

(図1)^{9,10)} エピトープ解析はGluRe2のN末(細胞外ドメイン), C末(細胞内ドメイン)(3カ所)のペプチドをPEXシステム等で合成し, それらの合成ペプチドを抗原として同定した. これらのGluRe2の全長蛋白・合成ペプチド抗原をポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)後, ニトロセルロース膜に転写し, 検体と反応させた後, 2次抗体を用いて抗体の有無を判定した^{9,10)}.

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHALE)と抗GluRe2(NR2B)抗体

抗GluRe2抗体測定のために紹介された急性脳炎・脳症369症例から, 腫瘍合併例・再発例・慢性例・膠原病合併例・インフルエンザ脳症・単純ヘルペスウイルスPCR陽性例などを除き, 辺縁系症状⁸⁾で神経症状が始まった15歳以上のNHALE 91例について抗GluRe2抗体を検討した. NHALEでは血清中抗GluRe2抗体(IgGまたはIgM)は急性期から慢性期に約60%にみられ, 髄液中抗GluRe2抗体は急性期に約50%, 回復期に約40%, 慢性期に約30%と次第に低下し, 髄液中の抗GluRe2抗体は急性期でもかなり早い時期に出現した. 抗GluRe2抗体のエピトープ解析は髄液中の抗GluRe2抗体陽性の4例で行い, 4例とも髄液でN末エピトープ(NT1)を認めた. 血液中にできた抗GluRe2抗体は, 血液脳関門の破綻などにより中枢神経系に至り何らかの急性期脳炎症状に寄与するが, 回復期・慢

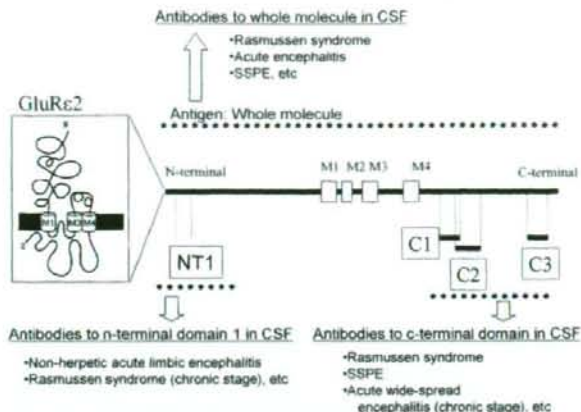
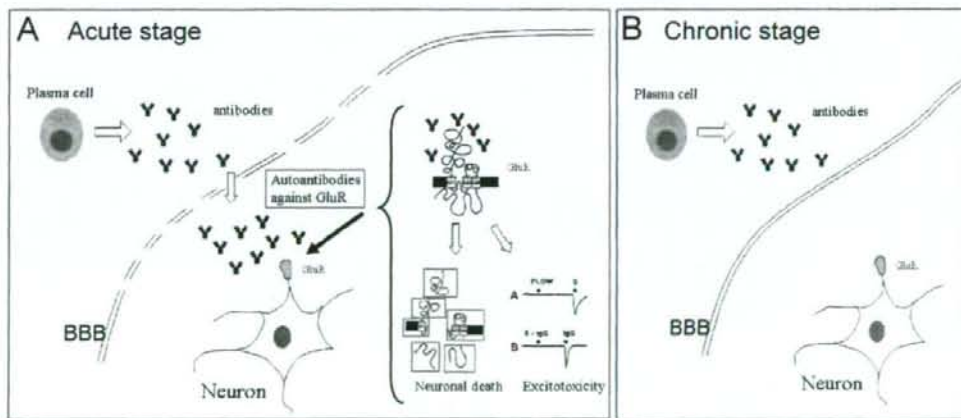


図1 GluRe2分子の構造とその抗体・エピトープ

抗GluRe2抗体はGluRe2分子全長を抗原として, イムノブロットで検出している. 様々なエピトープの抗体を幅広く検出できるメリットがある. 抗N末-GluRe2抗体(N末エピトープ)はGluRe2(NR2B)の細胞表面側ドメインNT1を抗原としてイムノブロットで検出している. 抗C末-GluRe2抗体(C末エピトープ)はGluRe2(NR2B)の細胞内ドメインの3カ所(C1~C3)を抗原としてイムノブロットで検出している.

図2 抗GluRe2抗体と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHALE)

急性期(A)には血液脳関門の破綻などにより抗N末-GluRe2抗体が中枢神経系内に進入し, GluRe2分子の細胞表面ドメインに何らかの作用を及ぼし, 脳炎症状に関与し, 慢性期(B)になると血液脳関門が回復し, 中枢神経系内の抗N末-GluRe2抗体は減少すると考えている. 抗N末-GluRe2抗体の作用機序, 脳炎での血液脳関門の病態など, 今後の更なる研究が必要である.



性期になると血液脳関門の回復により髄液中から消失する可能性を考えている(図2)⁸⁾。

抗 GluR ϵ 2(NR 2 B)抗体陽性 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の特徴

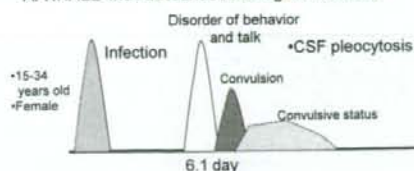
15歳以上のNHAEで急性期に抗GluR ϵ 2抗体を測定できた69例(抗GluR ϵ 2抗体陽性群53例,陰性群16例)について比較検討した⁸⁾。発病年齢は陽性群が陰性群より若年で,陽性群の74.5%は15~34歳であった。抗GluR ϵ 2抗体陽性NHAEは若年成人が75%を占め,若年成人NHAEの80%以上が抗GluR ϵ 2抗体陽性で,抗GluR ϵ 2抗体は若年成人NHAEの主たる原因となっている可能性が明らかとなった。これまでの脳炎脳症における自己抗体としては,抗GluR抗体以外では辺縁系脳炎での抗VGKC抗体^{11,12)},橋本脳症での抗NAE抗体^{13,14)},傍腫瘍性辺縁系脳炎での抗Hu抗体^{15,16)}などが報告されている。抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎の発病年齢は34~65歳(平均50.4歳)¹²⁾,抗NAE抗体陽性橋本脳症は23~83歳(平均59歳)¹⁴⁾,抗Hu抗体陽性傍腫瘍性辺縁系脳炎は28~70歳(平均61.5歳)¹⁵⁾,抗Ta抗体陽性傍腫瘍性辺縁系脳炎は22~45歳(平均34歳)¹⁵⁾と,自己抗体ごとに好発年齢が異なり,自己免疫介在性NHAEに関与する自己抗体には年齢依存性の特徴があると思われる。

陽性群初発神経症状は言動の異常が最も多く,陰性群ではけいれんが多かった。急性期のけいれん・けいれん重積は陽性群で出現が遅かった。髄液細胞数が陽性群で高値であったが,髄液蛋白・IgGには差がなかった。予後については両群とも記憶の面での障害が強かった(図3)⁸⁾。

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症における 抗GluR ϵ 2抗体の病態機序

成人NHAEでは感染等により産生されたN末エpiteープを含む抗GluR ϵ 2抗体が血液脳関門の透過性亢進などにより中枢神経系に至り,中枢神経系でGluR ϵ 2分子とも反応する特性を有し,脳炎症状の一部に関与しているかもしれないとわれわれは考えているが(図2),その機序を示唆する以下のような動物実験データがある。抗GluR ϵ 2抗体(抗ds-DNA抗体)は海馬に注入するとニューロンにアポトーシスを誘導し¹⁷⁾,LPSやエビネフリンで血液脳関

A. NHAE with autoantibodies against GluR ϵ 2



B. NHAE without autoantibodies against GluR ϵ 2

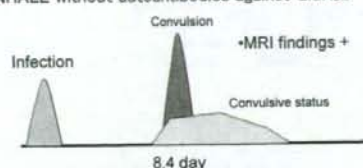


図3 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHAE)における抗GluR ϵ 2抗体陽性群と陰性群の臨床経過のまとめ

A) NHAE with autoantibodies against GluR ϵ 2, 陽性群の経過
B) NHAE without autoantibodies against GluR ϵ 2, 陰性群の経過

門の透過性を高め抗GluR ϵ 2抗体(抗ds-DNA抗体)が血液脳関門を通過すると海馬や扁桃核で抗体がニューロンなどに沈着し,記憶や情動に影響を与えるとする研究がある^{18,19)}。海馬扁桃核は血液脳関門が脆弱であるとする考えがあり,何らかの理由で血液中にできた抗N末-GluR ϵ 2抗体が感染時や高血圧時に血液脳関門を通過し,海馬扁桃核などの辺縁系を傷害し,辺縁系症状をおこす可能性が想定できる。

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎と 抗GluR ϵ 2(NR 2 B)抗体

NMDA型GluRは異種のNMDA型GluRサブユニットが4つ会合した(ヘテロ4量体)構造の陽イオンチャンネルで(図4),GluR ϵ 1(NR 1)にGluR ϵ 1-4(NR 2 A-2 D),GluR γ 1-2(NR 3 A, 3 B)が会合している²⁰⁾。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NR 1+NR 2 B(NR 2 A)の複合体と反応する抗体が存在することが報告された^{21,22)}。われわれの測定している抗NT1-GluR ϵ 2抗体は,GluR ϵ 2(NR 2 B)の細胞表面側ドメイン(NT1)を認識する抗体であるのに対し(図4,②)で示す抗体),Dalmauらの抗体はGluR ϵ 2(NR 2 B)単独の細胞表面側ドメインを認識するのではなく,NR 1+NR 2 B(一部はNR 1+NR 2 A)の複合体の細胞表面側を認識しているとされている(図4,①)で示す抗体)。われわれの卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎症例16例では,急性期の血清抗

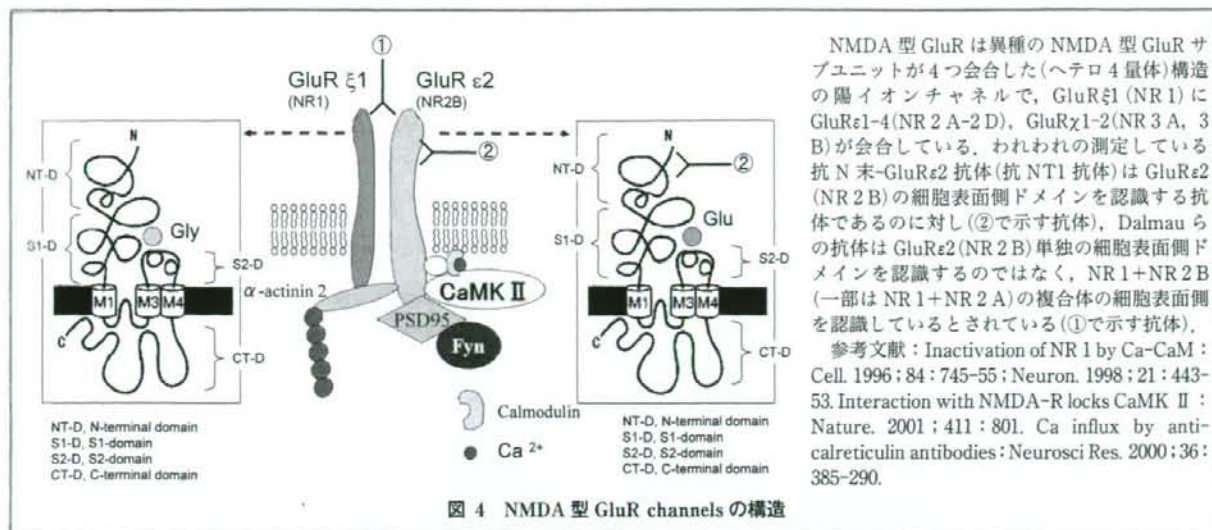


図4 NMDA型GluR channelsの構造

NMDA型GluRは異種のNMDA型GluRサブユニットが4つ会合した(ヘテロ4量体)構造の陽イオンチャネルで、GluR ξ 1(NR1)にGluR ϵ 1-4(NR2A-2D)、GluR χ 1-2(NR3A, 3B)が会合している。われわれの測定している抗N末-GluR ϵ 2抗体(抗NT1抗体)はGluR ϵ 2(NR2B)の細胞表面側ドメインを認識する抗体であるのに対し(②で示す抗体)、Dalmauらの抗体はGluR ϵ 2(NR2B)単独の細胞表面側ドメインを認識するのではなく、NR1+NR2B(一部はNR1+NR2A)の複合体の細胞表面側を認識しているとされている(①で示す抗体)。
参考文献: Inactivation of NR1 by Ca-CaM: Cell. 1996;84:745-55; Neuron. 1998;21:443-53. Interaction with NMDA-R locks CaMK II: Nature. 2001;411:801. Ca influx by anti-calreticulin antibodies: Neurosci Res. 2000;36:385-290.

GluR ϵ 2抗体は70.0%の症例でIgGやIgMが陽性、髄液抗体は53.8%の症例でIgGやIgMが陽性であることより、おそらくDalmauらの抗体はGluR ϵ 2(NR2B)の細胞表面側ドメインを認識しているものをかなり含んでいると思われる。

われわれが使っている全長GluR ϵ 2分子を抗原とした抗GluR ϵ 2抗体測定は、抗原が幅広いため、N末からC末まで様々なエピトープの抗体を捉えることができる。そのため、

抗NT1-GluR ϵ 2抗体が急性期髄液に出現するNHALEのみならず、抗C末-GluR ϵ 2抗体が主体の急性期Rasmussen症候群、慢性期小児広汎性脳炎、SSPEなどでも陽性となる(図1)。一方、抗NT1-GluR ϵ 2抗体はおそらくDalmauらの抗体と同じ意義を持つと考えられ、NHALEの病態に関与し得る抗体かもしれない。検体採取時の患者さんの病期を考慮した上で、髄液中の抗GluR ϵ 2抗体、抗NT1-GluR ϵ 2抗体の意義を判断する必要があると考えている。

文献

- 1) 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. 2007;223:295-6.
- 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GluR ϵ 2自己抗体の存在. 日本小児科学会誌. 2002;106:1402-11.
- 3) Takahashi Y. Infections as causative factors of epilepsy. Future Neurol. 2006;1:291-302.
- 4) 高橋幸利, 西村成子, 角替央野, 他. てんかんの研究と治療: 最近の話題, てんかんと自己免疫. 最新精神医学. 2006;11:349-54.
- 5) 高橋幸利. 抗グルタミン酸受容体 ϵ 2抗体と辺縁系脳炎. Neuroinfection. 2007;12:39-44.
- 6) 高橋幸利, 山崎悦子. 2. 抗グルタミン酸受容体抗体と急性脳炎・脳症. 医学のあゆみ. 2007;223:271-5.
- 7) 高橋幸利, 山崎悦子, 久保田裕子, 他. 脳炎における抗GluR抗体の意義. 臨床神経学. 2007;47:848-51.
- 8) 高橋幸利, 山崎悦子, 西村成子, 他. 急性非ヘルペス性脳炎—自己免疫的アプローチ. Neuroinfection, in press.
- 9) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al. Autoantibodies to NMDA receptor in patients with chronic forms of epilepsy partialis continua. Neurology. 2003;61:891-6.
- 10) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al. Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluR ϵ 2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua. Epilepsia. 2005;46 suppl 5:152-8.
- 11) Vincent A, Buckley C, Schott JM, et al. Potassium channel antibody-associated encephalopathy: a potentially immunotherapy-responsive form of limbic encephalitis. Brain. 2004;127:701-12.
- 12) 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. 2007;223:281-5.
- 13) Fujii A, Yoneda M, Ito T, et al. Autoantibodies against the amino terminal of alpha-enolase are a useful diagnostic marker of Hashimoto's encephalopathy. J Neuroimmunol. 2005;162:130-6.
- 14) 米田 誠. 橋本脳症と抗NAE抗体. 医学のあゆみ. 2007;223:277-80.
- 15) Gultekin SH, Rosenfeld MR, Voltz R, et al. Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients. Brain. 2000;123:1481-94.
- 16) 田中恵子. 傍腫瘍性辺縁系脳炎. 医学のあゆみ. 2007;223:286-90.
- 17) DeGiorgio LA, et al. A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in systemic lupus erythematosus. Nat Med. 2001;7:1189-93.
- 18) Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, et al. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. PNAS. 2006;103:19854-9.
- 19) Huerta PT, Kowal C, DeGiorgio LA, et al. Immunity and behavior: antibodies alter emotion. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:678-83.
- 20) Groc L, Heine M, Cousins SL, et al. NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:18769-74.
- 21) Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. Ann Neurol. 2007;61:25-36.
- 22) Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan. Long-term outcome without tumor removal. Neurology. 2007 Sep 26; [Epub ahead of print].

特集 神経疾患と自己抗体

抗GluR抗体と脳炎*

● 高橋幸利**¹⁾ / 向田壮一** / 池上真理子** / 高橋宏佳** / 美根 潤**

Key Words : autoantibodies, GluR2(NMDAR2B), encephalitis, ovarian teratoma

グルタミン酸受容体

グルタミン酸受容体(GluR)は神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体で、イオンチャネル型と代謝型が存在する¹⁾²⁾。イオンチャネル型GluRはグルタミン酸が結合すると立体構造が変化し、陽イオンを選択的に通過させる陽イオンチャネルを形成している。イオンチャネル型GluRは薬理的にNMDA型・non NMDA型(AMPA型・

カイニン酸型=KA型)に分類され、NMDA型ではNa⁺やCa²⁺の流入・K⁺の流出が起こり、non NMDA型ではNa⁺の流入・K⁺の流出が起こる。イオンチャネル型GluRには18種類のサブユニットがあり、分子多様性が存在し、中枢神経系内の早い興奮性シナプス伝達の中心的役割を担っている重要な分子である。その機能は多岐にわたり、生理的には神経回路形成、シナプス可塑性、記憶・学習、神経細胞死などに関与している(表1)。さらに中枢神経系疾患の病態にもGluRは深く関与していて、てんかんでは種々のてんかん原性獲得機構に関与していると考えられている³⁾。

表1 イオンチャネル型グルタミン酸受容体(GluR)の多様性とNMDA型GluRの機能

サブファミリー	サブユニット		シナプス可塑性*	記憶学習†	神経パターン形成‡	自発運動§	発現部位
	マウス	ラット					
AMPA型	GluRα	α1-α4					
カイニン酸型	GluRβ	β1-β3					
	GluRγ	γ1, γ2					
NMDA型	GluRε	ε1	NMDAR2A	○	○		びまん性前脳
		ε2	NMDAR2B	○		○	小脳顆粒細胞
		ε3	NMDAR2C				視床, 脳幹
		ε4	NMDAR2D				○
	GluRζ	ζ1	NMDAR1				びまん性
	GluRχ	χ1	NMDAR3A				
GluRδ		δ1	δ1				内耳有毛細胞
		δ2	δ2				小脳Purkinje細胞

* LTP, † Morris water maze, ‡ Brainstem trigeminal complex, § Open field test.

* Autoantibodies against GluR and encephalitis.

** Yukitoshi TAKAHASHI, M.D., Souichi MUKAIDA, M.D., Mariko IKEGAMI, M.D., Hiroka TAKAHASHI, M.D. & Jun MINE, M.D.: 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター〔〒420-8688 静岡県静岡市葵区泰山886〕; National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, Shizuoka 420-8688, Japan.

¹⁾ 兼 岐阜大学医学部小児病態学〔〒501-1194 岐阜県岐阜市柳戸 1-1〕

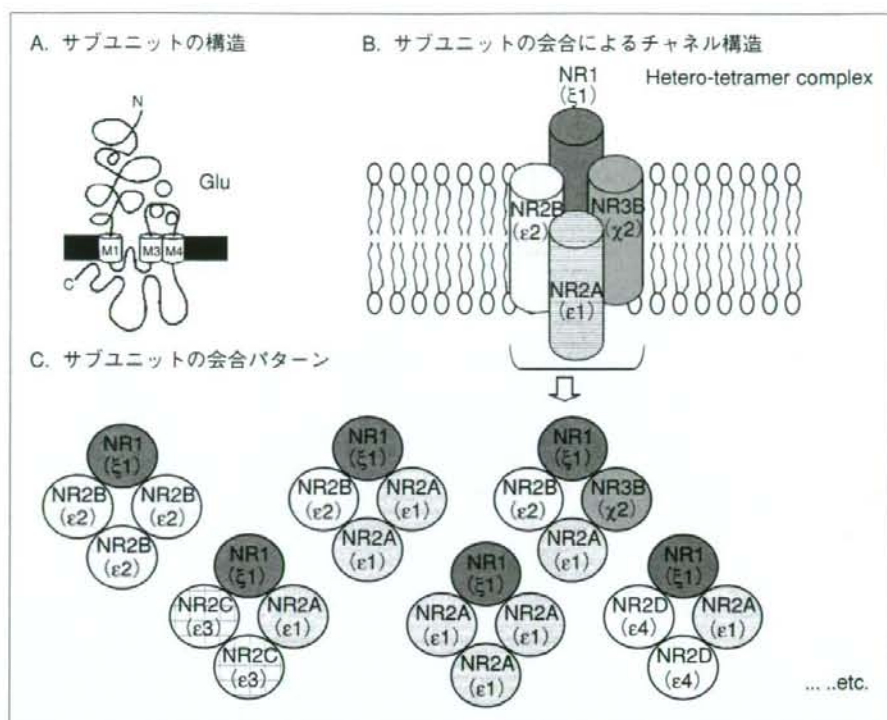


図1 NMDA型グルタミン酸受容体の構造

A: NMDA型グルタミン酸受容体(NMDAR)のサブユニット構造は、細胞外にあるN末から4つの膜貫通部位を経て細胞内側にC末が存在する共通構造をとっている。B: NMDARはGluR $\xi 1$ (NMDAR1)とGluR $\epsilon 1-4$ (NMDAR2A-2D)あるいはGluR $\xi 1$ (NMDAR1)とGluR $\chi 1-2$ (NMDAR3A-B)といったサブユニットが4つ会合した4量体構造をとっている。C: 4量体構造は、異なる種類のサブユニットの種々の会合パターンがあるとされている。

NMDA型GluR(NMDAR)は、GluR $\xi 1$ (NMDAR1)とGluR $\epsilon 1-4$ (NMDAR2A-2D)あるいはGluR $\xi 1$ (NMDAR1)とGluR $\chi 1-2$ (NMDAR3A-B)といったサブユニット(図1-A)が4つ会合した4量体構造をとり(図1-B)、イオンチャネルとして機能しているが、種々の会合パターンがあるとされている(図1-C)。個々のサブユニットは、細胞外にあるN末から4つの膜貫通部位を経て、細胞室側にC末が存在する共通構造をとっている(図1-A)。

抗GluR抗体研究の始まり

GluRに対する自己抗体の研究は、AMPA型の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始まった⁴⁾。抗GluR3抗体は、GluR3に結合して興奮性に作用し、神経細胞死に

繋がること⁴⁾⁵⁾、補体非依存性⁶⁾・補体依存性の細胞障害を起こすこと⁷⁾⁸⁾が明らかとなっていて、Rasmussen症候群のてんかん・退行などの病態を説明し得るとされている。

抗GluR $\epsilon 2$ 抗体の測定法と機能

NMDARの一つであるGluR $\epsilon 2$ (NMDAR2B)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、NMDAR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。抗GluR $\epsilon 2$ 抗体の測定は、NIH3T3細胞中に遺伝子組み換えにより発現させたGluR $\epsilon 2$ の全長蛋白を抗原として行っている(図2)⁹⁾¹⁰⁾。エピトープ解析はGluR $\epsilon 2$ のN末(細胞外ドメイン)(NT1)、C末(細胞内ドメイン)(3カ所)のペプチドをPEXシステムなどで合成し、それらの合成ペプチドを抗原として同定した。これらのGluR $\epsilon 2$ の全長蛋

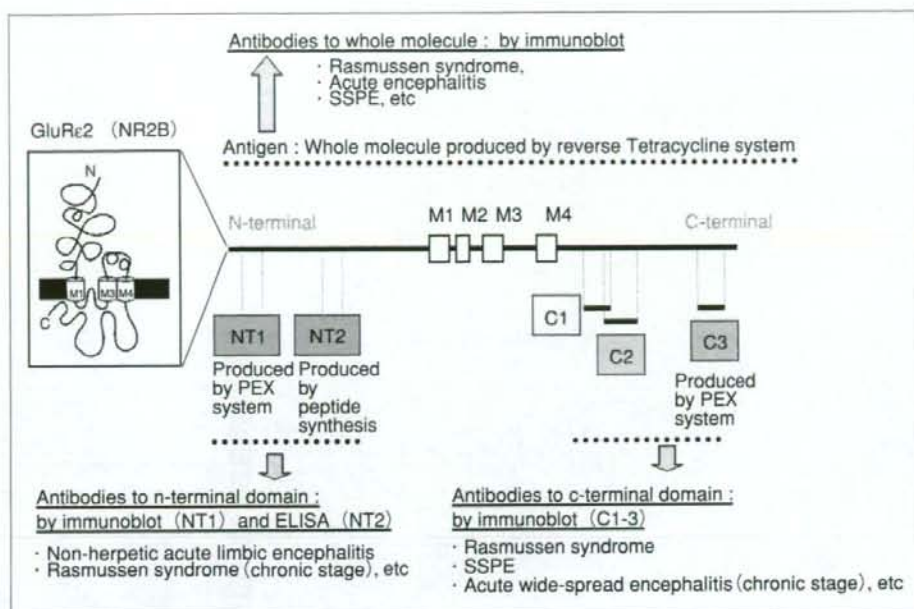


図2 GluRe2分子の構造と抗GluRe2抗体・エピートープ

GluRe2(NMDAR2B)分子全長を抗原としてイムノブロットで検出している抗GluRe2抗体は、いろいろなGluRe2分子領域をエピートープとする幅広い抗体を検出できるメリットがある。そのため、抗N末-GluRe2抗体(N末エピートープ)が主体のNHAEのみならず、抗C末-GluRe2抗体(C末エピートープ)が主体の急性期Rasmussen症候群、慢性期小児広汎性脳炎、SSPEなどでも陽性となる。抗N末-GluRe2抗体(N末エピートープ)(NT1)はGluRe2の細胞外N末ドメインを抗原としてイムノブロットで検出している。抗C末-GluRe2抗体(C末エピートープ)(C1-3)はGluRe2の細胞内ドメインの3カ所を抗原としてイムノブロットで検出している。

白・合成ペプチド抗原をポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)後、ニトロセルロース膜に転写し、検体と反応させた後、二次抗体を用いて抗体の有無を判定した(イムノブロット法)。GluRe2のN末の合成ペプチドを抗原としたエピートープ解析(NT2)はELISA法により行った。

抗GluRe2抗体の作用機序を明らかにするために、われわれはラット海馬スライス標本を用いて、GluRe2のN末側に対するウサギ抗体・Rasmussen症候群患者のIgG(抗GluRe2抗体陽性)の興奮性シナプス後電流(EPSC)への影響を検討したが、現在までのところ抗GluR3抗体とは異なり、明らかな電気生理学的作用を見出せていない¹¹⁾。一方、SLE患者の抗ds-DNA抗体は、GluRe2などのN末細胞外ドメインにある283-287番目のアミノ酸配列(Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Gly)とds-DNAに分子相同性があるため、中枢神経系でNMDAR(NMDAR2A/2B)と交叉反応し、アポ

トーシスなどを起こすこと、Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Glyで免疫した動物で、その抗体が中枢神経系に至ると行動や認知機能に影響がみられることが動物実験で示されている¹²⁾⁻¹⁴⁾。

急性脳炎

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2,114例)と推計され¹⁵⁾、小児の罹患率は、56.4/100万人年と推定されることから、成人・小児合計すると、急性脳炎・脳症は日本では年間3,100人が罹患しているものと推定され、ウイルス直接侵襲が証明できない傍感染性の病態が多いと思われる¹⁶⁾。われわれは、傍感染性の病態では自己免疫的機序が働いているのではないかという仮説の下、GluRに着目して、自己免疫介在脳炎の研究を行ってきた¹⁷⁾⁻²⁰⁾。

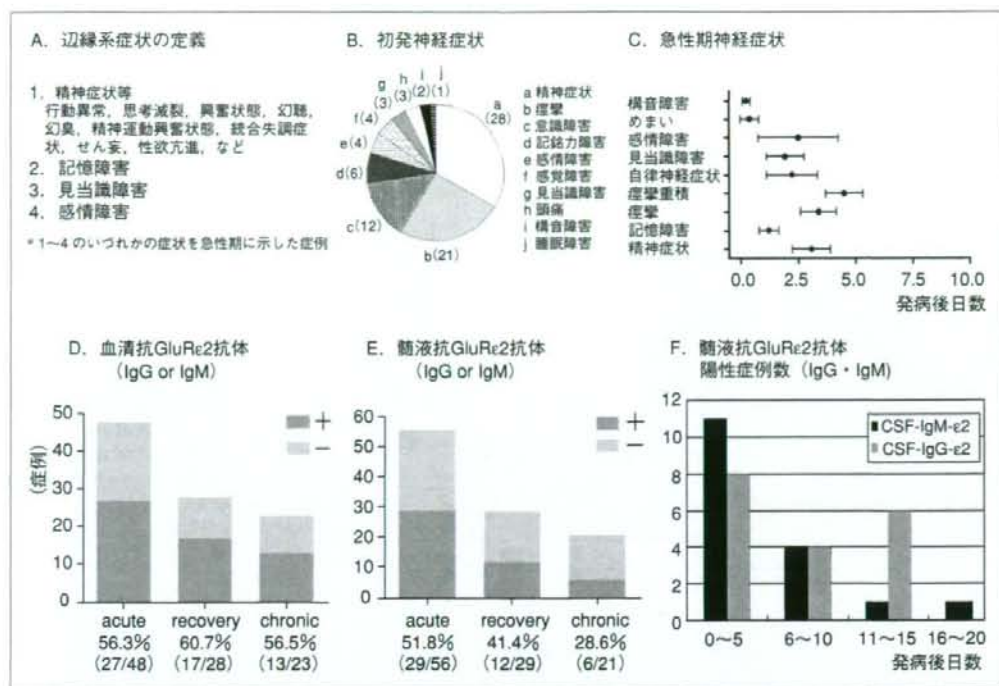


図3 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の臨床症状と抗GluRe2抗体

A: 辺縁系症状の定義, 1~4の症状のいずれかを意識障害の軽い急性期の段階で示した症例を辺縁系症状ありとした。B: 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)症例の初発神経症状, C: NHALE症例の急性期神経症状の出現病日を, 神経症状出現日をゼロ日として, 平均±SEM (standard error of the mean)で示した。D: NHALE症例の血清での抗GluRe2抗体のIgG型またはIgM型が陽性となった比率を, 急性期(0~20病日)・回復期(21~60病日)・慢性期(61病日以降)に分けて示した。急性期は48例中27例(56.3%)でIgGまたはIgM抗体が陽性であった。E: NHALE症例の髄液での抗GluRe2抗体陽性率を急性期・回復期・慢性期に分けて示した。F: NHALE症例の髄液抗GluRe2抗体が陽性となった病日をIgG型, IgM型ごとに示す。

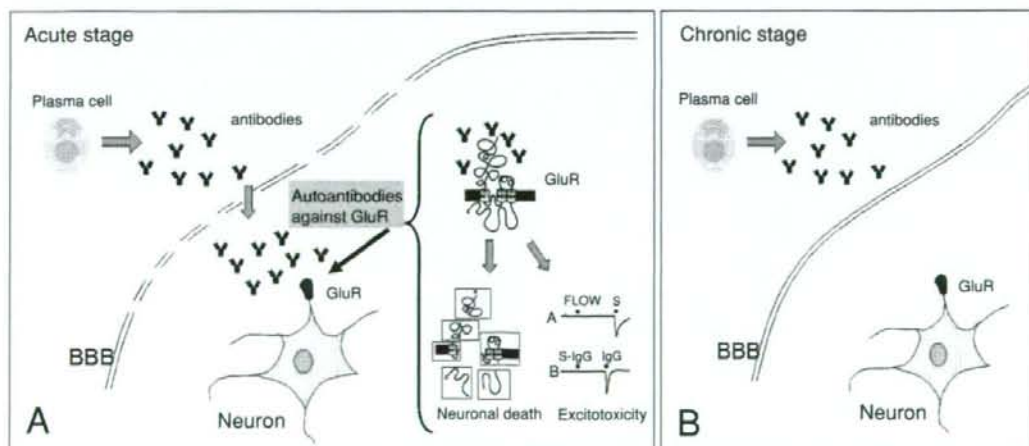


図4 抗GluRe2抗体と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態仮説

急性期(A)には, 血液脳関門の破綻などによりN末に対するエピトープを含んだ抗GluRe2抗体が中枢神経系内に入し, GluRe2(NMDAR2B)分子の細胞外ドメイン(N末など)になんらかの作用を及ぼし, 脳炎症状に参与する。慢性期(B)になると血液脳関門が回復し, 中枢神経系内の抗GluRe2抗体は減少する。抗N末-GluRe2抗体の作用機序, 脳炎での血液脳関門の病態など, 今後のさらなる研究が必要である。

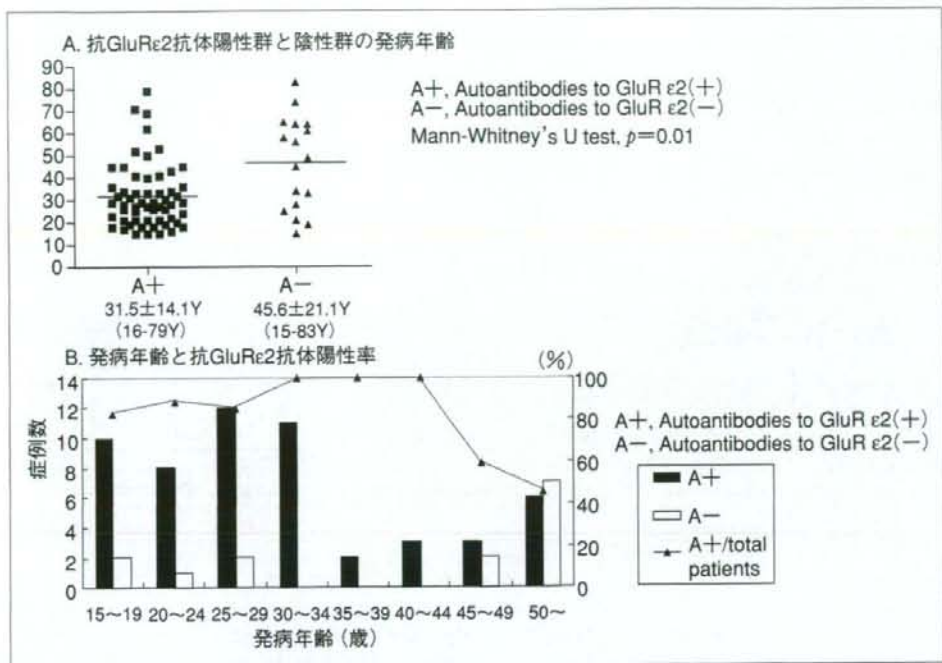


図5 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における発病年齢と抗GluRe2抗体
 A: 抗GluRe2抗体陽性群と陰性群の発病年齢, B: 発病年齢と抗GluRe2抗体陽性率, 発病年齢別にみた抗GluRe2抗体陽性者数と陰性者数を示す, A+: 抗GluRe2抗体陽性症例, A-: 抗GluRe2抗体陰性症例.

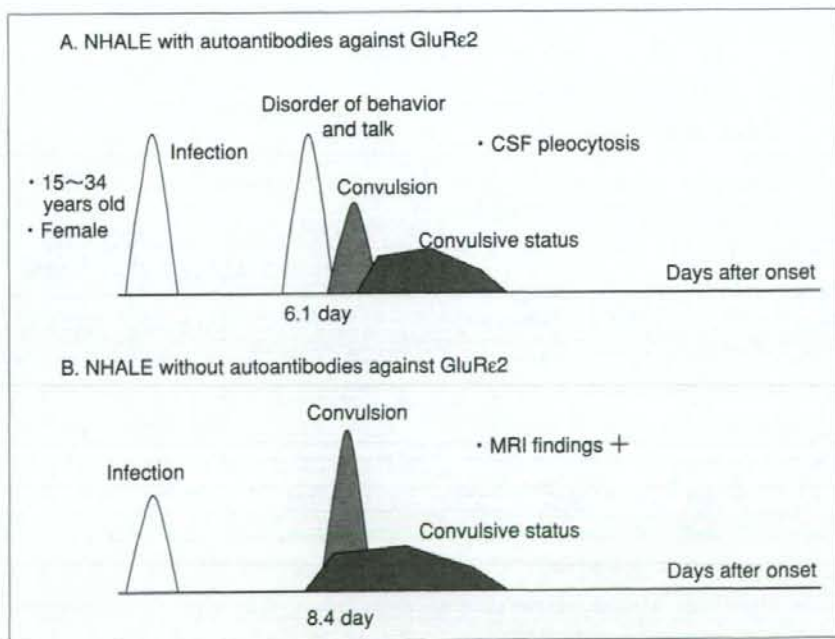


図6 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における抗GluRe2抗体陽性群と陰性群の臨床経過のまとめ
 A: 抗GluRe2抗体陽性群の経過, B: 抗GluRe2抗体陰性群の経過. NHALE: nonherpetic acute limbic encephalitis (非ヘルペス性急性辺縁系脳炎).

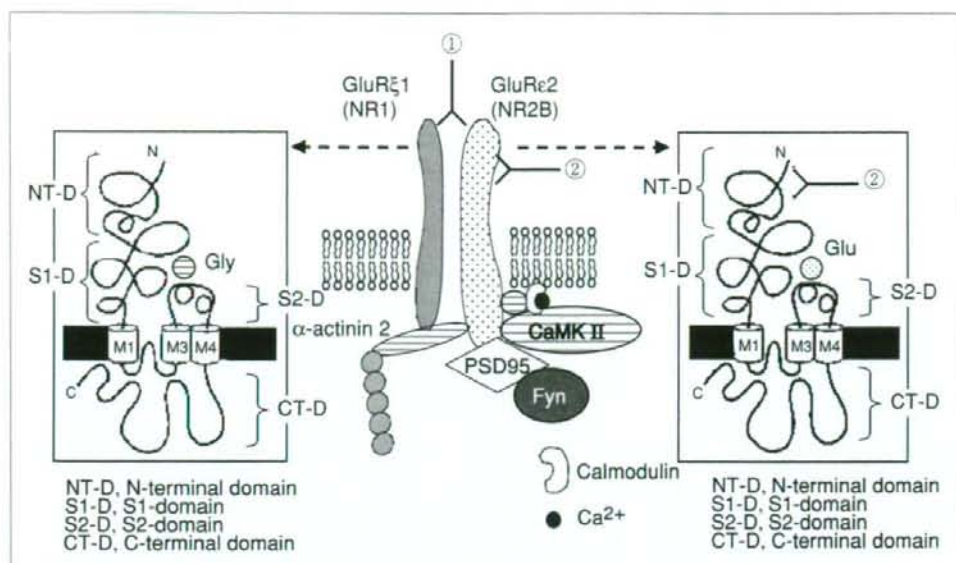


図7 NMDA型GluRチャネルの構造

NMDA型GluR(NMDAR)は異種のNMDARサブユニットが4つ会合した(ヘテロ4量体)構造の陽イオンチャネルで、GluRε1(NMDAR1)にGluRe1-4(NMDAR2A-2D)、GluRγ1-2(NMDAR3A, 3B)が会合している。われわれの測定している抗N末-GluRe2抗体(抗NT1, 抗NT2抗体)はGluRe2(NMDAR2B)の細胞外ドメインを認識する抗体であるのに対し(図7-②で示す抗体)、Dalmouらの抗NMDAR抗体はGluRe2など単独サブユニットの細胞外ドメインを認識するのではなく、NMDAR1+NMDAR2A)複合体の細胞外側立体構造を認識しているとされている(図7-①で示す抗体)。[参考文献: Inactivation of NR1 by Ca-CaM. Cell 1996; 84: 745-55. Neuron 1998; 21: 443-53. Interaction with NMDAR locks CaMK II. Nature 2001; 411: 801. Ca influx by anti-calreticulin antibodies. Neurosci Res 2000; 36: 385-90.]

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎と 抗GluRe2抗体

抗GluRe2抗体測定のために検体送付された急性脳炎・脳症369症例から、腫瘍合併例・再発例・慢性例・膠原病合併例・インフルエンザ脳症・単純ヘルペスウイルスPCR陽性例などを除き、辺縁系症状で神経症状が始まった15歳以上の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(nonherpetic acute limbic encephalitis: NHALE)91例について抗GluRe2抗体を検討した(図3)²⁰⁾。NHALEでは、血清中抗GluRe2抗体(IgGまたはIgM)は急性期から慢性期に約60%にみられ、髄液中抗GluRe2抗体は急性期に約50%、回復期に約40%、慢性期に約30%と次第に低下し、髄液中の抗GluRe2抗体は急性期でもかなり早い時期に出現した。抗GluRe2抗体のエピトープ解析は髄液中の抗GluRe2抗体陽性の4例で行い、4例とも髄液でN末エピトープ(NT1)を認めた。血液中にできた抗GluRe2抗体は、血液

脳関門の破綻などにより中枢神経系に至りならんかの急性期脳炎症状に寄与するが、回復期・慢性期になると血液脳関門の回復により髄液中から消失する病態仮説を考えている(図4)²⁰⁾。

抗GluRe2抗体陽性非ヘルペス性 急性辺縁系脳炎の特徴

15歳以上のNHALEで急性期に抗GluRe2(NMDAR2B)抗体を測定できた69例(抗GluRe2抗体陽性群53例、陰性群16例)について比較検討した²¹⁾。発病年齢は、陽性群が陰性群より若年で、陽性群の74.5%は15~34歳であった(図5)²¹⁾。抗GluRe2抗体陽性NHALEは若年成人が75%を占め、若年成人NHALEの80%以上が抗GluRe2抗体陽性で、抗GluRe2抗体は若年成人NHALEの主たる原因となっている可能性があることがわかった。これまでに脳炎脳症の自己抗体として、辺縁系脳炎での抗VGKC抗体、橋本脳症での抗NAE抗体、傍腫瘍性辺縁系脳炎での抗Hu抗体などが報告され

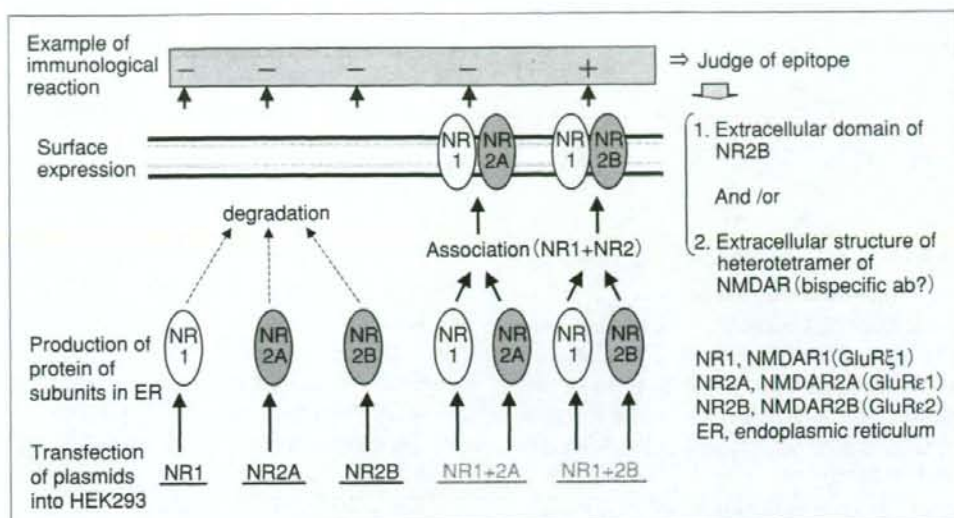


図8 ImmunocytochemistryによるNMDA型GluR複合体に対する抗体測定 (Dalmou)

HEK細胞に遺伝子導入によりGluRの各サブユニットを発現させる場合、GluRε1 (NMDAR1)、GluRε1-4 (NMDAR2A-2D)などの単独サブユニットの遺伝子を導入しても、細胞表面には発現できず、細胞内で分解されてしまう^{21,25)}。GluRε1とGluRε1-4の遺伝子を同時に導入するとサブユニットが会合し、NMDAR複合体として細胞表面に発現する。たとえば、髄液などが図8-上段に示すように、GluRε1導入細胞とのimmunocytochemistryで陰性、GluRε1導入細胞で陰性、GluRε2導入細胞で陰性、GluRε1+GluRε1導入細胞で陰性、GluRε1+GluRε2導入細胞で陽性となった場合、Dalmouらは、個々のサブユニットに対する抗体ではなく、NMDAR複合体(GluRε1+GluRε2)に対する抗体と判断している。しかし、個々のサブユニット単独の遺伝子導入では蛋白が細胞表面に発現できないことを考慮すると、NMDAR複合体に対する抗体である可能性に加えて、GluRε2の細胞外ドメイン(N末など)に対する抗体である可能性も否定できないことになる。〔参考文献：Annu Rev Pharmacol Toxicol 2003；43：335-58。〕

ている²⁰⁾²²⁾。抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎症例の発病年齢は34～65歳(平均50.4歳)、抗NAE抗体陽性橋本脳症は23～83歳(平均59歳)、抗Hu抗体陽性傍腫瘍性辺縁系脳炎は28～70歳(平均61.5歳)、抗Ta抗体陽性傍腫瘍性辺縁系脳炎は22～45歳(平均34歳)と、自己抗体ごとに好発年齢が異なり、自己免疫介在性NHLEに關与する自己抗体には年齢依存性の特徴があると思われる²⁰⁾²²⁾。

初発神経症状は、陽性群では言動の異常がもっとも多く、陰性群ではけいれんが多かった。急性期のけいれん・けいれん重積は陽性群で出現が遅かった。髄液細胞数が陽性群で高値であったが、髄液蛋白・IgGには差がなかった。予後については両群とも記憶の面での障害が強かった(図6)²¹⁾。

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎と抗GluRε2抗体

2007年、卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎(NHLE-OT)症例12例の血清・髄液中に、

NMDAR1+NMDAR2B(NMDAR2A)の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immunocytochemistryによる検討で報告され、抗NMDAR抗体(抗NMDAR脳炎)と呼ばれている²³⁾²⁴⁾。当初、この抗体はNMDAR複合体を構成するGluRε2(NMDAR2B)など単独サブユニットの細胞外ドメインを認識するのではなく、NMDAR1+NMDAR2B(一部はNMDAR1+NMDAR2A)複合体の細胞外立体構造を認識しているとされていた(図7-①で示す抗体)²⁰⁾²²⁾。しかし、NMDAR複合体の個々のサブユニットを単独でHEK細胞に発現させることは困難であり^{21,25)}、Dalmouらのimmunocytochemistryでは個々のサブユニットに対する抗体の有無は判断できない(図8)。よって、NHLE-OTの抗NMDAR抗体が、NMDAR複合体を構成する個々のサブユニットの細胞外ドメインを認識するのではなく、複合体の細胞外立体構造を認識していると判断す

についても、共通性がみられ、両群とも高率に、NMDARのうちのGluR2の細胞外ドメイン(N末)をエピトープとする自己抗体を有していた。このようなことから、NHLE-OTの病態として感染免疫と腫瘍免疫が複合した病態を考えている(図9)。

文 献

- 1) 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 2005 ; 77 : 619-29.
- 2) Groc L, Heine M, Cousins SL, et al. NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. Proc Natl Acad Sci USA 2006 ; 103 : 18769-74.
- 3) 高橋幸利, 池上真理子, 向田壮一. 小児疾患診療のための病態生理. 30. てんかん. 小児内科 2008 ; 特集号(印刷中).
- 4) Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, et al. Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. Science 1994 ; 265 : 648-51.
- 5) Twyman RE, Gahring LC, Spiess J, et al. Glutamate receptor antibodies activate a subset of receptors and reveal an agonist binding site. Neuron 1995 ; 14 : 755-62.
- 6) Levite M, Hermelin A. Autoimmunity to the glutamate receptor in mice—A model for Rasmussen's encephalitis? J Autoimmun 1999 ; 13 : 73-82.
- 7) He XP, Patel M, Whitney KD, et al. Glutamate receptor GluR3 antibodies and death of cortical cells. Neuron 1998 ; 20 : 153-63.
- 8) Whitney KD, James O, et al. GluR3 autoantibodies destroy neural cells in a complement-dependent manner modulated by complement regulatory proteins. J Neurosci 2000 ; 20 : 7307-16.
- 9) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al. Autoantibodies to NMDA receptor in patients with chronic forms of epilepsy partialis continua. Neurology 2003 ; 61 : 891-6.
- 10) Takahashi Y, Mori H, Mishina M, et al. Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluR2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua. Epilepsia 2005 ; 46 Suppl 5 : 152-8.
- 11) 高橋幸利, 高木佐知子, 西村成子, ほか. 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 : 219-21.
- 12) 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 : 1189-93.
- 13) Kowal C, Degiorgio LA, Lee JY, et al. Diamond B, human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. Proc Natl Acad Sci USA 2006 ; 103 : 19854-9.
- 14) Huerta PT, Kowal C, DeGiorgio LA, et al. Immunity and behavior : antibodies alter emotion. Proc Natl Acad Sci USA 2006 ; 103 : 678-83.
- 15) 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 2007 ; 223 : 295-6.
- 16) 高橋幸利. 急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた研究. 平成19年度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(H17-こころ一般-017)総括・分担研究報告書. 東京:厚生労働省;2008. p. 1-28.
- 17) 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GluR2自己抗体の存在. 日本小児科学会誌 2002 ; 106 : 1402-11.
- 18) Takahashi Y. Infections as causative factors of epilepsy. Future Neurology 2006 ; 1 : 291-302.
- 19) 高橋幸利. 抗グルタミン酸受容体ε2抗体と辺縁系脳炎. Neuroinfection 2007 ; 12 : 39-44.
- 20) 高橋幸利, 山崎悦子, 久保田裕子, ほか. 脳炎における抗GluR抗体の意義. 臨床神経 2007 ; 47 : 848-51.
- 21) 高橋幸利, 山崎悦子, 西村成子, ほか. 急性非ヘルペス性脳炎—自己免疫的アプローチ—. Neuroinfection (in press).
- 22) 高橋幸利, 西村成子, 角替央野. 急性辺縁系脳炎におけるグルタミン酸受容体自己免疫の病態. Clinical Neuroscience 2008 ; 26 : 508-11.
- 23) Dalmau J, Tu "zu" n E, Wu H, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. Ann Neurol 2007 ; 61 : 25-36.
- 24) Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan. Long-term outcome without tumor removal. Neurology 2007 ; [Epub ahead of print].
- 25) Takahashi Y. Epitope of autoantibodies to NMDA-receptor in paraneoplastic limbic encephalitis. Ann Neurol. Published Online : Mar 18 2008 4:01PM DOI : 10.1002/ana.21362.
- 26) 高橋幸利, 山崎悦子, 西村成子, ほか. 急性辺縁系脳炎・脳症とNMDA型グルタミン酸受容体. 臨床神経 2008 ; 印刷中.

特集 抗NMDA受容体抗体と脳炎

グルタミン酸受容体抗体*

● 高橋幸利**¹⁾ / 向田壮一** / 池上真理子** / 高橋宏佳** / 美根 潤**

Key Words : autoantibodies, GluRe2 (NMDAR2B), encephalitis, ovarian teratoma

グルタミン酸受容体

グルタミン酸受容体(GluR)は神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体で、イオンチャネル型と代謝型が存在する¹⁾。イオンチャネル型GluRはグルタミン酸が結合すると立体構造が変化し、陽イオンを選択的に通過させる陽イオンチャネルを形成している。イオンチャネル型GluRは薬理的にNMDA型・non NMDA型(AMPA型・カイニン酸型=KA型)に分類され、NMDA型ではNa⁺やCa²⁺の流入・K⁺の流出が起こり、non NMDA型ではNa⁺の流入・K⁺の流出が起こる。イオンチャネル型GluRには18種類のサブユニットがあり、分子多様性が存在し、中枢神経系の早い興奮性シナプス伝達の中心的役割を担っている重要な分子である。その機能は多岐にわたり、生理的には神経回路形成、シナプス可塑性、記憶・学習、神経細胞死などに関与している(表1)。さらに中枢神経系疾患の病態にもGluRは深く関与していて、てんかんでは種々のてんかん原性獲得機構に関与していると考えられている³⁾。

NMDA型GluR(NMDAR, NR)は、必須となる

GluR ξ 1(NR1)と、GluRe1-4(NR2A-2D)あるいはGluR χ 1-2(NR3A-B)といったサブユニット(図1-A)が4つ会合した4量体構造をとり(図1-B)、イオンチャネルとして機能しているが、種々の会合パターンがあるとされている(図1-C)。個々のサブユニットは、細胞外にあるN末から4つの膜貫通部位を経て、細胞室側にC末が存在する共通構造をとっている(図1-A)。NMDARの一つである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、NMDAR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¹⁾。

抗GluRe2抗体の測定法

抗GluRe2抗体の測定は、NIH3T3細胞中に遺伝子組み換えで発現させたGluRe2(NR2B)の全長蛋白を抗原として行っている(図2)⁴⁾⁵⁾。抗原を含むNIH3T3細胞ホモジネートをポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)し、ニトロセルロース膜に転写した。ニトロセルロース膜を髄液などの検体と反応させた後、2次抗体を用いて抗体の有無を判定した(イムノプロット法)。エピトープ解析は、N末(NT2)、M3-4ドメイン(M3-4)、C末(CT1)のペプチドを合成し、それらの合成ペプチドを抗原としてELISA法により測定した。

* Autoantibodies against GluR.

** Yukitoshi TAKAHASHI, M.D., Souichi MUKAIDA, M.D., Mariko IKEGAMI, M.D., Hiroka TAKAHASHI, M.D. & Jun MINE, M.D.: 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター(〒420-8688 静岡県静岡市葵区漆山886); National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, Shizuoka 420-8688, Japan.

¹⁾ 兼 岐阜大学医学部小児病態学(〒501-1194 岐阜県岐阜市柳戸1-1)

表1 イオンチャンネル型グルタミン酸受容体(GluR)の多様性とNMDA型GluRの機能

サブファミリー	サブユニット	サブユニット		シナプス 可塑性*	記憶 学習†	神経パター ン形成‡	自発 運動¶	発現部位
		マウス	ラット					
AMPA型	GluR α	$\alpha 1-\alpha 4$	GluR1-GluR4					
カイニン酸型	GluR β	$\beta 1-\beta 3$	GluR5-GluR7					
	GluR γ	$\gamma 1, \gamma 2$	KA1, KA2					
NMDA型	GluR ϵ	$\epsilon 1$	NMDAR2A	○	○			びまん性 前脳 小脳顆粒細胞 視床, 脳幹
		$\epsilon 2$	NMDAR2B	○		○		
		$\epsilon 3$	NMDAR2C					
		$\epsilon 4$	NMDAR2D				○	
	GluR ξ	$\xi 1$	NMDAR1					びまん性
GluR χ	$\chi 1$	NMDAR3A						
	$\chi 2$	NMDAR3B						
GluR δ	$\delta 1$	$\delta 1$						内耳有毛細胞 小脳Purkinje細胞
	$\delta 2$	$\delta 2$						

* LTP, † Morris water maze, ‡ Brainstem trigeminal complex, ¶ Open field test.

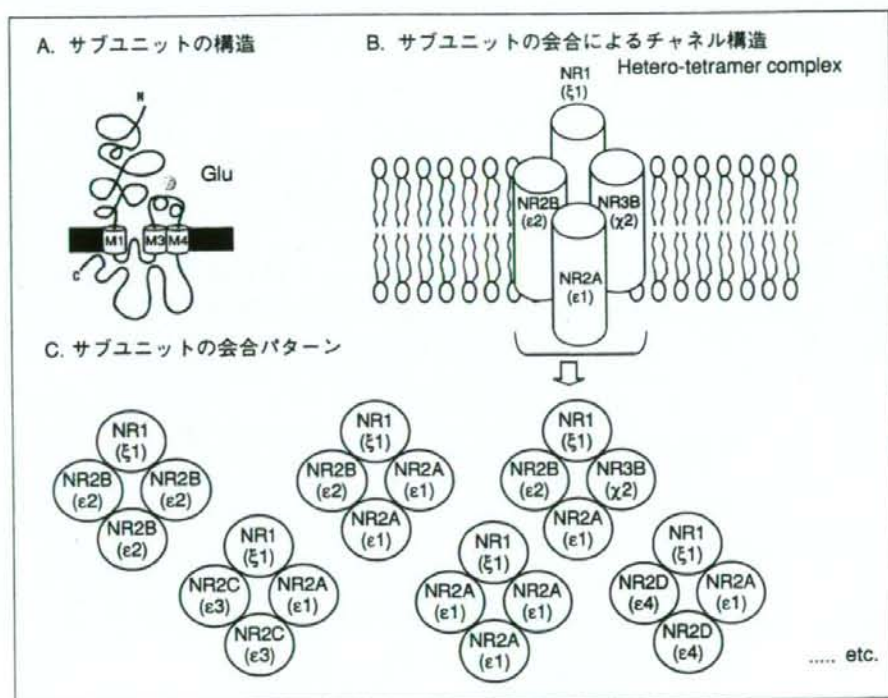


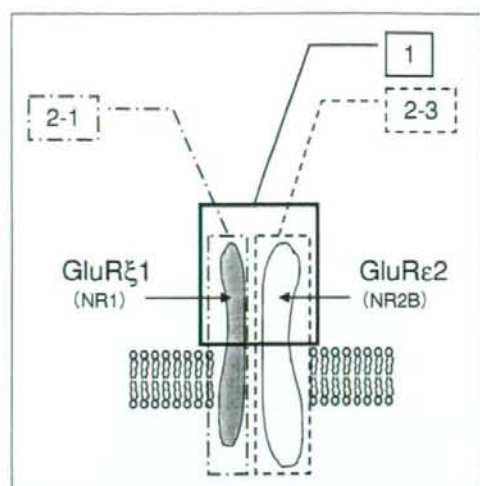
図1 NMDA型グルタミン酸受容体の構造

- A: NMDA型グルタミン酸受容体(NMDAR)のサブユニット構造は、細胞外にあるN末から4つの膜貫通部位を経て、細胞内側にC末が存在する共通構造をとっている。
 B: NMDARは必須であるGluR $\xi 1$ (NR1)と、GluR $\epsilon 1-4$ (NR2A-2D)あるいはGluR $\chi 1-2$ (NR3A-B)とといったサブユニットが4つ会合した4量体構造をとっている。
 C: 4量体構造は、異なる種類のサブユニットの種々の会合パターンがあるとされている。

抗NMDAR抗体の測定法

2007年、卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎(nonherpetic acute limbic encephalitis with ova-

rian teratoma: NHALE-OT)症例12例の血清・髄液中に、NR1+NR2B(NR2A)の複合体とは反応するが、NR1あるいはNR2B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、抗NMDAR



抗体と呼ばれる⁶⁾⁷⁾。抗NMDAR抗体 の測定方法は、個々のNMDARサブユニットあるいはサブユニットの組み合わせを発現させたHEK細胞を用いたimmunocytochemistryによる(図3)。

図4 NMDA型GluRに対する抗体の認識部位
NMDA型GluRに関連する抗体測定の抗原としては、複数のサブユニットを発現させて複合体を作らせて抗原とする場合(抗NMDAR抗体=抗NMDAR複合体抗体①)と、NMDARの各サブユニットを抗原(2-1:抗NR1(GluRξ1)抗体, 2-2:抗NR2A(GluRε1)抗体, 2-3:抗NR2B(GluRε2)抗体, 抗NR2C(GluRε3)抗体, ほか)とする場合がある。

当初、この抗体はNMDAR複合体を構成するGluRε2(NR2B)など単独サブユニットの細胞外ドメインを認識するのではなく、NR1+NR2B(一部はNR1+NR2A)複合体の細胞外立体構造を認識しているとされていた(図4の①で示す抗体)⁶⁾。しかし、NMDAR複合体の個々のサブユニットを単独でHEK細胞に発現させることは困難であるため²⁾⁸⁾、Dalmauらのimmunocytochemistryでは個々のサブユニットに対する抗体の有無は判断できないと推定される(図5)。よって、NHALE-OTで見出された抗NMDAR抗体が、NMDAR複合体を構成する個々のサブユニットの細胞外ドメインを認

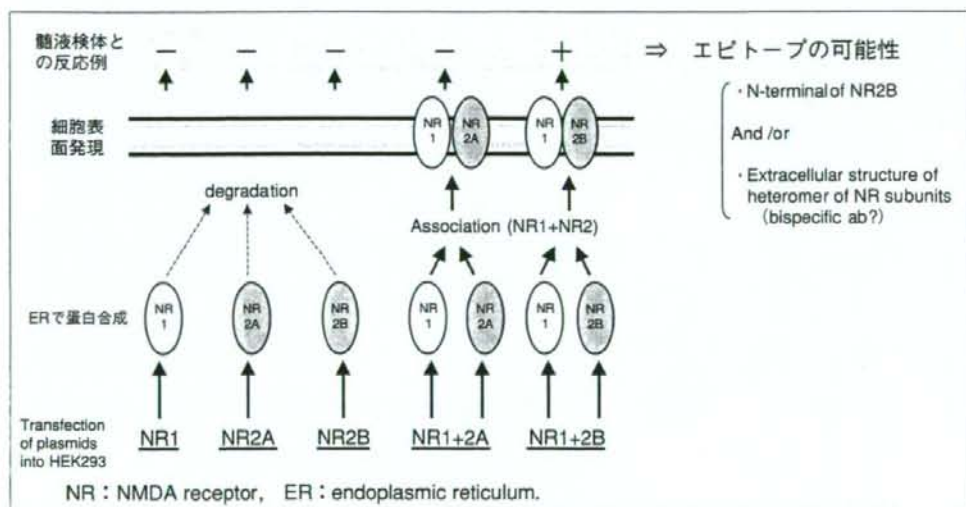


図5 抗NMDAR抗体の解釈の注意点

Dalmauらの方法により、HEK細胞に遺伝子導入しNMDARの各サブユニットを発現させる場合、GluRξ1(NR1)、GluRε1-4(NR2A-2D)などの単独サブユニットの遺伝子を導入しても細胞表面には発現できず、細胞内で分解されてしまう。GluRξ1とGluRε1-4の遺伝子を同時に導入するとサブユニットが会合し、NMDAR複合体として細胞表面に発現する。たとえば、髄液などが図5上段に示すようにGluRξ1導入細胞とのimmunocytochemistryで陰性、GluRε1導入細胞で陰性、GluRε2導入細胞で陰性、GluRξ1+GluRε1導入細胞で陰性、GluRξ1+GluRε2導入細胞で陽性となった場合、Dalmauらは、個々のサブユニットに対する抗体ではなく、NMDAR複合体(GluRξ1+GluRε2)に対する抗体と判断している。しかし、個々のサブユニット単独の遺伝子導入では蛋白が細胞表面に発現できないことを考慮すると、NMDAR複合体に対する抗体である可能性に加えて、GluRε2の細胞外ドメインに対する抗体である可能性も否定できないことになる。(文献⁸⁾より引用)

識するのではなく、複合体の細胞外立体構造を認識していると判断するのは早計である。

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎 (NHAE-OT) の臨床特徴

われわれのところに抗体検査依頼を受けたNHAE-OT19例の臨床特徴を示す⁹⁾。卵巣奇形腫の部位は右10例、左5例、両側3例、不明1例である。われわれのところに抗体検査依頼を受けた急性脳炎・脳症女性患者は250例あり、卵巣奇形腫合併率は7.6% (19/250例) となり、一般人口の卵巣奇形腫有病率は1.5%程度とされているので、卵巣奇形腫は急性脳炎・脳症のリスク因子と推定される。

NHAE-OT19例を臨床的に検討すると、発病年齢は27.5±6.5 (14~41) 歳で、非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (nonparaneoplastic non-herpetic acute limbic encephalitis : NPNHALE) [27.7±18.6 (2~83) 歳] とほぼ同じであり、先行感染症は、発熱・感冒などを89.5%に認め、NPNHALEの63.8%より高頻度であった (Fisher's exact test, $p=0.025$) (図6)。先行感染症から脳炎発症までの日数は、NHAE-OTでは7.47±0.88日、抗GluR2抗体陽性のNPNHALEでは6.09±0.65日、抗GluR2抗体陰性のNPNHALEでは8.44±2.03日であり、有意差はない。初発神経症状は、NHAE-OT・成人NPNHALE・小児NPNHALEともに、多くが減裂言動、逸脱行為、多弁、衝動行為、悲観的言動、徘徊、不穏状態といった言動の異常を主体とした精神症状である。ただし、NHAE-OTの中には眼振や振戦といった小脳脳幹系の障害を示唆する症状の症例が一部に存在する。

髄液細胞数は、NHAE-OTでは51.6±66.4、成人NPNHALEでは66.9±150.1、小児NPNHALEでは21.2±29.0/mm³ (平均±SD) と、NHAE-OTと成人NPNHALE間では有意差を認めなかった (Mann Whitney test, $p=0.328$)。髄液蛋白は、NHAE-OTでは35.4±14.7、成人NPNHALEでは49.2±38.1、小児NPNHALEでは28.5±12.0mg/dl (平均±SD) と、NHAE-OTと成人NPNHALE間では有意差を認めなかった (Mann Whitney test, $p=0.265$)。髄液IgGは、NHAE-OTでは6.6±4.2、

成人NPNHALEでは4.9±4.3、小児NPNHALEでは3.3±1.3mg/dl (平均±SD) と、NHAE-OTと成人NPNHALE間では有意差を認めなかった (Mann Whitney test, $p=0.331$) (図7)。

重症度を急性期入院日数で評価すると、NHAE-OTでは209.0±30.1日、成人NPNHALEでは87.5±11.3日、小児NPNHALEでは66.8±9.9日 (平均±SD) と、NHAE-OTと成人NPNHALE間では有意差を認めた (Mann Whitney test, $p<0.0001$)。よって、NHAE-OTでは成人のNPNHALEに比べてかなり重症であることがわかる。

NHAE-OTの臨床特徴は、重症度を除くと、発病年齢、先行因子から脳炎発症までの日数、初発神経症状、急性期神経症状、髄液所見などの点で、成人のNPNHALEときわめてよく似ていることがわかり⁹⁾、急性辺縁系脳炎の特徴を通常示すことがわかった。

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎 (NHAE-OT) の自己抗体

われわれは19例のNHAE-OTの急性期髄液についてNMDARに関係する抗体を検討した。イムノブロット法によるGluR2全長分子を抗原とした抗GluR2抗体 (図2, 図4の2-3, 図8の③で示す抗体) は40%の症例が急性期に陽性で、GluR2のN末のペプチドを抗原としたELISA (NT2) (図2, 図8の②で示す抗体) は69.2%の症例で陽性、抗NMDAR抗体 (図3, 図4の1, 図8の①で示す抗体) は90.9%の症例で陽性であった (Dalmauらによる測定)⁹⁾¹⁰⁾。よって、NHAE-OT症例の少なくとも2/3はGluR2 (NR2B) のN末を認識する抗体を有しており、また、多くが抗NMDAR抗体陽性であることから、抗NMDAR抗体の多くがGluR2 (NR2B) のN末をエピトープとしていると推測される。NHAE-OTにおいて、Dalmauらの抗NMDAR抗体の陽性率が約90%と高いのは、その方法がGluR2 (NR2B) の細胞外ドメインのみならず、GluR1 (NR1) の細胞外ドメインに対する抗体も検出できるためかもしれない (図4, 8)。NHAE-OTではGluR2の細胞外ドメインのみならず、GluR1 (NR1) の細胞外ドメインをエピトープとする抗体など、複数の抗体が存在するのではないかと、われわれは考える。

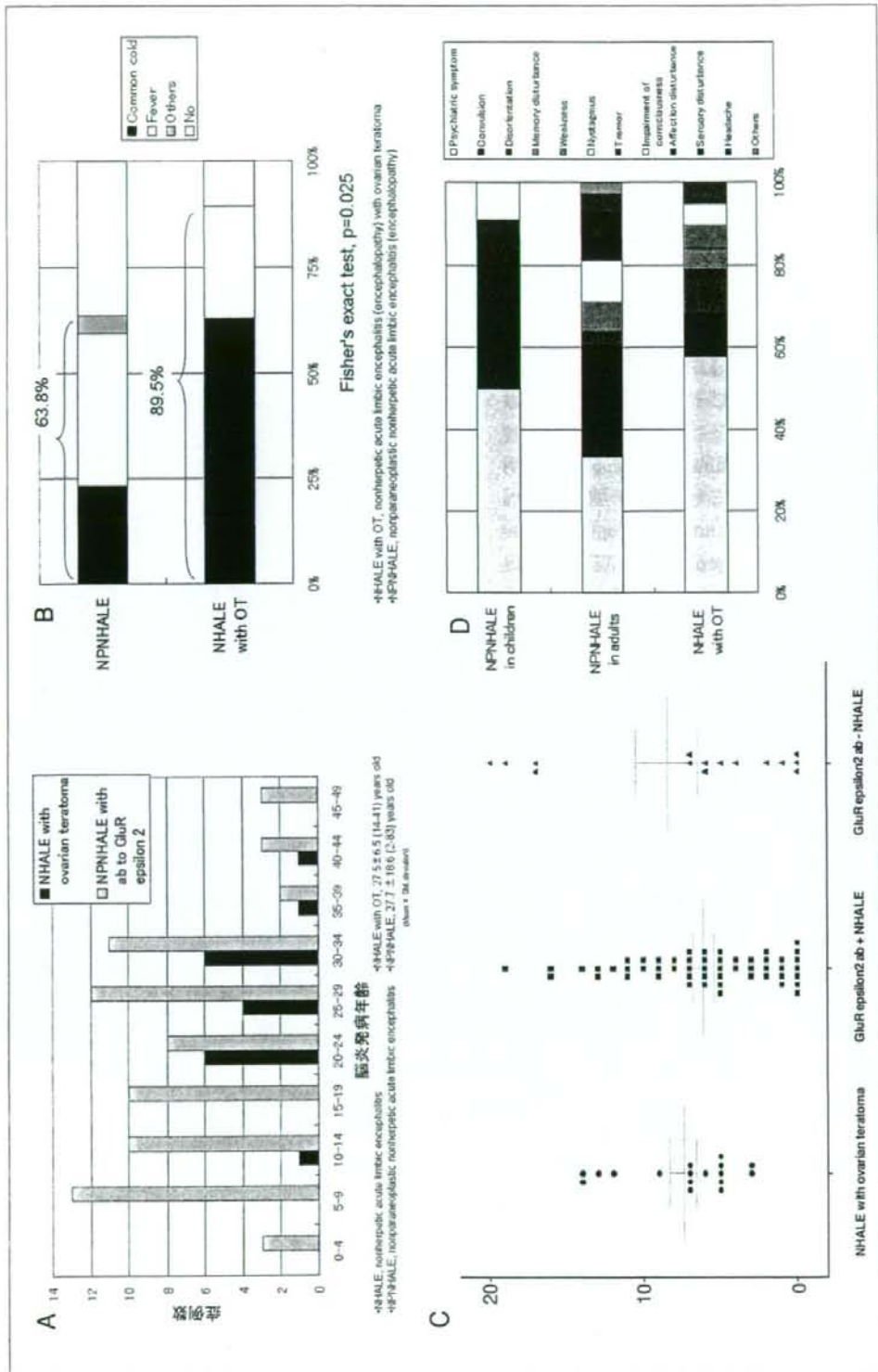


図6 卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎(NHALE-OT)の臨床特徴
A: 年齢分布, B: 先行感染症, C: 先行感染から脳炎発病までの日数, D: 初発神経症状。

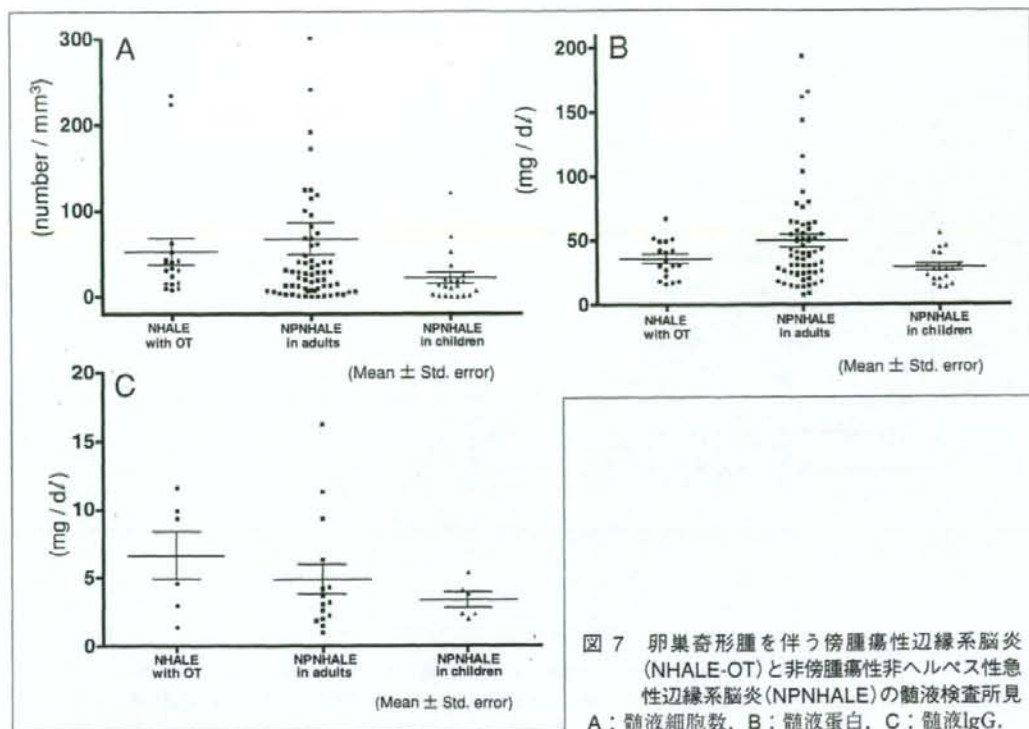


図7 卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎 (NHALE-OT)と非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NPNHALE)の髄液検査所見
A: 髄液細胞数, B: 髄液蛋白, C: 髄液IgG.

抗原	方法	急性期陽性率*	利点	欠点
全長GluRε2	③ Immunoblot	40.0%	Broad spectrum	long-haul, special cells,
NT2-GluRε2	② ELISA	69.2%	Sensitivity, definitive epitope, fast, easy	Narrow spectrum
NMDAR複合体	① Immunocytochemistry	90.9%	Sensitivity, specificity for ALE with ovarian teratoma?	Unknown epitope subunit, special cells

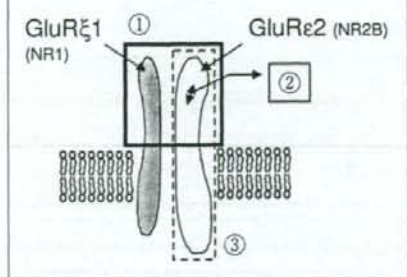


図8 NMDAR に対する自己抗体測定法と急性期髄液における陽性率の比較

2008年の日本神経学会(横浜)および国際神経免疫学会(フォートワース)でのDalmau教授の発表では, NHALE-OTの症例においてGluRε1 (NR1)の細胞外ドメイン(N末)をエピトープとする抗体の重要性が報告され, NMDAR複合体に対する

抗体というより, 複合体を構成するGluRε1 (NR1)サブユニットに対する抗体が重要であるという仮説にシフトしてきている。

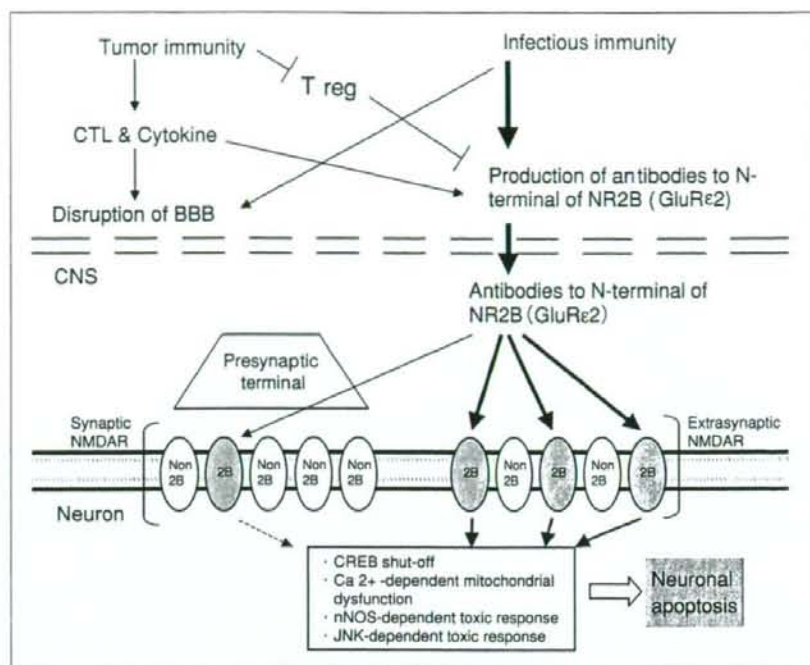


図9 卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎(NHALE-OT)の病態

多くの症例で先行感染症・発熱があり、先ず感染に伴う免疫変化により抗GluRe2抗体などができる。感染・腫瘍免疫による血液脳関門(BBB)の破綻により自己抗体が中枢神経系に侵入し、主としてシナプス外のGluRe2(NMDAR2B)を含むNMDARに作用し、種々の経路に変化が起こり、ニューロンの機能障害・アポトーシスをきたす。CTL: cytotoxic T cell, BBB: blood brain barrier, CNS: central nervous system, 2B: NMDA receptor heteromer with MDANR2B subunit, Non 2B: NMDA receptor heteromer without NMDAR2B subunit, JNK: c-Jun N-terminal kinase, CREB: cAMP-responsive-element-binding protein.

卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎(NHALE-OT)の病態仮説

NHALE-OTは、成人NPNHALEと臨床的によく似た辺縁系の症状を呈し、抗グルタミン酸受容体抗体についてもNPNHALEと同じく高率にGluRe2(NR2B)の細胞外ドメイン(N末)をエピトープとする自己抗体を有していた^{9)~16)}。以上より、NHALE-OTは感染免疫と腫瘍免疫が複合した病態を呈していると考えている(図9)。すなわち、感染によりGluRe2のN末などに対する抗体ができ、腫瘍免疫から血液脳関門の破綻や自己抗体産生の抑止低下などが生じ、その結果、抗GluRe2抗体が中枢神経系内に至り、N末エピトープがGluRe2の細胞外ドメインに作用し、GluRe2発現神経系細胞などに機能障害・アポトーシスなど

を誘導するという仮説である。

抗GluRe2抗体の機能

抗GluRe2抗体の作用機序を明らかにするために、われわれはラット海馬スライス標本を用いて、GluRe2(NR2B)のN末側に対するウサギ抗体・Rasmussen症候群患者のIgG-GluRe2抗体の興奮性シナプス後電流(EPSC)への影響を検討したが、現在までのところ抗GluRe3抗体とは異なり、明らかな電気生理学的作用を見出していない(図10)⁵⁾。シナプスのNMDARを構成するサブユニットは、成熟とともにGluRe2を含むものからGluRe1(NR2A)を含むものに変化していくことが知られており²⁾、われわれが用いたラット海馬スライスは成熟期のものであるためGluRe2(NR2B)がシナプスには少ない。そのため、抗GluRe2抗体を加

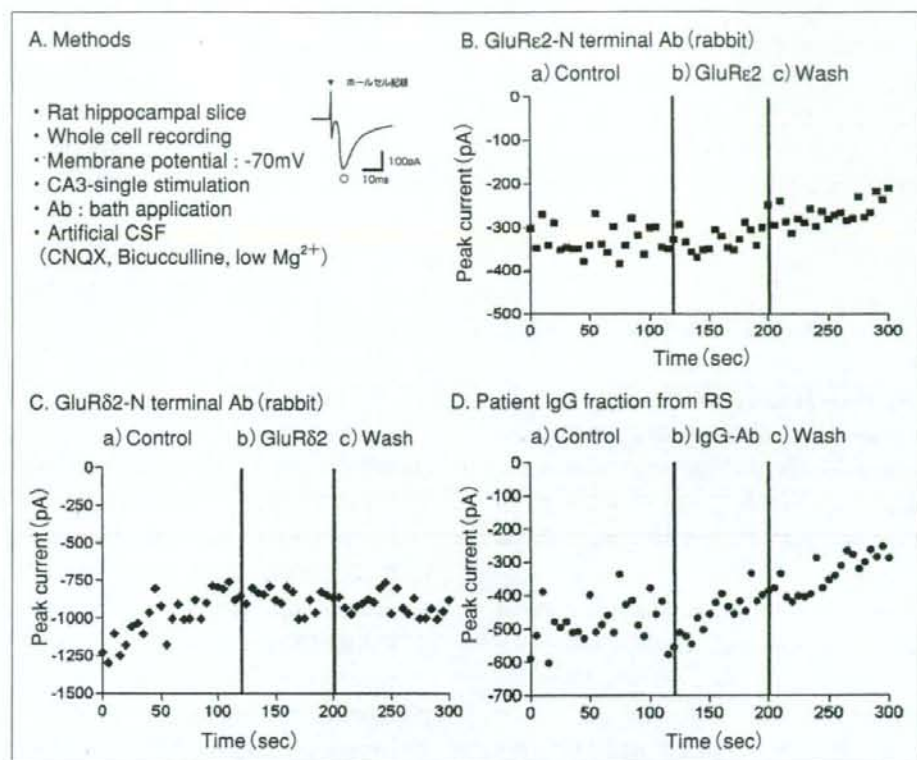


図10 ラット海馬スライスにおけるEPSCのNMDA電流

Aは測定条件を示す。BはGluRe2-N末抗体(ウサギ由来)投与前、バス投与中、wash out後のEPSCの連続記録を示す。CはGluRδ2-N末抗体の投与前・バス投与中、wash out後のEPSCの連続記録を示す。DはRasmussen症候群の患者血清由来IgG抗体の投与前・バス投与中、wash out後のEPSCの連続記録を示す。抗体による明らかな電流変化は認めない。(文献⁵⁾より引用)

えてもシナプス電流には作用を示さなかった可能性があると考えている。

一方、SLE患者の抗ds-DNA抗体は、GluRe2などの細胞外ドメインのN末にある283~287番目のアミノ酸配列(Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Gly)とds-DNAに分子相同性があるため、中枢神経系でNMDAR(NR2A/2B)と交叉反応し、アポトーシスを起こすこと、Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Tyr-Ser/Glyで免疫した動物で抗体が中枢神経系に至ると行動や認知機能に影響がみられることが動物実験で示されている^{17)~19)}。

NMDARの活性化があまりに過剰であると、 Ca^{2+} -dependent mitochondrial dysfunction, nNOS-dependent toxic response, JNK-dependent toxic response, Rhoなどの働きで神経細胞がアポトーシスに陥ることが知られ²⁰⁾、抗GluRe2

(NR2B)抗体による刺激が強いと神経細胞機能障害・細胞死が生じる可能性がある。一方、シナプスのNR2Bの活性化はPI3K-Akt pathway, cAMP-Responsive-Element-Binding protein (CREB)により神経保護に働くが、シナプス外のNR2Bの活性化はCREBの遮断, Ca^{2+} -dependent mitochondrial dysfunction, nNOS-dependent toxic response, JNK-dependent toxic responseなどを介して細胞機能障害・細胞死につながる事が報告されている^{20)~22)}。成熟神経細胞ではNR2Bが主にシナプス外に分布することから²⁾、抗GluRe2(NR2B)抗体により成熟神経細胞のNR2Bが強く活性化されると細胞機能障害・細胞死につながる事が想定される。また、NR2Aは成熟神経細胞ではシナプス・シナプス外ともに神経保護に作用するが、NR2Bは興奮毒性を介してア