厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（総合）研究報告書

分担研究課題

単純ヘルペス脳炎における抗GluR抗体、型特異蛍光ELISA法による1、2型解析と急性辺縁系脳症例

分担研究者　庄司紘史
国際医療福祉大学福岡リハビリテーション学部　教授

研究要旨

単純ヘルペス脳炎（ヘルペス脳炎）11例における抗GluR ε 2およびδ２抗体の出現頻度は9/11例と高いが、抗GluR抗体が陽性であったのは8病日以降であり二次的な関与と推定した.

次に、4例のヘルペス脳炎および1例の感染関連の急性辺縁系脳症（ALE）において型特異蛍光ELISAを用いてHSV型別を検討した. 4例のヘルペス脳炎において3例で1型と同定され、1例のALE例では、逆に2型に対し有意な上昇をみとめHSV-2型の再活性化・再燃が示唆された.
成人の感染関連の辺縁系脳炎/脳症に関し言及した.

研究協力者：綾部光芳（久留米大学呼吸器・神経・膠原病内科）、西口明子、滝田杏児（立川相互病院神経内科）、藤間昭勝、本藤良（日本獣医生命科学大学獣医公衆衛生）市山高志（山口大学小児科）、田中薫（高邦会高木病院脳疾患センター神経内科）、高橋幸利（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）

A. 研究目的

1. 単純ヘルペス脳炎（ヘルペス脳炎）における抗glutamate receptor (GluR) ε 2およびδ２抗体の出現頻度、病態への関与について検討する.

2. Herpes simplex virus (HSV)中枢神経感染症においては、脳炎ではHSV-1型、髄膜炎・脊髄炎では2型が主病因ウイルスであるとされているが、宿主条件によっては逆も起こりうる.本研究では、HSV発現構造糖蛋白glycoproteins G (gG)を抗原とした蛍光enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)による型特異抗体の検出法を用い、ヘルペス脳炎におけるHSV-1, 2型特異抗体を検討し、併せて感染関連の急性辺縁系脳症｛acute limbic encephalopathy (ALE)｝の１例を報告する.

B. 研究方法

対象症例と材料：

1.抗 Glu R抗体

急性期にPCRあるいは抗体価の有意な上昇、臨床像、画像などで診断した11例のヘルペス脳炎（17～76歳、平均55.4歳、男性：女性＝5：6）において、抗GluR ε 2 抗体を検討した；血清12検体（発症から1-20日：5、21-60日：5、60日-：2検体）、髄液10検体（発症から1-20日：3、21-60日：6、60日-：1検体）、抗GluR δ2抗体は血清9検体（発症から１-20日：4,21-60日：5検体），髄液4検体（発症から１-20日：2,21-60日：2検体）について測定した。抗Glu R

抗体はNIH3T3細胞中でreverse tetracycline-controlled transactivatorを用い合成したGluRε2自己抗体の有無を検索した.

2. HSV1,2型ELISA解析

1）健常者血清：21検体(21～50歳)の血清、2）ヘルペス脳炎4症例（52、68、63、26歳）、それぞれ2ヶ月、1年、5年、12年後の血清、3)感染関連のALEと考えられる1例（75歳）の５病日、1ヶ月後の血清、1ヶ月後の髄液検体を対象とした．検体の採取にあたっては、患者さん・ご家族のinformed consentを得た.

型特異蛍光ELISA法は以下の手順で実施した；1） 抗原：HSV-1, 2型構造糖蛋白gG（ABI社）、2） 抗体：HSV-1, 2型感染ウサギ免疫血清、 HSV-1, 2型感染ヒト回復期血清、3）二次抗体：ビオチン標識抗ヒトIgM（SB社）、ビオチン標識抗ヒトIgG（CMN社）を用い、 蛍光ELISA法は、HSV-1, 2型の構造糖蛋白を抗原とし、希釈した検体（1：100～1：25600）を加え、次いでビオチン標識抗ヒトIgGを反応させ、Fluoroskanで4蛍光単位(IgG,IgM)を抗体価として判定した．併せて、補体結合抗体（CF）、radioimmunoassayである酵素抗体法（EIA）を測定し比較した.

（倫理面への配慮）

GluR抗体測定は、倫理委員会の承認の方法にて行っている。HSV1,2型ELISA解析は患者同意の検体で行っている。

C. 研究結果

1. Glu R抗体

HSE（n=11）の 血清12検体では、抗GluR ε2 IgG抗体 3例（3検体）、抗GluR ε2 IgM抗体 5例（6検体）、抗GluRδ2 IgG抗体 3例（5検体）、抗GluRδ2 IgM抗体 6例（8検体）でそれぞれ陽性であった。髄液7例（10検体）においては、抗GluR ε2 IgG抗体 1例（1検体）、抗GluRε2 IgM抗体 3例（3検体）が陽性となった。

いずれかの抗GluR抗体が陽性であったのは9/11例であった。抗体が陽性であったのは8病日以降であり，7病日以前には検出できなかった。

2. HSV1,2型ELISA抗体

1. 健常血清21検体では、蛍光ELISA HSV 1型IgG単独陽性（800ー6400倍）が8検体、1, 2型両者陽性（800、800倍）が1検体存在し、合わせると42.9%の陽性率であった．対象症例における成績を表１に示した.ヘルペス脳炎の症例1では、髄液からのPCRでHSV陽性、またCF, EIAではHSV 1型の抗原が使用され高値を示していたが、PCRを含め1、2型同定はされていなかった．2ヶ月後の血清での型特異抗体の解析では、1型に対しHSV IgG 6400倍，IgM 100倍，2型100倍以下で1型と識別された．症例3、4においては、5年、12年後の血清で型特異抗体はそれぞれ1型に対し3200倍、400倍を示し、2型100倍以下で1型を示唆していた．症例2では、1年後の血清で1、2型とも100倍以下 であった.従来の抗体（CF,EIA）との比較では、5年、12年後もCF,EIAとともに長期持続する傾向を示していた.

2. 感染関連のALE例

気管支炎、喘息発作が先行し、複数の髄液検査で細胞数増加を欠き、ウイルス感染関連、あるいは傍感染性のALEと考えられる症例を以下に提示する.

75歳女性、基礎疾患に気管支喘息・バセドウ病、既往に腎癌/膀胱癌を有し、2007年5月 中旬 朝よりぼんやりとしており、尿失禁、呼吸困難、37度の微熱を認めたため、救急外来を受診された.来院時、意識はJCS I-1、低酸素血症、白血球27500/μl、CRP 11mg/dlと増加を認めた.気管支炎、喘息発作の診断で呼吸器科へ入院し、CTX2g/日、プレドニゾロン60mg/日経静脈投与を開始した.入院後

は明らかな意識障害は認めなかったが、38度の発熱、全身性強直性間代性痙攣を認め、昏睡を呈したため神経内科へ転科した.体温38度、血圧 210/108mmHg、脈拍130/分、胸部にて連続性ラ音聴取. 急性期口唇ヘルペスを随伴した. 神経学的所見:JCSⅢ-300、項部硬直は認めず、上肢にミオクローヌスをみとめ、四肢深部腱反射低下. FT3 0.72 pg/ml, FT4 0.72 ng/ml, TSH 3.92μIU/ml,抗サイログロブリン抗体0.3U/ml未満,SS-A,SS-B抗体陰性、抗核抗体 80倍、髄液所見:初圧 210 /170 mmH$_2$0、無色透明、細胞数 1/mm^3、蛋白 32.0mg/dl、糖139mg/dl、髄液からのHSV PCRは未施行. 血清・髄液の抗Glu R抗体は陰性. 3日後の髄液検査での細胞数は正常、3ヶ月後の髄液においてinterleukin(IL)-6 4.4 pg/ml(n<9.7pg/ml), interferon(IFN)-γ42.2 pg/ml(n<46.6 pg/ml)、IL-2、IL-10は正常範囲、血清でIL-6 107 pg/ml(n<19.9 pg/ml), IFN-γ286.1 pg/ml(n<42.9 pg/ml)、IL-2、IL-10は正常と血清においてIL-6,IFN-γの増加がみられた. 発症10日後のMRIは両側海馬・扁桃体の異常所見を、脳波で周期性同期性放電 (PSD) を認め、1ヶ月後のMRIでは淡い陰影が残存していた. 急性期プレドニゾロン60mg/日の漸減投与後、8日目に意識は回復. 以後、抗けいれん薬、少量の副腎ステロイドを継続し、3ヶ月の時点で保続、健忘などの後遺症が残っている.

型特異蛍光ELISA IgG, IgMでHSV-1型へ変動がみられず、HSV-2に対し、血清でIgG 3200倍から25600倍へ、IgM 200倍、髄液でもIgG 320倍の高値を示した.

D. 考察

ヘルペス脳炎における抗Glu R抗体の出現頻度は高いが、超急性期には検出しがたいことから二次的に病態に関与する可能性が示唆された. ヘルペス脳炎例とPLEの合併例報告され、HSVと抗神経抗体との関連が言及されているが、HSVが抗Glu R抗体を誘導するか否か検討を必要とする.

今回のHSV型特異蛍光ELISA法の健康成人の抗体陽性率は42.9%と半数以下であったが、近年の初感染層が上昇している所見と相関している. 型特異蛍光ELISAにより、ヘルペス脳炎の4例中3例においてHSV-1 IgG型抗体の高値を認め、1型であることが裏付けられた. 症例1,3では、急性期PCR陽性であったが型同定はされていない. 症例1の2ヶ月後の血清において、1型に対しHSV IgG 6400倍, IgM 100倍, 2型100倍以下で1型と識別された. 症例2における100倍以下の低反応の理由は不明である.症例3 (26歳) では、14歳時ヘルペス脳炎、3年前に桐沢型ぶどう膜炎を合併した.ぶどう膜炎ではHSV-2型の頻度が高いとされているが型特異抗体では1型を示唆していた. 5、12年後を含む回復期血清で同定された点注目され、さらには、急性期から経時的にIgG,IgM解析を加えることにより、HSV中枢神経感染症における複合感染等の識別が可能になるものと考えられる.

急性辺縁系脳症 (ALE) 例では、急性期口唇ヘルペスを伴いスクリーニングでのHSV CF値の高い点に注目し、ペアー血清と回復期髄液で、HSV-1、2型特異抗体を検討した. 口唇ヘルペスは通常HSV-1型によるが、型特異蛍光ELISA IgG, IgMでHSV-1型への変動はなく既感染パターンを示していた. HSV-2に対し、血清で3200倍から25600倍へ、髄液でも320倍の高値を示し、中枢内での再活性化・再燃と考えられた.

型特異蛍光ELISA抗体の解析結果からはHSV-2型の関与がつよく疑われた. しかしながら、HSV-2型による脳炎は通常新生児・幼児に発症し、脳症型の報告は殆どなく、抗ヘルペスウイルス薬未使用での緩解を考慮するとウイルスの再燃に伴った何らかの免疫機序を介してのALEも考えられる.

小児では、感染に随伴したインフルエンザ脳症などが頻度の高い病態として認識され、脳内でのウイルス増殖を欠き、高サイトカイン血症や免疫学的成因が推定されている. 一方、ウイルス性脳炎は脳内でウイルスが増殖し、髄液からも検出され、髄液細胞増加がみられるとされる. しかし、成人・高齢者のウイルス感染に随伴した脳症型の報告は殆どみられない. 本例の場合、髄液細胞増加を欠いていたが、血清サイトカイン値はIL-6、IFN－γの増加がみられ、脳炎・脳症の分類への問題を提起している.

E. 結論

ヘルペス脳炎における抗Glu R抗体の出現頻度は高いが、超急性期には検出しがたいことから二次的に病態に関与する可能性が示唆された.

型特異蛍光ELISAで4例のヘルペス脳炎および1例のALEのHSV型別を検討した. 4例のヘルペス脳炎において3例で1型と同定され、1例のALE例では、逆に2型に対し有意な上昇をみとめHSV-2型の再活性化・再燃が示唆された.

成人で頻度の高いヘルペス脳炎、急性辺縁系脳炎/脳症は、けいれん、記憶障害、統合失調症様症状など呈し、公衆衛生の観点からも国民の新たな脅威となっている。

F. 研究発表

著書

1. 庄司紘史：細菌性髄膜炎、山口徹・他編　今日の治療指針、医学書院、2007；160-161.
2. 庄司紘史：成人のガイドライン一国際フォーラムとの比較、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎ヘルペス脳炎.　日本神経感染症学会編　ヘルペス脳炎診療ガイドラインに基づく診断指針と治療指針、中山書店、2007：17-23、135-148.
3. 庄司紘史：スピロヘータ感染症・他. 杉本恒明・他編、内科学、朝倉書店2007；1824-1827.
4. 庄司紘史:脳炎・髄膜炎. 前田正信編 よくわかる病態整理　8、神経疾患、日本医事新報社 2007；116-123.
5. 庄司紘史:脳炎・髄膜炎. 医療情報研究所編　Year Note 2007;1717-1725.
6. 庄司紘史: 中枢神経感染症.　舟田久編 感染症診療ガイド、永井書店　2006；291-298.
7. 広橋伸之、庄司紘史. 急性中枢神経感染症（脳炎・髄膜炎）. 永山正雄、浜田潤一編 神経救急・集中治療ハンドブック、医学書院 2006；191-202.
8. 庄司紘史. 感染性疾患. 平山恵造監修. 臨床神経内科学5版　南山堂 2006;261-282.
9. 庄司紘史. 髄膜炎、脳膿瘍. 北村聖編集　臨床病態学1　ヌービエルヒロカワ　2006；74-81.
10. 庄司紘史：ヘルペス脳炎. 山口徹、北原光夫編　今日の治療指針2005　医学書院　615-616, 2005

論文発表

1. Fujima A, Ochiai Y, Saito A, Shoji H et al : Discrimination of antibody to herpes B virus from herpes simplex virus types 1 and 2 in human and macaque sera.　J Clin Microbiol 2007;46:56-61.
2. Chitose SI, Umeno H, Hamakawa S, Nakashima T, Shoji H : Unilateral associate laryngeal paralysis due to varicella-zoster virus: virus antibody testing and videofluoroscopic findings. J Laryngol Otol 2007；122：170-176.
3. 庄司紘史：非ヘルペス性急性辺縁系脳炎—オーバービュー. Neuroinfection　2007；12：28-32.
4. 庄司紘史:単純ヘルペス脳炎と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎. 医学のあゆみ 2007;223:299
5. 園田啓太, 遠藤智代子, 田中薫, 庄司紘史：日本脳炎の後遺症の検討. 神経内科 2007;67：479-481.
6. Nagafuchi M, Nagafuchi Y, Sato R, Imaizumi T, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T: Adult meningism and viral meningitis, 1997-2004: clinical data and cerebrospinal fluid cytokines. Intern Med 2006;45:1209-1212.
7. 永渕雅子、綾部光芳、庄司紘史、市山高志: メニンギスム、ウイルス性髄膜炎、発熱関連の頭痛の鑑別は？　神経内科　2006；65：417-418.
8. 庄司紘史: ウイルス性脳炎. 内科　2006；97：803-805.
9. 庄司紘史:成人ヘルペス脳炎の診療ガイドライン. 臨床神経学 2006;46:955-967.
10. Sato R, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T, Saito Y, Hondo R, Eizuru Y: Herpes simplex virus type 2 recurrent meningitis

(Mollaret' s meningitis):
a consideration for the recurrent pathogenesis. J Infect 2005;51:e217-220.
11. Hirai R, Ayabe M, Shoji H, Kaji M, Ichiyama T, Sakai K:
Herpes simplex encephalitis presenting with bilateral hippocampal lesions on magnetic resonance imaging, simultaneously complicated by small cell lung carcinoma. Intern Med 2005;44:1006-1008.
12. 庄司紘史:非ヘルペス性辺縁系脳炎の最近の動き. Neuroinfection 2005;10:41-43
13. 庄司紘史、綾部光芳:髄膜炎・脳炎の診断規準・病型分類・重症度. 内科2005;95:1514-1517

G. 知的財産権の出願登録状況

現時点でなし。

Table 1 HSV types 1, 2 differentiation by florescent ELISA in herpes simplex encephalitis including acute limbic encephalopathy

Antibody assays			HSV/PCR	HSV/CF	HSV / EIA		ELISA HSV-1 / gG		ELISA HSV-2 / gG	
Cases	Age/ Sex	after onset (D,M,Yr)	CSF	CF	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
1	68/M	2 M	(+)type?	512X	>128.0(+)	0.71(-)	6400X	100X	<100	<100
2	52/F	1 Yr	(+)type-1	16X	67.0(+)	0.41(-)	<100	<100	<100	<100
3	63/F	5 Yrs	(+)type?	128X	>128(+)	0.39(-)	3200x	<100	<100	<100
4	26/F	12 Yrs	?	8X	31.4(+)	0.72(-)	400x	<100	<100	<100
5	75/F	5 Days 1M		128X 1024x	120.0(+) 828.0(+)	1.56 (+)	3200x 3200x	<100 <100	3200x 25600x	<100 200x
5	(CSF)	1M	n.d.	4x	3.5(+)	0.31(-)	<10x	<10	320x	<10

M; man, F; female, D; day, Mo; month, Yr; year, CSF; cerebrospinal fluid, n.d.; not done, HSV; herpes simplex virus, CF; complement fixation test, EIA; enzyme immunoassay, ELISA; fluorescent enzyme-linked immunosorbent assay

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（総合）研究報告書

分担研究課題

HHV-6脳炎・脳症の病態解明

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病態解明を目指し、早期診断法確立、全国調査による疫学的解析、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。突発疹関連脳炎脳症は全国で少なくとも年間60症例ほど発生していると考えられた。髄液検査所見はほとんどの症例が正常であり、各種の画像診断でも特異的な所見に乏しいことが明らかとなった。注目すべきはその予後が不良であったことであり、半数がかなり重篤な神経学的後遺症を残していることが明らかとなった。HHV-6脳炎患児髄液では、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。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・脳症の病態解明を目指し、有熱期早期診断法開発、全国調査による疫学的解析ならびに脳脊髄液（CSF）中ウイルスDNA量とサイトカイン濃度の解析を行った。

B.　研究方法

1)LAMP法による急性期血清中ウイルスDNA検出による迅速診断法開発

ウイルス分離、血清学的検査によりHHV-6初感染が証明された患児血清を用い、DNA抽出を省略して直接LAMP法によりウイルスDNAが検出できるかどうか検討。

2)HHV-6脳炎の発生頻度、臨床像解明のための全国調査

1次調査にて全国各病院へ症例の有無を問い合わせ、症例のあった施設について2次調査を実施。

3)HHV-6脳炎患者の髄液中ウイルスDNA量測定とサイトカイン濃度測定

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-1β、IL-6、IL-10、TNF-α、IL-12p70）はCytometric Bead Arrayによって、CSF中MMP-9はELISA（Amersham Biosciences）によって測定。

（倫理面への配慮）

尚、これらの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。また、全国調査は匿名化して症例情報を検討した。

C. 研究結果

1) LAMP

LAMP法により血清からDNA抽出をすることなく、直接HHV-6 DNAを検出することに成功した。ウイルス分離を基準として検討した結果、高い感度、特異性が確認された。この方法を用いて、一例のHHV-6症例を有熱期に診断し、ガンシクロビルを投与した。重篤な後遺症はなく、現在経過観察中である。

2) 全国調査成績

平成15年1月から平成16年12月の2年間に、我が国で発生した突発性発疹症（突発疹）関連脳炎・脳症の実態を把握するためアンケート調査を実施した。回収率は70.2%であり、脳炎・脳症患者86症例が報告された．その結果、本邦における年間発生数は約60例と推定された。患児に性差は認めず、平均月齢は14.0±8.8ヵ月であった．神経症状は66%の症例で発疹出現前に認められた．頭部MRI検査では69%に異常所見を認め、このうち71%で後遺症を残した。予後については後遺症無く生存した症例が41例(51%)、後遺症を残した症例が38例（47%)、死亡が2例（2%)であった。

3) CSF 中ウイルス DNA 量とサイトカイン濃度測定

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）。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及び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・脳症患児のCSF中IL-8濃度は、HHV-6 FC群より有意に高値を示したが、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。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

突発疹関連脳炎脳症は全国で少なくとも年間60症例ほど発生していると考えられた。これまでも言われているように、髄液検査所見はほとんどの症例が正常であり、各種の画像診断でも特異的な所見に乏しいことが明らかとなった。注目すべきはその予後が不良であったことであり、半数がかなり重篤な神経学的後遺症を残していることが明らかとなった。その発症にはHHV-6脳炎・脳症の発症には、ウイルスの中枢神経系への直接侵襲よりは、サイトカインを介した中枢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。

E. 結論

突発疹に関連した脳炎の予後は予想に反し不良で、そのような患児の予後改善のための迅速診断法開発に成功した。また、その発症メカニズムに、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. 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

1. 大橋正博、吉川哲史、菅田 健、三宅 史、須賀定雄、浅野喜造　ヒトヘルペスウイルス6（HHV6）関連脳炎脳症の全国調査（第二報）第38回日本小児感染症学会　2006年　11月10日～11月6日、高知
2. 松井純子、大橋正博、美濃和 茂、吉川哲史、菅田 健、三宅 史、須賀定雄、浅野喜造　LAMP法により突発疹有熱期に迅速診断し、抗ウイルス剤を投与した HHV-6 脳症の 1 例　第 38 回日本小児感染症学会　2006 年 11 月 10 日～11 月 6 日、高知
3. 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
4. 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

F. 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。

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（総合）研究報告書

分担研究課題

中枢神経系感染症に関与するエンテロウイルスの遺伝子系統解析

分担研究者　細矢光亮　福島県立医科大学　教授

研究要旨

エコーウイルス30型の髄膜炎は数年おきに流行を繰り返している。福島県内で分離されたエコー30型の遺伝子を系統解析し、県内における無菌性髄膜炎の流行と遺伝子変異との関連、および世界の他の地域で流行したウイルスとの関連を検討した。その結果、数年おきの流行には遺伝子的に系統の異なるウイルスの出現が関与し、それらが世界的に伝播していることが示された。

A．研究目的

エンテロウイルスは無菌性髄膜炎、脊髄炎、脳炎などの中枢神経系感染の原因となる。そこで、無菌性髄膜炎や手足口病から分離されたエンテロウイルスの遺伝子を系統解析し、エンテロウイルスの流行とウイルス遺伝子変異の関連、脳炎とウイルス遺伝子変異の関連を検討した。

B．研究方法

無菌性髄膜炎

1）1997-1998年と2004年に福島県内で流行した無菌性髄膜炎の患者より採取した髄液検体を材料とした。

2）エンテロウイルスの5’末端の非翻訳領域とVP2領域にプライマーを設定し、nested-PCR法によりウイルス遺伝子を増幅した。

3）PCR増幅産物に含まれるVP4の全領域の塩基配列を決定し、64血清型のエンテロウイルス標準株とともに系統解析し、血清型を同定した。

4）同定されたエコー30型にGenBankに登録されている世界各地で分離されたエコー30型をあわせ、系統樹を作成した。

手足口病

5）1983年から2003年の間に福島県で分離されたEV71(121株)とCA16(129株)について、VP4領域の全遺伝子配列を決定し、遺伝子系統解析により分離年代と遺伝子変異の関連を検討した。

6）既にGenbankに登録されている国内および海外で分離されたEV71(164株)とCA16(49株)を加え系統樹を作成し、国内分離株と海外分離株の関連を検討した。

（倫理面への配慮）

患者同意を得た後、髄液を採取した。

C．研究結果

無菌性髄膜炎

1）1997－1998年に採取した髄液35検体中17検体に、2004年に採取した髄液29検体中28検体に、エコー30型を検出した。

2）VP4領域の系統解析では、本邦において1983-1984年、1989-1990年、1991年、1997-1998年に検出されたエコー30型は、それぞれ異なるクラスターを形成した。1997年に福島県で流行したエコー30型は、1997-1998年に本邦で検出されたウイルスと単一のクラスターを形成した。2004年に福島県で流行したエコー30型は２

系統あり、これまでに本邦で分離されたエコー30型とは異なるクラスターを形成した。

3）VP1領域の系統解析では、1997年に福島県で流行したエコー30型は、1996-1997年にオーストラリアで、2001年に台北にて流行したウイルスと単一のクラスターを形成した。2004年に福島県で流行したエコー30型は、1系統は1999-2000年にロシアやウクライナで、2003-2004年に中国で流行したウイルスと、他の一系統は2002年に中国で流行したウイルスと、単一クラスターを形成した。

手足口病

4）福島県においては、EV71は1984年、1987年、1990年、1993年、1997年、2000年、2003年に、CA16は1985年、1988年、1991年、1995年、1998年、2002年に流行があった。

5）EV71は、既に知られているB-1,2,3,4とC-1,2,3の7つの亜群と新たな2群(B-5,C-4)の計9群に分類され、B-1、C-1、C-3、C-2、B-4、およびB-5とC-4が、それぞれ1984年、1987年と1990年、1993年、1997年、2000年、および2003年の流行に関与した。

6）CA16は、新たにA群、B群、C群の3群に分類され、A群は1985年と1991年、B群は1988年と1998年、C群は1995年と2002年の流行に関連した。

7）福島で分離されたウイルスは、ほぼ同時期に日本の他の地域や世界で分離されたウイルスと同一のクラスターを形成した。

D．考察

本邦においてエコー30型による無菌性髄膜炎や、エンテロ71やコクサッキーA16による手足口病は、数年おきに流行が見られるが、それぞれの流行には遺伝子的に系統の異なるウイルスの出現が関与し、それらが世界的に伝播していることが示された。エンテロ71による脳幹脳炎には特定の亜型が関与し、それが流行した1997年から2000年に東南アジアや日本において脳幹脳炎が多発した。

E．結論

このような遺伝子系統解析は、髄膜炎や脳炎などに関与するエンテロウイルスの解析に有効であろうと考えられた。

F．研究発表

（論文発表）

1．Hosoya M, Kawasaki Y, Katayose M, Sakuma H, Watanabe M, Igarashi E, Aoyama M, Nunoi H, Suzuki H, Prognostic predictive values of serum cytochrome c, cytokines and other laboratory measurements in acute encephalopathy with multiple organ failure. Arch Dis Child, 2006;91:469-472.

2．Hosoya M, Kawasaki Y, Sato M, Honzumi K, Kato A, Hiroshima T, Ishiko H, Suzuki H, Genetic diversity of enterovirus 71 associated with hand, foot, and mouth disease epidemics in Japan from 1983 to 2003, Pediatr Infect Dis J, 2006；25：691-694.

3．Hosoya M, Measles encephalitis: direct viral invasion or autoimmune-mediated inflammation? Intern Med 2006; 45:841-842.

4．Hosoya M, Kawasaki Y, Sato M, Honzumi K, Hayashi A, Hiroshima T, Ishiko H, Kato K, Suzuki H, Genetic diversity of coxsackievirus A16 associated with hand, foot, and mouth disease epidemics in Japan from 1983 to 2003, J Clin Microbiol, 2007;45:112-120.

5．細矢光亮，夏に流行するウイルス感染症対策．ヘルパンギーナ、手足口病、咽頭結膜熱，臨床と微生物，2006；33：725－729.

6．細矢光亮、夏に多くみられる急性脳炎・脳症．小児科，2007；48：391－397.

7．Nakajima H, Hosoya M, Takahashi Y, et

al. A chronic progressive case of enteroviral limbic encephalitis associated with autoantibody to glutamate receptor ε2. Eur Neurol. 2007 ; 57 : 238-240.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Ⅲ　研究成果の刊行に関する一覧表

厚生労働科学研究費補助金研究報告書

別紙４

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
庄司紘史	非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	日本神経感染症学会（庄司、岩田）	ヘルペス脳炎診療ガイドラインに基づく診断指針と治療指針	中山書店	東京	2007	135-148
市山高志、古川　漸	単純ヘルペス脳炎における免疫学的知見	庄司紘史、岩田　誠	ヘルペス脳炎update	中山書店	東京	2007	105-109
高橋幸利、久保田裕子、大谷英之、山崎悦子、池田浩子	難治てんかん：West症候群、乳児重症ミオクロニーてんかん、脳炎後てんかん	阿部康二	神経難病のすべて	新興医学出版社		2007	131-139
栗山勝，藤井明弘，米田誠	橋本脳症の臨床病態	柳澤信夫，篠原幸人，岩田誠，清水輝夫，寺本明	Annual Review神経	中外医学社	東京	2005	221-229
吉川哲史	ヘルペス属の臨床ウイルス学	日本神経感染症学会	ヘルペス脳炎	中山書店		2007	35-44

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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 encephalomeningitis.	Internal Medicine	47	135-141	2008
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	17	16-20	2008
Okumura A, Kidokuro H, Itomi K, Maruyama K, Kubota T, Kondo Y, Itomi S, Uemura N, Natsume J, Watanabe K, Morishima T	Subacute encephalopathy: clinical features, laboratory data, neuroimaging, and outcomes.	Pediatr Neurol	38 (2)	111-117	2008
Ishikawa N, Go Tajima, Sumio Hyodo, Takahashi Y, Masao Kobayashi	Detection of autoantibodies against NMDA-type glutamate receptor in a patient with recurrent optic neuritis and transient cerebral lesions	Neuropediatrics			in press
Kubota M, Takahashi Y	Steroid-responsive chronic cerebellitis with positive glutamate receptor delta 2 antibody	J Child Neurology			in press
Matsuo M, Takahashi Y, Kazuto Taniguchi, Kazuya Sasaki, Yuhei Hamasaki	Epilepsia partialis continua with anti-GluR antibodies and sensory deficits	Journal of Child Neurology			in press

Nozaki H, Shimohata T, Kanbayashi T, Sagawa Y,Katada S, Satoh M, Onodera O, Tanaka K, Nishizawa M	A patient with anti-aquaporin 4 antibody who presented with recurrent hypersomnia, reduced orexin (hypocretin) level, and symmetrical hypothalamic lesions	Sleep Medicine			in press
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
Takahashi Y	Epitope of autoantibodies to NMDA-receptor in paraneoplastic limbic encephalitis	Annals of Neurology			in press
Takahashi Y, Hisashi Mori, Masayoshi Mishina, Masahiko Watanabe, Naomi Kondo, Jiro Shimomura, Yuko Kubota, Kazumi Matsuda, Katsuyuki Fukushima, Naohide Shiroma, Noriyuki Akasaka, Hiroshi Nishida, Atsushi Imamura, Hiroo Watanabe, Nobuyoshi Sugiyama, Makoto Ikezawa, Tateki Fujiwara	Autoantibodies to NMDA-type GluRε2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsia partialis continua	Epilepsia			in press
Fukumoto Y, Okumura A, Hayakawa F, Suzuki M, Kato T, Watanabe K, Morishima T	Serum levels of cytokines and EEG findings in children with influenza associated with mild neurological complications.	Brain Dev	29 (7)	425-430	2007
Hara K, Mashima T, Matsuda A, Tanaka K, Tomita M, Shiraishi H, Motomura M, Nishizawa M	Vocal cord paralysis in myasthenia gravis with anti-MuSK antibodies	Neurology	68	621-622	2007
Hosoya M, Kawasaki Y, Sato M, Honzumi K, Hayashi A, Hiroshima T, Ishiko H, Kato K, Suzuki H	Genetic diversity of coxsackievirus A16 associated with hand, foot, and mouth disease epidemics in Japan from 1983 to 2003	J Clin Microbiol	45	112-120	2007
Ichiyama T, Kajimoto M, Hasegawa M, Hashimoto K, Matsubara T, Furukawa S	Cysteinyl leukotrienes enhance TNF-α-induced matrix metalloproteinase-9 in human monocytes/macrophages.	Clin Exp Allergy	37	608-614	2007
Ichiyama T, Morishima T,Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S	Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy.	Pediatr Infect Dis J	26 (6)	542-544	2007
Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Takasu T, Miki K, Kira R, Kusuhara K, Hara T, Toyama J, Furukawa S	Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis.	J Neurol Sci	250	45-48	2007
Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Fujita A, Sugata K, Suga S, Ohashi M, Nishimura N, Ozaki T, Asano Y, Yoshikawa T.	Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by the loop-mediated isothermal amplification method.	J Clin Virol	39	22-6	2007
Kimura A, T. Sakurai, Y. Suzuki,Y. Hayashi, I. Hozumi, O. Watanabe, K. Arimura, Takahashi Y, T. Inuzuka	Autoantibodies against glutamate receptor ε2 subunit detected in a subgroup of patients with reversible autoimmune limbic encephalitis	Eur Neurol	58 (3)	152-158	2007
Yoneda M., 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	185	195-200	2007
Miyazaki M., Yoshino A., Teraishi T., Nomura S., Nemoto H., Takahashi Y.	Encephalitis of unknown etiology with anti-GluRε2 autoantibody, showing divergent neuroradiologic and clinical findings	Eur Neurol	57	111–113	2007

Nakagawa H., M. Yoneda, A. Fujii, K. Kinomoto, M. Kuriyama	Hashimoto's encephalopathy presenting with progressive pure cerebellar ataxia.	J Neurol Neurosurg Psychiatr	78	196-197	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 ε2	Eur Neurol	57	238-240	2007
Nakajima H, Ishida S, Furutama D, Sugino M, Kimura F, Yokote T, Baba I, Tsuji M, Hanafusa T	Expression of vascular endothelial growth factor by plasma cells in the sclerotic bone lesion of a patient with POEMS syndrome	J Neurol	254	531-533	2007
Okamoto S, Teruyuki HIRANO, Takahashi Y, Taro YAMASITA, Eiichiro UYAMA, Makoto UCHINO	Paraneoplastic limbic encephalitis caused by ovarian teratoma with autoantibodies to glutamate receptor	Internal Medicine	46 (13)	1019-1022	2007
Okanishi T, Tetsuya Kibe, Takahashi Y, Yoshiaki Saito, Yoshihiro Maegaki, Kenji Yokochi	Multifocal cortical legions in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures	Brain & Development	29	590–594	2007
Okumura A, Kidokuro H, Mizuguchi M, Kurahashi H, Hirabayashi Y, Morishima T, Watanabe K.	The mildest form of acute necrotizing Encephalopathy associated with influenza A.	Neuropediatrics	37 (4)	261-263	2007
Saito Y, Yoshihiro MAEGAKI, Riina OKAMOTO, Kaeko OGURA, Masami TOGAWA, Yukiko NANBA, Takehiko INOUE, Takahashi Y, Kousaku OHNO,	Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures: case reports of this unusual post-encephalitic epilepsy	Brain & Development	29	147-156	2007
Shiihara T, Mitsuhiro Kato, Akihiro Konno, Takahashi Y, Kiyoshi Hayasaka	Acute cerebellar ataxia and consecutive cerebellitis produced by glutamate receptor δ2 autoantibody	Brain & Development	29	254-256	2007
Shimokaze T, Mitsuhiro Kato, Yozo Yoshimura, Takahashi Y, Kiyoshi Hayasaka	A case of acute cerebellitis accompanied by autoantibodies against glutamate receptor δ2	Brain & Development	29	224-226	2007
Tanaka K., T. Tani, M. Tanaka, T. Saida, 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	13	850-855	2007
Tanaka M, Tanaka K, Komori M	Anti-aquaporin 4 antibody in Japanese multiple sclerosis: the presence of optic spinal multiple sclerosis without long spinal cord lesions and anti-aquaporin 4 antibody	J Neurol Neurosurg Psychiatry	78	990-992	2007
Tomizawa T, Kaneko Y, Kaneko Y, Saito Y, Ohnishi H, Okajo J, Okuzawa C, Ishikawa-Sekigami T, Murata Y, Okazwa H, Okamoto K, Nojima Y, Matozaki T	Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis and impaired T cell priming by dendritic cells in src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase substrate-1 mutant mice	J Immunol	179 (2)	869-877	2007
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.	Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay.	J Clin Microbiol.	45	1426-32.	2007
Yoshino A, Yoshie Kimura, Masaaki Miyazaki, Tetsuo Ogawa, Aki Matsumoto, Sochiro Nomura, Hideaki Nemoto, Takahashi Y	Limbic encephalitis with autoantibodies against the glutamate receptor epsilon 2 mimicking temporal lobe epilepsy	Psychiatry and Clinical Neurosciences	61	335	2007

Ando M, Miyazaki E, Hiroshige S, Ashihara Y, Okubo T, Ueo M, Fukami T, Sugisaki T, Tsuda T, Ohishi K, Yoshitake S, Noguchi T, Kumamoto T	Virus associated hemophagocytic syndrome accompanied by acute respiratory failure caused by influenza A (H3N2)	Intern Med	45 (20)	1183-1186	2006
Arimura K, Ng AR, Watanabe O.	Immune-mediated potassium channelopathies.	Clin Neurophysiol	59	275-282	2006
Hiraga A, Kuwabara S, Hayakawa S, Ito S, Arimura K, Kanai K, Yonezu T, Hattori T.	Voltage-gated potassium channel antibody-associated encephalitis with basal ganglia lesions.	Neurology	66	1780-1781	2006
Hosoya M	Measles encephalitis: direct viral invasion or autoimmune-mediated inflammation?	Intern Med	45	841-842	2006
Hosoya M, Kawasaki Y, Katayose M, Sakuma H, Watanabe M, Igarashi E, Aoyama M, Nunoi H, Suzuki H	Prognostic predictive values of serum cytochrome c, cytokines and other laboratory measurements in acute encephalopathy with multiple organ failure.	Arch Dis Child	91	469-472	2006
Hosoya M, Kawasaki Y, Sato M, Honzumi K, Kato A, Hiroshima T, Ishiko H, Suzuki H	Genetic diversity of enterovirus 71 associated with hand, foot, and mouth disease epidemics in Japan from 1983 to 2003	Pediatr Infect Dis J	25	691-694	2006
Ichiyama T, Kajimoto M, Suenaga N, Maeba S, Matsubara T, Furukawa S.	Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor (TIMP-1) in acute disseminated encephalomyelitis.	J Neuroimmunol	172	182-186	2006
Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Maeba S, Furukawa S.	Analysis of serum and cerebrospinal fluid cytokine levels in subacute sclerosing panencephalitis in Papua New Guinea.	Cytokine	33	17-20	2006
Ishizu T, Minohara M, Ichiyama T, Kira R, Tanaka M, Osoegawa M, Hara T, Furukawa S, Kira J.	CSF cytokine and chemokine profiles in acute disseminated encephalomyelitis.	J Neuroimmunol	175	52-58	2006
Ito H, Yamamoto N, Arima H, Hirate H, Morishima T, Umenishi F, Tada T, Asai K, Katsuya H, Sobue K.	Interleukin-1 beta induces the expression of aquaporin-4 through a nuclear factor-kappa B pathway in rat astrocytes.	J Neurochem	99 (1)	107-118	2006
Kawada J, Kimura H, Kamachi Y, Nishikawa K, Taniguchi M, Nagaoka K, Kurahashi H, Kojima S, Morishima T.	Analysis of gene-expression profiles by oligonucleotide microarray in children with influenza.	J Gen Virol	87 (Pt6)	1677-1683	2006
Maeda K, Sasaki T, Murata Y, Kanasaki M, Terashima T, Kawai H, Yasuda H, Okabe H, Tanaka K.	Paraneoplastic cerebellar degeneration in olfactory neuroepithelioma.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	77	123-124	2006
Mochizuki Y, Toshio Mizutani, Eiji Isozaki, Toshiyuki Otake, Takahashi Y	Acute limbic encephalitis: a new entity?	Neuroscience Letters	394	5-8	2006
Ohshita T, Hideshi Kawakami, Hirofumi Maruyama, Tatsuo Kohriyama, Kimiyoshi Arimura, Masayasu Matsumoto.	Voltage-gated potassium channel antibodies associated limbic encephalitis in a patient with invasive thymoma	J Neurol Sci	250	167-169	2006
Shiihara T, Mitsuhiro Kato, Takashi Ichiyama, Takahashi Y, Naoyuki Tanuma, Rie Miyata, Kiyoshi Hayasaka	Acute encephalopathy with refractory status epilepticus: bilateral mesial temporal and claustral lesions, associated with a peripheral marker of oxidative DNA damage	Journal of the Neurological Scinences	250	159-161	2006
Suzuki R, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Inagaki S, Matsumoto K, Kato K, Matsuyama K, Kudo K, Kojima S, Asano Y.	Development of loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of cytomegalovirus DNA.	J Virol Method	132	216-21	2006

Takahashi Y	Infections as causative factors of epilepsy	Future Neurology	1, No. 3	291-302	2006
Takahashi Y, Kazumi Matsuda, Yuko Kubota, Jiro Shimomura, Etsuko Yamasaki, Tatsuya Kudo, Katsuyuki Fukushima, Hitoshi Osaka, Noriyuki Akasaka, Atsushi Imamura, Shinji Yamada, Naomi Kondo, Tateki Fujiwara	Vaccination and infection as causative factors in Japanese patients with Rasmussen syndrome: Molecular mimicry and HLA class I	Clinical & Developmental Immunology,	13 (2–4)	381–387	2006
Waragai M, A Chiba, A Uchibori, T Fukushima, M Anno, K.Tanaka	Anti-Ma2 associated paraneoplastic neurological syndrome presenting as encephalitis and progressive muscular atrophy	J Neurol Neurosurg Psychiatry	77	111-113	2006
Enomoto Y, Yoshikawa T, Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Suga S, Suzuki K, Kawana T, Nishiyama Y, Asano Y.	Rapid diagnosis of herpes simplex virus infection by loop-mediated isothermal amplification method.	J Clin Microbiol	43	951-955	2005
Fujii A., M. Yoneda, T. Ito, O. Yamamura, S. Satomi, H. Higa, A. Kimura, M. Suzuki, M. Yamashita, T. Yuasa, H. Suzuk, M. Kuriyama	Autoantibodies against the amino terminal of α-enolase are a useful diagnostic marker of Hashimoto's encephalopathy	J Neuroimmunol	162	130-136	2005
Ichiyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S.	Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy.	J Neurol Sci	239	53-57	2005
Ichiyama T, Yoshitomi T, Nishikawa M, Saito K, Matsubara T, Furukawa S.	Analysis of cytokine levels in cerebrospinal fluid in mumps meningitis: comparison with echovirus type 30 meningitis.	Cytokine	30	243-247	2005
Icihyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S.	Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy.	J Neurol Sci	239 (1)	53-57	2005
Ito H, Kenji Mori, Yoshihiro Touda, Mayumi Sugimoto, Takahashi Y, Yasuhiro Kuroda	A case of acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures, presenting autoantibody to glutamate receptor Gluε2	Brain & Development	27	531-534	2005
Kamei S, Sekizawa T, Shiota H, Mizutani T, Itoyama Y, Takasu T, Morishima T, Hirayanagi K.	Evaluation of combination therapy using aciclovir and corticosteroid in adult patients with herpes simplex virus encephalitis.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	76 (11)	1544-1549	2005
Kato Y, Takatsuki K, Kawahara S, Fukunaga S, Mori H, Mishina M, Kirino Y.	NMDA receptors play important roles in acquisition and expression of the eyeblink conditioned response in glutamate receptor subunit δ2 mutant mice	Neuroscience	135	1017-1023	2005
Kimura H, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J, Ito Y, Morishima T, Yoshikawa T, Asano Y.	Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR.	Med Microbiol Immunol.	194 (4)	181-185	2005
Kondo M, Fukao T, Teramoto T, Kaneko H, Takahashi Y, Okamoto H, Kondo N	A common variable immunodeficient patient who developed acute disseminated encephalomyelitis followed by the Lennox-Gastaut syndrome	Pediatr Allergy Immunol	16 (4)	57-60	2005
Mihara T, Mutoh T, Yoshikawa T, Yano S, Asano Y, Yamamoto H.	Postinfectious myeloradiculoneuropathy with cranial nerve involvements associated with human herpesvirus 7 infection.	Arch Neurol.	62	1755-7	2005

Morita H, Hirota T, Mune T, Suwa T, Ishizuka T, Inuzuka T, Tanaka K, Ishimori M, Nakamura S, Yasuda K	Paraneoplastic neurologic syndrome and autoimmune Addison disease in a patient with Thymoma.	Am J Med Sci	329	48-51	2005
Nakajima H, Hanafusa T, Nakagawa T, Shimizu A	Rapid detection and subtyping of herpes simplex virus DNA in CSF by means of LightCycler PCR	Current Trends in Neurology	1	134-135	2005
Nunoi H, Mercado MR, Mizukami T, Okajima K, Morishima T, Sakata H, Nakayama S, Mori S, Hayashi M, Mori H, Kagimoto S, Kanegasaki S, Watanabe K, Adachi N, Endo F.	Apoptosis under hypercytokinemia is a possible pathogenesis in influenza-associated encephalopathy.	Pediatr Int	47 (2)	175-179	2005
Okumura A, Nakano T, Fukumoto Y, Higuchi K, Kamiya H, Watanabe K, Morishiama T.	Delirious behabior in children with influenzaits clinical features and EEG findings.	Brain Dev	27(4)	271-274	2005
Takahashi Y, Hisashi Mori, Masayoshi Mishina, Masahiko Watanabe, Naomi Kondo, Jiro Shimomura, Yuko Kubota, Kazumi Matsuda, Katsuyuki Fukushima, Naohide Shiroma, Noriyuki Akasaka, Hiroshi Nishida, Atsushi Imamura, Hiroo Watanabe, Nobuyoshi Sugiyama, Makoto Ikezawa, Tateki Fujiwara	Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluRε2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsia partialis continua	Epilepsia	46 Suppl 5	152-158	2005
Yaguchi M, Yaguchi H, Itoh T, Okamoto K	Encephalopathy with isolated reversible splenial lesion of the corpus callosum	Internal Medicine	44	1291-1294	2005
Yamashita N, Morishima T.	HHV-6 and seizures.	Herpes	12 (2)	46-49	2005
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	265-269	2008
冨岡志保、下野昌幸、加藤絢子、高野健一、塩田直樹、高橋幸利	グルタミン酸受容体（GluR）抗体が陽性であった髄膜脳炎の16歳男児例	脳と発達	40	42-46	2008
村上綾子、篠崎昌子、玉川公子、近藤信哉、久保田雅也、高橋幸利	ムンプス髄膜炎に合併したopsoclonus myoclonus ataxia syndromeの1例	小児科診療	71	549-552	2008
湯浅龍彦, 根本英明	辺縁系脳炎の概念の変遷	CLINICAL NEUROSCIENCE	26 (5)		in print
永井勅久、川尻真和、伊賀瀬道也、高橋幸利、小原克彦、三木哲郎	長期の人工呼吸管理後軽快した重症非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例	神経内科	68		in press
高橋幸利、久保田裕子、山崎悦子、松田一己	ラスムッセン脳炎と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	臨床神経学	48	163-172	2008
高橋幸利、山崎悦子、西村成子、角替央野、藤原建樹	急性非ヘルペス性脳炎-自己免疫的アプローチ-	Neuroinfection			in press
高橋幸利、山崎悦子、長尾雅悦、小出信雄、宇留野勝久、遠山潤、岡田久、渡辺宏雄、樋口嘉久、高田裕、夫敬憲、馬場啓至、村木幸太郎、田中滋己、湯浅龍彦、須貝研司	急性脳炎の後遺症に関する調査、-ADL・てんかん発作・知的障害・精神障害・記憶障害・運動障害-	Neuroinfection			in press
高堂裕平、下畑享良、徳永　純、河内　泉、田中惠子、西澤正豊	不眠と手指振戦を合併した抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎の一例	臨床神経			in press
稲次洋平、鈴木秀和、呉城珠里、豊増麻美、原秀憲、長谷川隆典、西郷和真、三井良之、楠進、高橋幸利	右不全麻痺と失語症で発症した抗GluR抗体陽性非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例	大阪てんかん研究会雑誌	17	17-20	2007

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
加藤裕司，中里良彦，田村直俊，富岳亮，島津邦男、高橋幸利	持続性部分てんかん、動作性ミオクローヌスが持続した抗グルタミン酸受容体抗体陽性の自己免疫性脳炎	臨床神経学	47	429-433	2007
菊地正広、渡邊周永、高橋幸利	小児非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1例	脳と発達	39	221-225	2007
高橋幸利	抗グルタミン酸受容体ε2抗体と辺縁系脳炎	Neuroinfection	12	39-44	2007
高橋幸利、山崎悦子	抗グルタミン酸受容体抗体と急性脳炎・脳症	医学の歩み	223 (4)	271-275	2007
高橋幸利、山崎悦子、久保田裕子、西村成子、角替央野、池田浩子、高橋宏佳、美根潤、大谷早苗、藤原建樹	脳炎における抗GluR抗体の意義	臨床神経学	47	848-851	2007
細矢光亮	夏に多くみられる急性脳炎・脳症	小児科	48	391－397	2007
小野陽一、藤川顕吾、高橋幸利、大谷恭平、宮田信司、寺田整司、黒田重利	抗GluRε2抗体陽性の成人発症hemiconnvulsion-hemiplegia-epilepsy syndromeの1例	精神医学	49	401-405	2007
庄司紘史	非ヘルペス性急性辺縁系脳炎-オーバービュー	Neuroinfection	12	28-32	2007
庄司紘史	単純ヘルペス脳炎と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	医学のあゆみ	223	299	2007
新堂晃大、伊井裕一郎、佐々木良元、高橋幸利、米田　誠、葛原茂樹	血清と髄液中の抗グルタミン酸受容体ε２抗体が陽性で非ヘルペス性急性辺縁系脳炎様の症状を呈した橋本脳症の1例	臨床神経学	47	629-634	2007
谷　卓、田中惠子、西澤正豊	抗アクアポリン4抗体の細胞機能に及ぼす影響についての検討	Neuroimmunology	15	175-178	2007
田中惠子	傍腫瘍性辺縁系脳炎	医学のあゆみ	223	286-290	2007
渡邊　修、有村公良	抗VGKC抗体と非ヘルペス性辺縁系脳炎	医学のあゆみ	223 (4)	281-285	2007
湯浅龍彦	自己抗体が介在する急性脳炎・脳症の意義	医学のあゆみ	223 (4)	263-234	2007
平野恵子、愛波秀男、矢野正幸、渡邉誠司、奥村良法、高橋幸利	tacrolimusが奏効した自己免疫性脳炎の1例	脳と発達	39	436-439	2007
木村記代，米田誠，横山広美，村山順一，高橋直生，藤井明弘，木村秀樹，栗山勝，吉田治義	ステロイド療法が著効した橋本脳症の透析患者の１例.	透析会誌	40	177-180	2007
木村暁夫，保住功，高橋幸利，犬塚　貴	抗GluRε2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	医学の歩み	223	300-301	2007
有村公良、渡邊修、長堂竜維	抗K^+チャネル（VGKC）抗体に関する神経疾患のスペクトラム	臨床神経	47 (11)	845-847	2007
和田健二，中島健二	非ヘルペス性辺縁系脳炎の疫学	医学のあゆみ	223	295295－296	2007
和田裕子、高橋竜一、柳原千枝、西村洋、高橋幸利	急性期の大量ステロイド投与が奏効した抗グルタミン酸受容体抗体陽性の非ヘルペス性脳炎の１例	Brain and Nerve	59	527-532	2007

高橋幸利、高木佐知子、西村成子、角替央野	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	24 (2)	219-221	2006
高橋幸利、西村成子、下村次郎、久保田裕子、松田一己、福島克之、城間直秀、赤坂紀幸、杉山延喜、池澤誠、西田浩、藤原建樹	グルタミン酸受容体自己抗体を有するラスムッセン脳炎及びその近縁疾患における自己反応性T細胞に関する研究	てんかん治療振興財団研究年報	17	41-48	2006
根本英明，湯浅龍彦	脳炎・脳症・診断と治療の進歩 I. 診断と治療 4. 特異な脳炎・脳症 2) 辺縁系脳炎	日本内科学会雑誌	95 (7)	1268-1273	2006
三宅進、山中絵里子、遠藤彰一、高橋幸利	左半球障害性の急性脳症に罹患後欠神発作を再発した1例	てんかん研究	24	26-31	2006
森島恒雄	インフルエンザ脳症	脳と神経	58 (7)	561-569	2006
石田　博，服部英司，高浦奈津子，吉田敏子，田中勝治，大谷早苗，松岡　収，高橋幸利，山野恒一	前障と海馬に病変を認めた非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の１小児例	脳と発達	38	443-447	2006
田中惠子	神経疾患と自己抗体	脳神経	58	189-198	2006
田中惠子	視神経脊髄型多発性硬化症における抗aquaporin-4抗体の診断的意義	神経進歩	50	559-562	2006
中尾直樹，福岡敬晃，佐橋　功，高橋幸利	“軽症”非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1例	神経内科	65	493-495	2006
米田誠，藤井明弘，栗山勝	甲状腺疾患に伴う脳症	神経治療	24	133-138	2006
荒井元美，高橋幸利	Epilepsia partialis continuaで発症した抗グルタミン酸受容体抗体陽性の亜急性脳炎	臨床神経学	45(8)	610-612	2005
根本英明、高橋幸利、湯浅龍彦	自己抗体介在性急性可逆性辺縁系脳炎(autoantibody-mediated acute reveresible limbic encephalitis (AMED-ARLE))	NEUROINFECTION	10	44-46	2005
細矢光亮	急性中枢神経疾患と病原ウイルス診断	モダンメディア	51	112－115	2005
庄司紘史	非ヘルペス性辺縁系脳炎の最近の動き	Neuroinfection	10	41-43	2005
森寿	グルタミン酸受容体チャンネルの構造と機能	生化学	77	619-629	2005
須藤哲，村田哲人，村山順一，大森晶夫，中川広人，米田誠，栗山勝，和田有司	ステロイドパルス療法が奏功した非ヘルペス性辺縁系脳炎の１例	精神科	6	631-635	2005
林祐一、松山善次郎、高橋幸利、脇田賢治、橋爪龍麿、木村暁夫、保住　功、村瀬全彦、犬塚　貴	抗グルタミン酸受容体δ2，ε2抗体をみとめた非ヘルペス性脳炎の1例	臨床神経学	45	657-662	2005