に伴う何らかの機序で高まったりすることで中枢神経系に抗体が至り GluR $\epsilon$ 2 の細胞外ドメインである N 末端に作用し、脳炎の病態形成の一部を担う可能性があると考えられている<sup>7)</sup>。

広汎性脳炎型は髄液中の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体は回復期から慢性期に形成されると思われる、てんかん・知的障害といった後遺障害の発症と関係していると考えている。

最近、卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎症例 12 例で、血清・髄液中に NR1+NR2B(NR2A)の複合体と反応する抗体が存在することが報告された<sup>10)</sup>。GluR $\epsilon$ 2 は GluR のうちの N-methyl-D-aspartate(NMDA)型のサブユニットのひとつであり、NR2B ともよばれる。よって傍腫瘍性辺縁系脳炎でも抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体(抗 NR2B 抗体)が病態に関与している可能性が明らかとなっている。

抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体がどのような作用機序で中枢神経系病態に関与しているのかを明らかにするために、Rasmussen 症候群由来の抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体につ

いて著者らはラット海馬スライス標本を用いて興奮性シナプス後電流(EPSC)への影響を検討したが、明らかな NMDA 電流に対する電気生理学的作用を見出せていない<sup>8)</sup>。しかし、SLE 患者の抗 ds-DNA 抗体が GluR $\epsilon$ 2 の N 末端側のドメインの 283~287 番目の Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Gly というアミノ酸配列からなるペプチドと交差反応し、マウス海馬にアポトーシスを起こすことが報告されている<sup>11)</sup>。また、SLE 患者の抗 ds-DNA (GluR $\epsilon$ 2)抗体がマウスに記憶障害を起こすこと<sup>12)</sup>、DWEYS ペプチド免疫マウスの抗 ds-DNA (GluR $\epsilon$ 2)抗体がマウス扁桃核作用すると情動行動変化を起こすことが報告されている<sup>13)</sup>。よって辺縁系症状で発症する限局性脳炎型の症例の N 末端エピトープを含んだ抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体が海馬・扁桃核などに作用し、アポトーシスなどを起こし、脳炎症状の一部に寄与しているかもしれない。

### おわりに

急性脳炎・脳症の病態には、①ウイルス直接侵襲(一次性)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・分類不能があると推定される。著者らは②~④の病態では生体反応として自己免疫的機序が働いていると考え、GluR に着目して自己免疫介在脳炎の研究を行ってきた。これまでの脳炎脳症における抗 GluR 抗体以外の自己抗体に関する研究から、辺縁系脳炎での抗 VGKC 抗体陽性症例<sup>14,15)</sup>、橋本脳症での抗 NAE 抗体陽性症例<sup>16)</sup>、傍腫瘍性辺縁系脳炎での抗 Hu 抗体陽性例<sup>17,18)</sup>などが報告されている(他の稿を参照)。これらの知見から、脳炎(辺縁系脳炎)症状を呈する症例では抗 GluR $\epsilon$ 2 抗体を含めいろいろな自己抗体が単独あるいは並立的に存在し、病態に関与している可能性があるのではないかと著者らは考えている。これらの抗体の細胞生理学的效果を明らかにし、治療に結びつけていきたい。

謝辞：本研究は、国立病院機構政策医療ネットワーク研究 I、および、厚生労働科学研究補助金(H17-こころ一般-017)の支援により行われた。

## 文献

- 1) Kamei, S. and Takasu, T. : *Intern. Med.*, **39**(11): 894-900, 2000.
- 2) Rogers, S. W. et al. : *Science*, **265** : 648-651, 1994.
- 3) Takahashi, Y. et al. : *Neurology*, **61** : 891-896, 2003.
- 4) 高橋幸利 : 日本小児科学会誌, **106** : 1402-1411, 2002.
- 5) Takahashi, Y. : *Future Neurol.*, **1** : 291-302, 2006.
- 6) 高橋幸利・他 : 臨床精神薬理, **10** : 607-616, 2007.
- 7) 高橋幸利・他 : *Neuroinfection*, **12** : 39-44, 2007.
- 8) 高橋幸利・他 : *Clinical Neuroscience*, **24** : 219-221, 2006.
- 9) 高橋幸利・他 : 神経難病のすべて(阿部康二編). 新興医学出版, 2007, pp.131-139.
- 10) Dalmau, J. et al. : *Ann. Neurol.*, **61** : 25-36, 2007.
- 11) Lorraine, A. et al. : *Nat. Med.*, **7** : 1189-1193, 2001.
- 12) Kowal, C. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** : 19854-19859, 2006.
- 13) Patricio, T. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** : 678-683, 2006.
- 14) Vincent, A. et al. : *Brain*, **127** : 701-712, 2004.
- 15) 有村公良・他 : *Neuroinfection*, **11** : 9, 2006.
- 16) Fujii, A. et al. : *J. Neuroimmunol.*, **162** : 130-136, 2005.
- 17) Tanaka, M and Tanaka, K. : *Progress In Encephalitis Research*(ed. by Ebert, R. A.). Nova Biomedical, Waltham.(in press)
- 18) Dalmau, J. et al. : A clinical study of 71 patients. *Medicine* (Baltimore), **71** : 59-72, 1992.

### ●お知らせ●

#### ■乙卯研究所「レチノイドと脳神経疾患」研究助成

財団法人乙卯研究所(<http://www.itsuu.or.jp>)は標記課題について、研究助成を実施します。レチノイドがアルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症などの脳神経疾患治療に応用できる、との考えで本課題を設定しました。参考文献として以下の報文およびその引用文献をご覧ください。

\**J. Neurobiol.*, **66**(7) : 757-779(2006).

\**Prog. In Neurobiology*, **75**(4) : 275-293(2005).

\**Biol. Pharm. Bull.*, **27**(11) : 1887-1889(2004).

\**Pharmacology*, **67**(1) : 21-31(2003).

#### 【募集要項】

- ①助成対象 : レチノイドによる脳神経疾患治療に関する研究(レチノイドの臨床応用に向けた具体的、かつ実施可能な実験計画であること)
- ②助成金額 : 1件当たり100万円以内、5件程度を予定。
- ③応募資格 : 責任をもって研究可能な個人、またはグループ。
- ④応募方法 : 申請書に記入し、メールに添付して下記アドレスに送信していただく一方、申請書を印刷したものと関連論文1~2報の別刷(1部)を同封し、下記応募先までご郵送ください。

#### ⑤応募先 : 「レチノイドと脳神経疾患」研究助成係

〒158-0094 東京都世田谷区玉川 2-28-10 (財)乙卯研究所内

TEL : 03-3700-5432, FAX : 03-3700-5431, E-mail : retinoid-josei@itsuu.or.jp

#### ⑥応募期限 : 2007年12月15日(土)

⑦研究報告 : 助成を受けた研究代表者には、助成期間完了後、適当な時期に研究発表をしていただく予定です。

⑧retinoid : ご希望の方には、Am80(タミパロテン結晶)、その他レチノイドや、いくつかのアンタゴニストを供給できます。その旨申請書に記載してください。また、本研究により知的所有権が発生した際は可能な協力をいたします。

⑨採否 : 採否決定のためのお問い合わせをすることがあります。採否は郵便にてお知らせします。なお、採否にかかわらず応募資料は返却いたしません。

⑩助成金 : 助成金をご指定の口座に振り込みます。

⑪使途 : 助成金は本研究にかかわる「実験試薬」、「実験機器」、「謝金」などに充当願います。なお、助成金額に「かんがみ」、海外旅行費には使用できないものとします。

⑫会計報告 : 助成金受領後15カ月以内に上記応募先まで収支簿をご提出願います。

## ＜シンポジウム 3—3＞神経疾患と自己抗体

### 脳炎における抗 GluR 抗体の意義

高橋 幸利<sup>1)2)</sup> 山崎 悦子<sup>1)</sup> 久保田裕子<sup>1)</sup> 西村 成子<sup>1)</sup> 角替 央野<sup>1)</sup>  
池田 浩子<sup>1)</sup> 高橋 宏佳<sup>1)</sup> 美根 潤<sup>1)</sup> 大谷 早苗<sup>1)</sup> 藤原 建樹<sup>1)</sup>

(臨床神経, 47 : 848—851, 2007)

Key words : 急性脳炎, 急性脳症, 辺縁系脳炎, グルタミン酸受容体, 自己抗体

#### はじめに

グルタミン酸受容体 (GluR) に対する自己抗体の研究は, AMPA 型 GluR3 に対する自己抗体が Rasmussen 脳炎患者血清中に存在することを 1991 年に Rogers らがみだしたのを契機に始まった<sup>1)</sup>. GluR には幅広いサブユニットが存在し, NMDA 型 GluR のひとつであるマウス GluRe2 は胎生期には広く中枢神経系に発現し, 生後は前脳に限局するサブユニットで, NMDA 受容体依存的シナプス可塑性と記憶・学習にかかわる重要な分子である. われわれは, GluRe2 に対する自己抗体高感度測定系と抗 GluRe2 自己抗体のエピトープ解析システムを構築し, Rasmussen 症候群, 急性脳炎・脳症において検討してきた<sup>2)~6)</sup>.

#### 限局性脳炎型と広汎性脳炎型

急性脳炎の発病初期の臨床症状から, 46 例を限局性脳炎型 (Localized) と広汎性脳炎型 (Widespread) に分類した<sup>5)6)</sup>. 限局性脳炎型 (24 例) は神経症状出現時に意識障害が軽度で, 精神症状, 幻覚, 単発のけいれん発作などの辺縁系症状を示す症例で, 臨床症状からは急性辺縁系脳炎 (acute limbic encephalitis, ALE) に合致する症例である. 広汎性脳炎型 (22 例) は神経症状出現時より重度の意識障害がみられるもので, 痙攣重積などに初期から陥ることが多い臨床型である. 発病年齢は限局性脳炎型 (33.0 ± 18.4 歳), 広汎性脳炎型 (10.2 ± 15.3 歳) と大きくことなるが, 発病 (先行感染症など) から神経症状出現までの日数 (限局性脳炎型, 5.0 ± 4.4 日; 広汎性脳炎型, 4.9 ± 3.4 日), 髄液細胞数 (限局性脳炎型, 61.7 ± 114.0/mm<sup>3</sup>; 広汎性脳炎型, 26.9 ± 10.4/mm<sup>3</sup>), 髄液蛋白 (限局性脳炎型, 37.6 ± 21.8mg/dl; 広汎性脳炎型, 36.4 ± 24.9mg/dl) と有意差はない. これら 46 症例で抗 GluRe2 抗体について検討した.

#### 急性脳炎・脳症の抗 GluRe2 抗体出現時期

全経過中に認められた血清中の抗 GluRe2 抗体は, 限局性脳炎型 14 例中 11 例 (78.6%), 広汎性脳炎型 20 例中 16 例 (80.0%) で, 多くの症例でみとめられ, 陽性率は臨床病型 (限局性・広汎性) や予後とは関連がみられなかった<sup>6)</sup>.

髄液中の抗 GluRe2 抗体は, 限局性脳炎型 20 例中 16 例 (80.0%) で, 広汎性脳炎型 19 例中 10 例 (52.6%) でみとめられた. 抗 GluRe2 抗体の出現率と予後との関連は, 限局性脳炎型では有意な関連はみられなかったが, 広汎性脳炎型では関連がみられ (p=0.03, フィッシャー直接確率), 抗 GluRe2 抗体が陽性であると予後が不良となる傾向がみられた<sup>5)6)</sup>. 髄液中の抗 GluRe2 抗体の陽性率を, 神経症状出現時を起点として病型ごとに検討すると, 限局性脳炎型では急性期一回復期に陽性率が高いのに対し, 広汎性脳炎型では急性期より 21 日以降の回復期一慢性期に陽性率が高い (Fig. 1). 髄液中の IgM-抗 GluRe2 抗体の陽性率でみると限局性脳炎型では急性期一回復期にのみ陽性で, 慢性期に陽性となる症例はないのに対し, 広汎性脳炎型では急性期に陽性となる検体はない. 髄液の GluRe2 自己抗体を複数回測定できた限局性型症例での出現・消退をみてみると, 4 例は陽性から陰性化, 2 例は陽性のまま, 1 例は急性期に陰性から陽性化した. 一方, 広汎性脳炎型症例では急性期陰性の 3 例が回復期・慢性期に陽性化を確認できた.

広汎性脳炎型の髄液中の抗 GluRe2 抗体は, 後遺障害の中では, 知的障害 (p=0.03, Mann-Whitney's U test), てんかん (p<0.01, フィッシャー直接確率) の出現と関連があり, 運動障害とは関連がみられなかった<sup>5)6)</sup>.

#### 抗 GluRe2 抗体エピトープ解析

髄液中抗 GluRe2 抗体のエピトープを比較すると, 限局性脳炎型では急性期 4 例中 4 例, 慢性期 1 例中 1 例で細胞外ドメインの N 末がエピトープとなっていたのに対し, 広汎性脳炎型では急性期 4 例中 0 例, 慢性期 5 例中 1 例で N 末がエ

<sup>1)</sup>国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター [〒420-8688 静岡市葵区漆山 886]

<sup>2)</sup>岐阜大学医学部小児病態学  
(受付日: 2007 年 5 月 16 日)

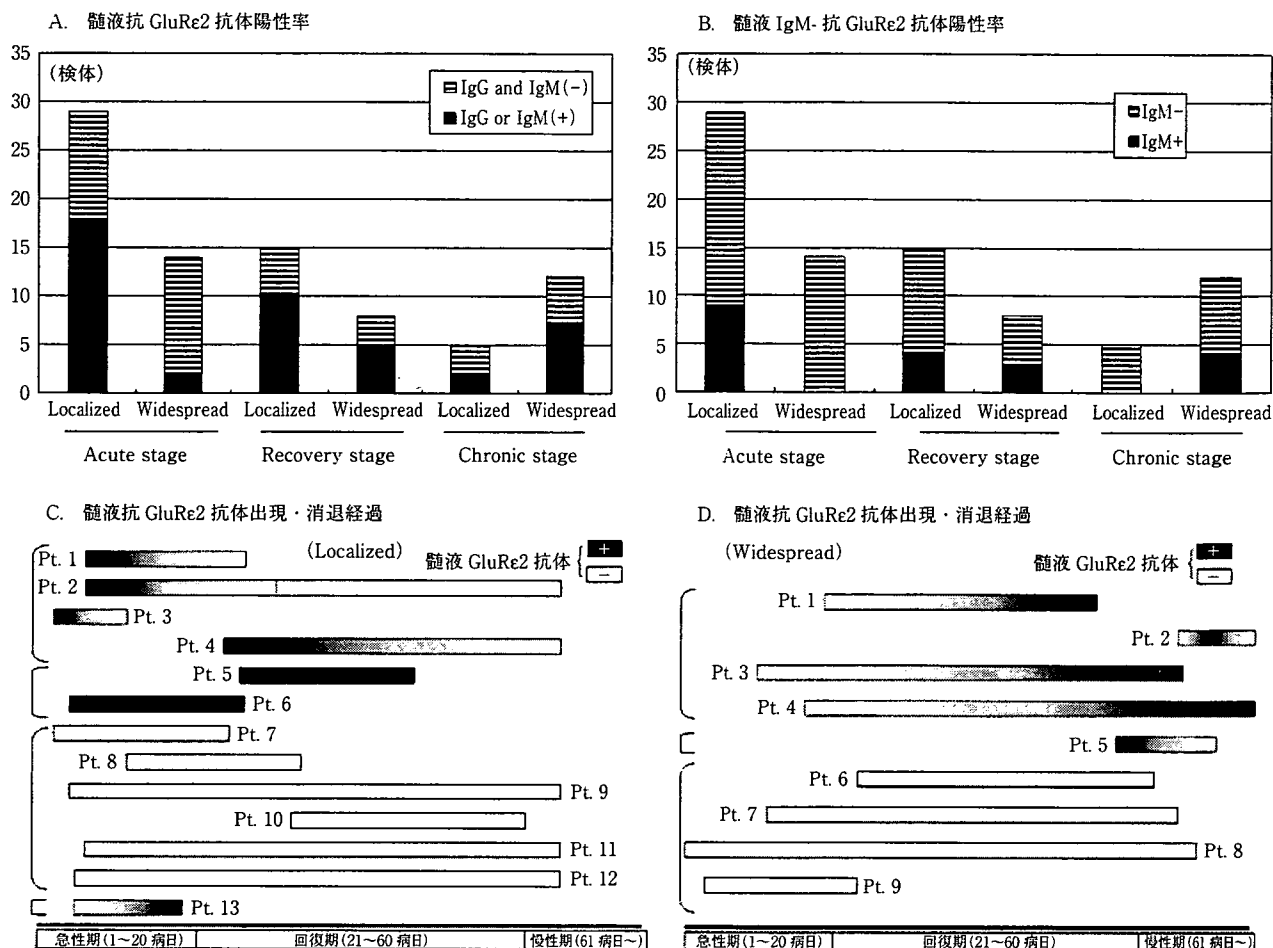


Fig. 1 限局性脳炎型, 広汎性脳炎型の髄液抗 GluRe2 抗体の特徴

A. 髄液抗 GluRe2 抗体測定症例中の IgG 型 IgM 型どちらかが陽性の検体数と両者が陰性の検体数を病期ごとに示す。急性期 (acute stage) は神経症状出現後 0 ~ 20 日, 回復期 (recovery stage) は神経症状出現後 21 ~ 60 日, 慢性期 (Chronic stage) は神経症状出現後 61 日以降。B. 髄液 IgM 型抗 GluRe2 抗体測定症例中の陽性の検体数と陰性の検体数を病期ごとに示す。C. 髄液抗 GluRe2 抗体を複数回測定できた限局性脳炎型症例での抗体の出現・消退。D. 髄液抗 GluRe2 抗体を複数回測定できた広汎性脳炎型症例での抗体の出現・消退。

トープとなっていたに過ぎない<sup>6)</sup>。

**抗 GluRe2 抗体の急性脳炎・脳症における役割**

限局性脳炎型では, 多くの症例が辺縁系症状で発症し, 髄液中の抗 GluRe2 抗体は急性期から回復期に出現し, 細胞外ドメインである N 末エピトープをふくんでいた。これらのことから, 感染によりあるいは感染にともなう 2 次的刺激で産生された抗体が GluRe2 分子とも交叉反応する特性を有するため抗 GluRe2 抗体として血清中に検出され, 血管の透過性が脳炎にともなう何らかの機序で高まったりすることで, 中枢神経系に抗体がいたり, GluRe2 の細胞外ドメインである N 末に作用し, 脳炎の病態形成の一部を担う可能性がある。われわれは考えている (Fig. 2)<sup>6)</sup>。

広汎性脳炎型は, 髄液中の抗 GluRe2 抗体は回復期から慢性期に形成されると思われる。てんかん・知的障害といった後遺障害の発症と関係していると考えている。

最近, 卵巣奇形腫をともなう傍腫瘍性辺縁系脳炎症例 12 例で, 血清・髄液中に NR1 + NR2B (NR2A) の複合体と反応する抗体が存在することが報告された<sup>7)</sup>。GluRe2 は NR2B と呼ばれ, 傍腫瘍性辺縁系脳炎でも抗 GluRe2 抗体 (抗 NR2B 抗体) が病態に関与している可能性が明らかとなっている。

抗 GluRe2 抗体がどのような作用機序で中枢神経系病態に関与しているのかを明らかにするために, Rasmussen 症候群由来の抗 GluRe2 抗体について, われわれはラット海馬スライス標本をもちいて興奮性シナプス後電流 (EPSC) への影響を検討したが, 明らかな NMDA 電流に対する電気生理学的作用をみいだせていない<sup>8)</sup>。しかし, SLE 患者の抗 ds-DNA

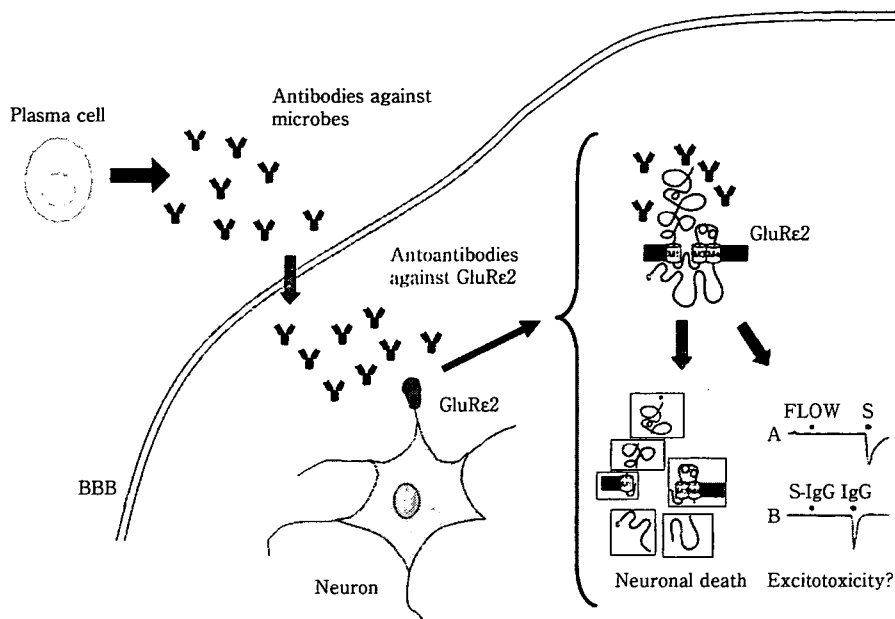


Fig. 2 抗 GluRe2 自己抗体による急性脳炎 (限局性脳炎型) 発病仮説

抗体が、GluRe2 の N 末側のドメインの 283~287 番目の Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Gly というアミノ酸配列からなるペプチドと交叉反応し、マウス海馬にアポトーシスをおこすことが報告されている<sup>9)</sup>。また、SLE 患者の抗 ds-DNA (GluRe2) 抗体がマウスに記憶障害をおこすこと<sup>10)</sup>、DWEYS ペプチド免疫マウスの抗 ds-DNA (GluRe2) 抗体がマウス扁桃核作用すると情動行動変化をおこすことが報告されている<sup>11)</sup>。よって、限局性脳炎型の症例の N 末エピトープをふくんだ抗 GluRe2 抗体が海馬・扁桃核等に作用しアポトーシスなどをおこし、脳炎症状の一部に寄与しているかもしれない。

### 終わりに

脳炎 (辺縁系脳炎) 症状を呈する症例の中には、抗 GluRe2 抗体をふくめ色々な自己抗体が単独であるいは並立的に存在し、病態に関与している症例があるのではないかと、われわれは考えている。これらの抗体の細胞生理学的効果を明らかにし、治療に結び付けていきたい。

### 文 献

- 1) Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, et al: Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science* 1994; 265: 648—651
- 2) 高橋幸利: 小児期中枢神経系感染症による難治てんかんにおける抗 GluRe2 自己抗体の存在. *日本小児科学会誌* 2002; 106: 1402—1411
- 3) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al: Autoantibodies to NMDA receptor in patients with chronic forms of epilep-

sia partialis continua. *Neurology* 2003; 61: 891—896

- 4) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al: Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluRe2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 5: 152—158
- 5) Takahashi Y: Infections as causative factors of epilepsy. *Future Neurology* 2006; 1: 291—302
- 6) 高橋幸利: シンポジウム—非ヘルペス性辺縁系脳炎 (NHLE) 再考, 抗グルタミン酸受容体  $\epsilon 2$  抗体と辺縁系脳炎. *Neuroinfection* 2007; 12: 39—44
- 7) Dalmau J, Tüzün E, Wu H, et al: Paraneoplastic Anti-N-methyl-D-aspartate Receptor Encephalitis Associated with Ovarian Teratoma. *Ann Neurol* 2007; 61: 25—36
- 8) 高橋幸利, 高木佐知子, 西村成子ら: E グルタミン酸受容体と神経疾患, 4. てんかんと抗 NMDA 受容体抗体. *Clinical Neuroscience* 2006; 24: 219—221
- 9) DeGiorgio LA, Konstantinov KN, Lee SC, et al: A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat Med* 2001; 7: 1189—1193
- 10) Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, et al: Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *PNAS* 2006; 103: 19854—19859
- 11) Huerta PT, Kowal C, DeGiorgio LA, et al: Immunity and behavior: Antibodies alter emotion. *PNAS* 2006; 103: 678—683



**Abstract****Autoantibodies against Glutamate receptors in patients with encephalitis**

Yukitoshi Takahashi, M.D.<sup>1,2)</sup>, Etsuko Yamasaki, M.D.<sup>1)</sup>, Yuko Kubota, M.D.<sup>1)</sup>, Shigeko Nishimura, M.D.<sup>1)</sup>,  
Hisano Tsunogae, M.D.<sup>1)</sup>, Hiroko Ikeda, M.D.<sup>1)</sup>, Hiroka Takahashi, M.D.<sup>1)</sup>, Jyun Mine, M.D.<sup>1)</sup>,  
Sanae Otani, M.D.<sup>1)</sup> and Tateki Fujiwara, M.D.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders

<sup>2)</sup>Department of Pediatrics, Gifu University School of Medicine

We examined autoantibodies against GluR $\epsilon$ 2 in patients with acute encephalitis, who were categorized into localized encephalitis and widespread encephalitis. Patients with localized encephalitis are defined as patients showing psychic symptoms (illusions, anxiety and distraction etc.), solitary seizures and/or very mild impairment of consciousness in the initial stage. Patients with widespread encephalitis are defined as patients showing a profound loss of consciousness and or convulsive status in the initial stage.

In 24 patients with localized encephalitis, immunoglobulin (Ig) M autoantibodies against GluR $\epsilon$ 2 tended to appear in CSF in the acute stage (0-20 days after onset of neurological symptoms) or recovery stage (21-60 days after onset of neurological symptoms) of encephalitis. In 22 patients with widespread encephalitis, IgM autoantibodies against GluR $\epsilon$ 2 in CSF tended to appear in the recovery stage (21-60 days after onset of neurological symptoms) or chronic stage (>60 days after onset of neurological symptoms) of encephalitis. All patients with localized encephalitis had autoantibodies to the extracellular N epitope. However, no patients with widespread encephalitis had autoantibodies to the extracellular N epitope in acute stages.

These data may suggest that GluR autoimmunity contributes to the onset of localized encephalitis.

(Clin Neurol, 47: 848—851, 2007)

**Key words:** acute encephalitis, acute encephalopathy, limbic encephalitis, glutamate receptor, autoantibodies

## グルタミン酸受容体の分子生物学

—自己免疫性脳炎との関連

Molecular biology of glutamate receptor (GluR) — Antibodies against GluR in autoimmune encephalitis



高野志保(写真) 森 寿

Shiho TAKANO and Hisashi MORI

富山大学大学院医学薬学研究部(医学)分子神経科学講座

◎中枢神経系において興奮性の速い神経伝達を担うグルタミン酸受容体(GluR)チャネルは、グルタミン酸の結合により陽イオンを透過するとともに、神経細胞内にシグナル伝達を行う分子である。GluRチャネルは神経回路発達、記憶・学習などの生理機能にかかわるのみならず、その異常な活性化は、急性・慢性の脳疾患で観察される神経細胞死に関与する。遺伝子クローニングによりGluRチャネルの分子実体が解明され、GluRチャネルサブユニットの分子的多様性、構造、機能が明らかにされた。一方、急性脳炎や難治性のてんかんの病態にGluR自己抗体が関与していることが示唆され、その発症における役割が検討されている。抗GluR抗体の存在を検討し、その抗体認識部位の構造や抗体の機能、ならびに抗体産生機構を明らかにすることが、これらの病態の解明と治療につながると考えられる。



Key word

グルタミン酸受容体, シナプス可塑性, 神経細胞死, 自己免疫性脳炎

グルタミン酸受容体(GluR)チャネルは、中枢神経系での主要な興奮性神経伝達を担うのみならず、発生過程での神経回路形成やシナプス伝達の可塑性にかかわる重要な分子である。一方で、GluRチャネルの異常な活性化は、細胞内への過剰な陽イオンの流入を介して神経細胞障害やいわゆる興奮毒性を導くと考えられている。GluRチャネルは、特異性の高い薬物を用いた薬理学的研究によりAMPA型、カイニン酸型、NMDA型に分類されていたが、1989年にHollmannらが、分子生物学的方法とアフリカツメガエル卵母細胞を用いた電気生理学的手法を組み合わせAMPA型GluR1サブユニットのcDNAクローニングを報告し<sup>1)</sup>、現在までに7つのサブファミリーに分類される18種類のサブユニットの存在が明らかにされている(表1)。

一方、GluRに対する自己免疫性疾患が示唆されたのは、AMPA型GluR3サブユニットに対する抗

体作成過程で、免疫を施したウサギにてんかん様症状と神経細胞死が観察され、難治性てんかんを伴う脳炎であるRasmussen症候群と相似していたことに端を発している<sup>2)</sup>。その後、NMDA型GluRε1(NR2A)、GluRε2(NR2B)サブユニット、さらには小脳Purkinje細胞に特異的に発現するGluRδ2サブユニットに対する自己抗体の存在が示唆されている。

本稿では分子生物学的観点から、GluRチャネルサブユニットの構造と機能を中心に解説し、自己抗体が自己免疫性脳炎において果たしている役割について考察する。

### || GluRチャネルサブユニットの構造と機能

GluRチャネルサブユニットはアミノ(N)末端側のシグナルペプチドと推定される部分および分子のカルボキシル(C)末端寄りに(GluRεでは分子の中央付近に)、4カ所の疎水性領域(M1-M4)

表 1 GluRチャンネルサブユニットファミリー

| サブタイプ      | サブファミリー                 | サブユニット   |
|------------|-------------------------|--|
| AMPA 型     | GluR1-4(GluR $\alpha$ ) | GluR1(GluRA, GluR $\alpha$ 1)<br>GluR2(GluRB, GluR $\alpha$ 2)<br>GluR3(GluRC)<br>GluR4(GluRD) |
| カイニン酸型     | GluR5-7(GluR $\beta$ )  | GluR5<br>GluR6(GluR $\beta$ 2)<br>GluR7  |
|            | KA1, 2                  | KA1<br>KA2(GluR $\gamma$ 2)  |
| $\delta$ 型 | GluR $\delta$           | GluR $\delta$ 1<br>GluR $\delta$ 2   |
| NMDA 型     | GluR $\epsilon$         | GluR $\epsilon$ 1<br>GluR $\epsilon$ 2<br>GluR $\epsilon$ 3<br>GluR $\epsilon$ 4               |
|            | NR1(GluR $\zeta$ 1)     | NMDAR1(GluR $\zeta$ 1, NR1)  |
|            | GluR $\chi$             | GluR $\chi$ 1(NR3A)<br>NR3B  |

をもつ膜蛋白質である。このうち M2 は細胞膜を貫通しないループ構造をとっていると考えられており、したがって、N 末端から M1 まで、および M3-M4 間が細胞外に存在し、M4 以降が細胞内に存在すると考えられている(図 1)。GluR チャンネルサブユニットの領域は大きく、①N 末端(N-terminal domain : NTD)領域、②グルタミン酸結合領域(S1, S2)、③イオンチャンネル領域(M2)、④細胞内 C 末端領域からなる。これらの領域の機能は以下のように考えられている。

① NTD領域……N 末端から約 400 アミノ酸残基に相当するこの領域の機能は、生化学的実験からサブユニット間の会合やサブユニット分子の安定性に寄与すると考えられている。最近、AMPA 型 GluR2 サブユニットの NTD 領域が樹状突起のスパイン形成に重要であることが示され、細胞接着分子 N-cadherin との相互作用を介してシナプス構造の制御にかかわることが示唆されている<sup>3)</sup>。後述するように細胞障害性の自己抗体のエピトープがこの領域内に存在する。

② グルタミン酸結合領域……リガンド結合領域は、N 末端細胞外領域の M1 に近い部分(S1)と M3-M4 間の細胞外領域(S2)により構成される<sup>4)</sup>。

③ チャンネル領域……AMPA 型 GluR は通常

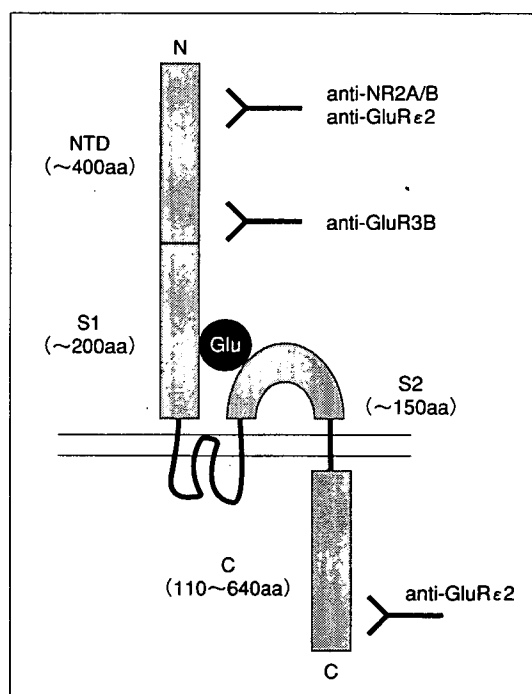


図 1 GluRチャンネルサブユニットの構造とエピトープ  
GluR チャンネルはサブユニットの四量体から構成されるが、ここではひとつの GluR サブユニットを模式的に示した。GluR チャンネルサブユニットは、N 末端側から NTD, S1, M1-M3, S2, M4, C の領域からなる。自己抗体のエピトープとして、NTD 領域と C 領域が同定されている。

Ca<sup>2+</sup>を透過しない。このイオン選択性は GluR $\alpha$ 2 (GluR2)サブユニットの M2 領域配列内のアルギニン(R)残基で決定されている。AMPA 型 GluR のチャネル領域内の R, Q に対応する位置に NMDA 受容体サブユニットである GluR $\epsilon$ , GluR $\zeta$ 1 サブユニットではアスパラギン(N)が存在し、この Asn が NMDA 型 GluR の重要な制御機構である Mg<sup>2+</sup>による阻害と Ca<sup>2+</sup>の透過性を制御している<sup>5,6)</sup>。

④ 細胞内C末端領域……AMPA 型 GluR1 サブユニットの細胞内 C 末端は、いくつかのリン酸化酵素でリン酸化される。そして、これらの部位のリン酸化が AMPA 受容体の機能を直接亢進する<sup>7,8)</sup>。また、AMPA 型 GluR サブユニットの C 末端領域には post synaptic density (PSD) 蛋白質群が結合し、GluR サブユニットのシナプス局在を制御している<sup>9)</sup>。

## 抗GluR抗体が結合するエピトープと抗体の作用

### 1. AMPA型GluR3サブユニット

GluR に対する自己免疫性疾患が示唆されたのは、AMPA 型 GluR3 サブユニットに対する抗体作成過程で、免疫を施したウサギに Rasmussen 症候群と相似した症状が観察されたことに端を発している<sup>2)</sup>。実際に Rasmussen 症候群の患者血清に GluR3 に対する自己抗体の存在が示され、血漿交換治療法の有効性が報告された。このような作用を引き起こす GluR3 上のエピトープとして、GluR3 の 372~395 番目の領域(GluR3B, アミノ酸配列は NEYERFVPPFSDQQISNDSSSEN)が同定された<sup>10)</sup>。この領域は他の AMPA 型 GluR サブユニット(GluR1, GluR2, GluR4)とは相同性の低い領域で、GluR3 サブユニットに特有の配列である。また、GluR3B 領域は NTD の C 末端側に位置し、直接的にグルタミン酸の結合にかかわるとは考えにくい。この領域に対する抗体は神経細胞に GluR の活性化による電流応答を引き起こす。この抗体による電流応答は AMPA 型 GluR の特異的阻害薬 CNQX により抑制される。したがって、GluR3B に対する抗体がアゴニストとして作用し興奮毒性を引き起こすと考えられる。さらに、GluR3B ペプチ

ドを用いてマウスやラットを免疫し、Rasmussen 脳炎の動物モデルが作製されている。マウスに GluR3B ペプチドで免疫して得られた抗体が培養神経細胞を補体非依存的に障害し、アポトーシスによる神経細胞死を引き起こすことが報告されている<sup>11)</sup>。

さらに、いくつかの近交系マウスを用いて GluR3B ペプチドで免疫すると、系統ごとに抗 GluR3B 抗体の産生量が異なり、主要組織適合性抗原をはじめとする遺伝的背景が GluR3B に対する免疫反応に影響を与えることが示唆された<sup>12)</sup>。また、これらのマウス血清中には GluR3B 抗体のみならず、全身性エリテマトーデス(SLE)でみられるような抗 DNA 抗体も産生されていた。

これらの液性免疫反応のみならず、免疫されたマウスでは、GluR3B に反応し増殖する T 細胞が存在し、細胞性免疫の関与も示唆された。免疫誘導マウスの脳では Rasmussen 脳炎で観察されるのと同様の髄膜の肥厚、リンパ球や単球の脳内への浸潤、グリオシスなどがみられているが、このマウスでは重篤な脳炎やてんかん発作を示さない。さらに、GluR3B 免疫ラットも報告されている。このラットモデルでも脳組織障害が観察されているが、GABA 受容体の拮抗薬である PTZ 誘発てんかん発作に対して抵抗性を示した<sup>13)</sup>。この抵抗性の機構は現時点では不明である。

GluR3B 抗体が内在性につくられる機構に関し、T 細胞の活性化がかかわる可能性が最近示唆されている<sup>14)</sup>。T 細胞には機能的な GluR3 サブユニットが存在し、10 nM 程度のグルタミン酸が T 細胞の接着や走性の制御にかかわる。一方、T 細胞受容体が活性化されて放出されるセリンプロテアーゼ Granzyme B が GluR3 サブユニットを切断し、GluR3B ペプチドがあらたな抗原として産生される可能性がある。このようにして末梢で産生された GluR3B に対する抗体が自己抗体として神経細胞障害にかかわる可能性が示唆されている。これらの報告の一方、かならずしも抗 GluR3 抗体の存在と Rasmussen 脳炎発症に相関がない症例の報告もある<sup>15)</sup>。

### 2. NMDA受容体サブユニット

SLE 患者の血清中に存在する自己抗体が NMDA 型

GluR $\epsilon$ 1, GluR $\epsilon$ 2(NR2A, NR2B)サブユニットの283番目から287番目のアミノ酸配列(D/E-W-D-Y-S/G)を認識する可能性が示唆され、この抗体が培養神経細胞死を誘導するのみならず、マウス脳内に直接注入すると神経細胞死を誘導する。さらに、神経細胞死がNMDA受容体のチャンネルブロッカーであるMK-801の処置により抑制される<sup>16)</sup>。以上のことからNMDA受容体のこの領域に対する抗体が、脳血管関門(BBB)が破綻した際の神経細胞死の誘導にかかわる可能性が示唆されている。この配列はNTD領域内にあり、NMDA受容体サブユニット上での機能は不明である。

高橋らは、限局性脳炎の急性期にIgM-GluR $\epsilon$ 2抗体が髄液中に認められ、IgGおよびIgM自己抗体はN末端エピトープを含んでいることから、GluR $\epsilon$ 2抗体が発病に関与している可能性を指摘している<sup>17)</sup>。また、Rasmussen脳炎の患者において血清中の抗GluR $\epsilon$ 2抗体のエピトープの広がり、つまり細胞性免疫による障害の後に自己抗体ができ、その抗体がてんかん発作、さらなる細胞死などを引き起こしている可能性も示唆されている<sup>18)</sup>。

### 3. GluR $\delta$ 2サブユニット

GluR $\delta$ 2サブユニットは、薬理的性質は不明のままであるが、小脳Purkinje細胞に特異的に発現し、このサブユニットのノックアウトマウスの解析から神経回路形成、シナプス可塑性、協調運動や運動学習に必須の分子であることが示されている<sup>19)</sup>。GluR $\delta$ 2サブユニットの機能を明らかにする目的で、グルタミン酸が結合する可能性のあるS1領域内の505番目から514番目のペプチド(GISALTTTPDRENV)に対する抗体が作製され、マウス小脳に直接注入すると一過的な協調運動障害が生じることが報告されている<sup>20)</sup>。最近、急性の小脳失調症例でGluR $\delta$ 2に対する自己抗体の存在が報告されているが、エピトープは不明である<sup>21)</sup>。

### おわりに

以上のように、GluRサブユニットは神経伝達などの生理機能とともに、神経細胞死の誘導におい

ても鍵分子のひとつであることが明らかとなってきた。現時点ではGluRチャンネルサブユニットに対し作動性を示す自己抗体が過剰なグルタミン酸と同様の興奮毒性を引き起こしている可能性があり、自己免疫性脳炎の発症と進展に直接かかわる可能性が示唆される。しかし、そのエピトープはリガンド結合領域外に存在することから、抗体の結合がどのようなGluRチャンネルサブユニットの構造的変化を引き起こして活性化しているのか明らかにする必要がある。また、GluRチャンネルサブユニットのさまざまな領域がそれぞれ重要な機能を担っている。したがって、エピトープ解析が十分になされていないGluRに対する自己抗体は、その出現が脳炎に直接かかわるものなのか、あるいは脳炎による細胞破壊の結果として生じた抗原領域に対するものなのか、見極める必要がある。自己抗体のエピトープを網羅的に迅速に検索するシステムの開発が、自己免疫性脳炎の的確な診断と治療方針の決定に重要になると考えられる。

### 文献

- 1) Hollmann, M. et al. : Cloning by functional expression of a member of the glutamate receptor family. *Nature*, **342** : 643-648, 1989.
- 2) Rogers, S.W. et al. : Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science*, **265** : 648-651, 1994.
- 3) Soglietti, L. et al. : Extracellular interactions between GluR2 and N-cadherin in spine regulation. *Neuron*, **54** : 461-477, 2007.
- 4) Kuusinen, A. et al. : Molecular dissection of the agonist binding site of an AMPA receptor. *EMBO J.*, **14** : 6327-6332, 1995.
- 5) Mori, H. et al. : Identification by mutagenesis of a Mg(2+)-block site of the NMDA receptor channel. *Nature*, **358** : 673-675, 1992.
- 6) Burnashev, N. et al. : Control by asparagine residues of calcium permeability and magnesium blockade in the NMDA receptor. *Science*, **257** : 1415-1419, 1992.
- 7) Derkach, V. et al. : Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96** : 3269-3274, 1999.
- 8) Lee, H.K. et al. : Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature*, **405** : 955-959, 2000.
- 9) Dong, H. et al. : GRIP : a synaptic PDZ domain-containing protein that interacts with AMPA receptors. *Nature*, **386** : 279-284, 1997.
- 10) Twyman, R.E. et al. : Glutamate receptor antibody-

- ies activate a subset of receptors and reveal an agonist binding site. *Neuron*, **14** : 755-762, 1995.
- 11) Levite, M. et al. : Autoantibodies to the glutamate receptor kill neurons via activation of the receptor ion channel. *J. Autoimmun.*, **13** : 61-72, 1999.
  - 12) Levite, M. and Hermelin, A. : Autoimmunity to the glutamate receptor in mice—a model for Rasmussen's encephalitis? *J. Autoimmun.*, **13** : 73-82, 1999.
  - 13) Ganor, Y. et al. : Immunization with the glutamate receptor-derived peptide GluR3B induces neuronal death and reactive gliosis, but confers partial protection from pentylenetetrazole-induced seizures. *Exp. Neurol.*, **195** : 92-102, 2005.
  - 14) Ganor, Y. et al. : TCR activation eliminates glutamate receptor GluR3 from the cell surface of normal human T cells, via an autocrine/paracrine granzyme B-mediated proteolytic cleavage. *J. Immunol.*, **178** : 683-692, 2007.
  - 15) Watson, R. et al. : Absence of antibodies to glutamate receptor type 3 (GluR3) in Rasmussen encephalitis. *Neurology*, **63** : 43-50, 2004.
  - 16) DeGiorgio, L. A. et al. : A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. *Nat. Med.*, **7** : 1189-1193, 2001.
  - 17) 高橋幸利・他 : 抗グルタミン酸受容体  $\epsilon 2$  抗体と急性脳炎. 平成 18 年度-平成 19 年度科学研究費補助金(基礎研究 C)急性脳炎の発病・後遺症形成過程とグルタミン酸受容体自己免疫の研究, 研究報告書. 2007, pp.42-52.
  - 18) 高橋幸利・他 : てんかんと抗 NMDA 受容体抗体. *Clinical Neuroscience*, **24** : 219-221, 2006.
  - 19) Kashiwabuchi, N. et al. : Impairment of motor coordination, Purkinje cell synapse formation, and cerebellar long-term depression in GluR $\delta 2$  mutant mice. *Cell*, **81** : 245-252, 1995.
  - 20) Hirai, H. et al. : New role of  $\delta 2$ -glutamate receptors in AMPA receptor trafficking and cerebellar function. *Nat. Neurosci.*, **6** : 869-876, 2003.
  - 21) Shimokaze, T. et al. : A case of acute cerebellitis accompanied by autoantibodies against glutamate receptor  $\delta 2$ . *Brain*, **29** : 224-226, 2007.

\* \* \*

## 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

細川 隆史<sup>1)</sup> 中嶋 秀人<sup>1)2)</sup> 高崎 智彦<sup>3)</sup>  
 杉野 正一<sup>1)</sup> 木村 文治<sup>1)</sup> 花房 俊昭<sup>1)</sup>

**要旨：**日本脳炎は日本脳炎ウイルスによっておこる重篤な急性脳炎と認識されているが、髄膜炎など脳炎以外の臨床病型についてはほとんど知られていない。今回、1993年から2005年までの夏季に発症した無菌性髄膜炎21例の保存髄液をもちいてPCR法にて日本脳炎ウイルス遺伝子の検出を試みたところ、1例で陽性であった。この症例は34歳男性で1998年7月に発熱、頭痛で発症し、安静、対症療法にて改善し、典型的な無菌性髄膜炎の経過を示した。夏季に発症する無菌性髄膜炎の中に、日本脳炎ウイルスが原因となる症例が存在する可能性が考えられた。  
 (臨床神経, 47:109-111, 2007)

**Key words：**日本脳炎, 日本脳炎ウイルス, 無菌性髄膜炎, PCR

## はじめに

無菌性髄膜炎をおこす病原体としてウイルスがもっとも多く、このうちエンテロ属が全体の約85%を占め、その他にムンプスウイルス、アデノウイルスなどがある。近年、夏季に発症した無菌性髄膜炎の中に日本脳炎ウイルスが原因である症例が存在することが報告された<sup>1)</sup>。日本脳炎ウイルスは重篤な急性脳炎である日本脳炎の原因ウイルスであり、また髄膜炎や熱性疾患もひきおこすとされている。しかし、脳炎以外の病型について詳細は不明である。今回われわれは、過去13年間の夏季に発症し当施設に入院した無菌性髄膜炎の保存髄液21検体をもちいて日本脳炎ウイルスの検出を試みた。1例から日本脳炎ウイルス遺伝子が検出されたので報告する。

## 日本脳炎ウイルス PCR

1993年から2005年まで各年の6月から10月に発症し、当施設に入院した無菌性髄膜炎21例の-70℃保存髄液21検体を使用。RNAを抽出後、JE8K-S-first: AUGGAACCCCC TTCとJEER-first: AGCATGCACATTGGTTCGCTA、さらにJEN-second: ATCGTGGTTGGGAGGGGAGAとJENR-second: AGCACACCTCCTGTGGCTAAの各プライマーセットをもちいてRT-nested PCR法にて日本脳炎ウイルス遺伝子を増幅し、アガロースゲル電気泳動にて遺伝子の増幅を判定。このスクリーニングで陽性のばあい、JEen37s-first: AAGGAGCCAGTGGAGCCACTTとJEen329c-first: TTC CCGAAAAGTCCACATCC、JEen98s-second: CATGGC

AAACGACAAACCAACとJEen301c-second: CAGTRA AGCCTTGTTTGCACACの各プライマーセットをもちいてRT-nested PCR法をおこない、PCR産物をダイレクトシーケンスにて塩基配列を確認した<sup>1)</sup>。その結果、1例より日本脳炎ウイルス遺伝子型3型が検出されたので提示する。

## 症 例

症例: 34歳男性。

主訴: 発熱、頭痛。

既往歴: 特記すべきことなし。日本脳炎の予防接種歴は不明。

現病歴: 1998年7月某日より38℃台の発熱、頭痛が出現。近医で感冒薬を処方されたが頭痛が増悪した。その4日後悪心、嘔吐、食欲不振も出現したため、同日当科受診し髄膜炎がうたがわれ入院した。

入院時現症: 身長173cm、体重70kg、脈拍76/分・整、血圧128/84mmHg、体温36.8℃、胸腹部・四肢に異常みとめず。神経学的所見では意識は清明。項部硬直、Kernig徴候をみとめたが、脳神経系、運動系、感覚系に異常はみとめず。深部腱反射も正常であった。

入院時検査所見: WBC 5,430/μl、Hb 16.2mg/dl、Plt 237×10<sup>3</sup>/μlと正常。血清生化学検査ではCRP 1.27mg/dlと軽度上昇がみられたが、肝機能をふくめ他の検査は異常をみとめなかった。髄液検査は初圧22.5cmH<sub>2</sub>O、細胞数14/mm<sup>3</sup>(単核球80%、多形核球20%)、糖71mg/dl、蛋白32mg/dl、IgG index 0.36。入院時の髄液検体をもちいてエコー3(CF)、単純ヘルペスウイルスIgM・IgG(ELISA)、带状疱疹ウイルス

<sup>1)</sup>大阪医科大学第一内科〔〒569-8686 高槻市大学町2-7〕

<sup>2)</sup>清恵会病院内科

<sup>3)</sup>国立感染症研究所ウイルス第1部第2室

(受付日: 2006年5月1日)

ス IgM・IgG (ELISA), また髄液と血清検体をもちいて日本脳炎ウイルス IgM・IgG (ELISA) を測定したがすべて陰性であった。頭部 CT, 脳波では異常をみとめなかった。

入院後経過: 無菌性髄膜炎と診断。安静にて症状はすみやかに軽減し, 入院 10 日後髄液検査で初圧 20cmH<sub>2</sub>O, 細胞数 8mm<sup>3</sup>(単核球 90%, 多形核球 10%) と改善をみとめた。このとき症状が軽快していたので, ウイルス抗体価などさらなる髄液検査はおこなわなかった。入院 13 日後に退院した。典型的無菌性髄膜炎の経過と考えられ, 意識障害, けいれん, 巣症状など脳炎症状はみとめなかった。

## 考 察

日本脳炎ウイルスは脳炎の病原ウイルスとして周知されており, 日本, 韓国, 中国, 東南アジア全域, インドなど触媒蚊とともに広く分布し, 毎年の日本脳炎患者発症数は 5 万人前後, その内の死亡者数は 1 万人前後と推測されている<sup>2)</sup>。わが国における日本脳炎の患者は 1950 年代には年間 5,000 例以上の発生がみられたが, その後は激減し 1992 年以降は年間 10 例未満となり<sup>3)</sup>。年齢別では 1990 年以前は小児と高齢者の 2 群で患者発生がみとめられたが, 1991 年～2003 年では高齢者でみとめられる。日本脳炎が減少した理由としてワクチンの効果が挙げられ<sup>4)</sup>。またウイルスの弱毒化の影響, すなわち日本脳炎ウイルス遺伝子の変異として 3' 非翻訳領域の 10 塩基前後の欠失がその病原性を低下させているとの指摘もある<sup>5)</sup>。しかし日本脳炎が激減している一方で不顕性感染をふくめた自然感作率は減少していないと報告されている<sup>6)</sup>。ウイルス感染者の中で日本脳炎を発症するのは 200～300 人に 1 人で不顕性感染で終わるばあいが多くと考えられているが<sup>7)</sup>。日本脳炎ウイルスによる髄膜炎や脳炎以外の熱性疾患<sup>8)</sup>が増加している可能性も考えられる。

2005 年, Kuwayama らは夏季に発症した無菌性髄膜炎の髄液から日本脳炎ウイルス遺伝子が検出されたことを報告した<sup>1)</sup>。1998 年から 2002 年に発症した無菌性髄膜炎 190 例のうち病原体不明の髄液 57 検体をもちいて日本脳炎ウイルス遺伝子の検出を試みたところ, 4 例から検出された。いずれも 2000 年の症例で遺伝子型 1 型が 2 例, 3 型が 2 例であった。この報告を受け今回われわれは 1993 年から 2005 年まで各年の 6 月から 10 月に発症した無菌性髄膜炎 21 例の -70℃ 保存髄液検体をもちいて同様の検討をおこなった。成人 1 例から日本脳炎ウイルス遺伝子型 3 型(中山株)が検出された。本例では入院時の髄液・血清検体(発症 5 日目に採取)で日本脳炎ウイルス抗体価の測定がおこなわれ, IgM, IgG とともに陰性であったが, 日本脳炎発症 7 日以内での抗体価の感度は IgM で 70% 前後, IgG ではそれ以下と報告されており<sup>9)10)</sup>。ウイルス抗体価による診断には経時的解析が必須である。ペア髄液・血清で測定すれば, 日本脳炎を診断できた可能性がある。当時は無菌性髄膜炎の原因として日本脳炎は知られておらず, また, 発症時の髄液以外保存されていなかったため, これ以上の検討はできなかった。本例ではプライマーのこ

る 2 種類の PCR がおこなわれシーケンスにより塩基配列が確認されている。このことから日本脳炎ウイルスが髄膜炎の病因ウイルスと考えられた。

日本脳炎ワクチン接種後の重症 ADEM 発症の報告に基づき, 2005 年日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控えが厚生労働省より勧告された。現在, 国内での日本脳炎患者の発症は激減し, ワクチン接種をおこなわなくとも直ちに流行する機会はないと考えられる。また日本脳炎ウイルスによる髄膜炎の重篤例の報告はこれまでないことから, 髄膜炎の予防目的においてもワクチン接種は必須ではないと考える。しかし日本脳炎の自然感作率は以前と変わらず高値であることから, ワクチン中止により不顕性感染であった症例が髄膜炎・脳炎に, 髄膜炎であった症例が脳炎にシフトする可能性は否定できない。より安全性の高い日本脳炎ワクチンの実用化とともに, 髄膜炎など脳炎以外の臨床病型とそれらの発症状況を把握することが今後の課題の一つと考えられる。

## 文 献

- 1) Kuwayama M, Ito M, Takao S, et al: Japanese encephalitis virus in meningitis patients, Japan. *Emerging Infectious Disease* 2005; 11: 471—473
- 2) Solomon T: Viral encephalitis in Southeast Asia. *Neurological Infections and Epidemiology* 1997; 2: 191—199
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課国立感染症研究所感染症情報センター: 平成 15 年度 感染症流行予測調査報告書「日本脳炎」2004: pp 86—95
- 4) Konishi E, Suzuki T: Ratios of subclinical to clinical Japanese encephalitis (JE) virus infections in vaccinated populations: evaluation of an inactivated JE vaccine by comparing the ratios with those in unvaccinated populations. *Vaccine* 2002; 21: 98—107
- 5) Takegami T, Ishak H, Miyamoto C, et al: Isolation and molecular comparison of Japanese encephalitis virus in Ishikawa, Japan. *Jpn J Infect Dis* 2000; 53: 178—179
- 6) Konishi E, Shoda M, Yamamoto S, et al: Natural infection with Japanese encephalitis virus among inhabitants of Japan: A nationwide survey of antibodies against nonstructural 1 protein. *Vaccine* 2006; 24: 3054—3056
- 7) Benenson MW, Top FJ Jr, Gresso W: The virulence to man of Japanese encephalitis virus in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1975; 24: 974—980
- 8) Watt G, Jongsakul K: Acute undifferentiated fever caused by infection with Japanese encephalitis virus. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 704—706
- 9) Burke DS, Nisalak A, Ussery MA, et al: Kinetics of IgM and IgG responses to Japanese encephalitis virus in human serum and cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 1985; 151: 1093—1099
- 10) Desai A, Chandramuki A, Gourie-Devi M, et al: Detection of Japanese encephalitis virus antigens in the CSF using



monoclonal antibodies. *Clinical and Diagnostic Virology*

1994; 2: 191—199

**Abstract****A case report of aseptic meningitis due to Japanese encephalitis virus**Takafumi Hosokawa, M.D.<sup>1)</sup>, Hideto Nakajima, M.D.<sup>1)2)</sup>, Tomohiko Takasaki, M.D.<sup>3)</sup>,  
Masakazu Sugino, M.D.<sup>1)</sup>, Fumiharu Kimura, M.D.<sup>1)</sup> and Toshiaki Hanafusa, M.D.<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Internal Medicine I, Osaka Medical College<sup>2)</sup>Department of Internal Medicine, Seikeikai Hospital<sup>3)</sup>Department of Virology I, National Institute of Infectious Disease

Although Japanese encephalitis virus is mainly associated with encephalitis, it does cause other diseases. However, descriptions of symptomatic infections other than encephalitis are limited. In this study, cerebrospinal fluid (CSF) specimens from 21 patients with aseptic meningitis from July to October (in summer season) in each year from 1993 to 2005 were investigated for Japanese encephalitis virus. Total RNA was extracted from the specimens and amplified by nested polymerase chain reaction (PCR). Among the specimens, only one product had highest homology with Japanese encephalitis virus genotype III. The patient was a 34-year-old man who complained of headache and fever in July 1998. He was clinically diagnosed with aseptic meningitis, and the symptoms subsided spontaneously without specific treatment in several days. It is suggested that some cases of aseptic meningitis in summer could be caused by Japanese encephalitis virus.

(Clin Neurol, 47: 109—111, 2007)

**Key words:** Japanese encephalitis, Japanese encephalitis virus, aseptic meningitis, PCR

## 夏に多くみられる急性脳炎・脳症

細 矢 光 亮\*

### 要 旨

急性脳炎・脳症の月別発生をみると、冬に大きなピークがあり、春には少なく、夏にまた小さなピークがある。夏季の脳炎・脳症の原因としては、ウイルスの流行状況などからエンテロウイルスがもっとも多いとされている。エンテロウイルスが関与する脳炎・脳症の病態には、脊髄前角炎、脳幹脳炎、辺縁系脳炎などの1次性脳炎と、インフルエンザ脳症に類似した急性脳症の2つがあると考えられる。ワクチン接種の普及などにより、夏季の脳炎の代表であった日本脳炎は激減したが、現在ワクチン勧奨が差し控えられており、感受性者の増加が懸念される。当面、日本脳炎の発生を厳重に監視しなければならない。

### I. 急性脳炎・脳症の季節性

1996～2000年に福島県内で発生した急性脳炎・脳症の月別発生数と、1997～1999年に福島県内でウイルス検索を行った熱性けいれんの月別発生数を比較した(図1)。熱性けいれんの月別発生をみると、冬季の発生頻度がもっとも高く、春と秋には少なく、夏季に小さなピークを作るパターンを示す。熱性けいれんの発熱の原因をウイルス分離法、PCR法、抗原検出法などを用いて調べてみると、78.1%で病原体が同定され、主に冬季の原因はインフルエンザウイルス、夏季はエンテロウイルスであることが証明された<sup>1)</sup>。

急性脳炎・脳症の月別発生は、熱性けいれんと同様に、冬季の大きなピークと夏季の小さなピークを示す<sup>2)</sup>。急性脳炎・脳症の病原診断は、

主に臨床診断、抗原検出、血清診断によりなされておられ、診断率は43.8%に留まった。冬季のピークにはインフルエンザの関与が推定されたが、夏季のピークの原因は同定されていない。しかし、他のウイルスの流行状況なども考慮すると、夏にみられる急性脳炎・脳症の原因としてもっとも考えられるのはエンテロウイルスである。もう一つ、夏の急性脳炎の原因として重要なウイルスには日本脳炎ウイルスがあるが、ワクチンが普及し衛生環境の整った本邦においては、日本脳炎発症者数は多くはない。

### II. エンテロウイルス

#### 1. 脳幹脳炎

1997～2001年にかけて、マレーシア、台湾、日本などにおいて、エンテロウイルス71型

\* Mitsuaki HOSOYA 福島県立医科大学小児科  
[連絡先] ☎ 960-1295 福島県福島市光が丘1 福島県立医科大学小児科

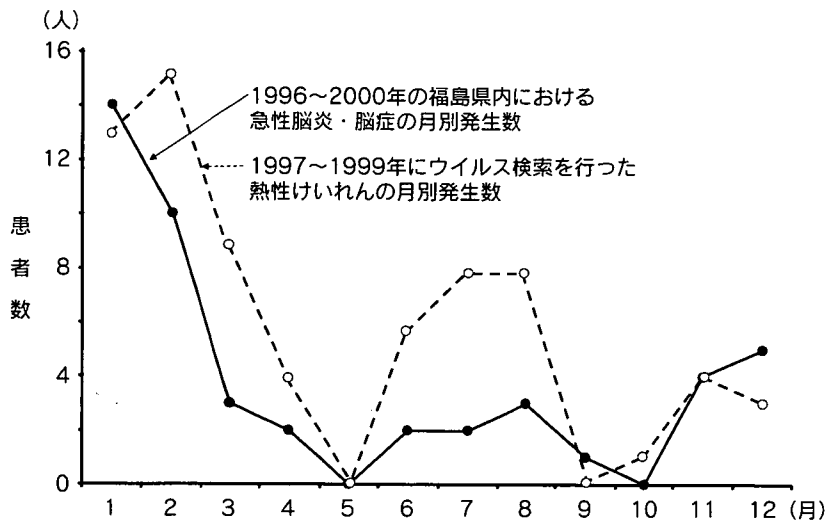


図1 急性脳炎・脳症と熱性けいれんの季節性

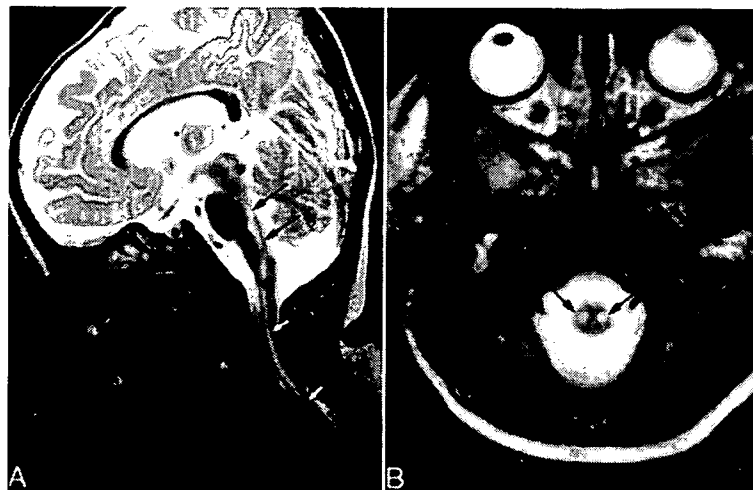


図2 エンテロウイルス 71 脳幹脳炎の MRI 画像 (Shen WC et al, 1999<sup>5)</sup> より転載)

- A : 橋～延髄～頸髄に T2 高信号を認める。
- B : 脊髄前角に T2 高信号を認める。

(EV 71) 感染に伴い脳炎を発症し、死亡する例が観察された。ほとんどの症例が、急激に進行する肺水腫をきたし、入院後 24 時間以内に死亡するという、激烈な経過を呈した。Huang ら<sup>3)</sup> は、EV 71 感染に伴い神経系合併症がみられた 41 例を報告している。平均年齢は 2.5 歳で、多

くは 5 歳未満であった。90% がけいれん発作、振戦、失調、ミオクロームス、脳神経症状などを呈し、脳幹脳炎と診断された。そのうちの 7 例が呼吸困難、チアノーゼ、無呼吸を呈し、5 例が入院後 12 時間以内に死亡している。肺水腫を呈し死亡した小児例の報告では、延髄腹側の中部



図3 入院時 (A) と急性呼吸窮迫症候群発症時 (B) の胸部 X 線写真 (Kao SJ et al, 2004<sup>4)</sup>より転載)  
 A : 異常陰影を認めない。  
 B : 全肺野に高度の浸潤影を認める。

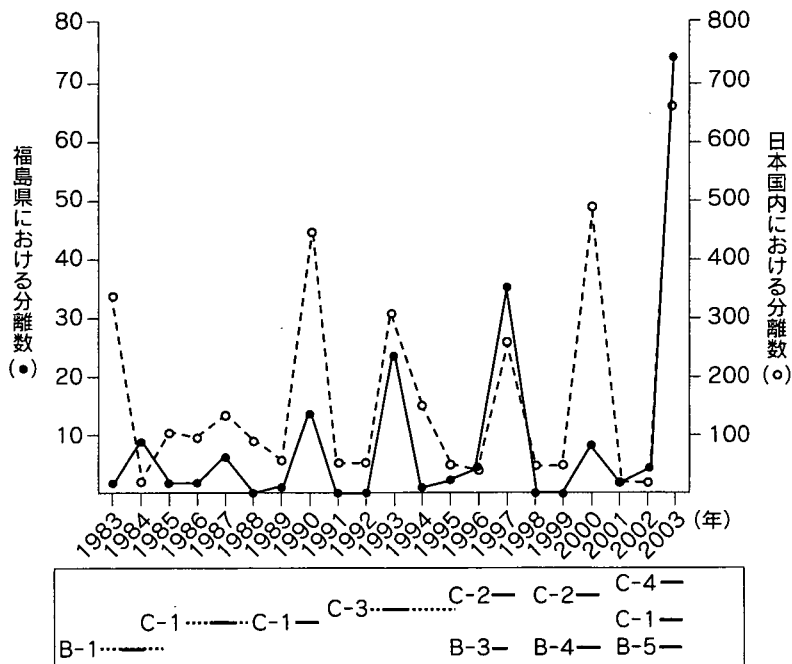


図4 エンテロウイルス 71 型亜群の流行様式  
 数年おきに繰り返される EV71 の流行は、異なる亜群によって引き起こされていた。

から尾部を中心にウイルス抗原が検出されている<sup>4)</sup>。MRI では、臨床的に脳炎と診断された 20 例中 15 例において、T2 強調画像にて脳幹から脊髄にかけて高信号が認められている (図 2)<sup>5)</sup>。

以上より、EV 71 が脳幹脳炎を引き起こし、その一部において肺水腫をきたし、呼吸状態が急速に悪化して死に至ると考えられる (図 3)。

肺水腫に至る原因としては、肺組織や心筋組