

reversible limbic encephalitis) (根本・湯浅・高橋2005) と Dalmau らが報告した抗NMDA受容体抗体陽性例(2007)がある。GluR ϵ 2 (NR2) と Dalmau らのいう抗NMDA受容体抗体 (NR1 と NR2) は、同じNMDA型GluRの構造上の認識部位の差をいうもので、前者は後者の一部である。従って両者の基本的な考え方は同じであると見做される。両者の違いは、Dalmau らが卵巣奇形腫OTの存在を重視して、傍腫瘍性疾患と考えた点にある。前者はあくまでも急性の辺縁系脳炎に自己抗体が関与するという新たな概念を提唱した所に意義がある。

OT (+) 例の治療に関して、特に若年女性例にあつては、直ちに卵巣を摘出するかどうかは時に応じて慎重に判断すべきである。即ち、卵巣摘出に関する考え方は今後も症例を積み重ねた上で最終結論をまとめるべきという立場である。まずなすべきは出現している抗グルタミン酸受容体抗体を発症早期に可及的速やかに除去することであろう。

そうした立場から本年度は、まず抗AQP4抗体と抗GluR ϵ 2抗体が共に陽性であった特異な例を報告し、その症例を通して考察した抗体の意義そして血液浄化療法へのヒントを述べ、次い

で、発症早期から血液浄化療法を取り入れた治療アルゴリズム (案) を提案する (湯浅)。

20. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHALE) の後遺症の検討

NHALE および類縁疾患3症例の後遺症に関し、知能、記憶、日常生活活動 (ADL) を中心に神経心理学的評価を実施した。(庄司)。

(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。

A) NMDA型GluR複合体抗体 (established by Dalmau)

- ① [GluR ζ 1 (NR1)+GluR ϵ 1 (NR2A)] に対する抗体
- ② [GluR ζ 1 (NR1)+GluR ϵ 2 (NR2B)] に対する抗体

B) NMDA型GluRサブユニット抗体

・全長サブユニットに対する抗体

- ③ 抗GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体

・サブユニットのドメインに対する抗体

- ④ 抗GluR ζ 1 (NR1)-NT抗体
- ⑤ 抗GluR ζ 1 (NR1)-CT抗体
- ⑥ 抗GluR ϵ 2 (NR2B)-NT2抗体
- ⑦ 抗GluR ϵ 2 (NR2B)-M3-4抗体
- ⑧ 抗GluR ϵ 2 (NR2B)-CT1抗体

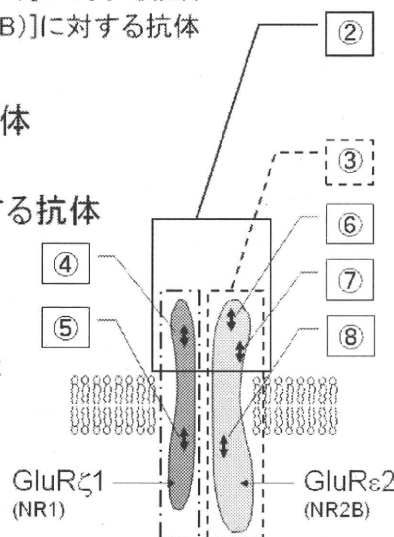


図2. NMDA型GluR サブユニット、複合体に対する抗体の分類

Detection of autoantibodies to NMDA-type GluR

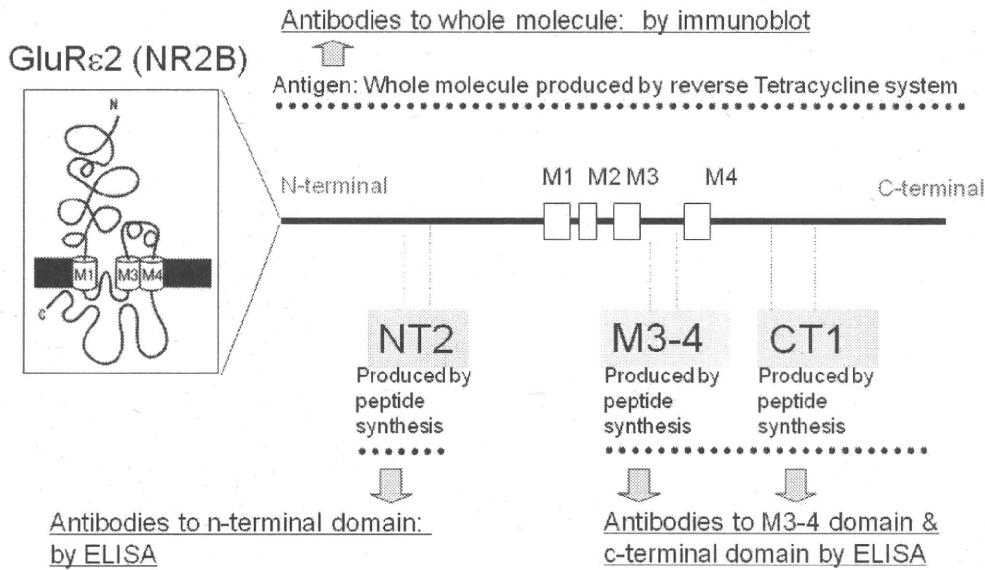


図3. GluR ϵ 2 (NR2B) に対する抗体測定抗原エピトープ

Detection of autoantibodies to NMDAR subunits complex

Dalmau J, et al., Ann Neurol, 2007; 61: 25-36.

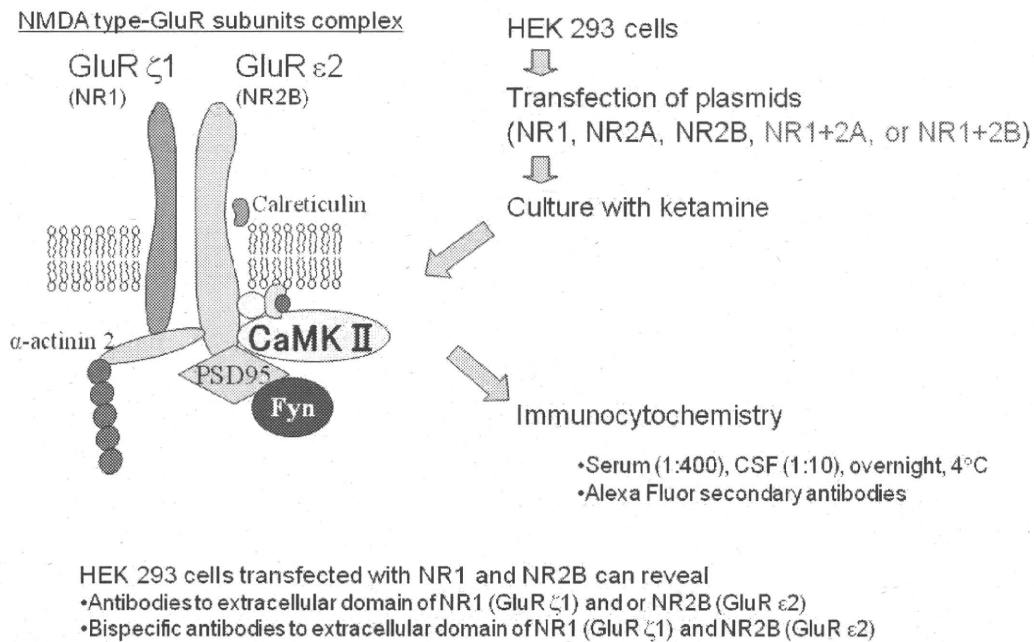


図4. 免疫染色によるNMDA型GluR複合体に対する抗体測定法 (Dalmau法)

表5. グルタミン酸受容体の多様性と機能

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 GluR α	$\alpha 1-\alpha 4$	GluR1-GluR4					
Kainate GluR β GluR γ	$\beta 1-\beta 3$ $\gamma 1, \gamma 2$	GluR5-GluR7 KA1, KA2					
NMDA	$\epsilon 1$	NR2A	○	○			びまん性
	$\epsilon 2$	NR2B	○		○		前脳
	$\epsilon 3$	NR2C					小脳顆粒細胞
	$\epsilon 4$	NR2D				○	視床、脳幹
	$\zeta 1$	NR1					びまん性
	$\chi 1$	NR3A					
	$\chi 2$	NR3B					
GluR δ	$\delta 1$	$\delta 1$					内耳有毛細胞
	$\delta 2$	$\delta 2$					小脳プルキンエ細胞

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

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ール等を策定し、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、2006年8月から2007年9月で200症例を、2007年9月から2008年10月までに314例、2008年11月から2009年10月までに337症例を登録できた（表4）。

2. 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。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、その内訳は単純ヘルペス性辺縁系脳炎1例、傍感染性辺縁系脳炎2例、分類不能の辺縁系脳炎1例であった（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）。

3. 「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

今年度は、①MRI拡散強調画像による診断スキーム（参照3-資料7）、②非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症（NHALE）の発病初期の発作症状（seizure symptom）（参照3-資料6）、③抗

GluRε2抗体(参照3-資料8)、④非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHALE)の予後(参照3-資料9)を、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームに加え、2009年8月にホームページに掲載した(参照3) (<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>) (湯浅、岡本、熊本、森、佐々木、高橋)。

4. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症

(NHALE)のMRI拡散強調画像(DWI)標準化判定法

施設や操作者(技師・医師)によりウィンドウ幅やレベルが異なるため、誤った判断になる可能性があるため、標準化した以下の方法でDWI画像を表示・判定する(参照3-資料7)。

- 装置コンソールやDICOM画像表示端末上で、b0(ビーゼロ)画像(DWIと同時に取得されるEPI T2強調画像)における正常脳実質(視床など)のIntensityを測定し、SI b0とする。
- DWI画像ディスプレイのウィンドウ幅をSI b0とし、ウィンドウレベルを0.5×SI b0とする。
- 小児ではADCが大きいので、ウィンドウレベルは0.6×SI b0程度とする。

低磁場機器のDWI画像は評価しないほうが良い。1.5T以上の機器で判断する。DWIは正常者でも高信号となる部位があり、側頭葉内側部、前頭葉内側部、島は高信号に出やすい。DWI高信号病変であっても、SPECTなどで血流増加した部位は、けいれん重積等を反映した病変である可能性がある。といった点に注意が必要であることが分かった。また、再発性脳炎症例には、DWI高信号病変を認めるが、ADCの低下はない症例があった(湯浅、岡本、熊本、佐々木、高橋)。

5. NMDA型GluRサブユニットのGluRζ1(NR1)に対する抗体測定法の確立

GluRζ1(NR1)分子のN末およびC末ドメインを抗原としてELISAで測定したところ、抗GluRζ1-NT抗体、抗GluRζ1-CT抗体は、卵巣奇形腫を合併する急性脳炎・脳症では対照に比べて有意に高値で、髄液では71.4%、80.0%

の検体が陽性であり、この方法は診断に有用と考えた(高橋)。

6. 卵巣奇形腫を合併する急性脳炎・脳症(AE-OT)の各種NMDA型GluR抗体のエピトープと陽性率

全長GluRε2(NR2B)分子を抗原とする抗GluRε2抗体(immunoblot法)の血清IgG型の陽性率は、急性期46.9%、回復期33.3%、慢性期43.8%であった。髄液IgG型の陽性率は、急性期39.6%、回復期38.9%、慢性期53.8%であった。GluRε2(NR2B)分子のN末およびC末ドメインを抗原とする抗体(抗GluRε2-NT2抗体、抗GluRε2-CT1抗体)は、AE-OTでは対照に比べて有意に高値で、髄液では81.3%、68.2%の検体が陽性であった。GluRζ1(NR1)分子のN末およびC末ドメインを抗原とする抗体(抗GluRζ1-NT抗体、抗GluRζ1-CT抗体)は、AE-OTでは対照に比べて有意に高値で、髄液では71.4%、80.0%の検体が陽性であった。抗NMDA受容体複合体抗体(Dalmau法)は、急性期82.6%、回復期100.0%、慢性期20.0%で陽性であった。

髄液抗NMDA受容体複合体抗体陽性の17例中16例が、抗GluRε2-NT2抗体抗体・抗GluRζ1-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。

髄液中の抗GluRε2-NT2抗体/抗GluRζ1-NT抗体の比、抗GluRε2-CT1抗体/抗GluRζ1-CT抗体の比で判断すると、急性期は症例ごとに異なっていて一定の傾向が見られなかったが、慢性期になるとGluRε2に対する抗体が優位となっていた(高橋)。

7. 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GluRε2N/RとGluRζ1N/R-EGFPを一過的に共発現させたHEK293細胞を、1次抗体、2次抗体と4°Cで反応させた後に固定しNMDA受容体を検出した。GluRε2N末に対するコントロールウサギ抗体を用いた蛍光免疫染色により、GFPを発現している細胞表面でのみGluRε2の発現を確認した。また、GluRζ1N/R-EGFPを単独で発現させた細胞でも、M3-M4間を認識す

るマウス抗体を用いた蛍光免疫染色で、GluR ζ 1の染色を確認した。よってGluR ζ 1は単独でも細胞表面上に発現すると考えられた。これらの結果より、GluR ϵ 2N/RとGluR ζ 1N/R-EGFPを共発現させた細胞(以下 ϵ 2+ ζ 1と表記)と、GluR ζ 1-EGFPを単独で発現させた細胞(以下 ζ 1と表記)によるNMDA受容体に対する安定した自己抗体スクリーニング系が確立した(森)。

8. 抗NMDA型GluR複合体抗体の改良免疫染色法による実際の測定

本研究班に抗体検査のため送付された辺縁系脳炎の患者血清7検体、および卵巣奇形腫に伴う傍腫瘍性脳炎の患者血清5検体の供与を受け、診断名等ブラインドの状態、200倍希釈血清について、GluR ϵ 2N/RとGluR ζ 1N/R-EGFPを共発現させた細胞(以下 ϵ 2+ ζ 1と表記)と、GluR ζ 1-EGFPを単独で発現させた細胞(以下 ζ 1と表記)を用いて、蛍光免疫染色を行った。免疫染色判定後に臨床診断とELISAの結果の開示を受けた。卵巣奇形腫に伴う傍腫瘍性脳炎と診断された5検体は、全ての検体で ϵ 2+ ζ 1、 ζ 1ともに陽性であり、ELISAの結果とも概ね一致した。また、辺縁系脳炎と診断された7検体中5検体は ϵ 2+ ζ 1、 ζ 1ともに陽性、2検体はともに陰性と判定した(森)。

9. 抗NMDA型GluR抗体によるNMDA型GluRの internalization (細胞内取りこみ)

GluR ϵ 2N/RとGluR ζ 1N/R-EGFPを一過的に共発現させたHEK293細胞(ϵ 2+ ζ 1細胞)において、NMDARは細胞の表面をとり囲むclusterとして観察された。患者血清との反応を37°Cの条件で行うと、NMDARがinternalizationしている像が観察された。これは辺縁系脳炎、および卵巣奇形腫に伴う傍腫瘍性脳炎のどちらの検体でも認められた(森)。

10. 髄液中抗LMNA抗体

髄液中抗LMNA抗体は、45歳女性NHLE患者を除き、その他のNHLE患者ならびに感染性髄膜脳炎患者、多発性硬化症患者、アルツハイマー型認知症患者の髄液中では確認できなかった(犬塚)。

11. 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

3名のNHLE患者の急性期髄液中に共通して存在し2名のヘルペス脳炎患者の急性期髄液には存在しない分子量約40kD、pH5.9に位置する抗体反応スポットを検出し、その認識抗原蛋白としてPyridoxal kinase (PDXK)を同定した(犬塚)。

12. 卵巣奇形腫の免疫組織学的検討

HE染色では卵巣奇形腫内には外胚葉・中胚葉・内胚葉の各胚葉由来の種々の組織を認めた。GFAP・SMI-31陽性の神経組織は脳炎症例・非脳炎症例のいずれにおいても卵巣奇形腫内に認められた。Tリンパ球の浸潤は脳炎症例・非脳炎症例ともに認められたが軽度であり、また、両者で明らかな差は認めなかった。Bリンパ球及びマクロファージ/単球の浸潤を認めたが、いずれも細胞浸潤は神経組織や血管周囲に特別に多いという傾向はなく、また、脳炎症例・非脳炎症例で明らかな差も認めなかった(岡本)。

13. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHLE) における血液脳関門破綻の検討

GluR ϵ 2 (NR2B) 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-CT) 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た。R-NT2は発病5日後くらいにピークがあったが、R-M3-4、R-CTよりはピークが小さかった。R-NT2、R-M3-4、R-CTは髄液蛋白と正の相関があり、髄液細胞数とは有意な関連が見られなかった。R-NT2が高いほどは記憶・運動スコアが低い関係が見られたが、Barthel score、てんかん発作、精神症状、認知機能とは関連が見られなかった。R-NT2、M3-4、R-CTが高値であると、急性期入院日数が長くなる関連が見られた(高橋)。

14. 急性脳炎におけるMMP-9、TIMP-1についての検討

急性脳炎のMMP-9はNCとALS、さらにMSに比べて有意に高く、またNMOとギラン・バレー症候群に比べても高い傾向が見られた。TIMP-1では明らかな差は認められなかったが、MMP-9の上昇に

併せて高くなる傾向が認められた。MMP-9/TIMP-1比はNC、ALSに比べ有意に高値であった。変性疾患であるALSのMMP-9、TIMP-1値はNCと全く差がなく、中枢性・末梢性に関わらず炎症性疾患であるMS、NMO、GBSではNCに比べMMP-9は高くなる傾向が認められた。

次に急性脳炎におけるMMP-9とBBB障害との関連について検討するため、BBB障害を反映するとされる髄液/血清 アルブミン比を算出して血清MMP-9値と比較したところ両者に有意な相関が認められた（中嶋）。

15. 炎症性ケモカインの血液脳関門への影響の検討

急性脳炎の血清MMP-9濃度と髄液中の3つのケモカイン（IL-8、IP-10、MCP-1）濃度には明らかな相関を認めなかった（中嶋）。

16. NHALEにおける血清neurofilamentの動態

正常対照群の血清pNF-H値は 0.24 ± 0.15 ng/ml（平均値±標準偏差）だった。NHALE群の急性期および回復期血清pNF-H値は正常対照群に比し、有意に高値だった（ $p < 0.001$ 、 $p = 0.008$ ）。NHALE群の急性期および回復期血清pNF-H値が正常対照群の平均値+2SDを越えていた例数はそれぞれ8例および7例だった。また急性期・回復期ともに正常対照群の平均値+2SDを越えていた例数は4例だった。一方で急性期・回復期とも血清pNF-H値の上昇を認めない例数は16例だった（市山）。

17. NHALE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

61検体中VZV、HHV-6、HHV-7、CMV、HHV-8 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が検出された患者は、臨床的に伝染性単核症の症状を欠き、EBVの関与は考慮されていなかった（吉川）。

18. NHALEのMRI拡散強調画像（DWI）の特徴

特徴としては、①両側あるいは片側の内側側頭葉（海馬など）に淡いADCの低下を示すDWI高信号病変が出現する。②特徴的病変が出現しない症例が多く、我々の典型的臨床症状を示したNHALE14例の内2例（14.3%）に典

型的な側頭葉内側部のDWI高信号病変出現が確認された。③典型的DWI所見が出たのは、0～1病日と早期であった。所見出現時期については今後症例を増やして検討する必要がある。④一過性脳梁膨大部所見が典型的臨床症状のNHALE 14例中2例（14.3%）に見られた（参照3-資料7）。

NHALEを疑われた症例の中に、新皮質のDWI高信号病変が見られた症例が3例あったが、2例はNHALEではない症例で発作重積型の脳炎症例、認知症あるいはposterior reversible encephalopathy syndrome（PRES）と思われる症例であった。1例は臨床症状がNHALEではあるが、微小血栓症の合併によるDWI高信号病変と推定された。新皮質のDWI高信号病変はNHALEの特異的所見ではないと思われる。

再発性脳炎に見られた側頭葉内側部のDWI高信号病変はNHALEのものに似るが、NHALEとは異なりADCの低下がなく、ADCの低下の確認が重要である（湯浅、岡本、熊本、佐々木、高橋）。

19. 画像病理比較研究

症例1：62歳、男性。慢性肝炎の既往あり。発熱の3日後より左同名半盲、左半側空間無視、構成失行が出現した。血液検査では特記所見なく、髄液検査では蛋白の上昇（91mg/dl）のみを認めた。頭部MRIでは右側頭葉～後頭葉、右海馬傍回に、皮質に強い造影効果と腫大を認めた。脳生検で採取された大脳皮質では、神経細胞脱落や血管周囲の炎症細胞浸潤は認めず、軽度のグリオシスを認めるのみであった。最終診断は、成因不明の限局性脳炎と診断した。プレドニゾロン60mg/日にて治療が開始され、症状は次第に改善し、頭部MRIでも脳萎縮を伴うことなく病変は消失した。

症例2：58歳、男性。肝硬変にて加療中である。感冒後に全身性けいれん発作が出現した。意識障害、左同名半盲が出現し、けいれん重積状態となった。急性期の頭部MRIでは右側頭葉、海馬、海馬傍回、島皮質、後頭・頭頂葉皮質に造影効果を伴わない多発性のDWI、T2WI、FLAIR高信号域を認めた。意識障害は改善なく、けいれんの頻発、脳波異常も持続し、頭部MRIでは病変の拡大を認めたため、ステロイドパルス

療法を施行したところ、症状の軽快を認め、頭部MRIでも病変の縮小を認めた。慢性期の頭部MRIでは、急性期に認められたT2WI、FLAIR、DWIでの高信号は消失したが、同部位の大脳皮質は、T1WIで高信号を伴う萎縮を示した。経過中に右視床枕にも同様の変化を認めた。最終的に非ヘルペス性の辺縁系脳炎と診断した。入院10日目に急性肺炎、肝不全にて死亡し、剖検が施行された(脳重は1390g)。病理組織学的には、右の海馬ではCA1のみにH.E染色で著明な神経細胞脱落を認め、GFAP染色では、多数の反応性アストロサイトの増生を認めた。CD68の免疫染色では、CA1に多数のミクログリアを認めた。

2例の比較から、脳炎の経過中にけいれん重積を伴い、回復期に大脳皮質に層状のT1WI高信号域を伴った脳萎縮を認める頭部MRI画像病変は、脳炎に加えてけいれんによる影響も考慮する必要がある(熊本)。

20. 抗NMDA型GluR複合体抗体陽性例の臨床的特徴に関する検討

NMDA受容体 NR1/NR2A または NR1/NR2B を co-transfect した HEK cell に対して反応した陽性例は 49 例 (43.8%) であり、陽性例はすべて抗 NR2A/NR2B 抗体と局在が一致した。一方、NR1 のみと、NR2A/NR2B のみを単独に発現させた HEK cell では、NR1 については細胞質が顆粒状に染色される例があったが、健常対照の中にも同様な反応を呈する例があった。NR2 単独 transfection での染色性は得られなかった。

このうち臨床情報が得られた36例(陽性13例、陰性23例)で陽性・陰性例の特徴を比較すると、陽性・陰性群はそれぞれ、女:男12:1/17:6、平均発症年齢 23歳/46歳と有意な差を認め、臨床的特徴も、陽性群では陰性群に比べ、痙攣・呼吸障害・不随意運動・自律神経症状の合併頻度が高かった(田中)。

21. 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎に関する検討

経過中、腫瘍の存在が明らかになった傍腫瘍群は18例中9例であった。腫瘍の内訳は、胸腺腫7例(うち浸潤性胸腺腫5例)、悪性リンパ腫、肺癌(組織型不明)各1例であった。他の9例は自己免疫群とした。平均年齢は、自己免疫群56.8歳、傍腫瘍群54.0歳で差が認められなかつ

た。男女比はいずれの群も4:5であった。発症から入院までの期間の平均は、自己免疫群111.9日、傍腫瘍群61.2日と傍腫瘍群で短い傾向だった。髄液所見、てんかん発作の様式、SIADHによる低ナトリウム血症の合併頻度に大差は認められなかった。再発・再燃例が3例存在したが、いずれも浸潤性胸腺腫を合併していた。経過中の中核症状に差異は認められなかったが、傍腫瘍群では、半数例で四肢のじんじん感を病初期に訴えていることが明らかになった。

自己免疫群では、免疫治療に速やかに反応を呈したが、傍腫瘍群では、免疫療法のみでは症状の改善や抗体の減少は認められず、治療期間が長期におよぶ傾向にあった。胸腺腫切除や化学療法、放射線照射のみでは、辺縁系の症状の改善や抗VGKC抗体の著減はしない。ステロイド療法などの免疫治療が必要である。逆に、なんらかの理由で、胸腺腫に対する治療が行われないと免疫療法をintensiveに行っても十分な治療効果が得られないことが明らかになった(渡邊)。

22. 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63例のうち、免疫療法の効果があった群(有効群)は53例(84%)、10例は無効であった(無効群)。以下有効群/無効群としてデータを示す。平均年齢は、60歳[20-85歳]/74歳[51-87歳]、有効群で二峰性のピークを認めた。男女比は13:40/2:8であった。両群ともに甲状腺機能は正常例が70%を占め、抗甲状腺抗体は抗TPO抗体、抗TG抗体ともに陽性例が半数以上を占めた。自己免疫性甲状腺疾患の既往は35%/30%に認めた。発症様式は、急性 57%/20%、亜急性 34%/10%、慢性 9%/70%と有効群では急性、亜急性に発症する例が有意に多かった($p<0.01$)。臨床徴候のうち意識障害は 72%/20%($p<0.01$)、精神症状は 62%/10%($p<0.01$)、認知症は 43%/50%、痙攣は 38%/10%、不随意運動は34%/10%、失調は23%/30%に見られた。臨床病型としては、急性脳症型 64%/20%、精神病型21%/30%、失調型 11%/30%CJD様型 4%/10%であった。検査・画像所見では、頭部MRI: 正常 63%/33%。脳脊髄液: 蛋白/IgG上昇 49%/20%。脳波: 基礎波の徐波化 80%/33% ($p<0.05$) であった。免疫療法反応性では、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。

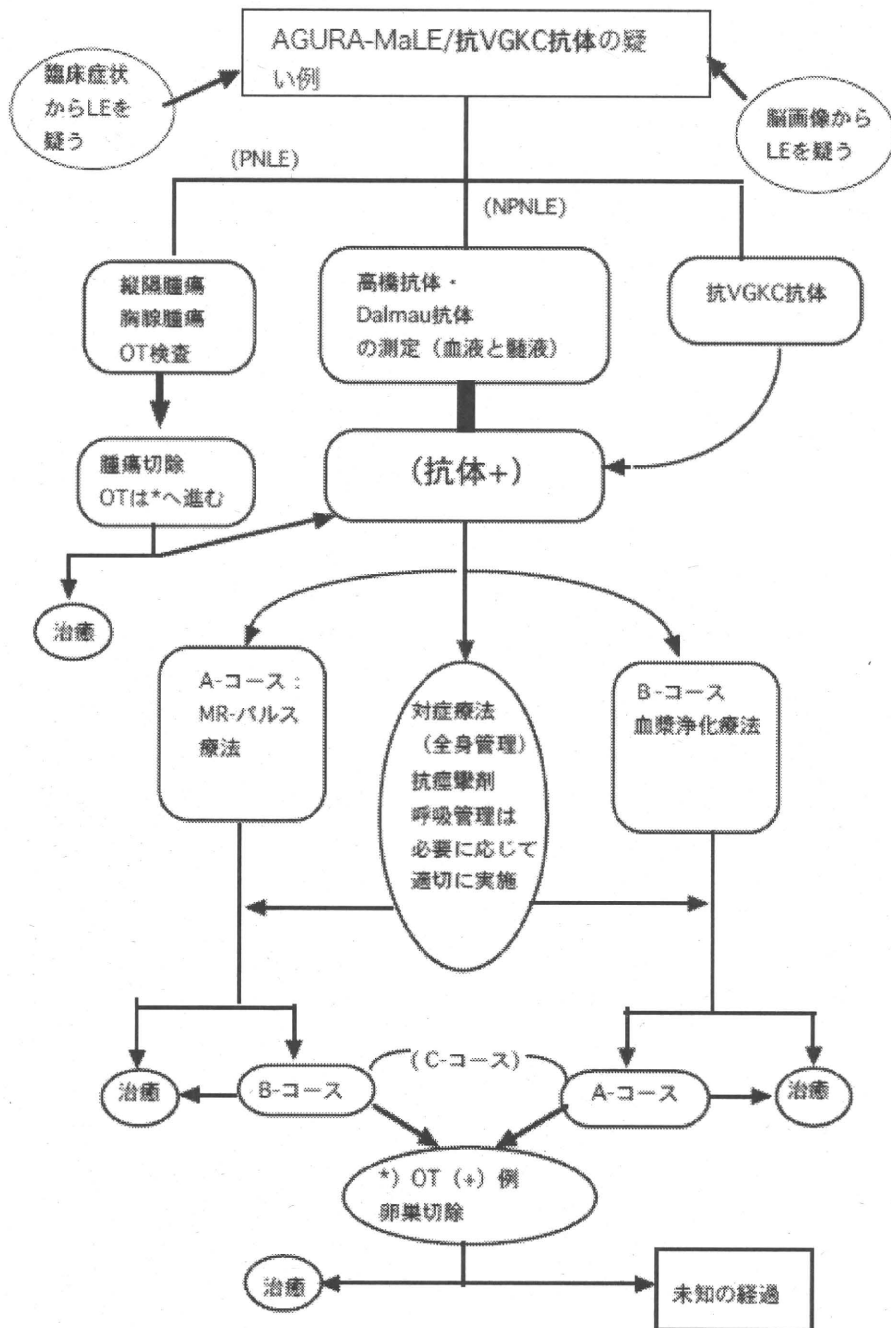


図5. GURA-MaLeの治療アルゴリズム (案)

D. 考察

【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%、ウィルス性（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。成人ではウィ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、小児においてもウィ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ィルスが証明できないHHV6脳炎・脳症などが多かった。よって、ウィ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（NPNHAE）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NHAE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GluR ϵ 2のELISA法（抗GluR ϵ 2-NT2抗体、抗GluR ϵ 2-M3-4抗体、抗GluR ϵ 2-CT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）での検討では免疫ノット法（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GluR ϵ 2（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NMDAGluR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 1-N末に対する抗体を、後者はGluR ζ 1-N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度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、血清中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、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GluR ϵ 2分子を抗原とするIgG型-GluR ϵ 2抗体(immunoblot法)は40%とかなり低いが、抗GluR ϵ 2-NT2抗体(ELISA)は81.3%、抗GluR ϵ 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受容体複合体抗体(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GluR ϵ 2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MMP-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、炎症の原因はウイ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。よってウイルス感染が契機となるNHLE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。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NHLEも稀ではないことが示唆された。これらのことは、NHLE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NHLEとウイルス】

非傍腫瘍性NHLE61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NHLE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。

【NHLE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NHLE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、NHLE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NHLEと類似の症状を呈するが、非傍腫瘍性NHLE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、痙攣重責、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 (NHALE-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粋健忘症候群、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。NHALE、NHALE-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。

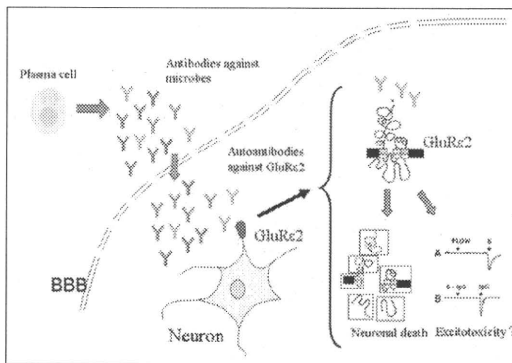
【卵巣奇形腫の免疫病理解析】

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NHALE (NHALE-OT) が注目されている。

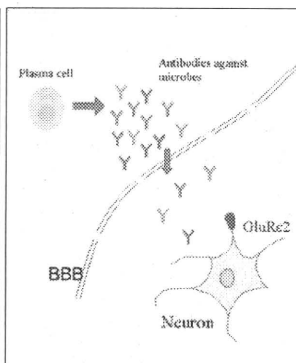
2008年度研究で、成熟卵巣奇形腫の中の脳組織内にはリンパ球の浸潤がみられ、脳組織がリンパ球のターゲットとなった免疫病態があることを、1例ではあるが示唆した。

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、NHALE-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. ラスムッセン脳炎と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎. 臨床神経学, 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NHALE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NHALE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、今後さらに検討していきたい。

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破綻は脳炎発病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 5〉

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
総括研究報告書

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) 自己免疫の役割を主体に研究を行った。

【疫学】鳥取県における前向き調査で、非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHAE) 症例を主体とする傍感染性脳炎・脳症の罹患率は2.2/100万人年であった。

【診断スキームの更新】2010年度は、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームに、①疫学、②血液脳関門、③サイトカイン、④病理、⑤橋本脳症を掲載し、16項目34頁となった (<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)。

【NMDA型GluR抗体測定法の感度】非傍腫瘍性NHAEにおける髄液中抗GluR ϵ 2抗体 (イムノブロット法IgG) の陽性率は33.7%、髄液中抗GluR ϵ 2抗体 (イムノブロット法IgM) の陽性率は27.5%、抗GluR ϵ 2-NT2抗体の陽性率は77.5%、抗GluR ϵ 2-CT抗体の陽性率は83.3%、抗GluR ζ 1-NT抗体の陽性率は56.9%、抗GluR ζ 1-CT抗体の陽性率は71.4%、抗GluR δ 2-NT抗体の陽性率は70.8%、抗GluR δ 2-CT抗体の陽性率は71.4%で、Dalmau法のcell-based assayの陽性率は75.0%であった。

【抗NMDA型GluR抗体の臨床的意義】非傍腫瘍性NHAEにおいて、抗GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体、抗GluR ζ 1 (NR1) 抗体、抗GluR δ 2抗体を測定したところ、病勢と比例して変動していると思われるのはNMDA型GluRである抗GluR ϵ 2抗体及び抗GluR ζ 1抗体のみであった。中枢神経系で主に吸着するのは抗GluR ϵ 2抗体で、その吸着は抗体濃度に比例して回復期まで持続することが推定され、抗GluR ζ 1抗体は初期に吸着が起こるが、20日以降は吸着が少なくなることが推測された。

【抗NMDA型GluR抗体の基礎的意義】GluR ϵ 2N/R+GluR ζ 1N/R-EGFP共発現細胞 (ϵ 2+ ζ 1) において、血清との反応を37°Cの条件で行うと、NMDA型GluRが細胞内に取り込まれたが、GluR ζ 1の単独発現細胞 (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。抗GluR ϵ 2抗体陽性NHAE患者髄液による培養ラット胎児神経細胞の10DIVでのアポトーシスへの影響の検討では、髄液全体ではアポトーシスの増加が、髄液IgG分画ではアポトーシスの抑制がみられた。このことからNHAE患者髄液IgGはNMDA型GluRを内在化し、興奮毒性を抑制し、アポトーシスを防ぎ、脳を守る作用があるが、髄液中のIgG以外の成分はアポトーシスを促進し、興奮毒性などをもたらしている可能性が明らかとなった。抗NMDA受容体抗体陽性髄液が海馬ニューロンの長期増強誘導 (LTP) を抑制することを明らかにした。

【卵巣奇形腫の免疫組織学的検討】NMDA型GluR 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、差異はみとめなかったが、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。

【抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎】本邦抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎では、およそ6割がVGKC複合体の構成分子であるLeucine-rich glioma-inactivated 1 (LGI1) に対する抗体を有していた。一方、Isaacs症候群の一部と、Morvan症候群では、抗VGKC抗体が認識する抗原が、末梢神経系における

VGKC複合体の構成分子であるcontactin-associate protein (CASR) 2であることが分かってきた。

【抗NAE抗体陽性脳症】抗NAE抗体陽性の小脳失調型橋本脳症血清を添加したプロテオーム解析で、エネルギー代謝やロイシン代謝に関与する酵素蛋白の一つであるmethylcrotonoyl CoA carboxylaseの発現に有意な減少が認められた。

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、群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学、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
- 米田 誠、福井大学医学部第2内科（神経内科）、准教授
- 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
- 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、鳥取大学医学部脳神経医科学

講座脳神経内科学分野、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
- 渡邊 修、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科、神経内科・老年病学、講師
- 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
- 吉川 哲史、藤田保健衛生大学医学部小児科、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、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）
- 西田 拓司、東京大学医学部附属病院精神神経科、特任講師
- 田畑 絵美、佐賀大学医学部内科学

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）。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。

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

1. 2005年度から2009年度研究のまとめ

2005-2007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）、それに続く2008-9年度の「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」(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。

【脳炎疫学】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、小児~56.4/100万人年と推定されている。

【診断スキームの更新】2009年度は、「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームに、①MRI拡散強調画像による診断スキーム(参照1-資料8)、②非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHALE)の発作症状(seizure symptom)(参照1-資料7)、③NMDA型GluR構造と抗GluR ϵ 2(NR2B)抗体(参照3-資料9)、④非ヘルペス性辺縁系脳炎・脳症の予後(参照1-資料13)を加え、充実させた

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)。

【NMDA型GluRサブユニット抗体測定法の改良】イムノプロット法より感度が高く簡便なELISAによるGluR ζ 1(NR1)のN末・C末抗体測定法を確立した。

【抗NMDA型GluR複合体抗体測定法(cell-based assay)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(ϵ 2+ ζ 1)と、GluR ζ 1N/R-EGFPを単独で発現させた細胞(ζ 1)を用いて、Dalmau法よりも安定したNMDA型GluR細胞外ドメインに対する抗体スクリーニングを可能とした。

【卵巣奇形腫を伴う非ヘルペス性急性脳炎(NHALE-OT)の抗NMDA型GluR抗体】NHALE-OTでは、GluR ϵ 2(NR2B)及びGluR ζ 1(NR1)のN末・C末に対する幅広いエピトープの抗体が末梢で産生され、髄液に移行し脳炎病態に関与すると推定した。

【卵巣奇形腫の免疫組織学的検討】卵巣奇形腫では神経組織の発現とリンパ球や単球・マクロファージの浸潤を認めるものの、脳炎例と非脳炎例の卵巣奇形腫の比較では、浸潤の程度や浸潤の部位について明らかな違いは見いだせなかった。

【新たな脳炎関連自己抗原・抗体】二次元免疫プロットと質量分析の手法を用いNHALE患者の急性期髄液中より抗Pyridoxal kinase抗体

と抗Lamin A抗体を検出した。

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)の血液脳関門病態】非傍腫瘍性NHALE急性期では、血液脳関門の破たんの程度の指標であるGluR ϵ 2分子の各ドメインに対する抗体の髄液/血清の比(R-M3-4、R-CT)は脳炎発病4-5日後に最大となり、その程度が予後と相関することを明らかにした。

【NHALEの神経細胞障害】非傍腫瘍性NHALEには、血清リン酸化型NF-H(pNF-H)値が上昇し神経細胞脱落が示唆される症例と、血清pNF-H値が正常範囲で、神経細胞の脱落を認めない症例(約6割)が存在した。

【NHALEのウイルスの関与】非傍腫瘍性NHALE E61例の髄液検体中、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が検出されたに過ぎない。

【NHALEの脳画像】NHALEのMRI拡散強調画像病変の特徴としては、①両側あるいは片側の内側側頭葉に淡いADCの低下を示すDWI高信号病変で、②14例中2例(14.3%)に出現し、頻度は比較的low、③0~1病日と早期に出現することが上げられた。脳炎の経過中に痙攣発作を伴い、回復期に大脳皮質に層状のT1WI高信号域を伴った脳萎縮を認める頭部MRI画像病変は、脳炎に加えてけいれんによる影響も考慮する必要がある。

【抗NMDA受容体複合体抗体陽性例の臨床的特徴】脳炎症状を呈する112例で抗体陽性・陰性例の臨床的特徴を比較すると、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】非ヘルペス性辺縁系脳炎・脳症の約20%を占め、壮年期発症で、亜急性の臨床経過をたどり、SIADHを合併する場合は、抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎を積極的に疑う必要がある。病初期に腫瘍が検出されなくても、四肢のじんじん感を呈したり、再発再燃したり、治療抵抗性を呈する症例については引き続き、定期的に腫瘍の検索を行う必要がある。

【抗NAE抗体陽性脳症】臨床特徴として、①急性・亜急性に発症、②意識障害、幻覚・妄想などの精神症状を呈する、③脳波の徐波化がみ