

- 2010年4月23日～25日、盛岡。
4. 向田壮一、高橋幸利、池田浩子、重松秀雄、大谷英之、カルバマゼピンにより Stevens-Johnson 症候群を発症した HLA-B*1502 をもつ在日中国人の1例、第113回日本小児科学会学術集会、2010年4月23日～25日、盛岡。
 5. 道下崇史、重光幸恵、桃木恵美子、西口康介、玉木久光、大森多恵、三澤正弘、伊藤昌弘、大塚正弘、高橋幸利、卵巣奇形腫による傍腫瘍性辺縁系脳炎の1女児例、第113回日本小児科学会学術集会、2010年4月23日～25日、盛岡。
 6. 小出泰道、高橋幸利、矢野文郎、池田 仁、臼井桂子、山崎悦子、寺田清人、小尾智一、溝口功一、井上有史、森川建基、ガバペンチン(GBP)、トピラマート(TPM)の有効性と安全性についての調査研究、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 7. 亀井聡、森田昭彦、平良直人、石原正樹、南 正之、水谷智彦、高橋幸利、単純ヘルペス脳炎における抗グルタメート受容体(GluR)抗体の検出と転帰との関連、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 8. 長坂江理、田代裕一、水野裕司、山崎恒夫、成田耕介、鈴木雄介、高橋幸利、岡本幸市、脳血流変化を検討した自己免疫関連脳炎の7症例、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 9. 岡崎敏郎、荒川竜樹、木村成志、高橋幸利、熊本俊秀、急性脳炎・脳症に伴う画像変化の臨床病理学的検討、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 10. 大石知瑞子、長田純理、内堀 歩、宮崎 泰、川嶋聡子、岡田陽子、高橋幸利、千葉厚郎、髄液グルタミン酸受容体抗体陽性脳炎の4症例、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 11. 田代裕一、峰岸 敬、高橋幸利、岡本幸市、抗グルタミン酸受容体抗体関連脳炎症例における卵巣奇形腫の免疫組織学的検討、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 12. 山崎悦子、高橋幸利、寺田清人、溝口功一、井上有史、脳症後てんかんの治療—急性期と慢性期—、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 13. 樋口雄二郎、西平 靖、遠藤一博、諏訪園秀吾、楠 進、高橋幸利、末原雅人、Bickerstaff 型脳幹脳炎4例における抗グルタミン酸受容体抗体の検討、第51回日本神経学会総会、2010年5月20-22日、東京。
 14. 坂内優子、小国弘量、大澤真木子、廣瀬伸一、兼子直、高山留美子、高橋幸利、藤原建樹、山川和弘、Dravet 症候群死亡例の全国調査、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 15. 池上真理子、高橋 幸利、向田壮一、高山留美子、池田浩子、今井克美、大谷英之、久保田裕子、重松秀夫、井上有史、West 症候群における ACTH 療法反復施行の検討、第2報：発病年齢時期、治療開始時期、ACTH 投与年齢時期と有効性、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 16. 高山留美子、高橋幸利、最上友紀子、池上真理子、向田壮一、池田浩子、今井克美、重松秀夫、井上有史、鈴木保宏、眼周囲の知覚刺激によると思われる自己誘発発作の見られた2症例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 17. 高橋幸利、Meilia M. Suriadi、久保田裕子、美根潤、山崎悦子、高山留美子、池上真理子、向田壮一、最上友紀子、井上有史、脳炎後難治性てんかんの血液脳関門透過性亢進と免疫病態の解明、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 18. 根岸豊、濱口貴代、小林悟、安藤直樹、伊藤哲哉、戸莉創、高橋幸利、抗 NMDA 受容体抗体陽性急性辺縁系脳炎の13歳女児例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 19. 泉 鉦吉、高橋幸利、緑膿菌感染症に罹患後、てんかん発作が消失した AERRPS (Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures) の1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 20. 高野志保、高橋 幸利、森 寿、NMDA 型グルタミン酸受容体サブユニットに対する新たな自己抗体スクリーニング系の確立と患者血清を用いた検討、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 21. 向田壮一、今井克美、下島圭子、山本俊至、池上真理子、池田浩子、高山留美子、最上友紀子、高橋幸利、点頭てんかんを発症した Williams 症候群の2症例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 22. 小野浩明、高橋幸利、インフルエンザ感染を契機に非ヘルペス性辺縁系脳炎を発症した1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 23. 小泉ひろみ、高橋幸利、地震後急性発症し、精神病性障害と考えられた抗 NMDA 受容体抗体陽性脳症の12歳女児例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 24. 岩井明日香、三浦良介、寺澤厚志、松波邦洋、伊藤玲子、高橋幸利、木全かおり、折居恒治、今村淳、MRSpectroscopy (MRS) で解析した症候性 West 症候群の2症例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 25. 樋口司、西村貴史、石田岳史、福山哲弘、稲葉雄二、高橋幸利、言語機能が徐々に回復した亜急性脳症の1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 26. 島袋陽子、大府正治、崎原徹裕、高橋幸利、卵巣奇形腫を伴った抗グルタミン酸受容体 (GluR) 抗体陽性辺縁系脳炎の1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 27. 崎原徹裕、大府正治、島袋陽子、高橋幸利、ステロイドパルス療法が有効であった抗グルタミン酸受容体 (GluR) 抗体陽性脳炎の1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 28. 中村康子、松本浩、高橋幸利、難治性痙攣、意識障害を呈し、非ヘルペス性辺縁系脳炎と診断した1例、第52回日本小児神経学会総会、2010年5月20日-22日、福岡。
 29. 福田美穂、高橋幸利、山本寿子、橋本修二、宮本雄策、新井奈津子、神山紀子、村上浩史、山本仁、強い精神症状を認めた非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例、第46回神奈川小児神経懇話会。
 30. 白井晴己、有馬ふじ代、後藤美和、山本恭平、平塚恵、岡田隆文、松原啓太、奥石薫、込山修、高橋幸利、インフルエンザ罹患後に辺縁系脳症が疑われた1例、日本小児科学会東京都地方会、2010年6月12日、東京。

31. 最上友紀子、高橋幸利、那須裕郷、須佐史信、木村暢佑、木村記子、臼井大介、伊藤智城、福山哲広、高山留美子、池田浩子、今井克美、重松秀夫、先天性中枢性肺胞低換気症候群にてんかんを合併した女兒例、第53回静岡小児神経研究会、2010年6月19日、浜松。
32. 松山裕文、下竹昭寛、松本理器、池田昭夫、高橋良輔、松橋眞生、福山秀直、田中恵子、高橋幸利、抗NMDA受容体抗体陽性で病変以外に多焦点を獲得した難治部分てんかんの一症例、日本神経学会近畿地方会、2010年7月4日。
33. 大谷早苗、今井克美、高橋宏佳*、高山留美子、最上友紀子、大谷英之、池田浩子、重松秀夫、美根潤、高橋幸利、下島圭子、山本俊至、井上有史、CDKL5遺伝子異常を有する乳児早期発症てんかんの検討、第3回日本てんかん学会東海・北陸地方会、2010年7月10日、名古屋。
34. 市山高志、庄司鉦史、高橋幸利、パネルディスカッション、「ヘルペス脳炎と非ヘルペス脳炎の最近のトピックス」非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液サイトカイン解析単純ヘルペス脳炎との比較検討、第17回ヘルペス感染症フォーラム、2010年8月20-21日、札幌。
35. 杉山永見子、鹿庭なほ子、頭金正博、黒瀬光一、長谷川隆一、松永佳世子、高橋幸利、古谷博和、村松正明、外園千恵、木下茂、相原道子、池澤善郎、斎藤嘉朗、(1国立衛研, 2SJS/TEN遺伝子多型研究班)、日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症と相関するHLAタイプの探索(第三報)、免疫毒性学会、2010年9月、筑波。
36. 後藤昌英、穂坂翔、佐藤未織、加藤啓輔、塩野淳子、泉維昌、小池和俊、土田昌宏、高橋幸利、難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERPPS)に血球貪食性リンパ組織球症(HLH)を合併した1例、関東小児神経研究会、2010年9月12日。
37. 曾我一将、尾崎心、入岡隆、高橋幸利、水澤英洋、卵巣奇形腫を合併した抗GluR抗体陽性脳幹脳炎の36歳女性例、第194回日本神経学会関東地方会、2010年9月。
38. 古澤嘉彦、小川雅文、村田美穂、高橋幸利、急性小脳炎発症後、4年の経過で小脳性運動失調が緩徐に進行したGluR抗体陽性の40歳男性例、第194回日本神経学会関東地方会、2010年9月。
39. 高木謙太郎、水谷真之、向井信弘、松村謙、大久保卓哉、渡邊睦房、高橋幸利*、鎌田智幸、Ramsay hunt症候群に辺縁系脳炎を合併した87歳女性の1例、第194回日本神経学会関東地方会、2010年9月。
40. 南木康作、荻野悠、川島弘彦、村山真治、宮内安澄、岩田祐輔、小松素明、小出隆司、有馬宏和、中川博之、高橋幸利、田中恵子、血清抗GluR δ 2抗体、髄液抗NMDAR抗体陽性であった非ヘルペス性辺縁系脳炎の一例、内科学会関東地方会、2010年10月2日。
41. 岸谷融、村松倫子、横山広美、三浦豊章、小林康孝、米田誠、高橋幸利、ステロイドが著効した非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例、第128回日本神経学会東海北陸地方会、2010年10月?。
42. 立花直子、石井恵子、高橋幸利、田中恵子、有馬邦正、池田修一、若年女性の卵巣におけるNMDAR関連抗原の発現に関する免疫組織化学検討、第15回日本神経感染症学会、2010年10月8-9日、福島。
43. 池田浩子、高橋幸利、今井克美、伊藤智城、臼井大介、木村暢佑、木村紀子、近藤聡彦、須佐史信、高山留美子、那須裕郷、福山哲広、最上友紀子、井上有史、Turner症候群に合併するてんかん、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
44. 最上友紀子、高橋幸利、那須裕郷、須佐史信、臼井大介、木村暢佑、木村記子、伊藤智城、福山哲広、高山留美子、池田浩子、今井克美、重松秀夫、井上有史、脳炎・脳症後てんかんと抗てんかん薬の副作用、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
45. 大谷早苗、今井克美、高橋宏佳、高山留美子、最上友紀子、大谷英之、池田浩子、重松秀夫、美根潤、高橋幸利、下島圭子、山本俊至、井上有史、CDKL5遺伝子異常を有する乳児早期発症てんかんの検討、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
46. 池上真理子、高橋幸利、向田壮一、高山留美子、最上友紀子、池田浩子、今井克美、大谷英之、久保田裕子、重松秀夫、井上有史、難治再発West症候群におけるACTH療法反復施行の検討、第3報:投与時脳波所見と有効性、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
47. 操徳智、大谷英之、萩原郁夫、大谷早苗、高橋幸利、山川和弘、井上有史、乳児重症ミオクローニーてんかんのマウスモデルにおけるステリVENTールの効果、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
48. 中島絵梨花、田中 学、松浦隆樹、菅谷ことこ、菊池健二郎、南谷幹之、高橋幸利、浜野晋一郎、水痘脳炎後に難治性てんかんを示した1例、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
49. 宮田理英、田沼直之、林 雅晴、高橋幸利、水痘罹患を契機に発症した自己免疫性の脳症が疑われたWest症候群後難治てんかんの8歳男児例、第44回日本てんかん学会、2010年10月14-15日、岡山。
50. 赤坂真奈美、亀井 淳、曾我菜海、高橋幸利、千田勝一、抗グルタミン酸受容体抗体(抗GluR ϵ 2抗体)陽性の自己免疫介在性脳炎に残存するてんかん治療について、第16回小児神経学会東北地方会、2010年10月。
51. 細田直子、坪内めぐみ、横山勝利、太田典子、松村博史、長田泉美、岡田晋一、渡辺保裕、前垣義弘、高橋幸利、中込和幸、慢性腎炎を合併し、ステロイドパルス療法により症状の改善を認めた自己免疫性脳炎の一症例、中国地区GHP研究会、2010年10月?。
52. 細田直子、坪内めぐみ、横山勝利、太田典子、松村博史、長田泉美、岡田晋一、渡辺保裕、前垣義弘、高橋幸利、中込和幸、慢性腎炎を合併し、ステロイドパルス療法により症状の改善を認めた自己免疫性脳炎の一症例、精神科診断学会、2010年10月?。
53. 細田直子、坪内めぐみ、横山勝利、太田典子、松村博史、長田泉美、岡田晋一、渡辺保裕、前垣義弘、高橋幸利、中込和幸、慢性腎炎を合併し、ステロイドパルス療法により症状の改善を認めた自己免疫性脳炎の一症例、中国精神神経学会・保健学会、2010年10月?。
54. 小俣卓、高梨潤一、高橋幸利、新井ひでえ、田邊雄三、本島敏乃、脳炎後に重度の後遺症を残し2年以上経過した後、著名な回復をみせている女兒例、千葉県小児神経懇話会、2010年11月。
55. 久保田裕子、森川建基、高橋幸利、発作間欠時脳波の変化に伴い、発作型が変化したWest症候群の1例、第61

- 回名古屋臨床脳波検討会、2010年11月6日、名古屋。
56. 有馬宏和、村山真治、宮内安澄、西村 修、藤本喜展、笠井健児、中川博之、持丸文雄、南木康作、小出隆司、高橋幸利、田中恵子、血清抗 GluR σ 2 抗体、髄液抗 NMDAR 抗体陽性であった非ヘルペス性辺縁脳炎の一例、第 392 回日本産科婦人科学会神奈川地方部会、2010年11月14日、平塚。
 57. 飯田ちひろ、平野恵子、奥村良法、渡邊誠司、愛波秀男、高橋幸利、精神症状で発症し診断に苦慮した非ヘルペス性辺縁系脳炎の一例、第 54 回静岡小児神経研究会、2010年11月20日、静岡。
 58. 須佐史信、高橋幸利、藤原由美、村上智彦、最上友紀子、高山留美子、大谷早苗、池田浩子、久保田裕子、重松秀夫、小児期発病モヤモヤ病におけるてんかんの臨床的検討、第 54 回静岡小児神経研究会、2010年11月20日、静岡。
 59. 山本吉章、幾見泰洋、三島信行、西村成子、高橋幸利、小児てんかん患者を対象としたクロバザムの固体内変動に関する検討、第 64 回国立病院総合医学会学術集会、2010年11月26-27日、福岡。
 60. 橋口俊太、室橋洋子、遠藤雅直、上木英人、高橋竜哉、黒岩義之、高橋幸利、高齢男性にみられ悪性腫瘍の合併がない辺縁系脳炎の 67 歳男性例、第 195 回日本神経学会関東地方会、2010年11月27日。
 61. 金塚陽一、山本正博、梁成勲、今関良子、高橋幸利、非痙攣性てんかん重積状態を呈した抗 GluR ϵ 2 抗体陽性の 78 歳女性例、第 195 回日本神経学会関東・甲信越地方会、2010年11月27日。
 62. 甲斐太、荒田仁、林茂昭、長堂竜維、高橋幸利、丸山芳一、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性であった可逆性脳梁膨大部病変を伴った脳炎の 2 例、第 192 回日本神経学会九州地方会、2010年11月27日。
 63. 鹿庭なほ子、頭金正博、黒瀬光一、長谷川隆一、高橋幸利、古谷博和、松永佳世子、村松正明、木下茂、相原道子、池澤善郎、斎藤嘉朗、カルバマゼピン関連スティープンス・ジョンソン症候群/中毒性表皮壊死症の日本人における遺伝的危険因子、日本臨床薬理学会、2010年12月1-3日、京都。
 64. 大川真理、森田ゆかり、大崎康史、清水祐司、村田和子、高橋幸利、土居義典、進行性脳萎縮、失語、片麻痺の経過中に筋萎縮を認め、ラスムッセン脳炎慢性期と考えられた 1 例、第 89 回日本神経学会中国・四国地方会、平成 22 年 12 月 4 日、島根県出雲。
 65. 白久義久 白井謙太郎 金子節子 菅原祐之 荒木聡 林雅晴 高橋幸利、激しい不随意運動と情動興奮を来し、髄液中の抗 GluR ϵ 2、 δ 2 抗体が陽性であった非ヘルペス性急性辺縁系脳炎様経過を示した 12 歳女児例、蔵王セミナー、2011年2月11-12日、山形。
 66. 青山幸平、宮地悠江、佐藤有沙、徳永博秀、後藤志歩、森田誠、渡邊一功、長谷川真司、高橋幸利、5 年後に再発を認めた抗 NMDA 受容体脳炎の 11 歳男児例、日本小児科学会東海地方会、2011年2月。
 67. 高橋幸利、西村成子、角替央野、美根潤、久保田裕子、今井克美、松田一己、今村淳、藤原建樹、井上有史、Rasmussen 症候群とその類縁疾患の自己反応性細胞障害性 T 細胞・Th1 細胞の持続性活性化の病態解明から治療開発に向けた研究、てんかん治療研究振興財団第 22 回研究報告会、2011年3月4日、千里。
 68. 金澤恭子、松本 理器、高橋 幸利、池田 昭夫、高橋良輔、抗 VGKC 抗体関連辺縁系脳炎が示唆された患者群の臨床像の検討、第 52 回京滋てんかん懇話会、2011年3月12日、京都。
 69. 油川陽子、高橋幸利、高齢男性に発症した抗 GluR ϵ 2 抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の一例、日本神経学会北海道地方会、2011年3月6日。
 70. 福田明子、高木 努、木下郁夫、上田康雄、高橋幸利、免疫療法介入前に速やかに改善した抗グルタミン酸受容体抗体陽性脳炎の 1 例、第 193 回日本神経学会九州地方会。
 71. 三木康生、高橋幸利、抗 Hu 抗体、抗 GluR ϵ 2 抗体がともに陽性であった辺縁系脳炎の 1 例、第 88 回日本神経学会東北地方会。
 72. Yuko Ikezawa, Michiko Aihara, Setsuko Matukura, Takeshi Kanbara, Yukitoshi Takahashi, Hiroko Ikeda, Zenro Ikezawa, The efficacy of plasmapheresis in treatment of SCARs such as SJS/TEN and the probable action mechanism. the First Eastern Asia Dermatology Congress (EADC2010), September 30-October. 3, Fukuoka, Japan.
 73. Imai-K, Takenami-C, Takayama-R, Mogami-Y, Ikeda-H, Takahashi-Y, Inoue-Y, Anti-epileptic drug level changes by the ketogenic diet. INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE DIETARY TREATMENTS FOR EPILEPSY AND OTHER NEUROLOGICAL DISORDERS, Oct, 5-8, 2010, Edinburgh, Scotland, UK.
 74. Ihara Y, Tomonou Y, Fujita T, Ideguchi H, Inoue T, Yasumoto S, Takahashi Y, Hirose S, Steroid Pulse Therapy for a case of Frontal Lobe Epilepsy with antibodies to glutamate receptor (GluR), 8th Asian & Oceanian Epilepsy Congress, Oct, 21-24, 2010, Melbourne, Australia.
 75. Miho Fukuda, Hitoshi Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, A case of Non-herpetic Acute Limbic Encephalitis with severe psychiatric symptoms. American Epilepsy Society's Annual Meeting 2010, December 3-7, 2010, San Antonio, Texas, USA.
 76. Rumiko Takayama, Yukitoshi Takahashi, Self-induced seizures probably by peri-orbital somatosensory stimulation: a report of two cases, American Epilepsy Society's Annual Meeting 2010, December 3-7, 2010, San Antonio, Texas, USA.
 77. Yumi Horigome, Hideyuki Ohtani, Yushi Inoue, Satoshi Sakai, Ikuo Ogiwara, Kazuhiro Yamakawa and Yukitoshi Takahashi, Ictal death in Dravet syndrome model mice. American Epilepsy Society's Annual Meeting 2010, December 3-7, 2010, San Antonio, Texas, USA.
 78. Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hitoshi Ikeda, Takahashi Yukitoshi, Yushi Inoue, Lamotrigine is favorable for startle-induced seizures, American Epilepsy Society's Annual Meeting 2010, December 3-7, 2010, San Antonio, Texas, USA.
 79. Imai K, Otani S, Ikeda H, Takayama R, Takahashi H, Mine J, Mogami Y, Shigematsu H, Takahashi Y, Shimojima K, Yamamoto T, Inoue Y. Peculiar seizures

in the infantile epilepsy with CDKL-5
(cyclin-dependent kinase-like 5) mutation/deletion.
American Epilepsy Society's Annual Meeting 2010,
December 3-7, 2010, San Antonio, Texas, USA.

3. 書籍の刊行

1. 高橋幸利、監修：藤原建樹、編集：高橋幸利、小児てんかん診療マニュアル、診断と治療社。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

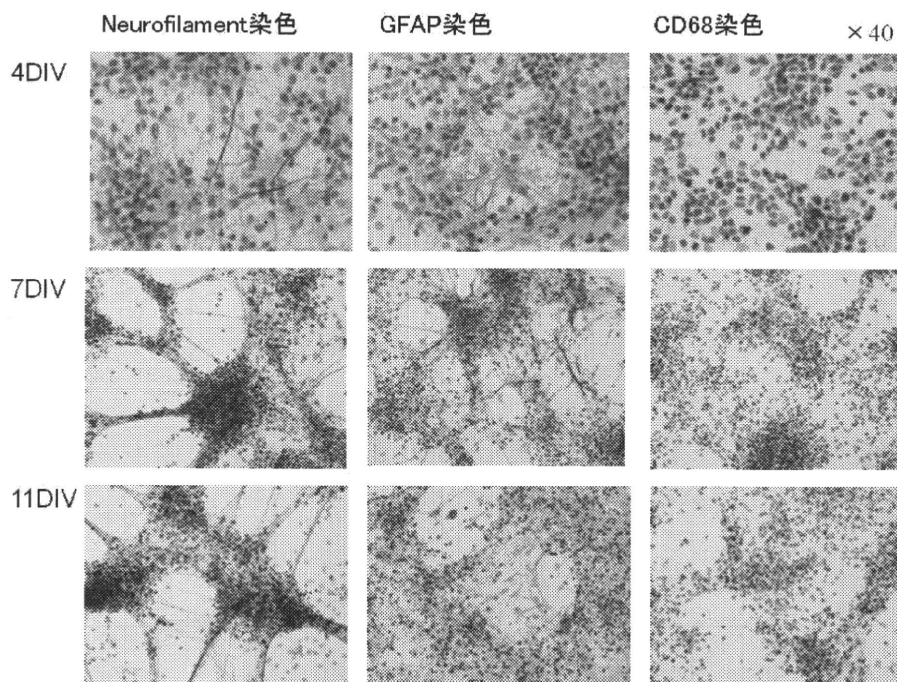


図1. 培養ラット胎児神経細胞の免疫染色.

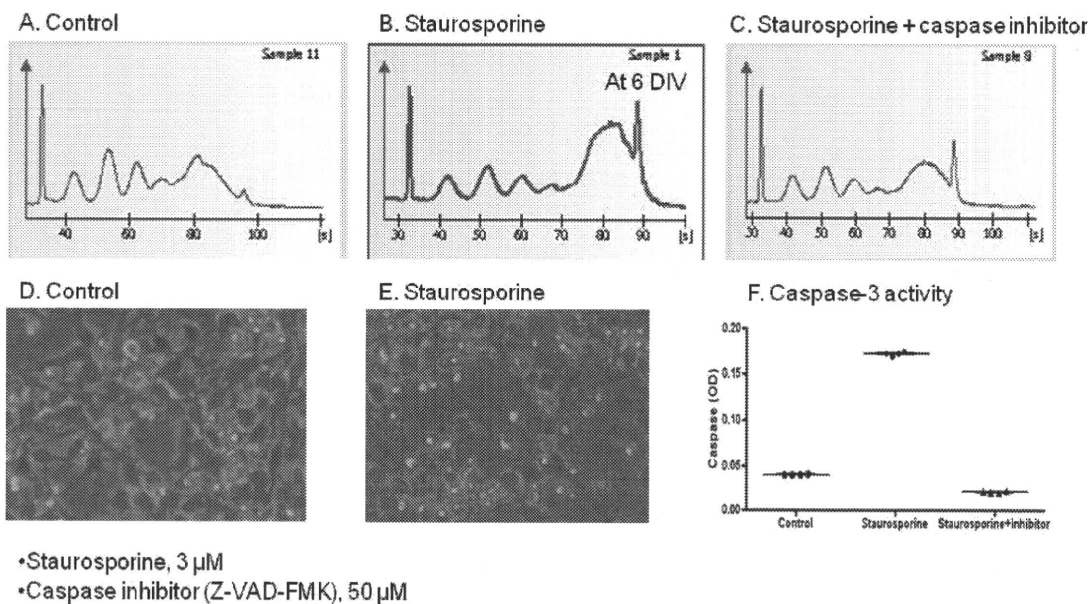


図2. Staurosporineによる培養ラット胎児神経細胞のアポトーシス.

A. 6DIVにおける対照培養ラット胎児神経細胞のラダー形成。B. 2DIVにStaurosporine 3 μ M添加培養ラット胎児神経細胞の6DIVにおけるラダー形成。C. 2DIVにStaurosporine 3 μ M + Caspase inhibitor (Z-VAD-FMK) 50 μ M添加培養ラット胎児神経細胞の6DIVにおけるラダー形成。D. 4DIVにおける対照培養ラット胎児神経細胞。E. 2DIVにStaurosporine 3 μ M添加した4DIVにおける培養ラット胎児神経細胞。F. 6DIVにおける培養ラット胎児神経細胞のcaspase-3 活性。

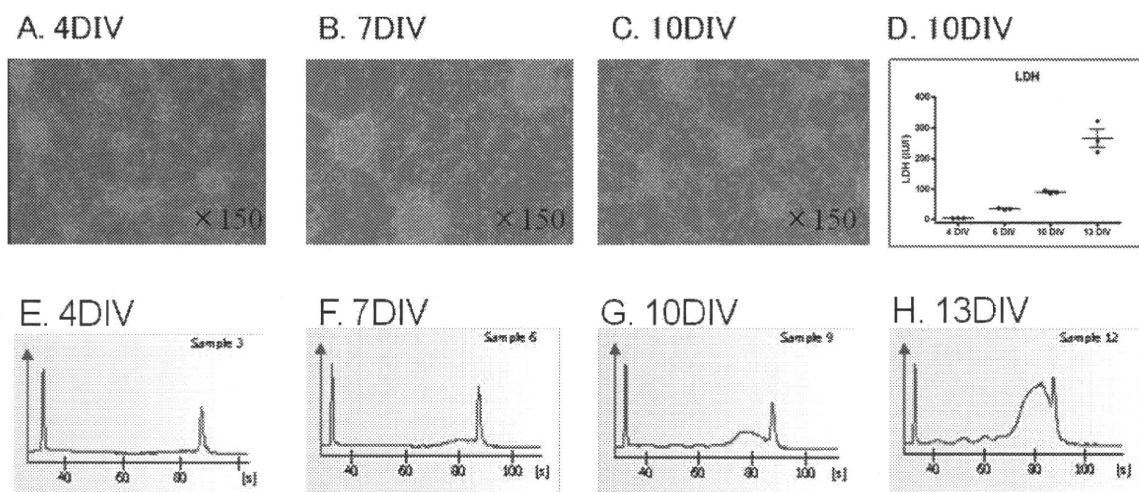


図3. 培養ラット胎児神経細胞のDNAラダー形成.

A-C: 培養ラット胎児神経細胞の光学顕微鏡所見、D: 培養上清のLDH濃度、E-H: 培養ラット胎児神経細胞の経時的DNAラダー形成。

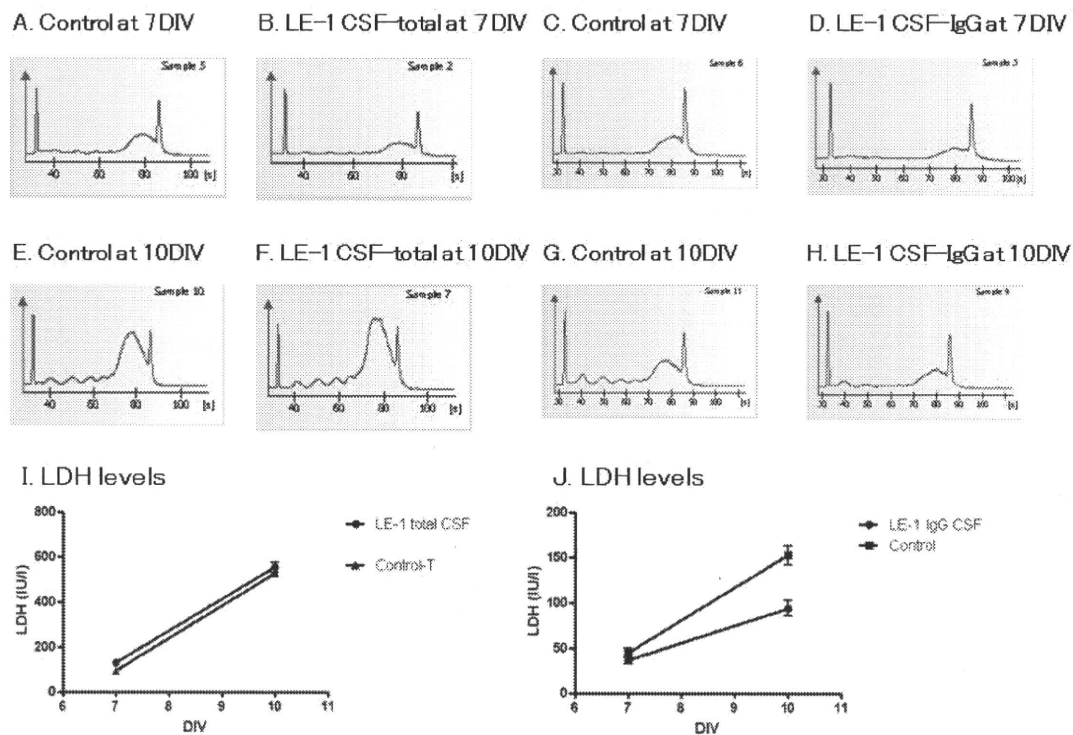


図4. 辺縁系脳炎症例 (LE-1) の髄液のアポトーシスへの影響.

A-H: 培養ラット胎児神経細胞の経時的DNAラダー形成。AはBに対する、CはDに対する、EはFに対する、GはHに対する対照。BはLE-1症例の髄液を3DIVに加えた場合の7DIVにおけるラダー形成。DはLE-1症例の髄液IgG分画を3DIVに加えた場合の7DIVにおけるラダー形成。FはLE-1症例の髄液を3DIVに加えた場合の10DIVにおけるラダー形成。HはLE-1症例の髄液IgG分画を3DIVに加えた場合の10DIVにおけるラダー形成。I-J: 培養上清のLDH濃度。

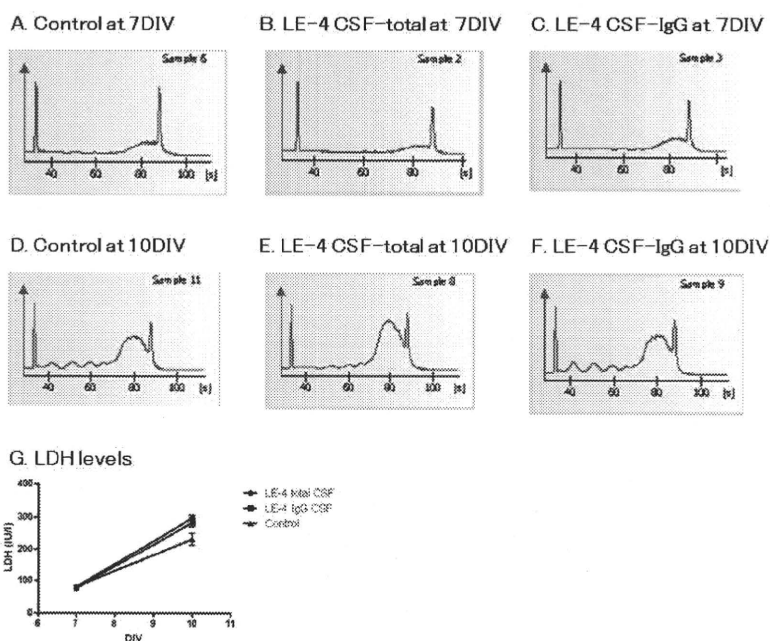


図5. 辺縁系脳炎症例 (LE-4) の髄液のアポトーシスへの影響.

A-F: 培養ラット胎児神経細胞の経時的DNAラダー形成。AはB・Cに対する、DはE・Fに対する対照。BはLE-4症例の髄液を3DIVに加えた場合の7DIVにおけるラダー形成。CはLE-4症例の髄液IgG分画を3DIVに加えた場合の7DIVにおけるラダー形成。EはLE-4症例の髄液を3DIVに加えた場合の10DIVにおけるラダー形成。FはLE-4症例の髄液IgG分画を3DIVに加えた場合の10DIVにおけるラダー形成。G: 培養上清のLDH濃度。

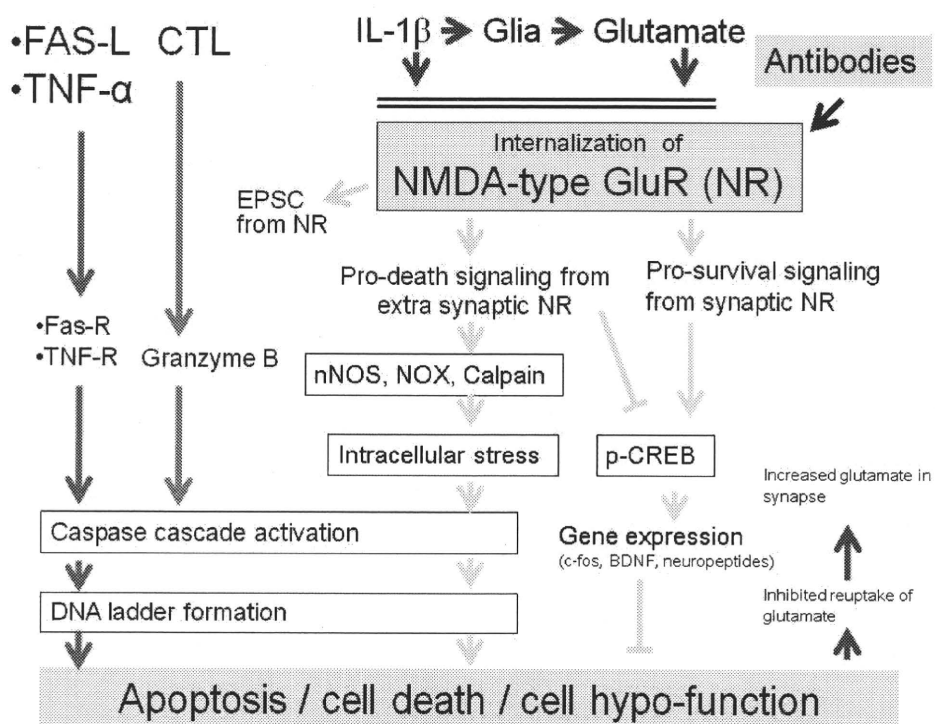


図6. NMDA型GluR複合体の内在化とアポトーシス.

グルタミン酸受容体自己免疫の基礎的検討

分担研究者 森 寿

富山大学大学院医学薬学系研究部分子神経科学教授

研究要旨

急性脳炎・脳症患者血清中に存在するNMDA型グルタミン酸受容体に反応する自己抗体のスクリーニング系を、培養細胞を用い変異型NMDA受容体複合体を発現させ構築した。また患者血清中の自己抗体がNMDA受容体に結合し細胞内取り込みを引き起こす可能性があることを明らかにした。

共同研究者：高野 志保（富山大学大学院医学薬学研究部）

（倫理面への配慮）

本研究には遺伝子組換え実験が含まれるので、本学の組換えDNA実験安全委員会に研究申請を行い、第二種使用等拡散防止措置の確認を受けて構築した発現ベクターを用いて研究を実施した。また、使用した患者血清は、本学倫理委倫理委員会ならびに、国立静岡てんかん・神経医療センター等における倫理委員会で承認を受けたものを使用した。

A. 研究目的

急性脳炎後の難治性てんかんに関わると考えられるNMDA型グルタミン酸受容体に対する自己抗体スクリーニング系を、培養細胞を用いて確立することを目的に研究を行った。

B. 研究方法

通常NMDA受容体は、GluR ϵ （GluN2、NR2）とGluR ζ 1（GluN1、NR1）の複合体として培養細胞表面上に発現し細胞死を誘導する。この細胞毒性を回避するためにCa²⁺透過性の低い変異体（GluR ϵ 2N/R、GluR ζ 1N/R-EGFP）発現ベクターを構築し、HEK293細胞に導入した。またGluR ζ 1N/R-EGFPを単独で細胞に導入した。また、GluR ϵ 2N/R-DsRedとGluR ζ 1N/R-EGFPを安定的に発現するHEK293細胞株を樹立し、細胞表面上に存在するNMDA受容体に対する抗体を定量的に検出するためのOn-cell Western法の開発を行った。これらの細胞を用いて、本研究班に送付、および富山大学神経内科で採取された検体（卵巣奇形腫に伴う傍腫瘍性脳炎 5名、辺縁系脳炎4名、抗NMDA関連脳炎1名）血清および髄液と、これらの細胞を反応させ検討を行った。

C. 研究結果

1. 自己抗体によるNMDARの細胞内取りこみ

GluR ϵ 2N/R+GluR ζ 1N/R-EGFP共発現細胞（以下 ϵ 2+ ζ 1）において、血清との反応を37℃の条件で行うと、NMDARが細胞内に取り込まれた（昨年報告済）。さらに、GluR ζ 1の単独発現細胞（以下 ζ 1）においても、自己抗体による細胞内取り込みが観察された。

2. GluR ϵ 2N/R + GluR ζ 1 N/R共発現細胞株の樹立

GluR ϵ 2N/R-DsRedとGluR ζ 1N/R-EGFPをHEK293細胞に導入し、FACSを用いて蛍光強度の強い細胞を選択した。EGFPとDsRedの陽性細胞表面でGluR ϵ 2とGluR ζ 1の発現を検出した。従って、 ϵ 2+ ζ 1の発現安定細胞株が樹立された。

3. On cell Western法による抗体価の定量法

上記細胞株を用い on cell Western法で抗体価の測定を行った。96穴プレートに細胞を培養し、固定後、抗体と4℃で反応させ、翌日2次抗体を反応させ、Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR) を用いて蛍光強度を計測した。蛍光強度は、抗体希釈倍率に依存し、定量的解析が可能であった。よって、本法は細胞表面上のNMDARのエピトープを認識する自己抗体の検出に有用であると判断した。次に、検体を用い測定した結果、髄液では、患者とコントロールで、統計学的有意差を認めた ($p=0.003$)。血清検体では、バックグラウンドが高値のものがあり、統計学的に有意差は検出できなかった。しかし、同一患者のフォローアップ検体では、治療直後では明らかに抗体価は低下していた。

D. 考察

1) ζ 1単独発現細胞において、自己抗体は、 ζ 1を細胞内取り込みさせることが明確に示された。 ε 2+ ζ 1の共発現細胞における細胞内取り込みも、抗 ζ 1抗体によるものか、今後検討すべき課題である。

2) ε 2+ ζ 1を共発現した細胞株を樹立し、抗体価の定量的測定系を開発した。この測定系は、患者スクリーニング、治療効果判定、フォローアップ等に有用であると考えられる。

E. 結論

急性脳炎の病理、病態の自己免疫分子機構を明らかにするために、今回作成した抗NMDA受容体抗体の検出系が有効であると期待される。

F. 研究発表

1. 著書

1. Mori, H., Inoue, R. Serine racemase knockout mice. *D-Amino Acids in Chemistry, Lifesciences, and Biotechnology*. p257-262, Brückner, H and Fujii, N. eds. Wiley-VCH, 2010.

2. 論文発表

1. Mori, H., Inoue, R. : Serine racemase knockout mice. *Chemistry & Biodiversity* 7: 1573-1578, 2010.
2. Zheng, L., Ishii, Y., Tokunaga, A., Hamashima, T., Shen, J., Zhao, Q-L., Ishizawa, S., Fujimori, T., Nabeshima, Y., Mori, H., Kondo, T., Sasahara, M. : Neuroprotective effects of PDGF against oxidative stress and the signaling pathway involved. *J. Neurosci. Res.* 88: 1273-1284, 2010.

3. 学会発表

1. Inoue, R., Harai, T., Hashimoto, K., Tanaka, A., Mori, H. Pentylentetrazole-induced seizure is attenuated in serine racemase knockout mice. *Society For Neuroscience's 40th annual meeting*, 2010, 11, 16, San Diego, USA.
2. 齋藤 啓一郎, 井上 蘭, 森 寿, 小林 広幸, 鈴木利保, 橋本 篤司: セリンラセマーゼノックアウトマウスでは、覚醒剤により誘発された常同行動は増加する、日本薬理学会年会、2010年3月18日大阪。
3. 高野 志保, 高橋 幸利, 森 寿: NMDA型グルタミン酸受容体サブユニットに対する新たな自己抗体スクリーニング系の確立と患者血清を用いた検討。第52回日本小児神経学会、2010年5月21日福岡。
4. 森 寿: てんかん分子病態におけるグルタミン酸受容体の関与、第34回北陸てんかん懇話会、2010年5月29日金沢。
5. 高野 志保*, 高橋 幸利, 森 寿: NMDA型グルタミン酸受容体サブユニットに対する新たな自己抗体スクリーニング系の確立と患者血清を用いた検討。第33回日本神経科学大会、2010年9月4日神戸。
6. 和泉 宏謙*, 石本 哲也, 山本 博, 西条 寿夫, 森 寿: Bioluminescence imaging of Arc gene expression detects neural activity-dependent changes in vivo. 第33回日本神経科学大会、2010年9月4日神戸。
7. 堀尾 茉央, 藤田 有子, 河野 真美, 井上 蘭, 森 寿, 橋本 謙二: セリンラセマーゼ遺伝子欠損マウスの脳および末梢臓器におけるDセリン濃度。第6回D-アミノ酸研究会学術講演会、2010年9月17日富山。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

NMDA受容体脳炎患者髄液がNMDA受容体機能に及ぼす作用の検討

分担研究者 田中 恵子
金沢医科大学神経内科学 教授

研究要旨

NMDA受容体抗体が関連する脳炎・脳症は、精神症状・けいれん・意識障害・自律神経症候・不随意運動を呈し、卵巣奇形腫を有する若年女性に好発する疾患である。本症で検出される抗NMDA受容体抗体が、その特徴的な症候に直接関連するかどうかの証明はまだ充分なされていない。本研究では、中枢神経系の興奮性シナプス伝達を担うグルタミン酸の受容体に対する抗体を生じる脳炎・脳症の髄液が、NMDA受容体特異的な細胞膜電位に影響を及ぼすかについて検討し、抗体が本症病態に直接的に関与することを明らかにした。

共同研究者：田中恵子¹、中多充世¹、松井真¹、
加藤伸郎²（1金沢医科大学神経内科学、2金
沢医科大学生理学II）

kidney (HEK) 細胞に、患者検体および市販の
ウサギ抗 NR1/NR2 抗体を反応させて検出し
た。

A. 研究目的

イオンチャンネル型グルタミン酸受容体 (GluR) は記憶・学習のメカニズムに深く関わる。最近 GluR に対する自己抗体を有する急性脳炎の存在が明らかにされた。このうち、抗 NMDA 受容体抗体を生じ、記憶力障害・痙攣・意識障害を主徴とし、卵巣奇形腫を有する若年女性の急性脳炎は本邦でも頻度の高い疾患である。

本研究は抗体の脳炎病態への関与を明らかにすることを目的とする。その証明のため、患者検体を用いて、1) 海馬スライス標本での海馬細胞の長期増強に関わるグルタミン酸受容体機能に及ぼす抗体の影響を電気生理学的に解析する。

2) げっ歯類より作製した海馬を含む脳スライス標本に、患者検体を添加し、微量電極を用いて TBS 刺激を加え、ニューロンの基本的シナプス伝達およびシナプス可塑性への影響を検討した。対照として、人工髄液、非炎症性神経疾患およびヘルペス脳炎患者の髄液を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究班のプロジェクトとして、倫理審査で承認され、インフォームド Consent のもと収集された検体について抗体検査を行った。動物実験については、当施設の倫理審査での承認を受け、実験動物取り扱い規定に基づいて実施した。

B. 研究方法

1) 非ヘルペス性辺縁系脳炎患者の髄液・血清中の抗 NMDA 受容体抗体は、NMDA 受容体を形成するサブユニット NR1 および NR2 それぞれを co-transfect した Human embryonic

C. 研究結果

抗NMDA受容体抗体は、患者検体とウサギの抗 NR1/NR2抗体がco-localizationを示す場合に陽性と判断した。

マウスの海馬を含む脳スライス標本で測定

したテタヌス刺激時のfEPSPの傾き（NMDA受容体特異的に検出されるとされるlong term potentiation:LTP）は、人工髄液、対照髄液に比べ患者髄液で抑制され、患者の髄液がNMDA受容体機能を抑制することが明らかになった。

D. 考察

NMDA受容体抗体関連脳炎では、記銘力障害・意識障害・けいれんなどを呈する。記憶・学習機能は、シナプス前部から放出されるグルタミン酸がNMDA受容体・AMPA受容体を介して興奮性刺激を伝達することで生じるシナプス可塑性に関わるとされる。抗NMDA受容体抗体の神経症状への直接的な関与は不明であることから、我々は、マウス脳スライスを用いて、抗体陽性検体の海馬ニューロンの長期増強誘導への影響を検討し、患者髄液でNMDA受容体特異的なシナプス伝達の阻害が生じることを明らかにした。

これまで、抗NMDA受容体抗体陽性検体を添加することにより、海馬ニューロンのシナプスの数が減少すること、神経細胞でのパッチクランプを用いたNMDA受容体特異的膜電位変化の抑制が見られることが証明されており、また、抗体を除去することでこれらのブロックが改善することから、本抗体が機能的にもNMDA受容体に影響を及ぼすこと、抗体除去により症状の軽減が得られること、を説明することができると報告されている。我々の検討でも、本抗体はNMDA受容体を特異的に阻害することが証明され、本抗体の臨床的意義は明らかであると考えられた。

E. 結論

抗NMDA受容体抗体陽性脳炎患者の髄液は、マウス海馬スライス標本での電気生理学的検討で、NMDA受容体機能を傷害することを確認したことから、抗NMDA受容体抗体は本症の記銘力障

害・意識障害などの症状の出現に密接に関連すると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ogasawara M, Shikishima K, Sakai T, Takagi M, Tanaka K, A case of Neuromyelitis optica developing into myelitis 25 years after optic neuritis, *Jpn J Ophthalmol*, 2010; 54: 372-373.
2. Tanaka A, Yoshida T, Yamada T, Isayama R, Fujiwara Y, Shiga K, Yamada K, Tanaka K, Nakagawa M, A case of cerebral aquaporinopathy, *Mult Scler*, 2010;16(10):1252-1254
3. Matsui M, Tahara M, Tanaka M, Tanaka K, Matsui M, Konishi T, CD8+CD11a^{high} cells decreased in multiple sclerosis but not in neuromyelitis optica, *Eur Neurol*, 2010;63:159-163
4. Tachibana N, Shirakawa T, Ishii K, Takahashi Y, Tanaka K, Arima K, Yoshida T, Ikeda S, Expression of Various Glutamate Receptors Including N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR) in an Ovarian Teratoma Removed from a Young Woman with Anti-NMDAR Encephalitis, *Inter Med*, 2010;49:2167-2173
5. 田中恵子、多発性硬化症、病気と薬パーフェクト BOOK2010、薬局、p885-887、東京、南山堂、2010年
6. 田中恵子、傍腫瘍性神経症候群、編集：金澤一郎 永井良三、今日の診断指針 第6版、p 639-641、東京、医学書院、2010年
7. 下畑 享良、柳川 香織、田中恵子、西澤正豊、予後不良であった細菌性髄膜炎症例の臨床像の特徴、*臨床神経学*、2010; 50: 137-140.
8. 田中正美、岡本智子、小森美華、田中恵子、齊田孝彦、ステロイド依存性多発性硬化症とは何か？、*神経内科*、2010; 72: 646.
9. 坂本 文、西村雅史、笠間周平、田中恵子、三村 治、抗アクアポリン4抗体陽性であった視神経炎の1例、*眼科*、2010; 52: 939-943.
10. 本山 りえ、白石 一浩、田中恵子、木下真幸子、田中正美、痙攣と視神経炎を反復した抗NMDA受容体脳炎の10歳女児例、*臨床神経学*、2010; 50: 585-588.
11. 嶋崎晴雄、安藤綾子、中村優子、神林 崇、田中恵子、中野今治、経過中に posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES)と甲状腺癌を合併した視神経脊髄炎の47歳女性例、*日本内科学会誌*、2010; 99: 1913-1915.
12. 小田哲也、刈田典生、濱口浩敏、田中恵子、戸田達史、抗 aquaporin-4 抗体陽性症例の治療経験、*神経内科*、2010; 73: 194-198.
13. 田中恵子、傍腫瘍性神経症候群の発症機序、*Brain and Nerve*、2010;62:309-318.
14. 田中恵子、抗プルキンエ細胞質抗体（抗Yo抗体）、日本臨牀 広範囲血液・尿化学検査 第7版 IX. 免疫学的検査 F. 自己抗体、2010; 68: 526-529.

15. 田中恵子、抗NMDA受容体抗体、日本臨牀 広範囲血液・尿化学検査 第7版 IX. 免疫学的検査 F. 自己抗体、2010 ; 68 : 651-654.
16. 田中恵子、傍腫瘍性神経症候群と抗神経抗体、臨床神経学、2010 ; 50 : 371-378.
17. 田中恵子、田中正美、NMO spectrum disorders と膠原病/悪性腫瘍/感染症、Brain Nerve、2010 ; 62 : 953-960.
18. 田中正美、高坂雅之、田中恵子、NMO の臨床、脊椎脊髄、2010 ; 23 : 743-748.
19. 田中恵子、NMO の臨床症候、MRI と検査所見。-抗アクアポリン4抗体の意義-、Brain Medical、2010 ; 22 : 39-44.

2. 学会発表

1. 田中 恵子, 松井 真, 崎村 建司: 抗NMDA受容体抗体検出系の確立およびその臨床スペクトラムと抗体の意義、第51回日本神経学会総会 2010. 5.
2. K. Tanaka, M. Nakata, M. Matsui, K. Sakimura :Clinical spectrum of anti-NMDA receptor antibody related encephalitis diagnosed by cell-based immunofluorescence detection system, 10th International Congress of Neuroimmunology 2010. 10

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎/脳症における血液脳関門機能と神経細胞損傷の 関連について

研究分担者 市山 高志

山口大学大学院医学系研究科小児科学分野 教授

研究要旨

【目的】非ヘルペス性急性辺縁系脳炎/脳症（NHALE）のblood-brain-barrier（BBB）機能を血清matrix metalloproteinase-9（MMP-9）とtissue inhibitor of metalloproteinase-1（TIMP-1）の動態で、また神経細胞損傷を血清neurofilament（NF）の動態で解析し、その関連性を検討する。

【方法】対象はNHALE 23例（男性6例、女性17例；15～79歳、平均37歳）。方法は急性期および回復期（21～247病日、平均94病日）における血清MMP-9、TIMP-1値をELISAキット（Amersham Biosciences社）で、リン酸化型NF-H（pNF-H）値をELISAキット（EnCor Biotechnology社、USA）で測定した。検定はSpearman検定で行った。

【成績】NHALE患者23例の急性期および回復期の血清計46検体の検討では、TIMP-1値とpNF-H値に有意な相関がみられた（ $p=0.015$ 、 $r=0.355$ ）。MMP-9値およびMMP-9/TIMP-1比とpNF-H値の間に有意な相関は認めなかった。

【考察】MMP-9は脳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BBBに対し、MMP-9は攻撃因子、TIMP-1は防御因子である。NFは神経細胞を構成する主要な細胞骨格蛋白であり、NF-L、NF-M、NF-Hの3つのサブユニットからなる。NFは軸索損傷、変性、神経細胞脱落の特異的なバイオマーカーであり、髄液や血清中濃度の上昇は神経細胞の損傷を示唆する。中でもpNF-Hはプロテアーゼに抵抗性であり、神経損傷の際に安定してELISA法で検出することができる。本研究においてTIMP-1値とpNF-H値に有意な相関がみられたことは、神経細胞損傷が強まれば、TIMP-1の産生が亢進し、BBB機能を保護しようとする反応が促進することが示唆された。

【結論】NHALEにおいて血清TIMP-1値とpNF-H値に有意な相関がみられた。

A. 研究目的

MMPsは細胞外基質蛋白の分解を調節する酵素の一群である。MMP-9は、脳の血管内皮細胞の基底膜の主要構成成分で、血液脳関門を安定化させる役割を果たすコラーゲンIVを分解する。MMPsの活性はtissue inhibitor of metalloproteinases（TIMPs）によって調節されており、TIMP-1はMMP-9に強い親和性を有し、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。neurofilament（NF）は神経細胞を構成する

主要な細胞骨格蛋白であり、NF-L、NF-M、NF-Hの3つのサブユニットから成る。NFは軸索損傷、変性、神経細胞脱落の特異的なバイオマーカーであり、髄液や血清での上昇は神経細胞損傷を示唆する。中でもリン酸化型NF-H（pNF-H）はプロテアーゼに抵抗性であり、神経損傷の際に安定してELISA法で検出することができる。

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎/脳症（NHALE）におけるBBB機能と神経細胞損傷の関連性について血清中MMP-9、TIMP-1、pNF-Hの動態で解析

した。

B. 研究方法

対象はNHALE 23例（男性6例、女性17例；15～79歳、平均37歳）。方法は急性期および回復期（21～247病日、平均94病日）における血清MMP-9、TIMP-1値をAmersham Biosciences社ELISAキットで、血清pNF-H値をEnCor Biotechnology社ELISAキットで測定した。検定はSpearman検定で行った。

（倫理面への配慮）

検体採取に際し、患者か家族の同意を得た。また結果を発表する際には氏名を含む個人が同定されるような個人情報公表しないことから本研究の対象患者の人権は擁護されるものとする。

C. 研究結果

NHALE患者23例の急性期および回復期の血清計46検体の検討では、TIMP-1値とpNF-H値に有意な相関関係がみられた（ $p = 0.015$, $r = 0.355$ ）（図1）。MMP-9値およびMMP-9/TIMP-1比とpNF-H値の間に有意な相関は認めなかった。

D. 考察

過去、NHALE患者において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低値であることを明らかにした。BBB機能低下は長期間持続することが示唆された。また血清pNF-H値を検討し、NHALEの一部では器質的な神経細胞損傷の存在が示唆された一方で神経細胞破壊がほとんどないNHALEも少なからず存在することを明らかにした。本年度はBBB機能と神経細胞損傷の関連性を検討し、血清TIMP-1値とpNF-H値の有意な相関関係を明らかにした。神経細胞損傷が強まれば、TIMP-1の産生が亢進し、BBB機能を保護しようとする反応が促進することが示唆された。

E. 結論

NHALEにおいて血清TIMP-1値とpNF-H値に有意な相関がみられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasegawa S, Ichiyama T, Hashimoto K, Suzuki Y, Hirano R, Fukano R, Furukawa S. Functional expression of cysteinyl leukotriene receptors on human platelets. *Platelets*, 2010; 21: 253-259.
2. Ichiyama T. Acute encephalopathy/encephalitis in childhood: a relatively common and potentially devastating clinical syndrome. *Brain Dev*, 2010; 32: 433-434.
3. Aydin ÖF, Ichiyama T, Anlar B. Serum and cerebrospinal fluid cytokine concentrations in subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev*, 2010; 32: 463-466.
4. Tsuge M, Yasui K, Ichiyama T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Yamashita N, Morishima T. Increase of tumor necrosis factor- α in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. *Microbiol Immunol*, 2010; 54: 417-424.
5. Hasegawa S, Ichiyama T, Kohno F, Korenaga Y, Ohsaki A, Hirano R, Haneda Y, Fukano R, Furukawa S. Prostaglandin E2 suppresses β 1-integrin expression via E-prostanoid receptor in human monocytes/macrophages. *Cell Immunol*, 2010; 263: 161-165.
6. Saji N, Ichiyama T, Tadano M, Shimizu H, Kawarai T, Kita Y, Yokono K. Elderly case of prolonged hypoglycemic coma presenting with reversible magnetic resonance imaging changes. *Geriatr Gerontol Int*, 2010; 10: 331-333.
7. Uchiyama A, Kusuda S, Imashuku S, Sakuma I, Yamasaki C, Ichiyama T, Nishida H. Fatal hemophagocytic lymphohistiocytosis in an extremely-low-birthweight infant. *Pediatr Int*, 2010; 52: 661-663.

2. 学会発表

1. 市山高志、シンポジウム「急性脳症の診療・研究最前線」、病態解析と治療戦略、第52回日本小児神経学会、2010年5月20-22日、福岡。
2. 市山高志、特別講演、脳炎・脳症、髄膜炎トピックス、第134回日本小児科学会徳島地方会、2010年6月12日、徳島。
3. 市山高志、庄司紘史、高橋幸利、パネルディスカッション、非ヘルペス性辺縁系脳炎の髄液サイトカイン解析：単純ヘルペス脳炎との比較検討、第17回ヘルペス感染症フォーラム、2010年8月20-21日、札幌。
4. 市山高志、特別講演、急性脳症の病態解析と治療戦略、第86回山陰小児科学会、2010年9月26日、米子。
5. 市山高志、レクチャー、病態からみた治療戦略の構築～分子標的療法の可能性～、第30回日本川崎病学会、2010年10月10-11日、京都。

6. 市山高志、インフルエンザに伴う小児急性死亡、第 17 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会、2011 年 3 月 4-5 日、出雲.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎における卵巣奇形腫の免疫組織学的検討

研究協力者 田畑 絵美
佐賀大学医学部内科学（神経内科）

研究要旨

近年、主として若年女性に急性発症する卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎が辺縁系脳炎の一因として注目されている。一般に痙攣重積、中枢性低換気、遷延性意識障害により、長期間の集中治療を要する重症例が多いとされ、卵巣奇形腫を認めた場合、早期に手術に奇形腫摘出術施行され、改善する例が多く、奇形腫と脳炎との関係の検討が必要である。

今回我々は、当院で経験した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎に対し、手術時摘出した卵巣奇形腫を免疫組織学的に分析し、Control群（卵巣奇形腫摘出・非脳炎群）と比較・検討を行った。

共同研究者：江里口誠¹、岩崎めぐみ¹、岡孝之¹、南里悠介¹、薬師寺祐介¹、光武里織¹、岡田竜一郎¹、増田正憲²、徳永蔵²、高橋幸利³、田中恵子⁴、雪竹基弘¹、原英夫¹（1佐賀大学医学部内科学神経内科、2佐賀大学医学部付属病院病理学講座、3国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター、4金沢医科大学脳脊髄神経治療学 神経内科学）

A. 研究目的

当院で経験した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎の卵巣奇形腫の病理像とControl群（卵巣奇形腫摘出・非脳炎群）の病理像の差異を検討する。

B. 研究方法

対象：当院で経験した卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎を発症した3例、および当院産婦人科にてカルテ上神経学的症状を認めなかった卵巣奇形腫切除した23例（Control群）。Control群は当院産婦人科で2004年1月から2010年2月までに卵巣奇形腫切除術をおこなった23例中、

カルテ上神経学的所見異常を認めないこと、②卵巣奇形腫内に神経組織を認めない、もしくは組織破壊がはげしかった例を除外した計19例をControl群（非脳炎群）とした。

病理：HE染色、神経組織の種類分別としてGFAP（アストロサイト）、Iba1（ミクログリア）、SMI-31（ニューロン）、免疫細胞の種類分別として、T細胞（CD3、CD4、CD8）、B細胞（CD20）、NMDAレセプターの発現の有無として抗NMDA抗体（NR1、NR2B）を使用した。

NMDA抗体の染色率は神経組織内の染色率が0%のものを－、1～30%までのものを＋、31～60%を2＋、61%以上を3＋とし、2人以上の神経内科医および1名の病理医にて判定した。

（倫理面への配慮）

同意を得た患者組織を用いた。

C. 研究結果

【卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎群 n=3】

神経染色にてアストロサイト、ミクログリア、ニューロンを認め、同部位にてNMDA受容体Sub

unitであるNR1、NR2Bを認め、すべての症例でNMDA抗体の染色はNR1、NR2Bともに2+であった。

神経組織内部、周囲にT細胞（CD3、CD4、CD8）の浸潤、B細胞（CD20）の浸潤を認めた。

卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎3例のうち、重症例2例ではB細胞の浸潤を著明に認めた。

【Control群（卵巣奇形腫摘出・非脳炎群） n =19】

神経染色にてアストロサイト、ミクログリア、ニューロンを認めた。神経組織に一致して、NMDA受容体SubunitであるNR1、NR2Bはみとめる例、認めない例があった。

Control群のNR1の発現は95%（1+：18%、2+：25%、3+：45%）、NR2Bの発現は79%（1+：37%、2+：26%、3+：16%）と高頻度に認めた。

神経組織内部、周囲にT細胞（CD3、CD4、CD8）の浸潤、B細胞（CD20）の浸潤を認める例は19例中2例（10%）であった。

【卵巣奇形腫関連傍腫瘍性脳炎群、Control群で神経組織周囲にリンパ球浸潤を認めた例 n =5】

神経組織周囲のリンパ球浸潤の種類は、脳炎群、Control群ともにTリンパ球およびBリンパ球を認め、脳炎の有無に関わらず、Bリンパ球優位に浸潤であった。

Tリンパ球はCD4陽性リンパ球 \geq CD8陽性リンパ球のリンパ球浸潤を認めた。

・脳炎群の重症例、軽症例では、重症例であるほどBリンパ球の浸潤および集簇像を認めた。

D. 考察

NMDA受容体Subunit（NR1、NR2B）の卵巣奇形腫における発現は脳炎群に限らずcontrol群においても認められ、その分布は必ずしも神経組織に限局しておらず、両群に差異はみとめなかった。しかし、卵巣奇形腫の神経組織へのリ

ンパ球浸潤は、脳炎群で著明であり、Bリンパ球が主体であった。特に、脳炎群の重症例2例で、Bリンパ球の集簇が主体とした胚中心様リンパ球浸潤を認め、卵巣奇形腫内での自己抗体産生の可能性が考えられた。

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

プリオン病における抗グルタミン酸受容体抗体測定の意義

分担研究者 湯浅 龍彦

鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター・難病脳内科 センター長

研究要旨

抗グルタミン酸受容体(GluR)抗体陽性脳炎の臨床症状とCreutzfeldt-Jakob病(CJD)の臨床症状には重なりがあり、特に初診時にはしばしば両者の鑑別診断が困難であることを経験する。そうした訳で、CJDの7症例において、抗GluR抗体を測定した。結果は、CJDの血清および髄液においてGluR ζ 1、GluR ϵ 2、GluR δ 2に対する抗体を認めた。血清では、GluR ζ 1およびGluR ϵ 2の細胞内C-末domainに対する抗体はCJDのみで上昇を確認した。過去の知見と併せて、CJDにおける精神症状を含む臨床徴候と抗GluR抗体の関連が示唆された。今後の課題は、抗GluR抗体の出現が血清・髄液いずれで先行するのかの確認、血清の抗GluR抗体測定がCJDの早期診断に寄与するか否かの検証である。

研究協力者：藤田浩司¹、高橋幸利²（1徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部臨床神経科学、2国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター）

A. 背景と目的

プリオン病であるCJDは神経学的な症状を呈すが、発症年齢が若くなるにつれて精神症状の割合が増加するとされる。Variant CJD (vCJD)や硬膜移植後CJD(d-CJD)では若年発症例が多く、精神症状での発症例が多くなる。そうした例では、しばしば抗グルタミン酸受容体 (glutamate receptor: GluR) 抗体陽性辺縁系脳炎との鑑別診断が困難になると予想される。そして、逆の立場から言えば抗GluR抗体陽性辺縁系脳炎の診断において、vCJD、d-CJDは重要な鑑別疾患となる。こうした事情から、我々は、CJDにおける抗GluR抗体の存在の有無について検討した。

B. 対象と方法

抗GluR抗体の測定対象は、WHO診断基準を満たすCJDであり、対照としては、正常健常者、疾患対照としてALS、非炎症性てんかんを用いた。それぞれの対象並びに対照例の血清および髄液において、GluR subunitsの各epitopeに対する抗体をELISAで測定した。

用いたepitopeはGluR ζ 1 (NR1) の細胞外N-末 domain (NT) および細胞内C-末domain (CT)、GluR ϵ 2 (NR2B) のNT、CT、およびtransmembrane regions間の細胞外ドメイン (TM3-4)、GluR δ 2のNTおよびCTとした。CJD群、ALS群、対照群の3群間で各抗体の抗体価を比較した。

(倫理的な問題)

研究に際し当該施設倫理委員会の承認を得た。

C. 結果

CJD 7例、ALS 10例、てんかん19例を登録した。CJD患者は平均年齢71.4歳、男性5例、孤発

性4例 (definite 1例)、V180I 1例、M232R 2例 (definite 1例)であった。精神症状は4/7例 (57%) で記載された。痙攣発作、腫瘍合併は全例で認めなかった。血清はCJD 3例で解析され、GluR ζ 1 CTおよびGluR ϵ 2 CTに対する抗体がCJD群のみで有意に上昇していた (それぞれ $p=0.004$, $p=0.006$)。髄液は7例全例で解析され、測定した全ての抗体がCJD群 ($p<0.001$)、ALS群 ($p<0.01$) とともに対照群と比較し有意に上昇していた。

D. 考察

プリオン病であるCJDには、大別してsporadic CJD、vCJD、iatrogenic CJD (日本ではd-CJDが大半)、familial CJDがある。一般には神経学的な症状で発症する例が多いが、発症年齢が若くなると精神症状で発症する頻度が多くなる。一方、若年女性を冒す辺縁系脳炎やAMED-ARLEは、しばしば精神症状や不眠で初発することがあって、統合失調症と診断されたり、CJDが疑われたりする。そうした事情から、両者を区別するには、抗GluR抗体の存在は重要な手掛かりと考えられてきた。即ち、抗GluR抗体の存在は自己免疫介在性脳炎を示唆する有力な証左であった。しかし、今回の結果は、ある意味ショッキングであった。というのもプリオン病であるCJDにおいても本抗体が陽性であったからである。CJDとAMED-ARLEの臨床的な共通項が精神症状にあるとして、両者に共通する部分はN-末に対する抗体である。即ち、精神症状にはN-末抗体が関与するかもしれない。

血清において、GluR ζ 1およびGluR ϵ 2の細胞内C-末 domainに対する抗体はCJDのみで上昇が確認された。即ちCJDとその他の疾患では、陽性となる抗体が異なる。CJD症例において抗GluR抗体のC-末抗体が陽性となったことは、それ自体が重要な発見である。即ち、CJDでは早期から細胞が変性する為に、細胞内に存在する

C-末に対する抗体が産生されたのかもしれない。この結果は更なる問題を投げかける。即ち、如何なる理由で血清にC-末抗体が早期から出現するのか、中枢神経系からのものが全身に流れ出るのか、中枢神経系以外で産生されるのか、など解決すべき問題は多々ある。一方、今回の結果から、将来CJDの早期診断にこの抗体価測定が役立つ可能性が示唆された。

E. 結論

以上、7例のCJD孤発例の血清および髄液においてGluR ζ 1、GluR ϵ 2、GluR δ 2に対する抗体を測定し、測定した3例の血清では、GluR ζ 1およびGluR ϵ 2の細胞内C-末 domainに対する抗体の上昇を認めた。これは対照例であるALSや正常対照では認めなかった。

一方、髄液ではCJDの7例全例で解析され、測定した全ての抗GluR抗体がCJD群、ALS群ともに対照群と比較し有意に上昇していた。かくして、過去の知見と併せてCJDにおける精神症状を含む臨床徴候と抗GluR抗体の関連が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願

なし

辺縁系脳炎患者における抗Leucine-rich, glioma-inactivated 1 (LGI1)抗体の検討

分担研究者 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

研究要旨

Leucine-rich, glioma-inactivated 1 (LGI1)のリコンビナント蛋白を用いたwestern blotと、LGI1をトランスフェクションさせたHEK293細胞を用いたimmunocytochemistryにより、当科で経験した辺縁系脳炎患者19例の血清・髄液中より抗LGI1抗体の検出をこころみた。結果、抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎患者2例より抗LGI1抗体を検出した。

A. 研究の背景と目的

近年、抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎患者でみられる抗VGKC抗体の認識抗原蛋白は、VGKCそのものではなく神経シナプスの伝達制御に関与するLGI1であることが、国外の研究グループより報告された。LGI1は分泌蛋白質であるが、シナプス膜に存在する受容体蛋白ADAM22およびADAM23と結合し複合体を形成することにより、シナプス伝達を間接的に制御していることが知られている。国内ではこれまでに抗LGI1抗体に関する報告はなく、今回抗LGI1抗体の検出システムの構築と辺縁系脳炎患者からの同抗体の検出を試みた。

B. 研究方法

1) LGI1のヒトリコンビナント (Abnova) をサンプルとして、一次抗体に辺縁系脳炎患者の血清(×200)・髄液(×50)を用いwestern blotを施行した。

2) LGI1プラスミド (Origene) をトランスフェクションさせたHEK293細胞に対し、一次抗体に辺縁系脳炎患者の血清(×200)・髄液(×50)を用いimmunocytochemistryを施行した。

(倫理面への配慮)

患者血清・髄液中の抗体検索については岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

western blotの検討では抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎患者2例の髄液中にのみ抗LGI1抗体を検出した。immunocytochemistryの検討ではこのwestern blotで陽性となった2例の血清・髄液中で抗LGI1抗体を確認した。

D. 考察

今回の検討では、抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎患者で抗LGI1抗体が陽性となり、既報告と同様の結果となった。今後は抗LGI1抗体検出系の精度の向上を目指すとともに、抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎患者を含む多数の神経疾患患者において抗LGI1抗体の有無を検討し、同抗体の特異性を検討する必要があると考えた。

E. 結論

抗LGI1抗体の検出系の構築をこころみ、辺縁系脳炎患者の血清・髄液中に存在する抗LGI1抗体を検出した。