

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

急性脳炎・脳症の
グルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・
早期診断・治療法確立に関する臨床研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

(1/2冊)

研究代表者 高橋幸利

平成21 (2009) 年 3月

目 次 (1/2冊)

I. 総括研究報告

急性脳炎・脳症のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・早期診断・
治療法確立に関する臨床研究

高橋 幸利	1
(資料1) 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、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 (2005-7) (主任研究者: 高橋幸利)	20
(資料2) 「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキーム	38
(資料3) 2008年度第1回画像検討会議報告	43
(資料4) 2008年度第2回画像検討会議報告	45
(資料5) 2008年度第3回画像検討会議報告	47
(資料6) 2008年度第4回画像検討会議	50

II. 分担研究報告

1. 鳥取県における辺縁系脳炎・脳症の前向き疫学調査 (2008年) 中島 健二	51
2. 新たに検索できた辺縁系脳炎の4剖検例と、浸潤するリンパ球の性状の検討 岡本 幸市	54
3. 長期経過を観察しえた成人Rasmussen脳炎の剖検例 栗山 勝	57
4. 急性非ヘルペス性辺縁系脳炎における抗GluR ϵ 2抗体のエピトープの検討 高橋 幸利	59
5. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における血清metalloproteinase-9 (MMP-9) と tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) の動態 市山 高志	68
6. 急性脳炎における血清metalloproteinase-9 (MMP-9) とtissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) の動態	

中嶋 秀人	-----	72
7. 急性脳症における脳・血液関門の破壊と神経障害のメカニズム		
森島 恒雄	-----	75
8. 非ヘルペス性辺縁系脳炎と診断された患者髄液におけるHSV以外の ヒトヘルペスウイルス検出状況		
吉川 哲史	-----	78
9. 辺縁系脳炎の画像及び臨床所見の検討：自検例14例の検討		
熊本 俊秀	-----	80
10. 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の治療と予後に関する検討		
高橋 幸利	-----	85
11. 単純ヘルペス脳炎の後遺症の検討、辺縁系脳炎・脳症の名称への一考察		
庄司 紘史	-----	94
12. 奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎におけるNMDAR抗体の検討		
田中 恵子	-----	98
13. グルタミン酸受容体自己免疫の基礎的検討		
森 寿	-----	100
14. 抗グルタミン酸受容体抗体を伴う急性(辺縁系)脳炎：卵巣奇形腫の診断と 治療に関する考察と提案		
湯浅 龍彦	-----	102
15. 各種治療に抵抗性を示した抗NMDA受容体抗体陽性の奇形腫関連脳炎の一例		
江里口 誠	-----	106
16. 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎に関する研究		
渡邊 修	-----	108
17. 若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(Acute Juvenile Female Non-Herpetic encephalitis: AJFNHE)		
亀井 聡	-----	110
18. 非ヘルペス性辺縁系脳炎患者の髄液中における新規抗神経抗体の同定		
犬塚 貴	-----	116
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	119

目 次 (2/2冊)

IV. 研究成果の刊行物・別刷

I 総括研究報告

急性脳炎・脳症のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・早期診断・ 治療法確立に関する臨床研究

主任研究者 高橋 幸利

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター臨床研究部長

研究要旨

辺縁系症状で発病する急性脳炎・脳症には複数の病態が存在し、個々の病態の正確な解明、鑑別診断の確立、病態ごとの固有の治療法の開発が望まれている。グルタミン酸受容体 (GluR) の役割を主体に研究を行った。

【疫学】これまでの我々の急性脳炎罹患率研究では、成人19.0/100万人年（年間2114例）、小児～56.4/100万人年（年間1000人）と推定しているが、正確な罹患率を把握するには前向き調査が必要であり、我々は鳥取県内で前向き調査を開始した。

【病理】腫瘍を合併しない非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (non-paraneoplastic, non-herpetic acute limbic encephalitis, NPNHALE) の海馬病変は、ミクログリアの増勢に加えて海馬CA1の実質内にCD8陽性T細胞が比較的多くみられことが分かった。

【抗GluR2抗体】NPNHALEにおける抗GluR2抗体のエピトープを検討するために、抗GluR2-NT2抗体、抗GluR2-M3-4抗体、抗GluR2-CT1抗体の検討を行った。抗GluR2抗体陽性のNPNHALEでは、GluR2分子のN末・M3-4間・C末をエピトープとする抗体がほぼ等しく血清および髄液中に検出され、GluR2分子の幅広い領域をエピトープとする抗GluR2抗体が産生されていた。

【血液脳関門】NPNHALE急性期での血清MMP-9、MMP-9/TIMP-1比高値および血清TIMP-1低値は、血液脳関門機能の低下を示唆した。回復期でも血清MMP-9、MMP-9/TIMP-1比高値および血清TIMP-1低値であり、血液脳関門機能の低下は長期間持続することが示唆された。TNF- α は動物実験で脳のMMP-9を増加させることが明らかとなった。

【ウィルス】NPNHALE32例の急性期髄液検体にはVZV、HHV-6、HHV-7、CMV DNA陽性検体はなかった。1検体で1184コピー/mlのEBV DNAが検出された。

【MRI画像】NPNHALEの臨床所見はMRI病変部位に一致し、MRI病変の拡がりにはNHALEの後遺症の重症度を示唆すると思われた。

【治療と予後】成人NPNHALEの後遺症では、ADL障害・精神症状・てんかん発作・知的障害・運動障害が約30%の症例に見られるのに対し、記憶障害は63.2%と高頻度に見られた。ADL障害、てんかん発作、精神症状、知的障害、運動障害の程度は、正常の約80%程度のレベルに障害されていたが、記憶は約60%のレベルまで障害されており、他の障害に比べて記憶障害の頻度・程度が高度であった。パルス治療・IVIg治療ともに、治療開始が早いほど精神症状・急性期入院日数などの予後が良い傾向を示した。

【卵巣奇形腫を伴うNHALE】我々の19例の臨床的検討では、若年女性に好発し、感染症が先行することが多く、精神症状、意識障害、痙攣、不随意運動、自律神経症状および中枢性低換気など非傍腫瘍性NHALEと類似の症状を呈するが、非傍腫瘍性NHALEより重症であることが分かった。Dalmauの方法に準じたNMDA型GluR複合体に対する抗体の測定が、我々の研究班で可能となった。またさらに、カルシウム透過性の低い変異受容体サブユニットの発現ベクターを用い、より簡便に抗NMDA型GluR複合体抗体測定を行えるようにした。

【抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎】非ヘルペス性辺縁系脳炎・脳症の20%を占め、18例中9例の傍腫瘍群の腫瘍の内訳は、7例が胸腺腫で、その他、悪性リンパ腫と肺癌が各1例ずつであった。傍腫瘍群の半数例で初発症状として四肢のじんじん感を呈していた。

【若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎】AJFNHEは、抗GluR2抗体が66%で陽性、卵巣腫瘍との関連を約30%で確認することができた。AJFNHE男性例の臨床像は女性例と極めて類似しているが、腫瘍の合併がないことが相違点であった。

【新たな脳炎関連自己抗原・抗体】NOLC1 (Nucleolar and coiled-body phosphoprotein 1)が脳炎患者血清と反応する抗原のひとつとなっていることが分かり、ELISA法が確立できた。高感度ナノLC-MS/MSシステムからも5つの新規のNHAE関連抗原が見つかった。

【診断スキームの更新】NHAE等の自己免疫介在性脳炎・脳症の診断治療を迅速に進め、病態研究を加速するために、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームを作成した (<http://www.hosp.go.jp/~szec2/06/06-1-2.htm>)。今年度はMRI画像の所見・診断的意義を検討した。

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

分担研究者：

- 湯浅 龍彦、医療法人社団木下会鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター、難病脳(神経)内科センター長
- 庄司 紘史、国際医療福祉大学リハビリテーション学部、教授
- 岡本 幸市、群馬大学医学部神経内科学講座、神経内科学、神経病理学、教授
- 熊本 俊秀、大分大学医学部脳・神経機能統御講座(内科学第三)、教授
- 栗山 勝、福井大学第2内科(神経内科)、教授
- 森島 恒雄、岡山大学大学院歯学総合研究科病態機構学 小児医科学、教授
- 田中 恵子、金沢医科大学脳脊髄神経治療学(神経内科学)、教授
- 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
- 中島 健二、鳥取大学教授医学部附属脳幹

性疾患研究施設脳神経内科部門、教授

- 森 寿、富山大学大学院医学系研究科分子神経科学、教授
- 渡辺 修、鹿児島大学大学院歯学総合研究科 神経病学・老年病学 助教
- 市山 高志、山口大学医学部生殖・発達・感染医科学講座、小児科学、アレルギー学、准教授
- 吉川 哲史、藤田保健衛生大学医学部小児科、准教授

研究協力者：

- 亀井 聡、日本大学医学部内科学系神経内科学分野、准教授
- 中嶋 秀人、清恵会病院内科 部長 (大阪医科大学第一内科)
- 佐々木 真理、岩手医科大学先端医療研究センター

A. 研究目的

急性脳炎・脳症の病態には、①ウイルス直接侵襲(1次性)脳炎、②感染後であってもウイルスが中枢神経系で見つからない傍感染性脳炎・脳症、③傍腫瘍性脳炎・脳症、④全身性膠原病合併脳炎・脳症、⑤その他・分類不能があると思われる(表1)。個々の病態の正確な解明、鑑別診断の確立、病態ごとの固有の治療法の開発が望まれている。

表1. 急性(亜急性)脳炎・脳症の病態分類(案)

- ①ウイルス直接侵襲(1次性)脳炎
- 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

2005-7年度の厚生労働科学研究(こころの健康科学研究事業)「急性脳炎のグルタミン酸受

容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた研究」(主任研究者、高橋幸利)において、以下の点を明らかにできた(資料1)。

①日本の成人における急性脳炎罹患率は、19.0/100万人年(年間2114例)と推計され、小児の罹患率は~56.4/100万人年と推定した。鳥取県での調査による非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(non-herpetic acute limbic encephalitis, NHALE)の罹患率は4.7/100万人年であり、まれな疾患ではないことを明らかにした。

②NHALEと考えられる症例の中には、大脳に広範囲に炎症の存在が示唆される病変がみられる症例と、比較的海馬領域に限局した病変を示す例があることが分かった。

③成人NHALEでは、血清抗GluRe2抗体が急性期~慢性期に約55%の症例で陽性であった。髄液抗GluRe2抗体は急性期(51.8%)、回復期(41.4%)、慢性期(28.6%)と、徐々に陽性率が低下し、全例N末エピトープを含んでいた。抗GluRe2抗体陽性NHALEの74.5%は15-34歳が占め、抗GluRe2抗体は主として若年成人の脳炎に関与していた。抗GluRe2抗体陽性NHALEの初発神経症状は、精神症状が主体で、抗GluRe2抗体陰性NHALEに比べてけいれんが有意に少なかった。抗GluRe2抗体陽性NHALEでは陰性NHALEに比べて、急性期症状のけいれん・けいれん重積の出現が遅く、髄液細胞数が多かった。

④若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(AJFNHE)では12例中8例で抗GluRe2抗体が陽性で、14例中4例で卵巣腫瘍との関連を確認、その一部はDalmauらの報告する卵巣奇形腫に合併する抗NMDA型GluR複合体抗体脳炎に包含された。

⑤非ヘルペス性辺縁系脳炎・脳症(NHLE)の20%で抗VGKC抗体が高値を呈し、抗VGKC抗体陽性NHLE症例は平均54.8±12.2歳で発病、亜急性の記憶障害・見当識障害、胸腺腫合併、ステロイド反応性などを特徴とした。

⑥橋本脳症では、血清中に存在する抗神経抗体が α -enolase蛋白のN末端部位に対して特異的に反応することが明らかとなり、抗NAE抗体陽性の橋本脳症では平均発病年齢は53歳(23-83歳)で、急性脳症型が73%(辺縁系脳炎型=9%)を占めた。

⑦傍感染性のNHALEの髄液では、IL-6とIL-10が上昇、IFN- γ が正常であり、炎症の原因はウイルスが主役ではないことを示した。一方、HHV6感染の証明できたHHV-6脳炎・脳症の髄液では、HHV-6 DNAの検出頻度・量は少なく、IL-8、IL-6が高値を示し、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。

⑧傍腫瘍性神経症候群(PNS)において、免疫寛容に重要な働きをするCD4⁺CD25^{hi}抑制性T細胞(Treg)は、PNSでは癌のみで神経症状なしのコントロール担癌患者群に比べ機能の低下が認められ、Hu-PNS(脳炎症状主体)で血管新生や大脳皮質形成に関与しているFGF basicが上昇していた。

⑨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、T7 phage biopanningを行い、NOLC1(Nucleolar and coiled-body phosphoprotein 1)が脳炎患者血清と反応する抗原のひとつとなっていることが分かった。

⑩急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症の診断治療を迅速に進め、病態研究を加速するために、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームを作成した。このスキームはホームページに掲載され(<http://www.hosp.go.jp/~szec2/06/06-1-2.htm>)、幅広く臨床家がアクセスできるようにした。

以上より、急性脳炎・脳症の中には、かなりの頻度で抗GluRe2抗体、抗VGKC抗体、抗NAE抗体などの自己抗体が陽性の脳炎・脳症が存在することが判明した。これらの自己抗体が陽性となる急性脳炎・脳症は、サイトカインなどの免疫機構が関与し、ステロイド治療が有効である共通性を持つことが分かり、早期診断・治療が望まれる。

2008年度からの「急性脳炎・脳症のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・早期診断・治療法確立に関する臨床研究」においては、図1に示すような戦略の下、自己抗体が脳炎症状を引き起こすメカニズムの解明、血液脳関門破綻のメカニズムの解明等を行ない、新たな自己免疫的視点からの診断・治療法を開発する。

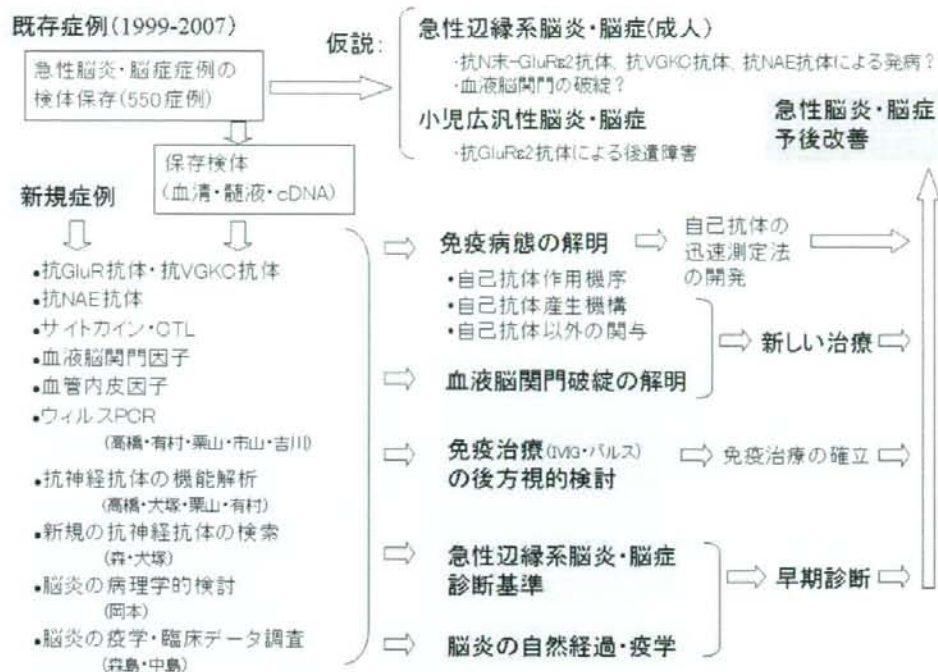


図1. 研究戦略

B. 研究方法

今年度は、表2に示すような研究内容計画を策定し、研究活動を行った。多施設共同研究のための症例登録基準(資料2)に合わせて前方視的に幅広く急性辺縁系脳炎・脳症の症例を集積し、自己抗体等の測定は表3に示すような施設で分担して行う。

1. 急性辺縁系脳炎・脳症の多施設共同研究による症例の収集

分担研究者・研究協力者の施設を中心に、2005-7年度の当研究班で作成した多施設共同研究のための症例登録基準(資料2)に合わせて前方視的に幅広く急性辺縁系脳炎・脳症の症例を集積し、各種ウィルス検索、臨床データ解析、神経画像評価に加えて、血清・髄液の自己抗体の測定、サイトカイン・ケモカイン等を経時的に測定し、自己免疫病態を検討する(班員・研究協力者全員)。

2. 疫学研究

急性脳炎症状を呈する症例の日本における発

生率、自己免疫介在性脳炎・脳症の頻度、急性脳炎の予後を含めた自然経過を明らかにするために、疫学調査を行う。

成人症例の急性(亜急性)脳炎・脳症の発生率を把握するために、鳥取県の各地域(東部・中部・西部)の11基幹病院神経内科に当研究班にて作成された診断登録基準(資料2)を送付し前方視的に調査を開始した(中島-鳥取)。

小児は、後方視的アンケート調査により全国調査を行い、疫学データを集積解析する(森島)。

3. 病理研究

新規のNHAEの4剖検例の海馬領域を病理組織学的に検討した。また、前回までに報告してきた辺縁系脳炎を含む8例の海馬領域のパラフィン包埋切片に対して、抗ヒトCD3ウサギポリクロナール抗体(T細胞)(DAKO, 1:100), 抗ヒトCD20マウスモノクロナール抗体(B細胞)(DAKO, 1:800), 抗ヒトCD8マウスモノクロナール抗体(サブプレッサー/細胞障害性T細胞)(DAKO, 1:200), 抗ヒトCD68マウスモノクロナール抗体(マクロファージ)(DAKO, 1:100)

表2. 平成20年度研究計画内容

① 脳炎の自己免疫病態の検討

- 抗神経自己抗体の測定：抗GluRε2・GluRδ2抗体（高橋幸利担当）、抗NAE抗体（栗山勝担当）、抗VGKC抗体（渡辺修担当）、抗Yo抗体・抗Hu抗体・抗Ri抗体・抗CV2(CRM P-5)抗体・抗Ma-2抗体・抗amphiphysin抗体（田中恵子担当）などを測定する。
- 抗N末-GluRε2抗体の迅速測定法の確立：現在イムノブロットで5日かけている検査を、ELISA法で迅速に測定できるようにする（高橋幸利担当）。
- 卵巣奇形腫合併辺縁系脳炎症例のエピトープ解析：Dalmau教授との共同研究でNMDA型GluR複合体への自己抗体のエピトープを決定する（高橋幸利担当）。
- 新規自己抗体の検索：新たな脳炎自己抗体を見出すために、T7 Phage Display System（森寿担当）やラット脳の二次元免疫プロットングおよび高感度ナノLC-MS/MSシステム（犬塚貴担当）を用いた検討を行う。
- 抗神経抗体の産生機構・機能解析：抗GluRε2抗体をラット培養神経細胞に加え、その生物学的効果を、Caイメージで評価する（高橋幸利担当）。抗NAE抗体（栗山勝担当）、抗VGKC抗体（渡辺修担当）についても検討する。
- サイトカイン：脳炎患者の血清・髄液で経時的に測定する（市山高志担当）。
- 血液脳関門・血管内皮細胞：MMP-9、TIMP-1などの検討を行う（市山高志担当）
- ウィルス因子の検討：PCRを用いた検出・ウィルス学的解析を行う（吉川哲史担当）

② 免疫学的治療（ステロイド治療・IVIG・血漿交換等）の有効性の検討

2006年8月より開始できた多施設共同研究の中で、急性辺縁系脳炎・脳症症例を前方視的に登録、免疫学的治療の有効性およびそのタイミングを、自己抗体・サイトカインなどの指標を考慮して詳細に検討する（湯浅龍彦、岡本幸市、犬塚 貴、熊本俊秀、庄司絃史担当）。

③ 自己免疫介在脳炎の診断基準、治療マニュアル作成

多施設共同研究の中で画像所見に関する診断基準を検討する（湯浅龍彦、岡本幸市、犬塚 貴、熊本俊秀、庄司絃史担当）。

④ 脳炎の自然経過・疫学検討

小児の後方視的疫学調査（全国対象）を行なう（森島恒雄担当）、成人領域の前方視的疫学調査（中島健二担当）を行なう。

⑤ 脳炎症例の病理学的検討

これまでの脳炎剖検例を主体に、研究協力を得て引き続き脳組織標本を解析する（岡本幸市担当）。

表3. 研究班における自己免疫病態解析の分担

検査項目	分担施設
抗GluRε2・GluRδ2抗体	静岡てんかん・神経医療センター
抗NMDAR複合体抗体	金沢医科大学神経内科、富山大学
抗VGKC抗体	鹿児島大学神経病学
抗NAE抗体	福井大学第2内科
サイトカイン（IL-6、IFN γ 、等）、MMP9、TIMP1	山口大学医学部小児科学 静岡てんかん・神経医療センター
サイトカインなどのRNA遺伝子発現	静岡てんかん・神経医療センター
ウィルス検出	藤田保健衛生大学小児科
HLA	静岡てんかん・神経医療センター

表4. 多施設共同研究の症例収集状況

分類	20060807-20070917	20070917-20081031
急性脳炎脳症	142	185
亜急性脳炎	14	28
傍腫瘍性辺縁系脳炎	12	21
再発性脳炎	9	20
膠原病合併脳炎脳症	6	7
橋本脳症	5	5
ADEM	3	4
MS		3
インフルエンザ脳症	2	2
SSPE	1	0
血球貪食症候群	1	1
白質脳症		2
化膿性髄膜炎	1	1
HHE	1	0
OMS		10
小脳炎		14
傍腫瘍性脳幹小脳炎		7
脳幹脳炎	1	3
脊髄炎	2	0
その他		1
合計	200症例	314症例

を用いて免疫染色し、出現しているリンパ球の性状を検討した(岡本)。

自己免疫性脳炎のプロトタイプであるラスマムセン脳炎の成人剖検例を検討した(栗山)。

4. 新しい抗神経抗体・抗原の検索

NHALE患者の髄液・血清とラット大脳を用い、二次元免疫プロットングを施行した後、抗体が認識する抗原蛋白を、高感度nanoscale capillary liquid chromatography (LC) system および tandem mass spectrometer を組み合わせた高感度の質量分析システムを用いてアミノ酸配列を分析する。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の同定を試みた(犬塚)。

5. 抗NOLC1抗体の測定法の開発

これまでの検討で、脳炎患者血清中抗体と反応することが判明しているNucleolar and coiled-body phosphoprotein 1 (NOLC1, NM_004741) 分子について、大腸菌を用いてNOLC1 組換え蛋白質を発現・精製した後、ELISAによる抗NOLC1抗体の測定法を構築した(森)。

6. 抗NMDA受容体複合体抗体測定法の開発

卵巣奇形腫を伴う辺縁系脳炎(NHALE-OT)においてDalmauらが報告した抗NMDA受容体複合体抗体の検出を、日本でも可能にするべく検討した。

細胞表面上に発現しているNMDA受容体複合体に対する自己抗体スクリーニング系の確立に向け、HEK293細胞にNMDA受容体

(GluR2+GluR ζ 1)の発現を行った。NMDA受容体は、GluR2+GluR ζ 1の複合体として細胞表面上に発現するが、細胞培養液中に存在するグルタミン酸とグリシンに反応して活性化し、カルシウム透過により細胞死を誘導する。患者血清スクリーニングのためには、NMDA受容体の安定発現株の樹立が必要であり、細胞毒性の問題を解決するためにカルシウム透過性の低い変異受容体サブユニット(GluR2N/R, GluR ζ 1N/R-EGFP)の発現ベクターを構築し、HEK293細胞に導入した(森)。

GluR ζ 1(NR1)およびGluR ϵ 1(NR2A), GluR ϵ 2(NR2B)それぞれのcDNAを発現ベクターpEF-BOSに挿入したプラスミドを、HEK293細胞にtransfectして、MK-801 10 μ Mを添加したDMEM/10% FCS中で18時間培養し、それぞれに患

者髄液を反応させ、FITC-抗ヒトIgGを二次抗体として抗体を検出した。なお、NMDAR各subunitの発現は、ウサギに免疫して得られた抗GluR ζ 1抗体および抗GluR ϵ 1抗体、抗GluR ϵ 2抗体を用いて確認した。NMDA受容体複合体に対する抗体検出系の確立のため、本研究班に抗体検査のために送付されたNHALE-OT症例の髄液で、本抗体測定系を発表したDr. Dalmauのもとで本抗体が陽性と判断された3検体、陰性と判断された3検体をブラインドの状態でも供与を受け、我々の検出系で検討した(田中)。

7. 抗NMDA受容体複合体抗体の特性の検討

ラットおよびマウスの大脳・小脳組織の凍結切片を用いて、NHALE-OT患者血清・髄液での免疫組織化学染色を行い、NMDAR各サブユニット(GluR ζ 1(NR1)およびGluR ϵ 1(NR2A), GluR ϵ 2(NR2B))に対する抗体を用いた染色パターンとの比較を行った(田中)。

8. 急性非ヘルペス性辺縁系脳炎における抗GluR ϵ 2抗体エピトープの検討

成人非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(non-paraneoplastic, non-herpetic acute limbic encephalitis, NPNHALE)における抗GluR ϵ 2抗体の役割を検討する目的で、免疫プロット法での髄液抗GluR ϵ 2抗体陽性NPNHALE(陽性群35例)と髄液血清抗GluR ϵ 2抗体陰性NHALE(陰性群15例)の、抗GluR ϵ 2抗体エピトープ(抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体)の検討を行った。

抗GluR ϵ 2抗体エピトープは、N末細胞外ドメイン(NT2)、膜貫通部分M3-4間の細胞外ドメイン(M3-4)、C末細胞内ドメイン(CT1)のペプチドを合成し、それらを抗原としてELISA法により吸光度(OD)を測定し、評価した。NT2に対する抗体を抗GluR ϵ 2-NT2抗体、M3-4に対する抗体を抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、CT1に対する抗体を抗GluR ϵ 2-CT1抗体と呼ぶ。エピトープと臨床経過との関連は、脳炎症状出現日を0日として検討した(高橋)。

9. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)等における血液脳関門の病態の検討

対象はNHALE 23例(男性6例、女性17例; 15~79歳、中央値32歳)。正常対照群は健康成人41例(男性5例、女性36例; 15~78歳、中央値39歳)。方法は急性期および回復期における血清

Matrix metalloproteinase-9(MMP-9)、Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) 値をELISA法で測定した。検定はMann-Whitney検定、Wilcoxon検定、 χ^2 検定で行った(市山)。

急性脳炎の病態における免疫学的機所について、特に血液脳関門の障害に注目して血清のMMP-9とTIMP-1を急性脳炎16例と正常健常者13例、さらに疾患対照群として多発性硬化症6例、視神経脊髄炎16例、ギラン・バレー症候群10例、筋萎縮性側索硬化症7例において測定し比較検討した(中嶋-大阪)。

10. 炎症性サイトカインの血液脳関門への影響の検討

マウスにIL-6、IL-1 β 、TNF- α を投与し、Evans blue extravasation into brain法により血液脳関門の評価を行い、MMP-9の変化を検討する(森島)。

11. 辺縁系脳炎における画像所見と臨床所見との関連の検討

2000年6月~2008年11月の間に大分大学神経内科に入院し、辺縁系脳炎と診断され、血清及び髄液中のGluRをとともに測定し得た14例(男性7例、女性7例)を対象として、頭部MRIのDWIまたはFLAIR画像を基に、異常所見の有無及び分布状況から、1) 両側性に辺縁系~側頭葉、前頭葉下面と広範囲に認める群(以下、広範群)、2) 一侧の側頭葉及び後頭葉、頭頂葉に認める群(以下、一側限局群)、3) 辺縁系のみに限局する群(以下、辺縁系限局群)、4) 画像に何ら所見を認めない群(以下、所見なし群)の4群に分類し、臨床及び検査所見について検討した(熊本)。

12. 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の治療と予後に関する検討

成人のNPNHALEの予後は比較的良好とされているが、てんかん発作、精神症状、知的障害、記憶障害、運動障害に苦しむ症例も多い。今回我々は、辺縁系症状で神経症状が始まった15歳以上のNPNHALE 86例を対象とし、予後の実態および治療と予後との関連を検討した。全長GluR2蛋白を抗原としたイムノブロット法抗GluR2抗体により、血清・髄液ともに陰性の陰性群(22例)、髄液陽性の陽性群(49例)、血清のみ陽性の血清陽性群(15例)に分類した。A DL予後はBarthel score(20点満点)で、てん

かん発作(4点満点)、精神症状(2点満点)、知的障害(5点満点)、記憶障害(2点満点)、運動障害(3点満点)の予後は、それぞれのスコアで評価した。スコアが満点でない場合を後遺症ありとした(高橋)。

13. 若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(Acute Juvenile Female Non-Herpetic encephalitis: AJFNHE)の臨床的検討

AJFNHEの実態調査を目的におこなった全国調査での集積例(基準合致90例)のうち性別の記載があった80例を対象として、女性と男性例の臨床像を比較した。検討した項目は、(1)発症年齢、(2)在院期間、(3)臨床症状・症候、(4)人工呼吸器装着の頻度、(5)検査所見、(6)転帰、および(7)腫瘍の合併である(亀井)。

14. 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎に関する検討

抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎は、壮年期の患者に起こる亜急性の辺縁系脳炎で、高頻度にSIADHを合併し、免疫治療によく反応する一つのclinical entityであることが明らかになってきたが、病因論的に自己免疫性にも傍腫瘍性にも分類されることから、混乱が生じている。非ヘルペス性辺縁系脳炎(NHLE)症例から抗VGKC抗体>400 pMの高力価を呈する18症例をVGKC-LEとして抽出し、自己免疫性と傍腫瘍性の二群に分けて臨床像について解析した(渡邊)。

15. 単純ヘルペス脳炎の後遺症の検討

対象は男性1例、女性4例の5症例で、年齢は26~72歳で、平均56.6歳であった。いずれも発熱、意識障害、髄膜刺激症候で発症し、急性期における髄液PCR陽性、あるいはherpes simplex virus (HSV)抗体価の有意な上昇をもってヘルペス脳炎と診断されている。記憶の評価には国立リハビリテーションセンター版記憶検査より抜粋した見当識評価、WAIS-Rの数唱、三宅式記憶力検査、Rey-Osterriethの複雑図形検査、自伝的記憶検査、展望記憶課題を実施した。見当識評価は、人物、場所、時間に関する見当識を質問するもので、10点満点中9点以下のものを障害ありとした。三宅式記憶力検査では、有関係語対と無関係語対それぞれの3回目の再生数が、有関係語対は8点以上のものを障害なし、無関係語対は3点以上のものを障害なしと判定した。Rey-Osterriethの複雑図形

検査は、模写課題と30分後の再生課題を実施し、再生課題と模写課題の点数の差が4点未満のものを障害なしとした。自伝的記憶検査は、個人の生活史を児童期、成人前期、最近の情報の3期の質問項目に答えてもらった。知的機能の評価として、レーブン色彩マトリシス検査を施行した。その他、作話、性格変化、脱抑制、病識の有無等については診察所見に加え家族等から聴取した。日常生活の自立度はBarthel Index (BI) を用いて評価した。BIは食事や整容など10項目から構成され、100点満点で評価される(庄司)。

16. ウィルスに関する検討

国立静岡てんかん・神経医療センターに自己抗体等の検索依頼のあった非ヘルペス性辺縁系脳炎患者32名(男性12名、女性20名、年齢:5歳~83歳)の髄液32検体を対象とした。髄液200 μ lからDNAを抽出し、リアルタイムPCR法に

よりVZV、HHV-6、HHV-7、CMV、EBVの5種類のヒトヘルペスウイルスDNA量を測定した。(吉川)。

(倫理面への配慮)

①組換えDNA実験について:マウスDNAを組み込んだ細胞を用いており機関承認実験に該当し、静岡てんかん・神経医療センターのP2レベル実験室にて、機関承認を経て行なっている。

②臨床研究倫理指針について:本研究は、厚生労働省の臨床研究倫理指針(平成15年7月)に従い、静岡てんかん・神経医療センター院長の許可の下、被験者の人権に十分に留意しながら、書面による説明同意を得た上で自己抗体測定を行っている。

③「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究」は、倫理委員会の承認の方法にて行っている。

C. 研究結果

1. 急性辺縁系脳炎多施設共同研究の経過

2005-2007年度の先行研究班において、数回の会議を経てプロトコル等を策定し、2006年7月31日に主任研究者施設(静岡てんかん・神経医療センター)において倫理委員会の承認を得て、共同研究を開始した。その後多くの分担研究者施設でも倫理委員会の承認を得て、開始後14か月間(2006年8月-2007年9月)で200症例を、2007年9月から2008年10月までに314例を登録できた(表4)。

2. 「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームの作成

この診断スキームは先行研究班で作成開始し、自己免疫介在性脳炎・脳症の正確な診断法、より良い治療法を早期に確立するために、現時点で必要かつ可能と思われる検査について記載し、これまでの知見・文献などを整理してある

(<http://www.hosp.go.jp/~szec2/06/06-1-2.htm>)。

今年度は自己免疫介在性急性辺縁系脳炎に

ついて、MRI画像の診断スキームを加えるべく、検討会議を4回開催した(表5)。詳細は各検討会の内容を記した資料3-6を参照願いたい。

現在、4回の検討を元に、画像診断スキームの素案を作成中である(湯浅、岡本、熊本、高橋)。

表5. MRI画像の診断スキーム検討会議

- | |
|---------------------------|
| ①2008年度第1回画像検討会議(資料3) |
| 2008年5月16日(金曜日) |
| パシフィコ横浜 会議センター |
| ②2008年度第2回画像検討会議(資料4) |
| 2008年9月23日(祝日) |
| 鎌ヶ谷総合病院 |
| ③2008年度第3回画像検討会議(資料5) |
| 2008年10月11日(土曜日) |
| アルカディア市ヶ谷(私学会館) |
| ④2008年度第4回画像検討会議(資料6) |
| 2009年2月28日(土曜日) |
| 東京ステーションコンファレンス
603会議室 |

3. 急性脳炎・脳症の疫学調査

正確な罹患率を把握するには前向き調査が必要である。そこで、我々は鳥取県内の基幹病院に先行研究班において作製された『急性辺縁系脳炎症例登録基準』を配布し前向き調査の体制を整え疫学研究を開始した。2007年8月から2008年8月までに3例の急性辺縁系脳炎が登録され、その内訳は単純ヘルペス性1例、他のウイルス性1例、傍感染性辺縁系脳炎1例であった(中島-鳥取)。

小児における後方視的疫学調査は、調査期間:2005年1月~12月および2006年1月~10月の急性脳炎・脳症を対象とし、2848施設にアンケートを送付し、1339施設より回収し、354施設の1085症例を集積した。小児急性脳炎・脳症の原因はインフルエンザ(25%)、HHV-6,7(11%)、ロタウイルス(4%)、マイコプラズマ(3%)、ムンプス(3%)の順で、原因不明が27.6%を占めた(森島)。

4. 剖検例の海馬の免疫組織学的検討

NHALE4剖検例では、神経細胞脱落、浮腫、gliosisやリンパ球浸潤の程度は症例によって異なっており、辺縁系脳炎の病理学的特徴を明確にできていない。

海馬領域におけるCD68陽性マクロファージの増加は8例全例で著明であったが、浸潤しているリンパ球ではB細胞よりT細胞が多かった。海馬CA1の実質内に浸潤しているリンパ球ではCD8陽性T細胞が比較的多くみられ、悪性腫瘍を伴わない辺縁系脳炎でもCD8陽性T細胞は病変形成に関与している可能性があると考えられた(岡本)。

5. ラスムッセン脳炎の剖検例検討

脳病理所見では、散在性の融解壊死、血管周囲の細胞浸潤と肥大型アストロサイトやミグリアの増生を認めた。ラスムッセン脳炎は小児に特有な脳炎と考えられていたが、成人で高齢に発症する症例も存在し、各種のてんかんや脳炎の鑑別に重要である(栗山)。

6. 高感度ナノLC-MS/MSシステムを用いた新

規抗神経抗体・抗原の同定

ラット大脳ホモジネートをサンプルとして二次元免疫プロット法によりNHALE患者の血清・髄液中に存在する抗神経抗体を検出し、LC-MS/MSシステムを用いてその認識抗原蛋白の同定を試みた。患者は血清・髄液中の抗GluR ϵ 2抗体が陽性であったが、その他の辺縁系脳炎に関連する既知の自己抗体は全て陰性であった。解析の結果、急性期の髄液中より合計6つの抗体反応スポットを検出した。この中、5つのスポットに関しては急性期の髄液だけで反応があり急性期血清および緩解期の髄液では反応が確認されず、病態との関連性が示唆された(犬塚)。

7. 抗NOLC1抗体の測定(ELISA)法の開発

患者血清を用いたELISAの結果、検索した血清の中でラスムッセン脳炎の一人の患者において、抗NOLC1抗体価が高いことが明らかとなった(森)。

8. 抗NMDA受容体複合体抗体の測定法の開発

HEK293細胞に通常のNMDA受容体サブユニット(GluR ζ 1およびGluR ϵ 1またはGluR ϵ 2)を共発現させた細胞を用いて患者髄液と1:5で反応させたところ、J. Dalmauらの抗NMDAR複合体抗体測定結果と一致した。6例中2例は抗体価が低く、検体の希釈倍率を1:1としたところ、検出が可能であった(田中)。

カルシウム透過性の低い変異受容体サブユニット(GluR ϵ 2N/R, GluR ζ 1N/R-EGFP)の発現ベクターを導入したEK293細胞に発現させたNMDA受容体複合体は、抗GFP抗体ならびに細胞外領域を認識する抗GluR ϵ 2抗体を用い、Westernプロットならびに蛍光抗体法により両サブユニットの発現を検出できた。今後この方法により、卵巣奇形腫合併NHALE症例の血清・髄液を検討し、その後安定組み換え細胞の構築を目指す(森)。

9. 抗NMDA受容体複合体抗体の特性

NMDA受容体各サブユニット(GluR ζ 1(NR1)およびGluR ϵ 1(NR2A), GluR ϵ 2(NR2B))に対

する抗体による、マウスの大脳・小脳組織の免疫組織染色では、いずれも神経細胞の辺縁が染色され、GluR ϵ 1ではニューロンの突起を含め細胞辺縁のシャープな染色パターンが得られ、GluR ϵ 1では、細胞周囲がやや厚みを持って染色され、GluR ϵ 2では、細胞周囲がfineなdot likeパターンで縁取りされる染色像であった。NHALE-OT患者髄液ではGluR ϵ 2に近いパターンで、血清ではGluR ϵ 1に類似の染色パターンが得られた(田中)。

10. 急性非ヘルペス性辺縁系脳炎における抗GluR ϵ 2抗体エпитオプの検討

血清抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体のOD値はすべて、陽性群が対照に比べ有意に高値で、髄液抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体のOD値はすべて、陽性群が疾病対照に比べ有意に高値であった。イムノプロット法での陰性群にも、陽性群と同じレベルの抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体(OD値)を示す血清・髄液が存在した。血清・髄液の抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体のOD値は、症例ごとにほぼ同レベルの抗体値で、髄液/血清比は各抗体で有意差はなかった。死亡例では、血清抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT1抗体の高値な症例が多く、髄液抗GluR ϵ 2-NT2抗体は急性期入院日数と正の相関を示した(高橋)。

11. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)における血液脳関門の病態の検討

NHALE群の急性期血清MMP-9値およびMMP-9/TIMP-1比は正常対照群に比し、有意に高値だった(ともに $p < 0.001$)。急性期血清TIMP-1値は正常対照群に比し、有意に低値だった($p < 0.001$)。NHALE群の回復期血清においても同様の傾向だった。NHALE群の血清MMP-9値とMMP-9/TIMP-1比は急性期に比し、回復期で有意に低下したが($p = 0.004$, $p = 0.014$)、TIMP-1値は有意差がなかった。

NHALE急性期での血清MMP-9、MMP-9/TIMP-1比高値および血清TIMP-1低値は血液脳関門機能の低下を示唆した(市山)。

MMP-9は健常正常群に比べ有意に高く、変性

疾患である筋萎縮性側索硬化症や脱髄性疾患である多発性硬化症よりも高い傾向が認められた。MMP-9/TIMP-1比は健常正常群に比べ急性性脳炎で有意に高く血液脳関門の障害があり、末梢血からリンパ球などの免疫細胞や自己抗体の動員がおり中枢神経内での炎症を生じていると示唆された(中嶋-大阪)。

12. 炎症性サイトカインの血液脳関門への影響の検討

マウスにIL-6、IL-1 β 、TNF- α を投与し、Evans blue extravasation into brain法により血液脳関門の評価を行ったところ、TNF- α 投与24時間で有意差を認めた。またTNF- α 投与3時間で脳のMMP-9の上昇を認めた(森島)。

13. 辺縁系脳炎における画像所見と臨床所見との関連の検討

MRI病変を広範に認める群では、臨床症状が重症で、後遺症を残しやすく予後不良であった。一側の大脳のみ病変を認める群では、病初期より辺縁系症状に加え、後頭葉や頭頂葉の局所症状が認められ、後遺症としても残存した。辺縁系のみ病変を認める群では、非感染症状や辺縁系症状を認め、症例は少ないが、全例で抗GluR ϵ 2抗体は陽性であった。画像所見に異常を認めない群では、若年発症の傾向を示し、臨床経過は様々で予後は良好であった。辺縁系脳炎の異常画像所見は、抗GluR ϵ 2抗体陽性例で出現しやすく、異常所見の分布パターンと臨床所見の症候、重症度、予後は概ね関連性がみられたが、抗GluR ϵ 2抗体との関連性は明らかではなかった(熊本)。

行動の異常、意識障害で発病した16歳の傍感染性辺縁系脳炎の症例で、抗GluR ϵ 2抗体が陽性で、脳梁膨大部MRI病変を認めた。いわゆる、可逆性脳梁膨大部病変を伴った軽症急性脳炎・脳症(Clinically Mild Encephalitis/Encephalopathy with a Reversible Splenial Lesion: MERS)という概念に一致する症例であった(中島-鳥取)。

14. 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の治療と予後に関する検討

ADL障害は33.3%に、てんかん発作は36.2%

に、精神症状は26.3%に、知的障害は39.7%に、運動障害が31.0%に見られたのに対し、記憶障害は63.2%に見られ、他の障害に比べて高頻度であった。後遺障害の程度をスコアの平均(平均±SD)とその満点に対する割合(平均/満点%)で評価すると、ADL7.8±4.7(89%)、てんかん発作3.4±0.9(85%)、精神症状1.7±0.6(85%)、知的障害4.1±1.4(82%)、記憶障害1.2±0.8(60%)、運動障害2.5±0.9(83%)であった。パルス治療の有無でADL障害、てんかん発作、精神症状、知的障害、記憶障害、運動障害の予後に有意差はなかったが、早期治療で精神症状が良い傾向があり、急性期入院日数が短縮した。IVIG治療が早期に行われるとADL・運動障害・てんかん発作予後が良い傾向を示し、急性期入院日数が短縮した。抗GluRe2抗体陽性群ではパルス治療の方がIVIGより有意にてんかん発作予後が良好であった(高橋)。

15. 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎に関する検討

9例の傍腫瘍群の腫瘍の内訳は、7例が胸腺腫で、その他、悪性リンパ腫と肺癌が各1例ずつであった。自己免疫性と傍腫瘍性の二群に分けて検討したところ、男女比、平均年齢に差異は認められなかった。発症から入院までの期間は、傍腫瘍群で短い傾向だった。経過中の中核症状に差はなかったが、傍腫瘍群の半数例で初発症状として四肢のじんじん感が認められた。抗VGKC抗体価については自己免疫群で若干高い傾向にあった。傍腫瘍群において再燃・再燃症例および治療抵抗性を呈する症例が認められた(渡邊)。

16. 卵巣奇形腫に随伴した辺縁系脳炎症例の検討

患者は23歳女性。頭痛、嘔気、顔面のびくつきで発症。その1週間後より幻視、幻聴、妄想などが出現し来院。発熱なし。意識はJCS I-3、項部硬直軽度、Kernig sign陰性。髄液検査にて細胞数218個/ μ l(単核球213)、糖軽度低下(血清比0.39)、蛋白114mg/dl, ADA 9.5IU/l、脳波では1Hzの徐波に30Hzの速波が重畳する所見を認めた。頭部MRI FLAIRにて前頭頂葉脳溝に沿った高信号病変、深部白質に小斑状病変を認めた。骨盤部CTにて右卵巣に径2.5cmの腫

瘍を認め成熟卵巣奇形腫が疑われた。抗生剤、抗ウイルス薬、抗結核薬、ステロイドを投与したが、口唇をはげしく動かすdyskinesiaや右顔面から右上肢そして全身に広がるけいれん発作が出現し重積状態となった。多剤の抗痙攣薬を投与したが効果なく、人工呼吸器管理とし静脈麻酔薬を使用し鎮静を行った。経過から奇形腫に伴う自己免疫介在性脳炎を疑い血漿交換療法、ガンマグロブリン投与、右卵巣腫瘍摘出術を行った。摘出術後2ヵ月目より不随意運動は消失し人工呼吸器から離脱した(江里口)。

17. 卵巣奇形腫に随伴した辺縁系脳炎症例の奇形腫の診断と治療に関する考察と提案

近年抗グルタミン酸受容体抗体を伴う急性(辺縁系)脳炎encephalopathy with anti-glutamate receptor antibody (EAGRA)に卵巣奇形腫(OT)が合併することが注目されている。しかし、EAGRAにおけるOTの意義と、EAGRAにおけるOTの治療方針に関しては未だ一定の見解が得られていない。これらの点を明らかにする為に本研究班で今後以下のテーマで研究を推進することが重要である。即ち、(1) OTを合併するEAGRAの症例収集、(2) 抗GluRe2抗体陽性例における抗NMDAR抗体の陽性率、(3) 抗GluRe2抗体陽性例におけるOTの合併率、(4) EAGRA例におけるOTの迅速診断と治療指針、(5) 偶発的にみつかるとOT例における自己抗体(抗GluRe2抗体など)の陽性率の検証である(湯浅)。

18. 辺縁系脳炎を合併した卵巣奇形腫の組織学的検討

右成熟卵巣奇形腫の病理標本では毛髪、皮膚組織、脂肪組織、骨組織とともに、脳組織が認められた。脳組織内にはリンパ球の浸潤がみられた(江里口)。

19. 若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(AJFNHE)の臨床特徴の検討

AJFNHEの男性例と女性例を比較した。(1) 平均発症年齢：女性25歳、男性31歳で、いずれも若年成人であり、若干男性が高齢であった。(2) 在院期間：平均で女性179日、男性143日であった。(3) 臨床症状・症候：①上気道感染症状な

どの前駆の頻度：女性91%、男性82%でみられた。②初発症状：発熱は女性90%、男性83%、精神症状は女性93%、男性73%でみられ、いずれも高率であった。③経過中の神経症候：意識障害は女性91%、男性92%でみられ、痙攣はいずれも65%、不随意運動は女性55%、男性50%で出現していた。(4)人工呼吸器装着の頻度：女性78%、男性75%であった。(5)頭部MRI：女性は正常71%、側頭葉内側の異常29%、男性は正常67%、側頭葉内側の異常が33%であった。(2)～(5)は両群で有意差なく類似値であった。(6)転帰：女性は死亡4%、軽快96%に対し、男性は死亡25%、軽快75%と軽度ながら男性で死亡率が高かった($p=0.04$)。(7)腫瘍の合併：女性は49%で卵巣腫瘍を認めた。男性例は腫瘍確認められた症例はなかった。この検出率の差は有意($p=0.004$)であった(亀井)。

20. 単純ヘルペス脳炎の後遺症の検討

ヘルペス脳炎5症例の記憶障害を検討したところ、前向き健忘を認め著明な近時記憶障害を呈していた。知的機能、即時記憶は比較的保たれ、1症例で逆向性健忘が認められた。他の

D. 考察

【NHAEの疫学】

2006年度の我々の研究で、日本の成人(16歳以上)における急性脳炎罹患率は、19.0/100万人年(年間2114例)と推計され、2007年度の小児に関する急性脳炎・脳症の疫学研究では2か月間に1085症例報告され、罹患率は $\sim 56.4/100$ 万人年と推定した。後方視的研究ではあるが成人・小児合計すると、急性脳炎・脳症は日本では年間3100人が罹患しているものと推定され、高頻度の後遺症発症を考えるとその対策はきわめて重要である。

病態別に見ると、成人では、単純ヘルペス性20.4%、傍感染性24.8%、傍腫瘍性8.2%、膠原病性4.1%、ウイルス性(単純ヘルペス以外)2.0%、その他・分類不能40.8%であった(2006年度研究)。小児ではインフルエンザ(25%)、HHV-6,7(11%)、ロタウイルス(4%)、マイコプラズマ(3%)、ムンプス(3%)の順で、原因不明が27.6%を占めた。成人ではウイルス

随伴症候として、病識の欠如や性格変化などの前頭葉症状、味覚・嗅覚障害、痙攣発作を呈していた。画像所見では一側優位の海馬体を中心とする側頭葉・辺縁系と、直回、眼窩回などの前頭葉に萎縮性病巣を認めた(庄司)。

21. 非ヘルペス性辺縁系脳炎と診断された患者髄液におけるHSV以外のヒトヘルペスウイルス検出状況

32検体中VZV、HHV-6、HHV-7、CMV DNA陽性検体はなかった。1検体で1184コピー/mlのEBV DNAが検出された。EBV DNA陽性となった患者は36歳の女性。頭痛を主訴に依頼医を受診、同時に傾眠傾向を認め入院。約1週間同様の症状が持続、第10病日から記憶障害が出現、MRIでは海馬領域に異常信号を認めた。髄液中のHSV DNAについては検索されており、陰性が確認されるまでアシクロビルが投与されていた。抗ウイルス療法に加え、 γ グロブリン大量療法、ステロイドパルス療法も実施され、約1ヵ月間の入院の後、後遺症なく退院していた(吉川)。

直接侵襲が証明できる症例は22.4%と少なく、傍感染性の病態が重要と思われ、小児においてもウイルス直接侵襲が証明できないインフルエンザ脳症、75%の症例では髄液中ウイルスが証明できないHHV6脳炎・脳症などが多かった。よって、ウイルス直接侵襲以外の、免疫などが関与している可能性の強い脳症病態が、急性脳炎・脳症では多いと推測された。

正確な罹患率を把握するには前向き調査が必要であり、我々は鳥取県内で前向き調査を開始した。2007年8月から2008年8月までに3例の急性辺縁系脳炎が登録され、今後も症例の蓄積をし、罹患率を把握する予定である。

【非傍腫瘍性NHAEの中樞神経病理】

急性辺縁系脳炎・脳症では、神経細胞は減少していなくて、ミクログリアの増勢がみられることが分かっている(2006年度研究)。今年度の検討でも、海馬領域におけるCD68陽性マクロファージの増加は8例全例で著明で、浸潤しているリンパ球ではB細胞よりT細胞が多かった。

海馬CA1の実質内に浸潤しているリンパ球ではCD8陽性T細胞が比較的多くみられ、悪性腫瘍を伴わない辺縁系脳炎でもCD8陽性T細胞は病変形成に関与している可能性があると考えられた。よって、マクローファージ・ミクログリアのみならず、末梢から由来した細胞障害性T細胞もNHALEの病態に関与している可能性がある。今後さらに症例を増やし検討していきたい。

【非傍腫瘍性NHALEと抗GluRe2抗体】

これまでの検討で、成人NHALEでは全長GluRe2を抗原とする血清抗GluRe2抗体が急性期-回復期-慢性期に約55%の症例で陽性で、髄液抗GluRe2抗体は急性期に51.8%の症例で陽性で、回復期は41.4%で陽性、慢性期は28.6%の症例で陽性と、徐々に陽性率が低下することが分かっている。また髄液中の抗GluRe2抗体は急性期の初期に陽性となる症例が多いことも明らかにしてきた。これらの事実から感染その他の刺激により血清中に産生された抗GluRe2抗体が、血管透過性の亢進した脳炎急性期中枢神経系に至り、GluRe2分子の細胞外ドメインと何らかの反応を起こし、脳炎病態形成に何らかの役割を果たしている病態仮説を見出した(図2)。

今年度の研究で、抗GluRe2抗体のエピトープを検討するために、抗GluRe2-NT2抗体、抗GluRe2-M3-4抗体、抗GluRe2-CT1抗体の検討を行った。抗GluRe2抗体陽性のNPNHALEでは、GluRe2分子のN末・M3-4間・C末をエピトープとする抗体がほぼ等しく血清および髄液中に検出され、GluRe2分子の幅広い領域をエピトープとする抗GluRe2抗体が産生されていた。よって感染ウイルス等に対する抗体が交差免疫でGluRe2分子にも反応するというよりは、GluRe2分子が幅広く断片化して抗原刺激となり、抗体産生が血清中で起こっている可能性が高い。髄液への移行に3つのエピトープ間で差はないため、N末以外をエピトープとする抗GluRe2抗体も中枢神経系に侵入するが、GluRe2分子に作用できるのは細胞外ドメインを抗原とする抗GluRe2-NT2抗体、抗GluRe2-M3-4抗体と思われる。抗GluRe2-NT2抗体、抗GluRe2-M3-4抗体それぞれの作用は今後検討する必要がある。

【非傍腫瘍性NHALEと血液脳関門】

MMP-9は脳の血管基底膜の主要構成成分であるコラーゲンIVを分解する。一方、TIMP-1はMMP-9活性を阻害する。従って血液脳関門に対し、MMP-9は攻撃因子、TIMP-1は防御因子である。NHALE急性期での血清MMP-9、MMP-9/TIMP-1比高値および血清TIMP-1低値は血液脳関門機能の低下を示唆した。血液脳関門機能の低下は末梢血中の免疫担当細胞の中枢神経系内への侵入を容易にし、中枢神経系内炎症を促進しやすい状態と考えられた。また急性期だけでなく回復期でも血清MMP-9、MMP-9/TIMP-1比高値および血清TIMP-1低値であり、血液脳関門機能の低下は長期間持続することが示唆され、種々の後遺症との関連があるかもしれない。

TNF- α は動物実験で脳でのMMP-9を増加させることが明らかとなったが、NHALEでのsTNFR1は上昇・不変両説あって確定できていない。NHALEではTNF- α あるいはその他の炎症性サイトカインなどによるMMP-9上昇、さらには血液脳関門の破綻が起こっている可能性がある。今後この病態を解明する必要がある。

【非傍腫瘍性NHALEとウイルス】

非傍腫瘍性NHALE32例の髄液検体中、1検体で1184コピー/mlのEBV DNAが検出されたが、VZV、HHV-6、HHV-7、CMV DNA陽性検体はなかった。多くのNHALEではウイルスの中枢神経系への到達はなく、脳炎というよりは脳症としての概念が当てはまる症例が多いものと思われる。

【非傍腫瘍性NHALEとMRI画像】

非傍腫瘍性NHALEのMRI画像の特徴・意義はまだ未解明である。今回の検討ではNHALEのMRI病変が多彩であることが明らかとなり、①海馬扁桃核などの辺縁系病変、②新皮質病変、③可逆性脳梁膨大部病変を伴った軽症急性脳炎・脳症(MERS)と類似の脳梁病変、そしてこれらが複合したものなどがみられた。

MRI病変により、広汎群、一側限局群、辺縁系限局群、異常を認めない群に分類して検討すると、臨床所見はMRI病変部位に一致し、MRI病変の拡がりにはNHALEの後遺症の重症度を示唆すると思われた。

NHALEでみられるMRI病変には、抗GluRe2抗体などが関与した炎症、あるいはけいれん発作に伴う非炎症性変化などが混在している可能性があり、その病態については今後も検討が必要

である。

【非傍腫瘍性成人NHALEの治療と予後】

15歳以上の成人期発症NPNHALE 86例を対象として後遺症を検討すると、ADL障害・精神症状・てんかん発作・知的障害・運動障害が約30%の症例に見られるのに対し、記憶障害は63.2%に見られ、他の障害に比べて記憶障害の頻度が高い。ADL障害、てんかん発作、精神症状、知的障害、運動障害の程度は、正常の約80%程度のレベルに障害されているが、記憶は約60%のレベルまで障害されており、成人NPNHALEの後遺症では、記憶障害の頻度ならびに程度が、他の後遺症に比べて高度であることが特徴である。これらの障害の程度は、抗GluR2抗体陽性群と陰性群で有意差がなく、抗GluR2抗体の関与というよりは、辺縁系が侵されるNPNHALEとしての特徴から来るものかもしれない。

NHALEと同様に辺縁系を侵すヘルペス脳炎の後遺症を検討したところ、5症例すべてが前向き健忘を含めた著明な近時記憶障害を呈していた。知的機能、即時記憶は比較的保たれ、1症例で逆行性健忘が認められた。他の随伴症候として、病識の欠如や性格変化などの前頭葉症状、味覚・嗅覚障害、痙攣発作を認めた。NHALEでの記憶障害を詳しく調べていないが、類似点が多く、今後さらに検討したい。

今回の予後調査の時期が必ずしも一定ではなく、正確に後遺症のレベルを示していないかもしれないが、パルス治療・IVIG治療ともに、治療開始が早いほど精神症状・急性期入院日数などの予後が良い傾向を示した。抗GluR2抗体陽性群ではパルス治療の方がIVIGより有意にてんかん発作予後が良好であったことから、非傍腫瘍性NHALEではなるべく早い時期にパルス治療、IVIG治療の順に免疫学的治療を検討するのが良いかもしれない。

【卵巣奇形腫を伴うNHALE】

2007年、卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎症例12例の血清・髄液中に、NMDAR1+NMDAR2B(NR2A)のNMDA型GluR複合体とは反応するが、NMDAR1あるいはNMDAR2B単独分子とは反応しない抗体が存在することが報告され、卵巣奇形腫を伴うNHALE(NHALE-OT)が注目されている。

我々のNHALE-OT19例の臨床的検討では、若年女性に好発し、感染症が先行することが多く、

精神症状、意識障害、痙攣、不随意運動、自律神経症状および中枢性低換気など非傍腫瘍性NHALEと類似の症状を呈するが、非傍腫瘍性NHALEより重症であることが分かっている。

NHALE-OTでは、血液や髄液にNMDA型GluR複合体、またはNMDA型GluRサブユニットのひとつであるGluR2に対する抗体などが検出され、NMDA型GluR複合体のどの部分がエピトープとなっているのか、今後の研究が待たれる。

NHALE-OTでは、免疫療法や腫瘍摘出が極めて有効な症例や、それらが無効の難治例、腫瘍を温存しても脳炎が回復する症例など、腫瘍と自己免疫の関係が、これまでの傍腫瘍性辺縁系脳炎とは異なる特徴があり、今後更なる検討が必要である。

NHALEの臨床像示す若年女性の脳炎においては、早期に奇形腫の検索・自己抗体の検討を進める必要がある。これまでNMDA型GluR複合体に対する抗体の測定はDalmau教授のところで行えなかったが、2008年度の当班田中らの研究により、日本でもほぼ同等の検査が可能となった。またさらに森らは、カルシウム透過性の低い変異受容体サブユニット(GluR2N/R, GluR ζ 1N/R-EGFP)の発現ベクターを用い、MK-801を培養系に加ええない、抗NMDA型GluR複合体抗体測定を可能にした。これらの方法の開発は、日本におけるNHALE症例の卵巣奇形腫の合併診断を迅速化できる、大きな功績である。

1例ではあるが、成熟卵巣奇形腫の病理標本の脳組織内にはリンパ球の浸潤がみられ、脳組織がリンパ球のターゲットとなった免疫病態があることを示唆する。今後卵巣奇形腫の免疫組織学的検索が待たれる。

【抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎】

抗VGKC抗体陽性の非ヘルペス性辺縁系脳炎はVincentらによって提唱されたものである。我々の日本での調査で、非ヘルペス性辺縁系脳炎・脳症の20%を占め、発病は34-82歳(平均54.8±12.2歳)で、亜急性の記憶障害・見当識障害、胸腺腫合併などを特徴とし、パルス療法および後療法としてのプレドニゾン漸減療法によく反応することが分かった。

辺縁系脳炎・脳症の臨床像示す症例では、この抗体を早期に測定し、腫瘍の検索・治療法の選択に活かして行く必要がある。今回の検討で

は、傍腫瘍群の半数例で初発症状として四肢のじんじん感を呈しているのは興味深い。再発・再燃症例や四肢のじんじん感を呈する症例、あるいは、ステロイドなどの免疫療法に抵抗する場合は、積極的に腫瘍の検索を行う必要がある。

【若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎】

これまでの検討で、若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎 (AJFNHE) は、抗GluR2抗体が66%で陽性、卵巣腫瘍との関連を約30%で確認することができ、一部はDalmauらの報告する卵巣奇形腫に合併する抗グルタミン酸受容体抗体関連脳炎に包含されることが分かっている。

2008年度の検討では、AJFNHE男性例の臨床像は女性例と極めて類似しているが、腫瘍の合併がないことが相違点であることが明らかとなった。今後、男性例における神経抗体や腫瘍のより詳細な検索が望まれると考えた。

【サイトカイン】

傍感染性のNHAEの髄液では、炎症性サイトカインであるIL-6と抗炎症性サイトカインであるIL-10が上昇し、炎症の存在が示唆されるが、単純ヘルペス脳炎 (HSE) で上昇するIFN- γ が正常であり、炎症の原因はウイルスが主役ではないことが分かった。一方、HHV6感染の証

明できたHHV-6脳炎・脳症の髄液では、HHV-6 DNAの検出頻度・量は少なく、IL-8、IL-6が高値を示し、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。よってウイルス感染が契機となるNHAEであっても中枢神経系ではウイルスよりサイトカインなどが病態の主役を務めている可能性があるものと思われる。

単純ヘルペス脳炎 (HSE) で上昇するsTNFR1は、NHAE では正常範囲というデータと、高値というデータが得られ、今後さらに症例数を増やし、予後との関連も含めて検討したい。

【新たな脳炎関連自己抗原・抗体の検索】

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、T7 phage biopanningを行い、NOLC1 (Nucleolar and coiled-body phosphoprotein 1) が脳炎患者血清と反応する抗原のひとつとなっていることが分かり、ELISA法による抗体測定が確立できた。今後多数例での検討を行ないたい。

高感度ナノLC-MS/MSシステムからも5つの新規のNHAE関連抗原が見つかってきており、今後の進捗が待たれる。

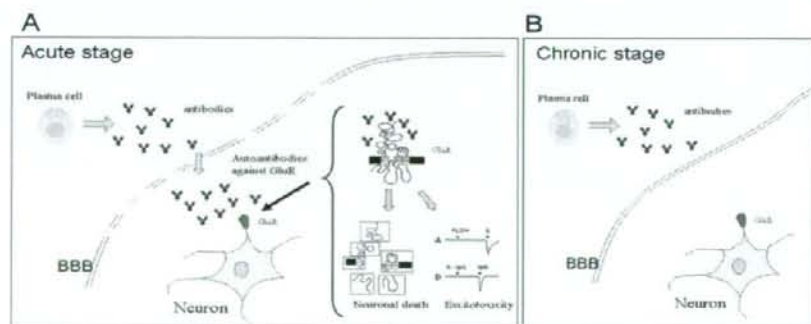


図2. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の病態仮説