

著効 52%、中等度効果 19%、軽度 23%、自然治癒 6%であった（栗山、米田）。

23. 新型インフルエンザ脳症の特徴

新興感染症の新型インフルエンザ（H1N1 swine flu）に伴う脳症の特徴として以下のものが明らかとなった。

1. 年齢は5-10歳の年長児が多く、中央値は8歳と、季節性に比べ有意に高年齢である。
2. 症状は、異常な言動が初発神経症状であることが多い。痙攣は少ない。
3. 近年増加傾向にあった痙攣重積型（2相性）脳症の比率が少ない。
4. 重症度は、現時点では5~8%で、季節性と差は見られない。
5. 基礎疾患として、気管支喘息を含むアレルギー疾患を有する例が多い。
6. 約1/3の症例に、脳症と同時に、肺炎（ウイルス性）を合併する。
7. 2009年9月改訂された「インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版」は、有効に機能していると思われる。

詳しい病態については、現在検討中である（森島）。

24. NHALEの治療に関する考察と提案

我々は抗AQP4抗体陽性のNMO症例において、繰り返すpainfull tonic seizureに対して最初メチルプレドニン（MP）パルスを実施するも奏功せず、そこでトリプトファンカラムによる免疫吸着療法を実施したところ、それらの症状が急速に軽快した例を経験した。つまり、MPパルスと免疫吸着を比べると時には、後者が迅速な威力を発揮する場合がある。このような事例をヒントにしてグルタミン酸受容体抗体が介在する急性辺縁系脳炎（AGURA-MaLe）においても抗体を速やかに除去することによって症状を軽快せしめることが期待できる。つまり、AGURA-MaLeにおいても、発症早期の迅速な抗体除去に一つの治療目標を置くべきと考える。

最近になって複数の施設から、AGURA-MaLeに対して血液浄化療法を実施し有用であった旨の報告がなされている。その事例としては、北里大の21歳女性例では、MPパルス療法のあと、OT摘出がなされ、長引く症状に対して、血漿交

換療法（PE）とIVIgがなされて症状が軽快した。また、熊本赤十字病院の6歳男子例は、ステロイドパルス、IVIgで症状の改善得られず、PEの3日後に症状が軽快した。

AGURA-MaLeの急性期の呼吸機能低下や難治痙攣に対して、現在は、MPパルス療法、卵巣摘出術などがとられているが、発症早期の血液浄化療法は予後の改善に有用である可能性がある。そこで、本研究班全体で実施できる治療のアルゴリズム案を提案したい（表6、図5）。AGURA-MaLeが疑われる症例に出会ったなら、Dalmau抗体ないし、高橋抗体の測定を依頼しつつ、平行して、胸腺腫と卵巣のMRI検査を行う（骨盤CTは若年女性では第一選択ではない）。胸腺腫は直ちに切除する。OT(+)例で若年女性では、核出術が可能なら実施し、そうでない場合は、まず上記のAコース（MPパルス療法）、又はBコース（血清浄化/免疫吸着療法）を選択する。それで臨床症状の改善しない場合は、AコースとBコースをクロスオーバーする。それでも症状の治まらない症例では、OTの切除に踏み切る。この治療スキームは、若年女性で卵巣を出来るだけ温存したいという考えに基づく提案である（湯浅）。

25. NHALEの後遺症の検討

症例1はNHALEに該当し、抗グルタミン酸受容体 $\epsilon 2$ （GluR $\epsilon 2$ ）抗体陽性、発症2年後に近時記憶障害、前向・逆行性健忘などの純粋健忘症候群、痙攣発作が残存した。症例2では抗GluR $\epsilon 2$ 抗体陽性のNHALEと考えられたが後遺症の検討においてより広い病変が推定され、6、12ヵ月で健忘症候群に加え全般的知的機能の低下、注視性眼振、ミオクローヌス、小脳症状、下肢麻痺などの廃用症候群を示した。症例3は卵巣奇形腫を伴う抗N-メチル-Dアスパラギン酸受容体（NMDAR）抗体陽性脳炎で全脳炎にも位置づけられ、記憶障害は目立たず、6、12ヵ月の時点で全般的知的機能の低下、脱抑制、幼児化、下肢麻痺などの廃用症候群を呈した。後遺症の検討において症例2は症例1,3の中間的な症例と考えられ、病態解明の一助となることを示唆している（庄司）。

26. 症例研究-1

急性期に、橋本脳症と鑑別を要した、抗NMDA(N-Methyl-d-Aspartate)受容体脳炎の1例：34歳・女性。X年Y月1日に右半身の脱力と書字困難で発病。初期には辺縁系症状を前景とし、甲状腺機能は正常だが、血清の抗サイログロブリン抗体 200 倍、抗マイクロゾーム抗体 12800 倍、抗TPO抗体 207 IU/ml、と高値を認め、橋本脳症の鑑別が必要であった。最終的には抗NMDA受容体抗体(Dalmau抗体)の陽性と、抗NAE抗体の陰性が確認され、抗NMDA受容体脳炎と診断された。迅速な抗NMDA受容体抗体や抗NAE抗体の検査体制の確立が待たれる(亀井)。

27. 症例研究-2

軽度認知機能障害のみを呈した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎の1例：

軽度認知機能障害のみを呈した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎に対し、腫瘍切除とステロイドパルス療法にて短期間で軽快した症例を経験した。本症例は、心因性反応と思われるような軽い症状でも若年女性では本疾患を一鑑別疾患として考慮する必要があること、及び本疾患の臨床的多様性を示唆した(田畑)。

表6. 臨床症状から辺縁系脳炎(LE)を疑う例の診断と治療ステップ

1) ステップ1：脳MRI(DWIを含む画像：撮像法は研究班で推奨する撮像ルチン)

2) ステップ2：髄液検査

(a) 髄液の細胞増多が(+++)である場合は、発熱など急性脳炎があれば、単純ヘルペス脳炎のPCR検査を実施し、そして平行してヘルペス脳炎として治療を実施する。HSVが支持されなかったり急性炎症所見がなければparaneoplastic LEを疑って全身のがん検診(CT/PETなど)を行う。

(b) 髄液の細胞増多が軽い(+~++)時は、或いは、胸部CTで胸腺腫が見つかった時は、Thymomaを切除する。卵巣のMRIにて卵巣奇形腫(OT)(+)では、若年女性例ではOTの核出術を基本とする。OT(-)でかつthymoma(-)の例、或いはOT(+)でも核出術が出来ないもの、非ヘルペス性辺縁系脳炎を疑い、血清浄化療法を含めた治療のアルゴリズムへ進む(図5)。

3) ステップ3：血清の保存と抗神経抗体の同定

(a) intracellular antigens抗体(Hu, Ta, Tr/Ma2など)が陽性に出る例では、CT/PET検査などで固形がんが見つかる可能性がある。

(b) cell membrane antigens 抗体(VGKC, GluR ϵ 2, NMDA複合体など)が陽性となった例では、奇形腫が見つかる可能性がある。或いは、純粋に免疫学的機序の関わる非ヘルペス性辺縁系脳炎である可能性が残る。

4) ステップ4：治療アルゴリズム(図5)

AGURA-MaLeを疑う例で、縦隔腫瘍、胸腺腫瘍は腫瘍切除とし、OT(+)の例は、直ちに卵巣切除とはせず、核出術のできる例は核出術とし、その出来ない例は、D-コースへ進む。

急性期のLEを疑う患者で、髄液所見が軽微で、胸部CTと腹部MRIを実施して、検査でOT(+)例で、核出術ができない例やOT(-)/thymoma(-)であれば以下の治療方法へ進む。当然のこととして、必要な対症療法(全身管理)、抗けいれん剤、呼吸管理などは適切に実施すると同時に、以下の通りA~Dの4つのコースを適宜選択する。

A-コース：MPパルス療法先行群。B-コース：血清浄化(免疫吸着療法)先行群。

C-コース：A, B単独で効果なければ、クロスオーバーする。

D-コース：OT(+)例でC-コースまでの処置で改善しない例では、OT切除を行う。

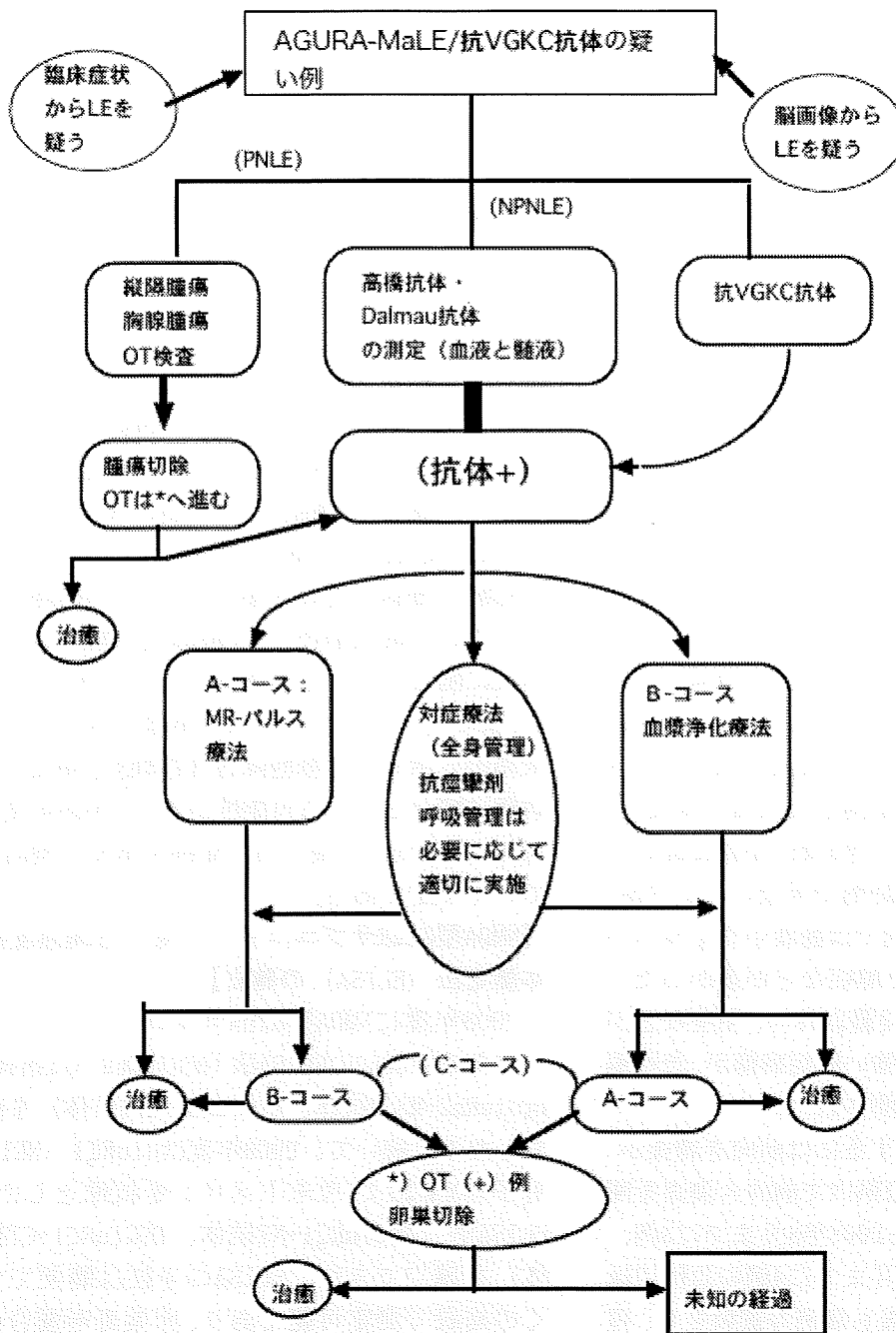


図5. GURA-MaLeの治療アルゴリズム (案)

D. 考察

【NHALE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22か月間に1085症例報告され、罹患率は～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、2008年9月から2009年8月までに4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。

【自己免疫介在性脳炎・脳症の診断スキームの作成】

急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症の拡散強調画像の診断法がこれまで標準化されておらず、個々の医師によるディスプレイ表示・調節で行われてきており、画像診断が恣意的になることがあった。我々は、2009年度にMRI拡散強調画像による診断スキーム（参照3-資料7）を完成し、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームに追加、2009年8月にホームページに掲載した

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)（参照3）。今後は全国的に標準化されたMRI拡散強調画像による診断が可能となるものと期待する。今後さらに病理等の知見を加えていく予定である。

【中枢神経病理】

2006年度研究において、非傍腫瘍性急性辺縁系脳炎・脳症（NPNHALE）では、神経細胞は減少していなくて、マクロファージ/単球の増生がみられることが分かっている。2008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、マクロファージ/単球のみならず、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。2009年度の報告はないが、今後さらに症例を増やし検討していく予定である。

【NMDA型GluRサブユニットに対する高感度抗体測定法（ELISA）の確立】

2008年度にNMDA型GluRサブユニットの一つであるGluR2のELISA法（抗GluR2-NT2抗体、抗GluR2-M3-4抗体、抗GluR2-CT1抗体）を確立したのに続いて、2009年度はGluR ζ 1（NR1）分子のN末およびC末ドメインを抗原としたELISA法（抗GluR ζ 1-NT抗体、抗GluR ζ 1-CT抗体）を確立できた。ELISAの手技は簡便で多くの施設で測定可能であり、卵巣奇形腫合併急性脳炎・脳症（AE-OT）での検討では免疫ブロット法（陽性率40%）に比べて高感度（Dalmauによる免疫染色法と同等の感度＝陽性率80%）であり、診断に有用と考えた。Dalmau法ではGluR2（NR2B）がエピトープなのか？GluR ζ 1（NR1）がエピトープなのか？示せないため、NMDA型GluR複合体抗体のエピトープを明らかにするには我々の開発したNMDA型GluRサブユニットに対する抗体測定法（ELISA）が必要である。

【抗NMDA型GluR複合体抗体測定（免疫染色法）の改良】

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とGluR ζ 1N/R-EGFPを一過的に共発現させたHEK293細胞と、GluR ζ 1N/R-EGFPを単独で発現させた細胞を構築し、前者はGluR ϵ 2-N末およびGluR ζ 1N末に対する抗体を、後者はGluR ζ 1N末に対する抗体の、安定した患者血清でのスクリーニングを可能とした。

【抗NMDA型GluR抗体の脳炎病態における役割の解明】

辺縁系脳炎患者血清中の自己抗体は37°CでNMDA型GluRをinternalization（細胞内取りこみ）させた。自己抗体によるinternalizationは、NMDARの機能低下を引き起こし、脳炎における意識障害や行動異常等の精神症状に関連しているかもしれない。また、4°Cでは細胞内取りこみが起こらないことから、抗体による細胞内取り込み作用が抑制されることが分かり、低体温療法の作用機序を示唆している可能性がある。

【非傍腫瘍性NHLEと抗NMDA型GluR抗体】

2007年度までの検討で、成人NHLEでは全長GluR ϵ 2を抗原とする血清抗GluR ϵ 2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GluR ϵ 2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GluR ϵ 2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GluR ϵ 2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、GluR ϵ 2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。

2008年度の研究で、抗GluR ϵ 2抗体のエピトープを検討したところ、GluR ϵ 2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、GluR ϵ 2分子の幅広い領域をエピトープとする抗GluR ϵ 2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GluR ϵ 2分子にも反応するというよりは、GluR ϵ 2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強いことが分かった。

幅広いドメインをエピトープとする抗GluR ϵ 2抗体が中枢神経系に侵入するが、GluR ϵ 2分子に作用できるのは細胞外ドメインをエピトープとする抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体などと思われる。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、予後と深く関係しており、NMDA型GluR複合体への作用の中核で、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体よりも作用が強いものと思われる。

2009年度の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とGluR ζ 1N/R-EGFPを用いた免疫染色法による検討では、患者血清の自己抗体はGluR ζ 1 (NR1)を認識するものを含むことがわかった。抗GluR ϵ 2 (NR2B)抗体のみならず、GluR ζ 1に対する自己抗体も検出されたことから、NMDA型GluRの複数のサブユニットに対する抗体が病態に関与している可能性が示唆された(図6)。これらの複数の抗体がNMDA型GluRを細胞内に取り込ませ、NMDA型GluR機能を抑制し、可逆性の神経症状をもたらしている可能性が大きい。

【卵巣奇形腫合併急性脳炎・脳症 (AE-OT) と抗NMDA型GluR抗体】

AE-OTの抗GluR ϵ 2-NT2・CT1抗体、抗GluR ζ 1-NT・CT抗体は対照に比べて有意に高値で、髄液抗NMDA型GluR複合体抗体 (Dalmau法)陽性の17例中16例が、抗GluR ϵ 2-NT2抗体抗体・抗GluR ζ 1-NT抗体ともに陽性であり、NR2B、NR1両者に対する抗体を含んでいた。抗GluR ϵ 2抗体、抗GluR ζ 1抗体ともN末、C末ほぼ均等に抗体ができており、非ヘルペス性辺縁系脳炎と同じく、感染源に対する抗体がGluRに交叉反応している抗体というより、卵巣奇形腫内の複数のNMDA型GluRサブユニット分子が抗原となり、NMDA型GluR各サブユニットのN末からC末まで幅広いドメインに対する抗体が産生されているものと推定した。AE-OTではGluR ϵ 2、GluR ζ 1の細胞外ドメインのみならず、複数のNMDA型GluRサブユニットや、他の神経分子をエピトープとする抗体が存在する可能性がある。血清は10倍希釈、髄液は無希釈でELISAを行っているが、ほぼおなじOD値となることから、血清の方が抗体価が高いものと思われた。以上より、NMDA型GluRのGluR ϵ 2 (NR2B)及びGluR ζ 1 (NR1)サブユニットに対する抗体は脳炎に伴

って末梢血中で産生され、一部が髄液に移行したものと推定した。

抗NMDA型GluR抗体が病態におけるどんな役割を果たしているのかについて、DalmauらはNMDA型GluR複合体の細胞表面から細胞内への内在化を提唱している。我々の研究班の森らも、2009年度報告で同様の報告している。今後さらなる検討が待たれる。

【各種抗NMDA型GluR抗体の感度】

NMDA型GluRに対する抗体の測定法には数種類が報告されている(図2)。AE-OTの急性期髄液での各抗体の検出感度は、全長GluR2分子を抗原とするIgG型-GluR2抗体(immunoblot法)は40%とかなり低いが、抗GluR2-NT2抗体

(ELISA)は81.3%、抗GluR ζ 1-NT抗体は71.4%、抗NMDA受容体複合体抗体(Dalmau法)は82.6%の症例で陽性で、ほぼ同等であった。抗NMDA型GluR複合体抗体(Dalmau法)は特殊な細胞を構築する必要があり、またその細胞のviabilityの問題もあり、どんな施設でも一晩で測定可能なELISA法が便利である。

【新たな脳炎関連自己抗原・抗体の検索】

二次元免疫プロットと質量分析の手法を用いNHLE患者の急性期髄液中より抗Pyridoxal kinase (PDXK)抗体と抗Lamin A (LMNA)抗体を検出した。

髄液中抗LMNA抗体は、45歳女性NHLE患者において急性期の髄液中で陽性となり、その慢性期の髄液では検出されなかったことから、同患者の病態と何らかの関連性がある可能性が示唆された。しかし疾患特異性は見出せなかった。抗LMNA抗体の特異性の確立には今後もさらに多数のNHLEを含む神経疾患患者の髄液を用いた検討が必要と考えられた。

一方、PDXKはビタミンB6からGlutamic acid decarboxylase (GAD)の活性に関与するPyridoxal 5'-phosphate (PLP)への変換を触媒することによりGABAの生成に関与することが知られている(Choi et al. 1999)。今回抗PDXK抗体が陽性となった3例のNHLE患者がいずれも痙攣重積を呈したことから、抗PDXK抗体がNHLEの病態、とりわけ痙攣重積と関与している可能性も推測された。

【非傍腫瘍性NHLEと血液脳関門】

2008年度の研究で、非傍腫瘍性NHLE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。

2009年度の検討では、血清MMP-9と髄液/血清アルブミン比は相関し、MMP-9が高値であると、BBBのアルブミン透過性が高まり、BBB破綻が強いことが明らかとなった。

血清中で産生され髄液中に移行するGluR2分子の各ドメインに対する抗体の髄液/血清の比(R-NT2, R-M3-4, R-CT1)を指標として、BBB破綻の推移を検討したところ、R-M3-4, R-CT1は脳炎発病4-5日後に最大となり、その後低下する経過を示し、BBB破綻が脳炎発病4-5日後にピークを迎え、その後回復していく経過が明らかとなった。また、R-NT2が大きいほどは記憶・運動スコアが低く、急性期入院日数が長くなる関連が見られ、BBB破綻の程度が予後規定していることが推定できた。脳炎発病から5日以内のBBB保護が、予後を改善できる可能性があり、MMP-9などのBBB障害因子に対する対策、あるいはMMMP-9産生メカニズムの解明に基づく新たな治療法の確立が望まれる。

【サイトカイン】

2005-2007年度研究では、傍感染性のNHLE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、炎症の原因はウィルスが主役ではないことが分かった。一方、HHV-6脳炎・脳症でも、HHV-6 DNAの検出頻度・量は少なく、髄液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。よってウィルス感染が契機となるNHLEであっても中枢神経系ではウィ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。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。

【非傍腫瘍性NHLEと血清neurofilament】

NHLE群の一部において急性期血清pNF-H値が上昇していたことは神経細胞脱落を示す症例の存在を示唆した。一方で急性期、回復期とも

血清pNF-H値の上昇を認めない症例が約6割あったことは、神経細胞の脱落を認めないNHALEも稀ではないことが示唆された。これらのことは、NHALEには神経細胞脱落を合併する重症例と、合併しない軽症例が存在することを示唆する。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。

【非傍腫瘍性NHALEとウイルス】

非傍腫瘍性NHALE61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ではウイルスの中樞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。

【NHALEの拡散強調画像の特徴】

辺縁系のDWI高信号病変はけいれん重積や再発性脳炎であっても見られ、DWI高信号病変のみでNHALEと診断するのは危険である。①著しい高信号で淡くない場合、②ADCの低下がない場合、③SPECTなどで血流増加がある場合には、慎重な判断が必要である。また、出現頻度は低く、NHALEの診断に必須条件ではないと思われ、今後さらに症例数を増やし検討したい。

【卵巣奇形腫に合併する急性脳炎・抗NMDA受容体複合体抗体陽性例の臨床的特徴】

2008年度の我々の卵巣奇形腫に合併する急性脳炎(AE-OT) 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ている。

2009年度、軽度認知機能障害のみを呈した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎を経験し、ICU管理、OPE以外目的の人工呼吸機管理、痙攣重積、JCSⅢレベルと推察される意識障害をきたしたと考えられる報告を重症例、それ以外を軽症例として報告例を検討したところ、軽症例は本症例を含め7例存在した。7例全例に見当識障害を含む記憶障害、精神症状を認めたが、痙攣、ジスキネジアなどの不随運動は半数以下であった。ステロイドパルス療法、腫瘍摘出術後、けいれん、ジスキネジアなどが出現せず、無動期、不随運動期に移行しなかった例が軽症例であると推察された。若年女性の精神障害、認知

機能障害に遭遇の場合、軽症であっても本疾患を一鑑別疾患として考え、精査するべきであろう。

奇形腫を伴う辺縁系脳炎においては、著明な精神症状が発現した時点では腫瘍の存在に気づかれないことが多い。腫瘍の早期摘出により神経症状の改善も得られうることから、NMDA型GluR抗体の早期診断は重要である。抗体診断が可能になって以来、国内外で本症と診断される症例が増加している。しかし、臨床の現場で、病初期にどのような例について積極的に抗体診断を施行するべきかの判断の材料として、抗NMDA受容体複合体抗体陽性・陰性例の臨床的特徴の情報が求められている。本研究では、陰性群では発症年齢が高く・女性優位の傾向は陽性群より低く、痙攣・呼吸障害・不随意運動・自律神経症状を呈する頻度が低いことが確認された。

【抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎(LE-VGKC)】

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・脳症の約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することが分かっている。

傍腫瘍群において、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。抗VGKC抗体以外の自己抗体の存在も含めて検討する必要がある。いずれにしても病初期に腫瘍を検出できない場合でも、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治療経過を呈する場合は、改めて、積極的に腫瘍の検索を行う必要があると考えられる。

LE-VGKCの剖検例では、海馬CA4で、マクロファージの増加、反応性アストロサイトの増加およびリンパ球浸潤が認められた。リンパ球のプロファイルはCD20陽性のB細胞が目立った(Neurology 2009)。今後、病理像についても両群間の異同を検討する必要がある。

抗VGKC抗体の作用は、従来、二価のIgGが二つのVGKCをcouplingし、degradationを生じることで、膜上のVGKCの総数を減じるることによってK⁺電流の抑制が起こると考えられていたが、

LGI-1やADAMといったチャンネルのclusteringに関わる蛋白に対する自己抗体の有無の検索が今後の課題である。

【抗NAE抗体陽性脳症の臨床免疫学的検討】

抗NAE抗体陽性脳症は、これまでの橋本脳症の報告と同様に、抗甲状腺抗体を有し、意識障害や脳波異常が高率で、頭部MRIの異常頻度が低いという特徴がみられた。抗NAE抗体陽性脳症は、これまでの橋本脳症とほぼ共通のスペクトラムを有すると考えられた。

【NHALEの予後】

2008年度の研究で、成人期発症の非傍腫瘍性NHALE 86例を対象として後遺症を検討すると、日常生活活動（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ことが分かっている。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、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った。

2009年度、NHALEの2例および卵巣奇形腫合併非ヘルペス性辺縁系脳炎（NHAE-OT）の3例で知能、記憶、ADLを中心に神経心理学的評価を詳しく実施したところ、前者は近時記憶障害、前向・逆行性健忘などの純粹健忘症候群、痙攣発作が残存する症例、健忘症候群に加え全般的知的機能の低下、注視性眼振、ミオクローヌス、

小脳症状、下肢麻痺などの廃用症候群を示す症例で、後者は記憶障害が目立たず、全般的知的機能の低下、脱抑制、幼児化、下肢麻痺などの廃用症候群を呈した症例であった。NHAE、NHAE-OTには記憶障害のみならず種々の廃用症候群を呈する症例があることが分かった。

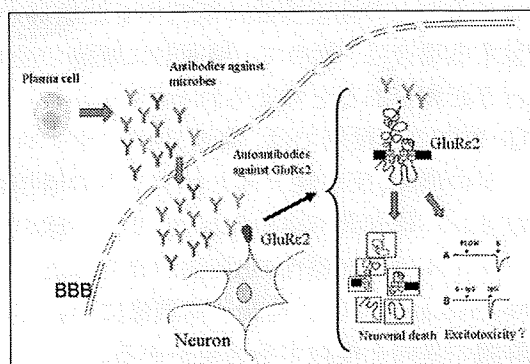
【卵巣奇形腫の免疫病理解析】

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NHAE（NHAE-OT）が注目されている。

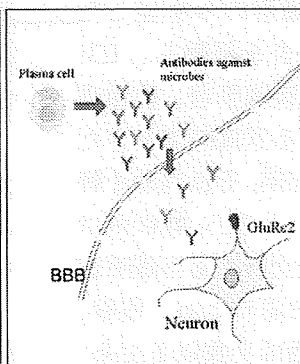
2008年度研究で、成熟卵巣奇形腫の中の脳組織内にはリンパ球の浸潤がみられ、脳組織がリンパ球のターゲットとなった免疫病態があることを、1例ではあるが示唆した。

2009年度、卵巣奇形腫の免疫組織学的検討を行ったところ、奇形腫へのリンパ球やマクロファージなど免疫担当細胞の浸潤を認めたが、脳炎症例、非脳炎症例の比較では明らかな差異は認めなかった。DalmauらのグループはBリンパ球の浸潤が脳炎症例で顕著である旨の報告を行っているが、我々の経験例では脳炎症例と非脳炎症例とでは明らかな差は認められず、NHAE-OTのNMDA型GluRに対する抗体ができるメカニズムを検討するため、今後の症例の蓄積が必要と考えられた。

Acute stage



Chronic stage



高橋幸利, 他. ラスマン脳炎と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎. 臨床神経学, 2008; 48:163-172

図6. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎のNMDA型GluRに対する自己抗体仮説

E. 結論

非傍腫瘍性MHALE症例は、かなりの頻度で抗GluR ϵ 2抗体、抗NMDA型GluR複合体抗体、抗VGKC抗体、抗NAE抗体などが陽性で、髄液でのリアルタイムPCR法による検索ではウイルスが同定される症例は極めてまれであることが判明した。病理学的にもNHALEの海馬病変は、マクロファージ/単球の増生に加えて海馬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。よって、非傍腫瘍性NHALEには自己免疫介在性脳症の病態を呈するものが多いと言える。

抗NMDA型GluRに対する抗体測定法として、より簡便で高感度のELISAによる抗GluR ϵ 2-NT2・CT1抗体、抗GluR ζ 1-NT・CT抗体を開発し、Dalmauの方法をさらに改良したNMDA型GluR複合体細胞表面抗原に対する抗体の測定も可能とした。これらの開発で迅速で高感度の抗体測定が可能となり、予後の改善につながることを期待したい。

非傍腫瘍性MHALE症例の抗GluR ϵ 2抗体は、GluR ϵ 2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、GluR ϵ 2分子の幅広い領域をエピトープとする抗GluR ϵ 2抗体が産生されていた。よって、感染ウイルスに対する抗体の交叉反応ではなく、ウイルス以外からのGluR抗原提示が存在するものと思われ、新たな治療・予防法への発展が期待される。

卵巣奇形腫を伴う急性脳炎(AE-OT)では、NMDA型GluR複合体の構成サブユニットであるGluR ϵ 2(NR2B)、GluR ζ 1(NR1)両者に対する幅広いエピトープの抗体が検出された。NHALEと同じく、感染源に対する抗体がGluRに交叉反応している抗体というより、卵巣奇形腫内の複数のNMDA型GluRサブユニット分子が抗原となり、血中で抗体が産生されているものと推定した。AE-OTではGluR ϵ 2・GluR ζ 1のみならず、他のGluRサブユニットやGluR以外の神経分子をエピトープとする抗体が存在する可能性があり、今後幅広く検討していきたい。

2009年度の研究でNHALEならびにAE-OT患

者血清中のNMDA型GluR自己抗体は37°CでNMDA型GluRをinternalization(細胞内取りこみ)させた。自己抗体によるinternalizationは、NMDARの機能低下を引き起こし、脳炎における意識障害や行動異常等の精神症状に関連しているかもしれない。DalmauらもNMDA型GluR複合体の細胞表面から細胞内への内在化を提唱している。また、4°Cでは細胞内取りこみが起こらないことから、抗体による細胞内取り込み作用が温度依存性に抑制されることが分かり、低体温療法の作用機序を示唆している可能性がある。今後さらなる検討が待たれる。

非傍腫瘍性NHALEでは、血清MMP-9高値より血液脳関門機能の低下が示唆され、血清MMP-9と髄液/血清アルブミン比は相関し、MMP-9が高値であるとBBB破綻が強いことが明らかとなった。GluR ϵ 2分子の各ドメインに対する抗体の髄液/血清の比からは、BBB破綻が脳炎発病4-5日後に最大となることが明らかとなった。脳炎発病から5日以内のBBB保護により予後を改善できる可能性があり、新たな治療法の確立が望まれる。

これまで経験的に行われ、NHALEに有効と考えられている免疫学的治療(ステロイドパルス治療など)が、早期であるほど有効である傾向が分かり、今後自己免疫病態が分子生物学的観点等から解明されることで、新たな治療法が見つかる可能性が出てきた。また血液浄化療法を含めた抗体除去治療の検討が必要と考えている。

これまでに分かった知見の一部は「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

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>) (参照3)に盛り込んだ。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 平成21年4月14日、「免疫介在性炎症性小脳疾患の診断マーカーとしての抗グルタミン酸受容体 $\delta 2$ 自己抗体迅速測定法」が職務発明に認定された、発明者：高橋幸利⇒特願2009-98435、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。
- 平成21年7月20日、「抗てんかん薬による

薬疹発症の診断マーカー及び薬疹発症の診断方法」発明者：高橋幸利、池田浩子、⇒特願2009-196090、特許出願人：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団、出願日：平成21年8月26日。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

< 参照 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）

2005-2007年度（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

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

脳炎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。

【疫学】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。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、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推測された。

【病理】非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症（NHALE）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、比較的海馬領域に局限した病変を示す例があることが分かった。

【抗GluR α 2抗体】成人NHALEでは、血清抗GluR α 2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GluR α 2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末端エピトープを含んでいた。抗GluR α 2抗体陽性NHALEの74.5%は15-34歳が占め、抗GluR α 2抗体は主として若年成人の脳炎に関与していた。抗GluR α 2抗体陽性NHALEの初発神経症状は、精神症状が主体で、抗GluR α 2抗体陰性NHALEに比べてけいれんが有意に少なかった。抗GluR α 2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。

【若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎（AJFNHE）】AJFNHEでは12例中8例で抗GluR α 2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。

【抗VGKC抗体】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。

【抗NAE抗体】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。

【サイトカイン】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。

【傍腫瘍性神経症候群（PNS）】免疫寛容に重要な働きをするCD4⁺CD25^{hi}制御性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。

【新たな脳炎関連自己抗原・抗体】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。

【診断スキームの作成】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。

【結語】急性脳炎・脳症の中には、かなりの頻度で抗GluR2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。

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：

- 森 寿、富山大学大学院医学系研究科分子神経科学、教授
- 湯浅 龍彦、国立精神神経センター国府台病院、神経内科、部長
- 森島 恒雄、岡山大学大学院医歯学総合研究科病態機構学 小児医科学、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
- 岡本 幸市、群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学、教授
- 梶 龍兒、徳島大学医学部付属病院高次脳神経診療部、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
- 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
- 田中 恵子、国立病院機構西新潟中央病院

統括診療部・神経部長

- 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
- 古川 漸、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、教授
- 細矢 光亮、福島県立医科大学医学部小児科、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
- 吉川 哲史、藤田保健衛生大学医学部小児科、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）
- 有村 公良、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学・老年病学 准教授

A. 研究目的

急性脳炎・脳症は、軽微な感染症から急性期に意識障害・けいれん重積など重篤な症状に発展し、回復後も多くの症例で認知機能などの後遺症を残すため、予防法・より有効な治療法の確立が求められている。その病態には、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）。

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 |

一般に“ウイルス性脳炎”の多くは感染後の免疫的機序による傍感染性脳症と推定されている。近年、抗GluRε2抗体などを有する傍感染性急性脳炎においてステロイド有効例が報告され、自己免疫が介在すると思われる脳炎の病態に関して、抗GluRε2抗体、抗GluRδ2抗体、抗VGKC抗体、抗Yo抗体、抗Hu抗体、抗NAE抗体などの自己抗体の関与が報告されているが、各抗体の病態に果たす意義等は不明な点が多い。多くの脳炎症例における自己免疫機転の解明はまだ緒についたばかりで、未解明な点が山積している。

我々は、グルタミン酸受容体 (GluR) ε2に対する自己抗体を代表とする各種神経自己抗体と、サイトカイン、ウイルス因子、宿主因子等について研究を進め、自己免疫介在脳炎の診断法の確立、免疫学的な観点からの新たな脳炎治療法の確立につなげることは、大きな意義があると考えている (図1)。①ウイルス直接侵襲に分類される単純ヘルペス脳炎等では抗ウイルス剤による治療法があるが、多くの脳炎は対症療法的に治療されているのが現状で、病態に応じた治療法の確立が望まれている。

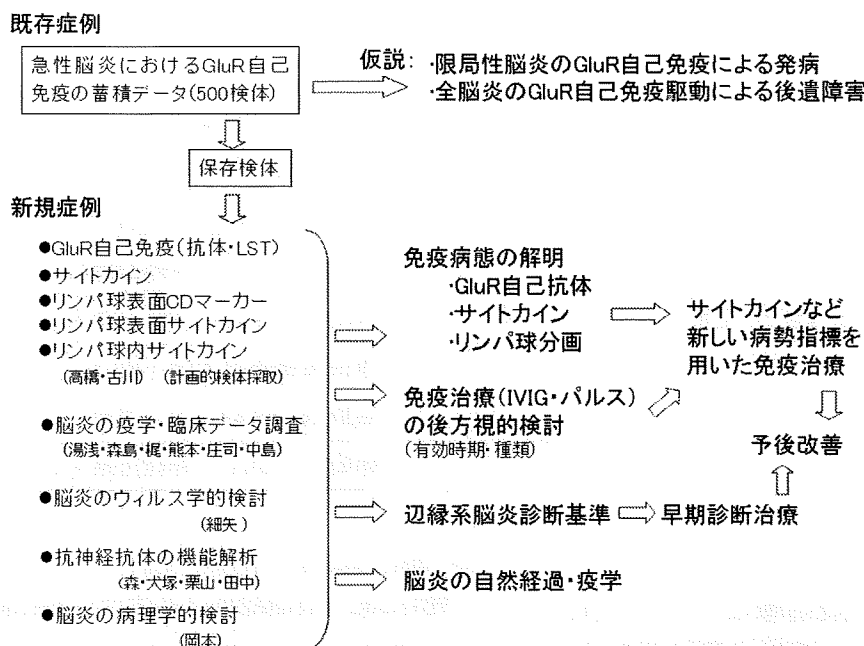


図1. 研究戦略

B. 研究方法

急性脳炎・脳症の疫学研究・自己免疫研究・画像研究等の目的を達成するためには、多数症例を集積し、臨床情報を統一した基準で整理し、血清髄液などの検体を研究リソースとして保存していく必要がある。そのために当研究班では急性辺縁系脳炎・脳症の多施設共同研究を立ち上げ、多施設共同研究のための症例登録基準(資料1)に合わせて幅広く症例を集積し、各種ウイルス検索、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(抗GluRε2抗体、抗GluRδ2抗体、抗VGKC抗体、抗Yo抗体、抗Hu抗体、抗Ri抗体、抗CV2(CRMP-5)抗体、

抗Ma-2抗体、抗amphiphysin抗体、抗NAE抗体など)の測定、サイトカイン(IL-4, IFNγ, TNFα等)・ケモカイン等の測定を行なう。

1. 急性辺縁系脳炎・脳症の多施設共同研究

分担研究者・研究協力者の施設を中心に前方視的に多数例の登録を行い、急性辺縁系脳炎・脳症症例を中心に臨床症状・自己抗体などを検討し、自己免疫病態の解明、辺縁系脳炎の診断基準・早期治療マニュアルを作成することを目標としている。(分担:班員・研究協力者全員)。

自己抗体等の測定は表2に示すような施設で分担して行う。

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、後方視的・前方視的疫学調査を行う。
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1）を送付し前方視的に調査を行う。（分担：中島）。

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（分担：森島）。

表2. 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自己抗体	静岡てんかん・神経医療センター
傍腫瘍症候群関連自己抗体 抗Yo抗体、抗Hu抗体、抗Ri抗体、抗Ma-2抗体、抗CRMP-5抗体、抗amphiphysin抗体、等	新潟大学脳研究所神経内科
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）	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 福島県立医科大学小児科
HLA	静岡てんかん・神経医療センター

3. 病理研究

発熱、意識障害、全身痙攣などがみられ、単純ヘルペス性脳炎が否定的な剖検例を検索する。また、老年病研究所附属病院での剖検例から虚血による海馬病変のみられた11例と海馬に病変のみられない対照5例も検討する（分担：岡本・栗山）。

4. 新しい抗神経抗体・自己抗原の検索

辺縁系脳炎患者の血清・ラット大脳を用い、二次元免疫ブロッティングを施行した後、抗体が認識する抗原蛋白を高感度ナノLC-MS/MSシステムを用いて分析する（分担：犬塚）。

ヒト脳由来cDNAを組み込んだT7ファージライブラリーを用いて、正常者血清抗体とは反応せず、脳炎患者血清抗体と特異的に反応するクローンの選択を行う（分担：森）。

5. 抗神経自己抗体の測定

① 抗GluRε2自己抗体の検討：

抗GluRε2・GluRδ2自己抗体はNIH3T3細胞中にてreverse tetracycline-controlled transactivator (rtTA)を用いた遺伝子発現系により合成したGluRε2・GluRδ2の全長蛋白を抗原として、自己抗体の有無を判定する（分担：高橋）。

抗GluRε2自己抗体のエピトープ解析は、GluRε2蛋白のN末の細胞外ドメイン（NT1）と、C末の細胞内ドメイン（CI-3）の3箇所をコードするDNAシークエンスを大腸菌発現ベクターpGEXまたはpMALに組み込み、IPTG誘導により蛋白を合成させ抗原とし、測定する（分担：高橋）。

② 抗Hu、抗Yo、抗Ri、抗Ma-2、抗CRMP-5、抗amphiphysin抗体の検討：

融合蛋白を抗原としたELISAで確定診断を行う（分担：田中）。

③ 抗VGKC抗体の検討：

抗VGKC抗体 の測定は、家兔脳 のホモジネートと¹²⁵I-alpha-dendrotoxinのmixtureに希釈した患者血清を加え、インキュベート後、ヒツジ抗ヒトIgG抗体を加え、免疫沈降をおこなって測定する(分担:有村)。

④ 抗NAE抗体の検討

α -enolase蛋白のN末端部位抗体の測定は、哺乳類細胞で作製・精製した α -enolase蛋白のN末端部位を用いて免疫ブロットを行い同定する(分担:栗山)。

6. サイトカイン・ケモカインの役割の検討

凍結保存髄液を用いてinterferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、interleukin-2 (IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10をcytometric bead arrayで、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1)をELISA法で測定した。IL-8、MIP-1 α 、RANTES等をELISAキットで測定する(分担:古川、亀井、中嶋秀、高橋)。

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

7. ウィルスに関する検討

中枢神経系へのウィルス直接侵襲の有無について、PCR法を用いて検討する(分担:細矢・吉川)。

8. 単純ヘルペスウィルス型特異抗体測定法の開発

単純ヘルペスウィルス型特異抗体(蛍光ELISA法)は、HSV-1、2型構造糖蛋白gG (ABI社)を抗原として用い、二次抗体はビオチン標識抗

ヒトIgM (SB社)、ビオチン標識抗ヒトIgG (CMN社)を用いて測定する。

9. BBB機能(血清MMP-9・TIMP-1)の検討

急性期の血清MMP-9およびTIMP-1値をELISA法(Amersham Biosciences社)で測定する(分担:古川、吉川)。

10. CD4⁺CD25^{high}制御性T細胞(Treg)の検討

免疫寛容に重要な働きをするCD4⁺CD25^{high}制御性T細胞(Treg)の検討は、ヘパリン加で10ml採血し、Ficoll比重遠心法で単核球を採取し、CD4(FITC)、CD25(APC)、CD62L(PE)蛍光抗体でラベルし、FACS Ariaセルソーターを用いてCD4⁺リンパ球分画からCD25^{high}CD62L^{high}分画を分取した。ソーティングした細胞からRNeasy Mini Kit(QIAGEN社)でRNAを抽出、QuantiTect Reverse Transcription Kit(QIAGEN社)で逆転写し、対照遺伝子をGAPDHとしてABI PRISM7900を用いQuantiTect Probe Kit(QIAGEN社)、QuantiTect SYBR Green Kit(QIAGEN社)により定量的RT-PCRを施行した(分担:田中)。

(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立ち上げとその後の経過

2005年7月末の交付基準額決定通知を受けて、2005年度は表3に示すように幹事会・キックオフミーティング等を行い、研究計画を策定し、2006年度の本格的な研究活動に向けて議論を行ってきた。

これらの会議の中で、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のために、①急性脳炎の自

然経過・疫学調査、②急性脳炎症例の免疫病態の解明、③免疫治療法（ステロイド治療・パルス治療・IVIG治療）の効果の検討、④自己免疫介在性脳炎の診断基準・早期治療マニュアルの作成という4つの大きな研究項目を策定し、研究方法を検討、分担について話し合いを行った。

2005年度班会議で、多施設共同研究を行うことに合意し、会議以外にもメール等で協議を重ね、多施設共同研究の診断登録基準(資料1)を

表3. 多施設共同研究の立ち上げ

会議名	日付	内容
研究班幹事会	2005年8月25日	研究の進め方を討議
研究班キックオフミーティング	2005年10月21日	研究の進め方を討議
2005年度班会議	2005年12月2日	多施設共同研究実施決定
2005年度症例登録準備会議	2006年3月11日	多施設共同研究実施要領の検討
倫理委員会 (主任研究者施設)	2006年7月31日	主任研究者施設での倫理委員会承認、多施設共同研究の開始、分担研究者施設での倫理委員会申請開始
2006年度多施設共同研究 打ち合わせ会議	2006年10月14日	多施設共同研究の進捗状況・問題点確認
2006年度班会議	2006年12月2日	多施設共同研究の進捗状況・問題点確認

作成した。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4か月間で42症例を登録できた。登録42症例の内、38症例が急性期検体で、急性脳炎は27症例であった。

2007年度は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症例を登録できた(表4)。今後これらの登録症例の、自己抗体等の検査を行い、臨床経過とともに検討し、急性辺縁系脳炎の中の自己免疫介在性のものについて、診断基準・早期治療マニュアルを作成する予定である(担当:湯浅・庄司・熊本・岡本・田中・犬塚・高橋)。

表4. 多施設共同研究の症例収集状況

急性脳炎・脳症	142
亜急性脳炎	14
傍腫瘍性辺縁系脳炎	12
再発性脳炎	9
膠原病	6
橋本脳症	5
ADEM	3
脊髄炎	2
インフルエンザ脳症	2

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

2007年度、自己免疫介在性急性辺縁系脳炎について、診断基準・早期治療マニュアルを作成するまでに至らなかったため、最終年度でも

あるので、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(資料2)。この診断スキームでは、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。このスキームは、ホームページ (<http://www.hosp.go.jp/~szec2/06/06-1-2.htm>) に掲載され、幅広く臨床家がアクセスできるようにした。急性脳炎・脳症で自己免疫機序を検討するための一助となれば幸いである。

3. 急性脳炎・脳症の疫学調査

鳥取県における2001年から2005年の5年間の発症年齢16歳以上の成人に発症した急性脳炎の疫学調査を行った。2001年から2005年の5年間に成人49例の急性脳炎の発症が報告され、16歳以上成人における急性脳炎罹患率は全体で19.0/100万人年であった。年齢・性を標準化し日本人口における発症を推測すると、急性脳炎は年間2114例と推計された。

急性脳炎の内訳は、単純ヘルペス性10例(20.4%)で、傍感染性12例(24.8%)、傍腫瘍性4例(8.2%)、膠原病性2例(4.1%)、ウイルス性(単純ヘルペス以外)1例(2.0%)で、その他・分類不能20例(40.8%)であった。傍感染性辺縁系脳炎は全体の24.8%で、罹患率は4.7/100万人年であった。日本では傍感染性辺縁系脳炎・脳症は年間549例の発症があるものと推定された(中島)。

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当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。平成19年1月から8月までの間に、傍感染性辺縁系脳炎・脳症1例、全身性膠原病合併脳炎・脳症2例(橋本病1例、SLE1例)の3例の辺縁系脳炎・脳症症例が登録された。辺縁系脳炎・脳症の罹患率を明らかにするためには、引き続き前向き調査を行う必要がある(中島)。

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)。

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。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(吉川)。

4. 急性脳炎後遺症の実態

急性脳炎後の慢性期の患者が多く外来・入院診療を受けている国立病院機構の病院で、199症例の調査を行った。急性脳炎・脳症発病から約17年経過した状況を調査し、ADLの後遺症評価ではBarthel scoreが平均14.5±8.1、てんかん発作の後遺症スコアでは、平均2.0±1.4(月単位のてんかん発作)で、精神症状の後遺症評価では、平均1.4±0.8と軽度の障害があり、知的障害の評価表スコアは、平均2.6±1.9と軽度から中等度の知的障害があり、記憶障害の評価表スコアは、平均1.1±0.8と軽い障害が存在した。運動障害の評価表スコアは、平均2.2±1.2と歩行はできるが何らかの障害があるレベルであった。知的障害・運動障害は発病年齢が若いほど障害が強く、てんかん発作・知的障害は徐々に慢性期に悪化する経過を示した(高橋)。

5. 辺縁系脳炎の新たな枠組みの提案

従来はウイルスによる一次性脳炎の考え方が主流であった辺縁系脳炎に、様々な自己抗体が関与するということが認識されるようになった。辺縁系脳炎の原因を(A)ウイルス、(B)自己抗体の係る病態、(C)所属不明に分類し、(B)をさらに①傍腫瘍性辺縁系脳炎(paraneoplastic limbic encephalitis: PNLE)、②自己免疫疾患に関連する辺縁系脳炎(limbic encephalitis with autoimmune disease: LEAD)、③自己抗体介在性急性可逆性辺縁系脳炎(autoantibody-mediated acute reversible limbic encephalitis: AMEDARLE)に分類する(湯浅)。

6. 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における抗GluRe2抗体の役割

我々は15歳以上の成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(non-herpetic acute limbic encephalitis, NHALE) 91症例について、急性期・回復期・慢性期に分けて抗GluRe2抗体を検討した。血清中の抗GluRe2抗体は急性期から慢性期までほぼ同じ約60%の症例で陽性で、IgM型は急性期から回復期は47%の症例で陽性、回復期に36%と陽性率は低下した(図2)。髄液中の抗GluRe2抗体は急性期51.8%から慢性期28.6%と、徐々に陽性率が低下することが分かり、陽性症

例ではIgG抗体が7.3±5.2病日、IgM抗体が4.9±5.0病日で陽性となっていた(図2)。

7. 抗GluRe2自己抗体のエピトープの検討

GluRe2全長蛋白を用いたスクリーニングでIgG型またはIgM型自己抗体陽性を示した広汎型急性脳炎型(12例)・限局型急性脳炎型(5例)の保存血清・髄液を用い抗GluRe2抗体のエピトープ解析を行った。急性期の検体では、限局性脳炎型を呈した髄液中の抗GluRe2抗体陽性のNHALEの4例中4例でN末エピトープ(NT1)を含んでいたが、広汎性脳炎型の7例では見られなかった。回復期から慢性期の検体では、NHALEの1例中1例でN末エピトープが認められ、広汎性脳炎型では10例中2例で陽性であった。

脳炎発病時に少し先行する形で血液中にできた抗GluRe2抗体が血液脳関門の破綻などにより中枢神経系に至り、N末エピトープが主にGluRe2分子の細胞外ドメインであるN末に作用し、何ら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抗GluRe2抗体が消失する病態仮説を考えている(図3)(高橋)。

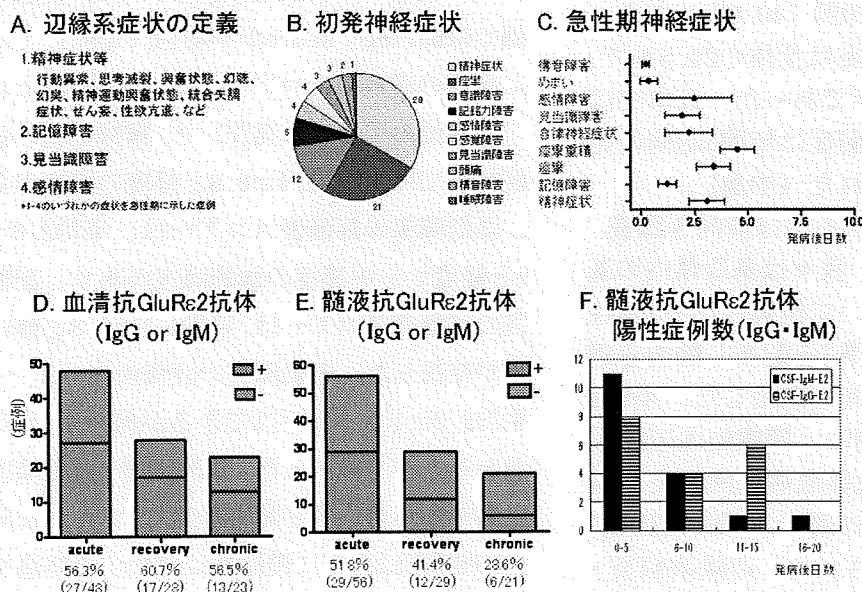


図2. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の特徴

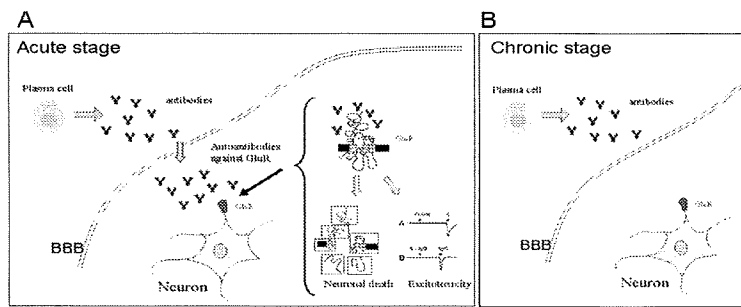


図3. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の病態仮説

8. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の臨床症状と抗GluR2抗体の関連の検討

成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (non-herpetic acute limbic encephalitis, NHALE) における抗GluR2抗体の役割を検討する目的で、抗GluR2抗体陽性NHALE (陽性群53例) と抗GluR2抗体陰性NHALE (陰性群16例) の臨床症状・検査所見・予後を比較した。

発病年齢は陽性群が陰性群より若年でMann-Whitney's U test, $p=0.01$)、陽性群の74.5%は15-34歳であった。陽性群の初発神経症状は精神症状 (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 (Mann-Whitney's U test, $p=0.007$)。髄液細胞数は陽性群で高値であったが (Mann-Whitney's U test, $p=0.02$)、髄液蛋白・IgGには差がなく、拡散強調画像MRIでの陽性所見は陰性群でやや高率であった。予後については両群とも記憶の面での障害が強かった (高橋)。

9. 急性脳炎・脳症後の後遺症病態と慢性期GluR2抗体

我々は、小児・成人の急性脳炎・脳症後の91症例で、慢性期の予後 (ADL、てんかん発作、精神症状、知的障害、記憶障害、運動障害) と発病年齢、抗GluR2抗体 (GluR, glutamate r

eceptor) 等との関係を検討した。

ADL障害・精神障害・知的障害・運動障害は年齢依存性の傾向を認め、小児例では発病年齢が低いほど重度であった。一方、てんかん発作頻度・記憶障害の程度は発病年齢とは関連がなく、抗GluR2抗体陽性例で有意に重度であった。血清抗GluR2抗体は低年齢発病症例で陽性率が高く、病因とは関連が乏しかった。急性期ステロイドパルス治療症例で慢性期血清抗GluR2抗体の陽性率が低い傾向が見られ、てんかん発作頻度は有意に軽症であった (高橋)。

10. 抗GluR2抗体の作用機序

IgM型抗GluR2抗体陽性の患者血清を一次抗体とし、ラット脳を用いて施行した免疫組織化学的分析では、海馬および大脳皮質の神経細胞体および樹状突起近位部が染色性を示した (犬塚)。

NMO症例に現れた抗Aqp4抗体陽性と、抗GluR2自己抗体の併存例における緩やかな臨床経過が示唆する所は、抗GluR2自己抗体が組織障害にのみ作用するばかりでなく、ある状況では、つまり、細胞表面の受容体を挟んで競合的に作用する時には障害緩和に作用する可能性があるかも知れないということなのかもしれない。このように本抗体の真の意義については今後更なる検討を要すものである。(湯浅)。

11. 奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎の臨床的検討

自験例を含むこれまで報告された奇形腫に伴った傍腫瘍性辺縁系脳炎31例について臨床的検討を行った。本症は、若年女性に好発し、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比較的類似の症状を呈し、血液や髄液のEFA6A, NMDAR, またはGluRの各抗体が陽性で、免疫療法や腫瘍摘出が極めて有効であることが示された(熊本)。

12. 若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎の病態の検討

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)と診断した14症例における抗GluR抗体の検出と卵巣腫瘍の有無を検討した。12例中8例で抗GluR α 2抗体は陽性で、11例中7例で抗GluR δ 2抗体は陽性だった。14例中4例で、卵巣腫瘍との関連を確認することができ、脳炎の発症から卵巣腫瘍の診断までの期間は、脳炎発症1年前から発症後10年6ヵ月の間に分布した。脳炎発症1年前に卵巣腫瘍が発見された例では、腫瘍核出術が行われていた。4例中1例で組織型が確認され、成熟奇形腫だった。これらの4症例における髄液の抗GluR α 2抗体は4例中3例で陽性で、 δ 2抗体は4例中2例で陽性だった。これまでにAJFNHEと診断された症例の一部が、Dalmauらの報告した卵巣奇形腫に合併する抗NMDA型GluR複合体抗体関連脳炎に含まれる可能性があると考えられた(亀井)。

13. 単純ヘルペス脳炎と抗GluR抗体

庄司らの単純ヘルペス脳炎(HSVE)における抗GluR α 2・GluR δ 2抗体いずれかの出現頻度は9/11例{血清(6/9)・髄液(2/7)}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(庄司)。

亀井らのHSVEでの抗GluR抗体の検出頻度は7/10例であった(亀井)。

14. 非ヘルペス性辺縁系脳炎における抗VGK

C抗体に関する研究

NHLE60例中、12例で抗VGKC抗体400pMを超える強陽性を呈した。強陽性群は、壮年期発症で、亜急性の経過を呈していた。低ナトリウム血症については、7例で認められたが、S IADHと判断された。約1/3の例で胸腺腫を合併していた。症状および抗体価は、ステロイド療法によく反応した。また、特筆すべき点として2例で再発・再燃が認められた。VGKC Ab+ NHLEは、免疫療法に反応し、比較的予後は良いものの、一過性の疾患ではなく、長期のフォローアップが必要であることが明らかになった(有村)。

15. 辺縁系脳炎と橋本脳症・抗NAE抗体

二次元免疫プロットとプロテオミクス法を用いて、6例の橋本脳症患者血清中に存在する抗神経抗体が α -enolaseを標的抗原とすることを明らかにした。さらに哺乳類細胞で発現・精製した組み換え α -enolase蛋白を用いた免疫プロットを行い、 α -enolase蛋白のN末端部位に対してのみ、橋本脳症患者血清が疾患特異性に反応(5/6, 84%)することが示唆された。

橋本脳症では急性脳症型が73%(辺縁系脳炎型が9%)を占め、急性脳炎・脳症の鑑別疾患として重要であった。(栗山)。

16. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における髄液サイトカイン解析

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)12例と疾患コントロール群として単純ヘルペス脳炎(HSE)13例の髄液を用いた。NHALE群のIL-6、IL-10およびHSE群のIL-6、IL-10、IFN- γ 、sTNFR1値は、非感染性非炎症性神経疾患(コントロール群)に比して有意に高値だった。NHALE群とHSE群の比較では、IFN- γ 、sTNFR1値が後者で有意に高値だった(IFN- γ : p = 0.014; sTNFR1: p = 0.011)。IL-6、IL-10値は両群間で有意差を認めなかった。TNF- α 、IL-2、IL-4値は両群とも有意な上昇を認めなかった。よって、両者とも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の有意な上昇を認め、中枢神経系内での炎症の存在を示唆した。NHALEでIFN- γ が上昇しないこと