
Clinical Findings

Case 1

Four days after fever onset in September 1985, a 43-year-old Japanese woman developed grand mal seizures, which expanded to status epilepticus and the patient was transferred to the Geriatric Research Institute and Hospital. At the admission, she showed status epilepticus and several anticonvulsants were not effective and she was controlled under respirator. CSF examinations showed cells 16/mm³, protein 73 mg/dl, glucose 100 mg/dl. EEG showed periodic sharp waves. Brain CT 15 days after the onset showed low densities in the bilateral medial regions of the temporal lobes, however MRI could not be examined at that time. Viral titers in CSF were unremarkable including herpes simplex virus. She died 28 days after the onset.

Case 2

Maeda et al (14) previously reported this patient in a Japanese language journal in 1974, and we reexamined the case pathologically. Three days after common cold-like symptoms in March 1970, a 32-year-old Japanese woman developed confusion, abnormal behavior and automatism. Ten days after the onset, she refused to eat and showed urinary incontinence, forced laughing, tic-like involuntary movement and high fever, and was transferred to our hospital 13 days after onset. Her consciousness was drowsy, then myoclonus and grand mal seizures appeared 17 days after the onset. Status epilepticus and decerebrate posture persisted for 10 days. On admission to Gunma University Hospital, CSF examinations showed cells 67/mm³, protein 25 mg/dl, glucose 75 mg/dl. Virus titers were not examined. EEG showed diffuse high delta activities with 5-6 c/s sporadic theta waves in the parietal regions. She died 26 days after the onset.

Case 3

Eleven days after fever onset and perioral eruptions in September 2003, a 27-year-old Japanese woman developed visual hallucinations and depressive state, and was admitted to the Department of Neurology, Nagoya University Hospital. She showed a moderately high fever, intermittent grand mal seizure without apparent motor palsy. Laboratory data were as follows. Serum CK 2,234 IU/l, TSH 18.09 μ U/ml, fT3 2.45 pg/ml, fT4 0.84 ng/dl, anti-thyroid peroxidase antibody 97.36 U/ml and anti-thyroglobulin antibody 14.42 U/ml. Serum autoantibody against alpha-enolase was negative. CSF examinations showed cells 14 /mm³, protein 24 mg/dl, glucose 66 mg/dl. Viral titers in CSF were unremarkable including herpes simplex virus. MRI studies were unremarkable. Pelvic CT was also unremarkable. Steroid pulse therapy was not effective. Generalized seizures were continued, and pancytopenia, septic shock were added. She died of multiple organ failure 50 days after the onset.

Materials and Methods

We examined the brains of the three patients described above and 13 brains of control patients from the Geriatrics Research Institute and Hospital. Ten controls showing hippocampal sclerosis were selected from among 320 serial autopsies files, and patient ages ranged from 54 to 90 years, and survival durations ranged from 17 days to 10 months after acute respiratory failure. And another 3 cases without pathologic cerebral changes including hippocampus were also examined. In all cases, the autopsies were performed in accordance with established procedures and the samples were used in this study after obtaining informed consent from the family of each patient.

Brains were fixed in 4% paraformaldehyde in phosphate-buffered solution (PBS) (pH 7.4) and multiple sections including the hippocampus were embedded in paraffin. Five micrometer thick sections were examined by H-E and K-B staining, and were also immunostained, which was carried out using a polyclonal rabbit anti-GFAP antibody (1 : 1,000, Dako, Denmark), monoclonal mouse anti-phosphorylated neurofilament (SM1 31) (1 : 10,000, Sternberger, USA), monoclonal mouse anti-synaptophysin antibody (1 : 200, Chemicon, USA), polyclonal rabbit anti-herpes simplex virus type 1 (HSV-1) antibody (1 : 800, Dako, Denmark), monoclonal mouse anti-human CD68 antibody (1 : 200, Dako, Denmark). CD68 antibody labels macrophages and other members of monoclonal phagocytes. For enhancement, autoclave treatment for 5 minutes was performed for synaptophysin and CD68. Sections were blocked in normal serum for 30 minutes at room temperature, then labeled with the first antibody at 4°C overnight, washed in PBS for 30 minutes, incubated with the second antibody provided by Histofine SAB-PO kit (Nichrei, Japan), washed in PBS for 30 minutes, and finally visualized by the avidin-biotin-peroxidase method.

Pathological Findings

Case 1

Brain weight was 1,190 g, and macroscopic findings were unremarkable. Microscopically, there were no lymphocyte infiltrations in the meninges or brain parenchyma, and there were no infarcts or demyelination either. Neurons in the CA 1 (15) were markedly lost, and astrocytic gliosis, spongiosis (Fig. 1), however, there were no anoxic changes in the remaining neurons (Fig. 2), and binucleated astrocytes were rarely seen (Fig. 2). Hippocampal granular neurons were also lost with astrocyte proliferations. There were no neuronophagia or perivascular lymphocytic infiltrations in the hippocampal areas. CD68 immunostaining showed increased microglia/macrophages in the hippocampal areas. HSV-1 immunostaining was negative, and synaptophysin were relatively well preserved. Astrocyte proliferations and microglia/

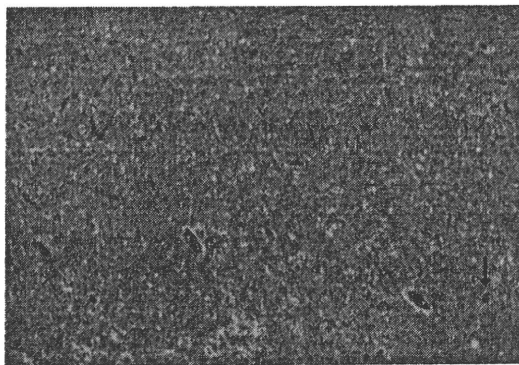


Figure 1. Low magnification of hippocampal CA1 area in Case 1. Neuronal loss with astrocyte proliferations and spongiosis were apparent in CA1. Perivascular lymphocytic infiltrations were not observed. Hematoxylin and Eosin staining, $\times 40$.

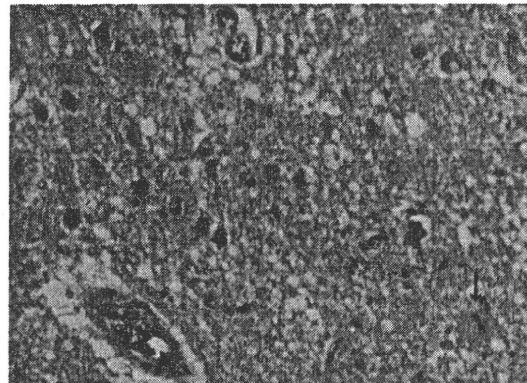


Figure 2. High magnification of right low corner of Figure 1. There were few anoxic changes in the remaining neurons, and binucleated astrocytes were rarely seen (binucleated astrocyte shown by the arrows was the same in Figs. 1 & 2). Hematoxylin and Eosin staining, $\times 200$.

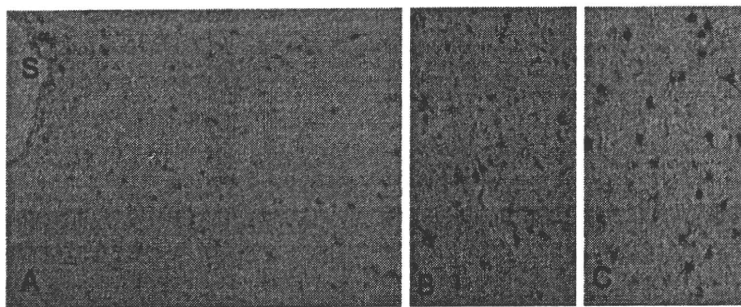


Figure 3. Insular cortex and claustrum in a same section of Case 1. There were a few CD68-positive microglia/macrophages in the insular cortex (A). However, CD68-positive microglia/macrophages (B) and GFAP-positive astrocytes (C) were abundant in the claustrum. S, subarachnoid space; A, $\times 100$; B, $\times 200$; C, $\times 200$.

macrophage infiltrations were not apparent in the cerebrum (Fig. 3A), however those changes were clearly present in the claustrum (Fig. 3B, 3C) and mildly in the basal ganglia.

There was no tumor in the general organs including ovary.

Case 2

Brain weight was 1,200 g and the only macroscopically abnormal finding was brain swelling. There was no necrosis or bleeding. Mild lymphocytic infiltrations were observed in the subarachnoid spaces throughout in the cortices, brain stem and cerebellum (Fig. 4A, 4B). In the parenchyma, perivascular lymphocytic infiltrations were also seen in the superficial layers of the cortices (Fig. 4A), in the basal ganglia and in the Ammon's horns (Fig. 4B). In the Ammon's horns, neurons were relatively well preserved and there was no gliosis but limited neuronophagia was seen in the CA1 area (Fig. 4C). Microglia/macrophage infiltrations were apparent (Fig. 4D); however, there was no gliosis in those areas. Hippocampal granular neurons were well preserved. Diffuse microglia/macrophage infiltrations were observed throughout in the cerebral cortices. HSV-1 immunostaining was negative. Bilateral soybean-sized cysts were seen in the

ovary, however histological examinations did not show teratoma.

Case 3

Brain weight was 1,276 g and the macroscopic findings were unremarkable. Histologically, the brain showed slight edematous and many small pericapillary bleeding, however, there was no necrosis, vasculitis or intranuclear inclusion. Mild lymphocytic infiltrations were seen around the small vessels in the cortices (Fig. 5A) and in the subarachnoid spaces. Lymphocytic infiltrations were somewhat predominant in the frontal lobe, however mild lymphocytic infiltrations were also seen in the basal ganglia, brain stem and cerebellum. Microglia/macrophages diffusely infiltrated the cerebral cortices (Fig. 5B). Neurons in the hippocampal areas were well preserved (Fig. 5C), and microglia/macrophages were diffusely infiltrated in the hippocampal areas (Fig. 5D) without gliosis. HSV-1 immunostaining was negative.

Hippocampal sclerosis

In our 10 patients with hippocampal sclerosis, many remaining neurons in CA1 areas showed anoxic features such

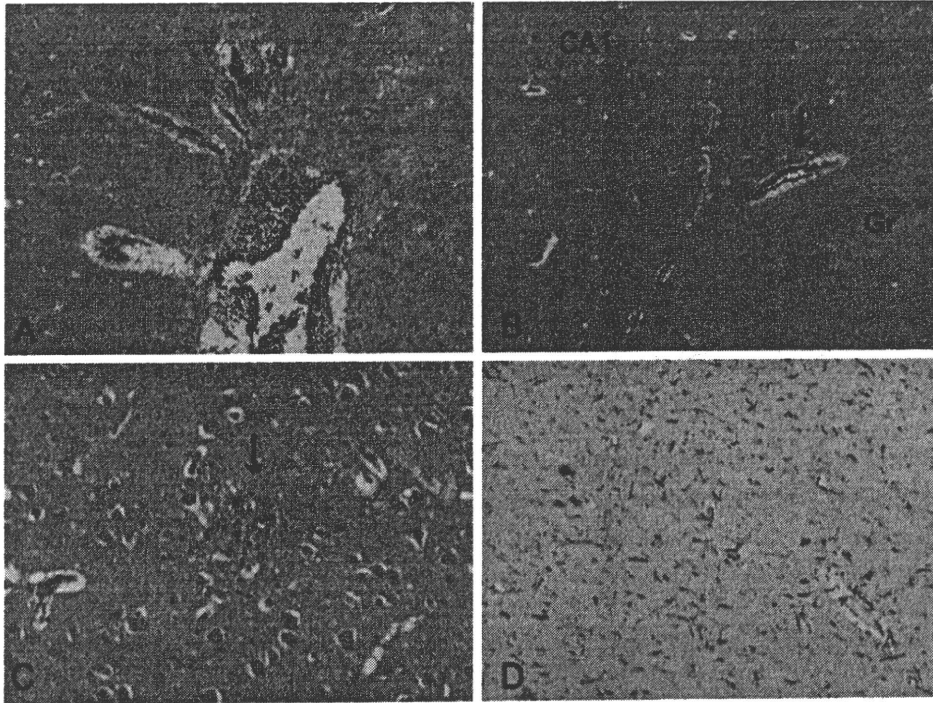


Figure 4. Lymphocytic infiltrations were seen in the subarachnoid spaces and in the perivascular spaces of the superficial cortices (A) and in the hippocampal areas (arrow, B) in Case 2. A few neuronophagia were seen in the CA1 area (arrow), and rod-shaped CD68-positive cells were abundant (D), but there were few GFAP-positive astrocytes (not shown). C and D were almost same areas in serial sections. Gr: granular cell layer. A, Hematoxylin and Eosin staining $\times 100$; B, $\times 40$; C, $\times 200$; D, Hematoxylin and Eosin staining $\times 200$.

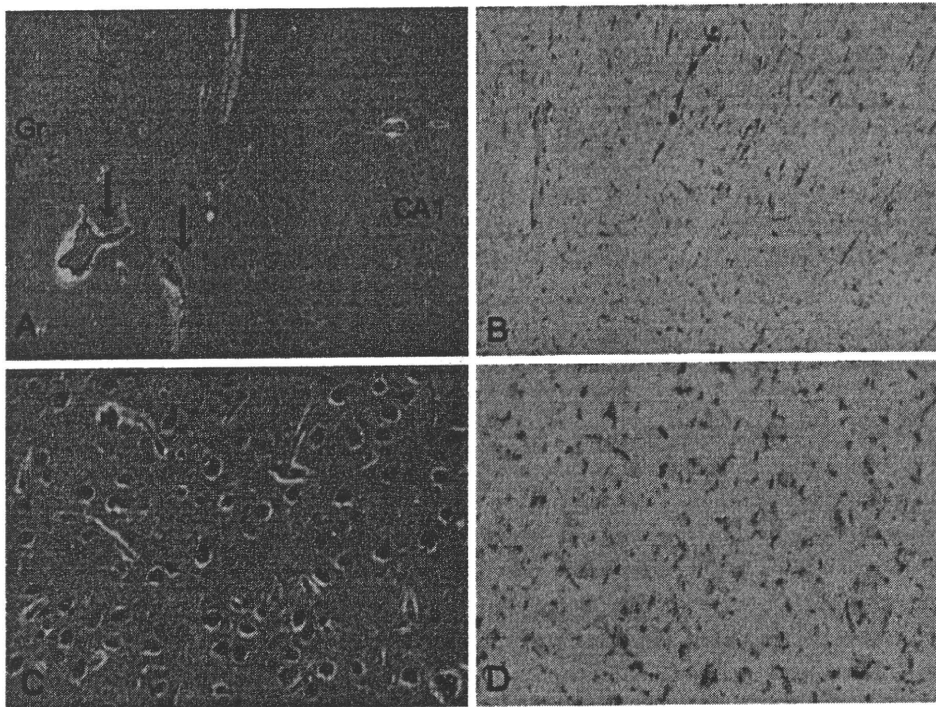


Figure 5. Perivascular lymphocytic infiltrations were seen in the molecular layers of the hippocampus (arrows, A), and CD68 positive microglia/macrophage were increased in the cortex (B) in Case 3. Neurons were well preserved in CA1 (C) with abundant CD68-positive cells (D). C and D were almost same areas in serial sections. Gr, granular cell layer; A, Hematoxylin and Eosin staining $\times 40$; B, $\times 200$; C, Hematoxylin and Eosin staining $\times 200$; D, $\times 200$.

as eosinophilic atrophic changes in the earlier stages, and marked neuronal loss with gliosis in the advanced stages.

Discussion

Because many previously reported cases of NHALE have shown a rather favorable prognosis, only a few autopsied patients have been reported. Mochizuki et al (8) reported a 59-year-old woman with disturbance of consciousness, uncontrolled generalized seizures, and abnormal MRI signals in the bilateral medial temporal lobe and along the lateral part of the putamen. She died 12 days after onset. Autopsy examination demonstrated scattered foci consisting of neuronal loss, neuronophagia and some perivascular lymphocytic infiltrations in the hippocampus and amygdala. However, there was no hemorrhagic necrosis in the brain and HSV was also immunohistologically negative. They suggested that their patient showed neuropathological changes of NHALE as a possible new clinicopathological entity. Another similar patient was reported in an abstract form. Briefly, Maki et al (16) reported a 53-year-old woman who died 36 days after the onset of illness and showed abnormal MRI findings in the hippocampus and amygdala. She developed generalized seizures and status epilepticus and finally multiple organ failure. Autopsy disclosed marked neuronal loss and gliosis mainly in the CA1 areas and amygdala without lymphocytic infiltrations and necrosis in the brain.

Our Case 1 is similar to the two patients described above with regard to clinical features and pathological findings mainly limited to the hippocampal areas. Classical hippocampal sclerosis in which neuronal loss is most severe in CA1 accompanied by gliosis may be induced by many causes, such as epilepsy, stroke, cardiopulmonary arrest, encephalitis and neurodegenerative diseases (17-19). In our Case 1 and that reported by Maki et al (16), the pathology was similar to hippocampal sclerosis without inflammatory changes, however the pathomechanism remains obscure. One possibility is that the two patients showed more prolonged courses than the case of Mochizuki et al (8), so the inflammations might be subsided. The second possibility is that the hippocampal lesions were caused by severe seizures. Misumi et al (20) reported a 30-year-old man with sudden onset seizure showing abnormal MRI signal in the right medial temporal lobe, and brain biopsy showed edema without specific abnormalities and they suggested that secondary brain edema induced by seizure must be considered. Seizure-induced transient brain edema is not rare in the temporal lobe, and these findings may reflect transient cytotoxic and vasogenic edema induced by seizure (21-24). The majority of NHALE patients showed severe generalized seizures or status epilepticus, so we must carefully consider this possibility when abnormal MRI findings are seen in the medial regions of the temporal lobe. In our 10 patients with hippocampal sclerosis, many remaining neurons in CA1 areas showed anoxic features such as eosinophilic atrophic changes. However, the remaining neurons in CA1 of our

Case 1 did not show such eosinophilic atrophic changes, therefore the hippocampal changes may not be simply caused by anoxia. More studies are needed to consider the pathogenesis of the hippocampal lesions.

Clastrum frequently showed abnormal MRI findings in NHALE cases (11, our cases: data not shown), and astrocytic proliferations and microglia/macrophage infiltrations observed in the claustrum in our Case 1 may correlate with those abnormal MRI findings.

Kamei (12) proposed a new clinical entity named acute juvenile female non-herpetic encephalitis (AJFNHE), and the characteristics of AJFNHE were defined as follows: 1) a clinical profile of encephalitis with psychosis, disturbance of consciousness, and/or convulsion, 2) progression to coma and status epilepticus, 3) a prolonged clinical course, 4) a relatively good long-term outcome despite a severe clinical course in the acute stage, 5) a predilection for juvenile females, 6) a lack of abnormal intensity on cranial MRI, 7) negative data for HSV infection. Clinically, our Cases 2 and 3 were almost consistent with AJFNHE criteria, however no MRI was done in Case 2. Case 3 showed hypothyroid laboratory data with positive anti-thyroid peroxidase and anti-thyroglobulin antibodies, therefore we must differentiate Hashimoto's encephalopathy. Hashimoto's encephalopathy has been recognized as rare clinical entities and characterized by progressive or fluctuating neurological symptoms, and response to corticosteroid treatment is universally excellent (25, 26). Postmortem examination demonstrated mild perivascular lymphocytic infiltration throughout the brain and leptomeninges plus diffuse gliosis of gray matter in the cortex and basal ganglia, and to a lesser extent, the parenchymal white matter (25). Recently, Fujii et al (27) reported that autoantibodies against the amino terminal of alpha-enolase are a useful diagnostic marker for Hashimoto's encephalopathy. Clinical courses with untreatable status epilepticus, the lack of a steroid therapy and the absence of autoantibody against alpha-enolase may be different from those in Hashimoto's encephalopathy.

Our Cases 2 and 3 differed from Case 1 with regard to the absence of limited pathology in the limbic system, microglia/macrophages widely infiltrated the brain including the hippocampal areas and mild lymphocytic infiltrations were observed in the subarachnoid spaces and in the parenchyma. HSV infections were ruled out because of the lack of hemorrhagic necrosis, intranuclear inclusions and negative HSV on the immunohistological study. These mild inflammatory changes with diffuse microglia/macrophages activation in the brain might be the main pathological findings in our Cases 2 and 3, and the pathological findings suggest the mild viral infectious or postinfectious state in the CNS. Relationship between NHALE and AJFNHE is obscure, however both diseases seem to be different in some points. Especially, NHALE showed more limited pathology in the limbic system, whereas AJFNHE showed widespread pathology with microglia/macrophage activation. N-methyl-D-aspartate glutamate receptor epsilon 2 (GluR ϵ 2) is frequently found

in the serum and CSF in both disorders, suggesting an auto-immune mechanism (10, 28). Recently, Dalmau et al (3) reported paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor encephalitis associated ovarian teratoma. Tumor resection and immunotherapy resulted in improvement or full recovery of eight of nine patients. Two of three patients without tumor resection died of neurological deterioration. Two autopsies showed extensive microgliosis, rare T-cell infiltrates, and neuronal degeneration predominantly involving, but not restricted to the hippocampus. Similar extensive microgliosis were also seen in our Cases 2 and 3. We have to collect and examine many autopsied patients to order to

clarify the pathomechanism. More recently, Iizuka et al (29) reported that 4 Japanese women diagnosed with AJFNHE showed positive against antibodies to NR1/NR2 heteromers of NMDA receptor in serum or CSF, and their findings indicate that majorities of AJFNHE in Japan may anti-NMDA receptor encephalitis.

Acknowledgement

This work was supported by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, and also from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan to K. Okamoto.

References

1. Ances BM, Vitaliani R, Taylor RA, et al. Treatment-responsive limbic encephalitis identified by neuropil antibodies: MRI and PET correlates. *Brain* 128: 1764-1777, 2005.
2. Bataller L, Kleopa KA, Wu KG, Rossi JE, Rosenfeld MR, Dalmau J. Autoimmune limbic encephalitis in 39 patients: immunophenotypes and outcomes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78: 381-385, 2007.
3. Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, et al. Paraneoplastic anti-N-Methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol* 61: 25-36, 2007.
4. Graus F, Saiz A. Encefalitis limbica: un síndrome probalemnete infradiagnosticado. *Neurologia* 20: 24-30, 2005.
5. Pozo-Rosich P, Clover L, Saiz A, Vincent A, Graus F. Voltage-gated potassium channel antibodies in limbic encephalitis. *Ann Neurol* 54: 530-533, 2003.
6. Shinohara T, Kojima H, Nakamura N, et al. Pathology of pure hippocampal sclerosis in a patients with dementia and Hodgkin's disease: the Ophelia syndrome. *Neuropathology* 25: 353-360, 2003.
7. Asaoka K, Shoji H, Nishizaka S, et al. Non-herpetic acute limbic encephalitis: cerebrospinal fluid cytokines and magnetic resonance imaging findings. *Intern Med* 43: 42-48, 2004.
8. Mochizuki Y, Mizutani T, Isozaki E, Ohtake T, Takahashi Y. Acute limbic encephalitis: A new entity? *Neurosci Lett* 394: 5-8, 2006.
9. Shoji H, Asaoka K, Ayane M, Ichiyama T, Sakai K. Non-Herpetic acute limbic encephalitis: a new subgroup of limbic encephalitis? *Intern Med* 43: 348, 2004.
10. Hayashi Y, Matsuzaki Z, Takahashi Y, et al. [A case of non-herpetic acute encephalitis with autoantibodies for ionotropic glutamate receptor delta 2 and epsilon 2]. *Rinsho Shinkeigaku* 45: 657-662, 2005 (in Japanese).
11. Ishida H, Hattori H, Takaura N, et al. A child with non-herpetic acute limbic encephalitis affecting the claustrum and hippocampus. *No to Hattatsu* 38: 443-447, 2006 (in Japanese).
12. Kamei S. Acute juvenile female non-herpetic encephalitis (AJFNHE). *Adv Neurol Sci* 48: 827-836, 2004.
13. Yuasa T, Nemoto H, Kimura A. Acute reversible limbic encephalitis developing with psychosis and prone to affect young woman without notable changes in MRI. Report of 4 cases and discussion. *Neurol Med* 59: 45-50, 2003.
14. Maeda S, Nakayama H, Isaka K. Three cases of acute and diffuse lymphocytic meningoencephalitis. From the viewpoint of clinical and pathological diagnosis. *The Saishin-Igaku* 29: 568-574, 1974 (in Japanese).
15. Parenti A. Limbic system. *Carpenter's Human Neuroanatomy*. 9th Ed. Williams & Wilkins, 1996: 744-794.
16. Maki T, Kokubo Y, Nishida H, et al. An autopsy case of non-herpetic limbic encephalitis. *Neuropathology* 24 (Suppl): 99, 2004 (abstract).
17. Attems J, Jellinger KA. Hippocampal sclerosis in Alzheimer disease and other dementias. *Neurology* 66: 775, 2006.
18. de Lanerolle NC, Kim JH, Williamson A, et al. A retrospective analysis of hippocampal pathology in human temporal lobe epilepsy; evidence for distinctive patient subcategories. *Epilepsia* 44: 677-687, 2003.
19. Leverenz JB, Agustin CM, Tsuang D, et al. Clinical and neuropathological characteristics of hippocampal sclerosis: a community-based study. *Arch Neurol* 59: 1099-1106, 2002.
20. Misumi Y, Hirato T, Matsumoto N, Yamashita T, Uyama E, Uchino M. [Seizure-induced transient brain edema in the medial temporal lobe]. *Rinsho Shinkeigaku* 46: 214-217, 2006 (in Japanese).
21. Chan S, Chin SS, Kartha K, et al. Reversible signal abnormalities in the hippocampus and neocortex after prolonged seizures. *AJNR Am J Neuroradiol* 17: 1725-1731, 1996.
22. Cox JE, Mathews VP, Santos CC, Elster AD. Seizure-induced transient hippocampal abnormalities on MR: correlation with positive emission tomography and electronencephalography. *Am J Neuroradiol* 16: 1736-1738, 1995.
23. Kim JA, Chung JI, Yoon PH, et al. Transient MR signal changes in patients with generalized tonicoclonic seizure or status epilepticus: periictal diffusion-weighted imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 22: 1149-1160, 2001.
24. Silverstein AM, Alexander JA. Acute postictal cerebral imaging. *Am J Neuroradiol* 19: 1485-1488, 1998.
25. Duffey P, Yee S, Reid IN, Bridges LA. Hashimoto's encephalopathy. Postmortem findings after fatal status epilepticus. *Neurology* 61: 1124-1126, 2003.
26. Oide T, Tokuda T, Yazaki M, et al. Anti-neuronal autoantibody in Hashimoto's encephalopathy: neuropathological, immunohistochemical, and biochemical analysis of two patients. *J Neurol Sci* 217: 7-12, 2004.
27. 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* 162: 130-136, 2005.
28. Takahashi Y. Infections as causative factors of epilepsy. *Future Neurol* 50: 73-78, 2006 (in Japanese).
29. Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan. Long-term outcome without tumor removal. *Neurology Sep* 26; [Epub ahead of print], 2007.

神経疾患と抗 NMDA 型グルタミン酸受容体抗体

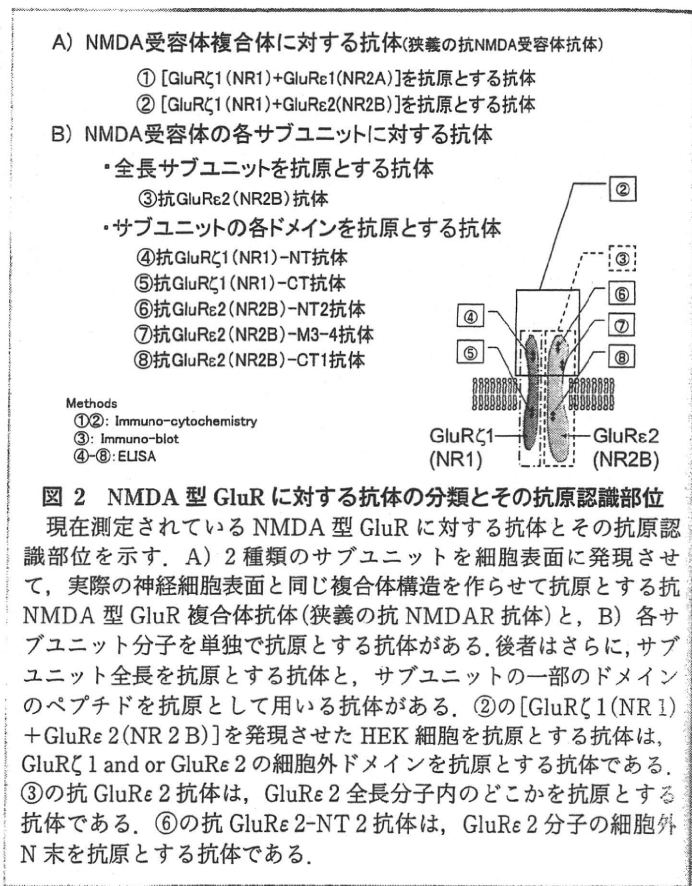
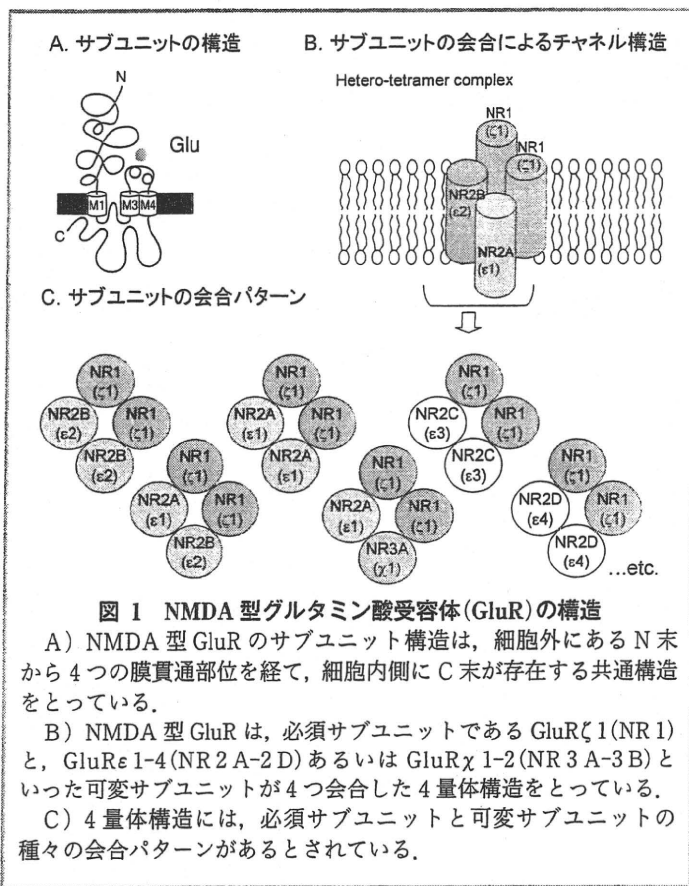
高橋幸利
たかはしゆきとし

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・小児科、岐阜大学/小児病態学

最上友紀子
もがみ ゆきこ

国立病院機構
静岡てんかん・神経医療センター

高山留美子 同
たかやま るみこ



はじめに

抗 NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型グルタミン酸受容体抗体の関係する神経疾患は、従来の抗神経抗体による傍腫瘍症候群などとは異なり、回復可能な機能的障害主体で、予後が比較的よいことで最近注目されている。

NMDA 型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、イオンチャンネル型と代謝型が存在する^{1,2)}。イオンチャンネル型 GluR は薬理的に NMDA 型と non NMDA 型に分類され¹⁻³⁾、マウスの遺伝子解析からの命名とラットの遺伝子解析からの命名があるが、マウス、ラット、ヒトの遺伝子配列にはかなり相同性がある。イオンチャンネル型 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ンネルを形成している。NMDA 型 GluR は、必須となる GluR ζ 1(NR1) と、GluRe 1-4(NR2 A-2 D) あるいは GluR χ 1-2(NR3 A-3 B) としたサブユニットが 4 つ会合した 4 量体(複合体)構造をとり(図 1 A, B)、イオンチャンネルとして機能しているが、種々のサブユニット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、細胞質側に C 末が存在する共通構造をとっている(図 1 A)。

364

イオンチャンネル型 GluR 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、神経細胞死等に関与し、中枢神経系疾患の病態に関与する機構には種々の病態が知られている^{3,4)}。

抗 NMDA 型 GluR 抗体の分類

NMDA 型 GluR が 4 つのサブユニットからなる多様性を有する複合体構造のため、NMDA 型 GluR に対する抗体という場合、多種の抗体が含まれる^{3,5-7)}。抗体検出に用いる抗原から分類すると、A) 2 種以上のサブユニットからなる NMDA 型 GluR 複合体を抗原として検出する抗体、B) NMDA 型 GluR 複合体を構成する個々のサブユニットを抗原として検出する抗体に大別される(図 2)。

A は Dalmau らの NMDA 型 GluR 複合体を認識する抗体で、日本では“抗 NMDA 受容体抗体”と呼ばれてきた⁸⁾。この抗体は、HEK 細胞に発現させた[NR1+NR2 B(NR2 A)] の NMDA 型 GluR 複合体とは反応するが、NR1 あるいは NR2 B(NR2 A) 単独サブユニットとは反応しない抗体として報告された。しかし現在では、主として NR1(GluR ζ 1) の N 末を認識しているとされ、奇形腫のない症例や脳炎以外の症例にもみつかっている^{3,9,10)}。

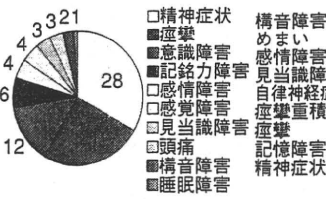
B の NMDA 型 GluR サブユニットを認識する抗体も NMDA 型 GluR を認識する抗体であり、広義の抗 NMDA 型 GluR 抗体である。

0289-0585/10/¥500/論文/JCOPY

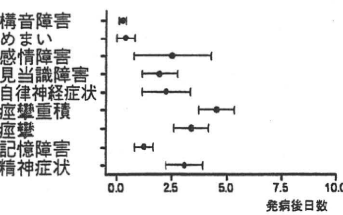
A. 辺縁系症状の定義

1. 精神症状等
行動異常、思考減衰、興奮状態、幻聴、幻臭、精神運動興奮状態、統合失調症状、せん妄、性欲亢進、など
 2. 記憶障害
 3. 見当識障害
 4. 感情障害
- *1-4のいずれかの症状を急性期に示した症例

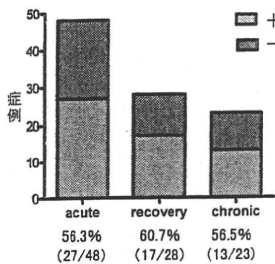
B. 初発神経症状



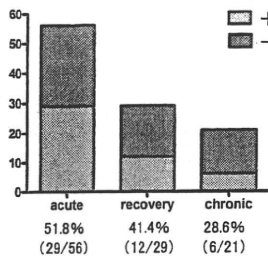
C. 急性期神経症状



D. 血清抗GluRε2抗体 (IgG or IgM)



E. 髄液抗GluRε2抗体 (IgG or IgM)



F. 髄液抗GluRε2抗体 陽性症例数 (IgG・IgM)

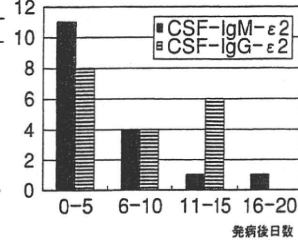
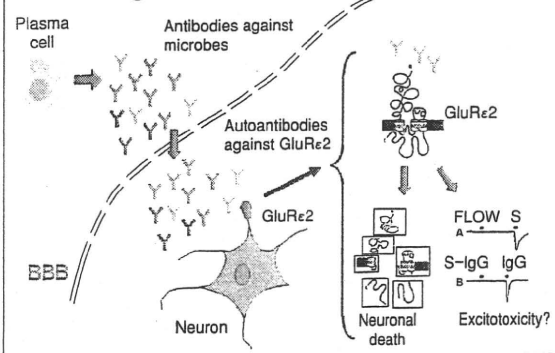


図3 成人非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHAE)の臨床症状と抗GluRε2抗体

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) NHAE症例の初発神経症状。C) NHAE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) NHAE症例の血清での抗GluRε2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) NHAE症例の髄液での抗GluRε2抗体陽性率を急性期・回復期・慢性期に分けて示した。F) NHAE症例の髄液抗GluRε2抗体が陽性となった病日をIgG型, IgM型ごとに示す。

A. Acute stage



B. Chronic stage

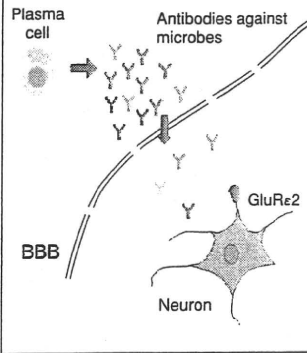


図4 抗NMDA型GluR抗体とNHAEの病態(高橋ら¹⁴⁾より)

血液中にできたN末エピトープを有する抗GluRε2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(A), 回復期・慢性期になると血液脳関門の回復により髄液中で低下し(B), 症状が回復する病態を考えている。

A, Bあわせて“広義の抗NMDA型GluR抗体”と呼び, Dalmat抗体は抗NMDA受容体“複合体”抗体(狭義の抗NMDA型GluR抗体)と呼ぶことにする^{3,5~7)}。

急性脳炎と抗NMDA型GluR抗体

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(non-herpetic acute limbic encephalitis, NHAE)では, 血清中抗GluRε2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GluRε2抗体は急性期に約50%, 回復期に約40%, 慢性期に約30%と次第に低下する(図3D~F)^{11~14)}。血液中にできたGluRε2分子の幅広い領域をエピトープとする抗GluRε2抗体は, サイトカインなどの関与による血液脳関門の破綻を介して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・慢性期になると血液脳関門の回復により髄液中で減少する病態仮説を考えている(図4)^{14,15)}。

卵巣奇形腫合併急性脳炎と抗NMDA型GluR抗体

われわれは, 卵巣奇形腫を伴う非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(non-herpetic acute limbic encephalitis with ovarian teratoma, NHAE-OT)19例の急性期髄液についてNMDA型GluRに関する抗体を検討し, 抗GluRε2抗体(図2③)は40.0%の症例で陽性, 抗GluRε2-NT2抗体(図2⑥)は69.2%の症例で陽性, Dalmatらの測定による抗NMDA型GluR複合体抗体(図2②)は90.9%の症

例で陽性であることを報告した⁵⁾。NHAE-OTではGluRε2のみならず, GluRε1の細胞外ドメインをエピトープとする抗体など, 複数のNMDA型GluRサブユニットをエピトープとする抗体が存在する可能性がある^{3,5,7,16)}。

文献

- 1) 森 寿. 生化学. 2005; 77: 619-29.
- 2) Groc L, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2006; 103: 18769-74.
- 3) 高橋幸利, 他. Neuroimmunology. 2009; 17: 245-55.
- 4) 高橋幸利, 他. 小児内科増刊号. 2009; 41: 728-34.
- 5) 高橋幸利, 他. 神経内科. 2008; 69: 350-8.
- 6) 高橋幸利, 他. 神経内科. 2009; 70: 87-96.
- 7) 高橋幸利, 他. Annual Review 神経2010. 中外医学社; 2010. p. 85.
- 8) Dalmat J, et al. Ann Neurol. 2007; 61: 25-36.
- 9) Dalmat J, et al. Lancet Neurol. 2008; 7: 1091-8.
- 10) Niehusmann P, et al. Arch Neurol. 2009; 66: 458-64.
- 11) 高橋幸利. 日本小児科学会誌. 2002; 106: 1402-11.
- 12) Takahashi Y, et al. Neurology. 2003; 61: 891-6.
- 13) Takahashi Y, et al. Epilepsia. 2005; 46(suppl 5): 152-8.
- 14) 高橋幸利, 他. 臨床神経学. 2008; 48: 163-72.
- 15) 高橋幸利. 急性脳炎・脳症のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・早期診断・治療法確立に関する臨床研究, 平成20年度厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)急性脳炎・脳症のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明・早期診断・治療法確立に関する臨床研究(H20-こころ一般-021)総括・分担研究報告書. 2009. p. 1-50.
- 16) Takahashi Y. Ann Neurol. 2008; 64: 110-1.

= 症例報告 =

神経節神経腫による傍腫瘍症候群（抗 GluR ϵ 2 抗体陽性）と
考えられた反復性小脳失調症の 1 例野口佐綾香^{1,2} 加賀 佳美^{1,2} 高橋 幸利³ 青柳 閣郎¹ 中村 幸介²
神谷 裕子² 中根 貴弥² 金村 英秋¹ 杉田 完爾¹ 相原 正男¹

要旨 急性小脳失調症は自然軽快を認める予後良好な疾患として知られているが、小脳失調を反復し、神経節神経腫による傍腫瘍症候群と考えられた症例を経験した。1歳8カ月時、上気道炎後に失調性歩行、企図振戦、眼振が出現。急性小脳失調症の診断で経過観察し、症状は改善傾向を認めた。2歳6カ月時に小脳症状が再燃し、後腹膜に神経節神経腫を認め、髄液から抗 GluR ϵ 2 抗体が検出された。摘出術後、抗 GluR ϵ 2 抗体は陰性化し、再燃はなく症状も改善している。しかし、発症後、認知・言語発達の停滞が認められている。小脳は認知や学習などの高次脳機能への関与が明らかとなっており、今後高次脳機能の評価と教育的配慮が必要である。

見出し語 急性小脳失調症、神経節神経腫、抗 GluR ϵ 2 抗体、傍腫瘍症候群、高次脳機能

はじめに

急性小脳失調症は自然軽快を認める予後良好な疾患であるが、感染後に小脳失調を反復する症例や症状が遷延する症例、後遺障害として知能障害を呈する例がある。鑑別診断として、オブソクロヌス・ミオクロヌス症候群 (opsochonus myoclonus syndrome ; OMS) や神経芽細胞腫などによる傍腫瘍性神経症候群 (paraneoplastic neurological syndrome ; PNS) が、稀ではあるが重要である。OMS や慢性小脳炎において、近年抗 GluR δ 2 抗体が検出されてきており、自己免疫機序の関与が示唆されている。また、抗 GluR ϵ 2 抗体は急性脳炎、脳症、限局性脳炎、Rasmussen 脳炎などで陽性となり、他にも数々の自己抗体が証明されている。今回我々は先行感染後に小脳失調が再燃し、神経節神経腫による PNS と考えられ、髄液から抗 GluR ϵ 2 抗体を検出した 1 例を経験したので報告する。

I 症 例

1歳8カ月、男児

主訴 体がふらつく・眼がゆれる

家族歴 神経疾患や代謝性疾患の家族歴なし。

¹ 山梨大学医学部小児科

² 国立病院機構甲府病院小児科

³ 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター小児科

連絡先 〒409-3898 中央市下河東 1110

山梨大学医学部小児科 (加賀佳美)

E-mail: yoshi3st(a)yds.so-net.ne.jp

(受付日: 2009. 4. 1, 受理日: 2009. 10. 5)

既往歴 3週間前と1週間前に上気道炎に罹患した。

発達歴 周産期に異常なし。定歩4カ月、寝返り5カ月、独座8カ月、独歩13カ月、有意語15カ月で年齢相当。

現病歴 第1病日、独歩で転倒する頻度が多くなり、第3病日には体幹のふらつきが出現し独歩が不能となった。第8病日、座位でも体幹のふらつきが著明になったため、精査目的で入院した。

入院時現症 身長83.3 cm、体重10.8 kg、体温36.8℃。腰を支えれば、座位は可能。開歩歩行の失調性歩行だが、腰を支えれば歩行は可能であった。注視時に全ての眼位で水平性眼振を認めたが、眼球運動制限やオブソクロヌスは認めなかった。企図振戦および測定障害を認めた。深部反射は亢進や左右差なし。筋緊張に明らかな異常なし。発語は単語の頭文字のみであったが発症前と変わらず、物と名前は一致していた。筋力低下、脳神経症状や錐体外路症状は認めなかった。

入院時検査所見 血算、生化学検査、血液ガスに異常所見なく、血糖、アンモニア、血中乳酸・ビルビン酸、アミノ酸分画、尿中 vanillylmandelic acid (VMA)、homovanillic acid (HVA) も正常であった。髄液検査では細胞数 10 個/ μ l、オリゴクローナル IgG バンド陰性、ミエリン塩基性蛋白の上昇なし。IgG index は 0.66 (正常 0.6 以下) とごく軽度の上昇を認めた。睡眠時脳波、頭部 MRI (図 1-a, b, c)、脳血流シンチ (^{99m}Tc-ethyl cysteinyl dimer; ^{99m}Tc-ECD) では異常所見を認めなかった (図 1-d)。

臨床経過 以上の経過、理学所見、検査所見から、急性小脳失調症と診断し、無治療で経過観察した。第10病日頃から企図振戦、測定障害が軽減し、両手をついての座位保持時間も長くなっていった。リハビリテーションを行い、独座安

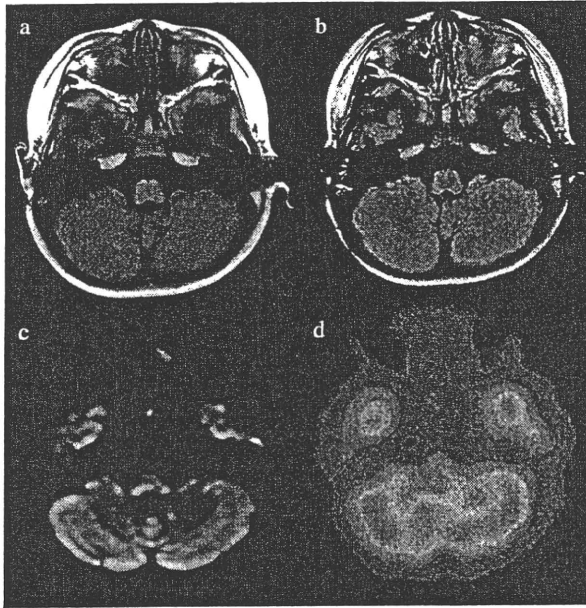


図1 頭部MRI, 脳血流シンチ画像

- a: 頭部MRI-T₁強調画像
 b: 頭部MRI-FLAIR画像
 c: 頭部MRI拡散強調画像
 d: ^{99m}Tc-ECD脳血流シンチ画像
 いずれも明らかな異常所見は認められない。

定(2カ月後, 1歳10カ月), 座位からの立ち上がり(3カ月後, 1歳11カ月), 立位保持数秒(4カ月後, 2歳), 独歩数歩(7カ月後, 2歳3カ月), 独歩10m(8カ月後, 2歳4カ月)と緩徐ではあるが着実に改善していった。

発症から10カ月後(2歳6カ月)には軽度のふらつきは残るものの独歩は可能になっていたが, 上気道炎に罹患後, 失調性歩行が悪化したため再入院した。座位からの立ち上がりは後部へ転倒することが多く, 体幹失調が顕著で, 企図振戦および測定障害を認めた。水平性眼振を認めたが, オブスクローヌスは認めなかった。増悪時(2歳6カ月)に施行した検査所見でも頭部MRI所見は小脳の萎縮を含め異常所見は認めなかった。血算, 生化学検査, 血液ガスに異常所見なく, 血糖, アンモニア, 血中乳酸・ピルビン酸, 尿中VMA, HVAも正常であった。眼電図ではオブスクローンスパターンを示さず, 強制開眼, 光照射などによるオブスクローンスの誘発手技も施行したが, 誘発されなかった。急性小脳失調の再燃を考え経過観察したところ, 増悪4日後で症状は軽減傾向となり, 独座が安定し, 10日後, 体幹失調は残存するものの独歩可能となった。神経芽細胞腫などによるPNSの可能性も否定できないため胸腹部のCT(図2a)を施行したところ, 左腎臓の腹側・脾体部背側に径42mmの不均一に造影される腫瘍を認めた。腹部MRIではT₁低信号(図2b), T₂高信号(図2c)を認めた。I¹²³-metaiodobenzylguanidine (I¹²³-MIBG)シンチでは集積は認めなかった。小脳失調との関連性が考え

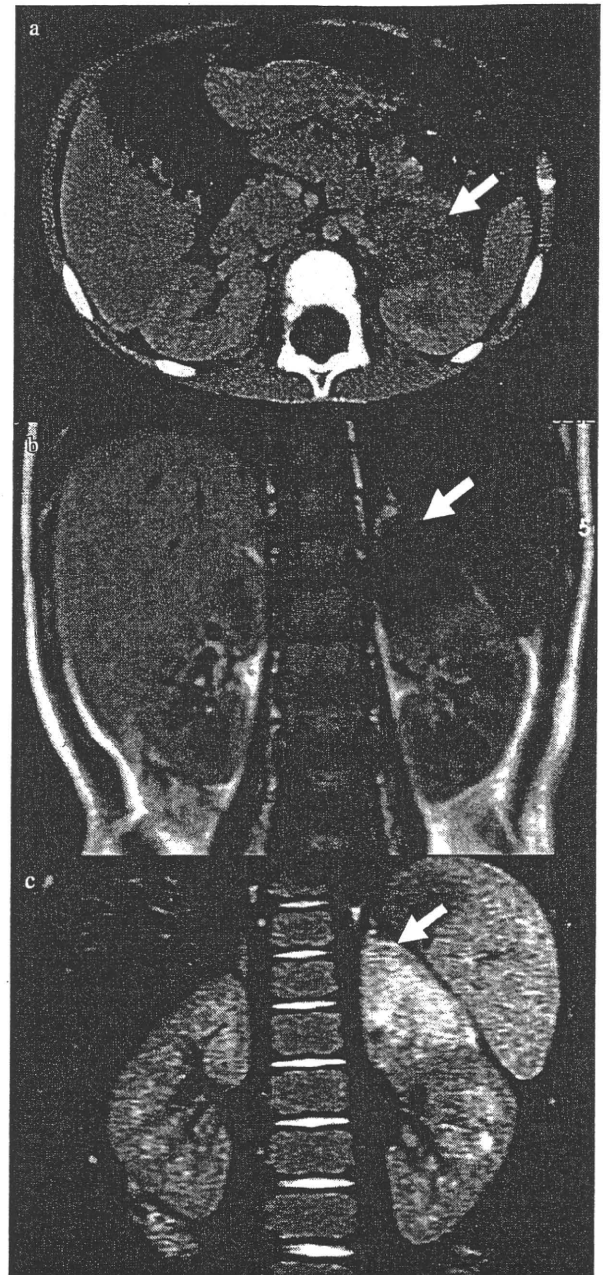


図2 腹部CT, MRI画像

- a: 腹部造影CT所見
 b: 腹部MRI-T₁強調画像(冠状断)
 c: 腹部MRI-T₂強調画像(冠状断)
 左腎の腹側, 脾の背側に42mmの不均一に造影される腫瘍性病変を認める(a, 矢印)。左腎上部にT₁低信号, T₂高信号の腫瘍を認める(b, c, 矢印)。

られたため腫瘍摘出術を2歳10カ月時に施行した。摘出した腫瘍は表面平滑な50mm×40mm大で副腎原発の神経節神経腫(分化型)の病理診断であった(図3)。また, 症状再燃時の血液・髄液の抗GluR抗体(イムノプロット法)の検索を行い, 髄液から抗GluRε2抗体IgG型が検出された(図

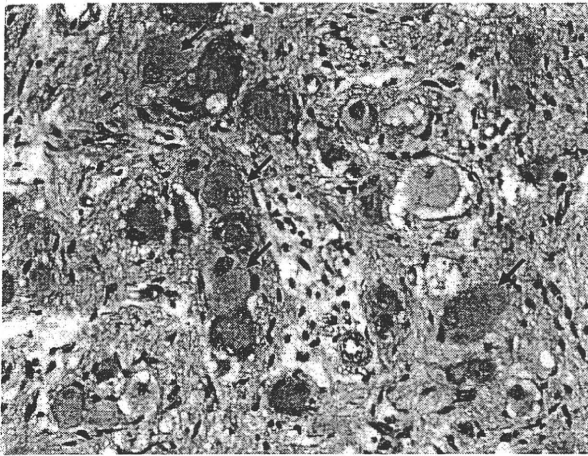


図3 副腎腫瘍組織病理像

神経節細胞に分化した腫瘍細胞を認める（ヘマトキシリン・エオジン染色，矢印）。

4). 抗 GluR δ 2 抗体は IgG 型，IgM 型ともに陰性であった。腫瘍摘出 10 カ月後，3 歳 7 カ月時に髄液を再検したところ，抗 GluR ϵ 2 抗体 IgG 型は陰性化した。

経過中，言語理解では退行は認めなかったが，発症後有意単語の数は徐々に増えるものの，有意語の発語は単語の語頭か語尾の 1 音節のみであった。遠城寺式発達検査では発症後 4 カ月（2 歳）時で発語 1 歳 5 カ月，言語理解 1 歳 7 カ月相当であったが，2 歳 11 カ月時で発語 1 歳 7 カ月，言語理解 2 歳 2 カ月相当と言語，認知面でも発達の停滞を認めた。

腫瘍摘出術から 1 年が経過するが，感染に伴う小脳症状の明らかな再燃はなく，走り・手摺りなしでの階段昇降も可能となっている。3 歳 3 カ月時の新版 K 式発達検査では認知・適応 2 歳 5 カ月（DQ74），言語・社会 1 歳 1 カ月（DQ59）。3 歳 4 カ月頃より，発語は 1 音節ごとの断綴性発語となり，2 語文も表出し単語は増加中である。

II 考 察

PNS は腫瘍の直接浸潤や治療の副作用，栄養障害などによらない担癌者の神経障害で，免疫学的機序によるものと考えられている。一般に神経症状は亜急性に進行し，腫瘍発見に先行することが多く診断は困難である。2004 年に提唱された PNS の診断基準¹⁾によると，PNS を確定例（definite）と疑い例（possible）に分け，PNS で特徴的とされる辺縁系脳炎，亜急性小脳変性症，亜急性感覚性末梢神経障害の症候を呈し，5 年以内に腫瘍が明らかになる場合，あるいは腫瘍の治療に直接的に関係して神経症状の改善がある場合，または PNS に特異的な抗体がある場合を確定例としている。成人において肺癌，乳癌，Hodgkin 病，未分化奇形腫などがあり，一部の例において腫瘍と神経組織を共通に認識する自己抗体が存在し，抗 Hu 抗体，抗 Ma/Ta 抗体，抗 voltage-gated potassium channel 抗体（抗 VGKC 抗体），抗 amphiphysins 抗体などの報

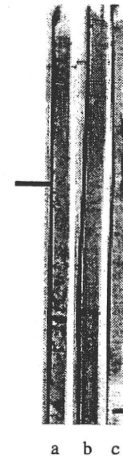


図4 髄液抗 GluR 抗体 IgG 型（イムノブロット法）

a：コントロール
b：GluR ϵ 2 表出 NIH3T3 細胞のホモジネート
c：GluR δ 2 表出 NIH3T3 細胞のホモジネート
b では横線で示す部位に GluR ϵ 2 陽性バンドを認める。コントロール，GluR δ 2 では陽性バンドは認められない。

告がある²⁾。本症例では，髄液から抗 GluR ϵ 2 抗体 IgG 型が検出されており，腫瘍摘出後に症状が改善したことから PNS（確定例）にあたと診断した。

N-methyl-d-aspartate (NMDA) 型 GluR の一つであるマウス GluR ϵ 2 は胎生期には広く中枢神経系に発現し，生後は前脳に局限するサブユニットで，NMDA 受容体依存的シナプス可塑性と記憶・学習にかかわる分子である。抗 GluR ϵ 2 抗体は，Rasmussen 症候群での報告が多いが³⁾，Rasmussen 症候群に特異的ではなく，その他の急性脳炎でも報告されている³⁾。高橋ら⁴⁾は，急性脳炎を神経症状出現時に意識障害が軽度で辺縁系症状で発症する限局性脳炎型症例と初発直後から重度の意識障害がみられる広汎性脳炎型症例に分類して抗 GluR 抗体を検討している。限局性脳炎型の髄液中抗 GluR ϵ 2 抗体は発病初期に陽性となり N 末端エピトープを含むのに対し，広汎性脳炎型では回復期・慢性期に陽性化する症例が多いことから，限局性脳炎型では感染を契機に産生された抗体が GluR ϵ 2 分子に反応し，血管の透過性亢進などにより中枢神経系に達し，脳炎の病態の一部に関与している可能性が示唆されている。最近，卵巣奇形腫を伴う傍腫瘍性辺縁系脳炎症例で血清・髄液中に NR1+NR2B (NR2A) の複合体と反応する抗体や抗 GluR ϵ 2 抗体が存在することが報告された⁵⁾⁶⁾。GluR ϵ 2 は NR2B ともよばれ，傍腫瘍性辺縁系脳炎でも抗 GluR ϵ 2 抗体（抗 NR2B 抗体）が病態に関与している可能性がある。しかし，神経節神経腫に伴う PNS と抗 GluR ϵ 2 抗体の関連については報告されていない。

一方，急性小脳失調症でも自己抗体の関与が指摘されている。水痘後に抗中心体抗体⁷⁾，マイコプラズマ肺炎後に，抗中心体抗体⁸⁾，Epstein-Barr virus (EBV) 感染後に triosephosphate isomerase に対する IgM 抗体が報告されている⁹⁾。

本症例では一般的な上気道感染であり、水痘やマイコプラズマ、EBVの感染症状は認められなかったが、今後特異的ウイルスに対する自己抗体の存在も明らかになってくる可能性がある。

反復する急性小脳失調症例ではOMSとの判別が鑑別上問題になる。OMSは、眼球のオプソクロウニス・全身性のミオクロウニスと小脳失調を主徴とする症候群で、90%は3歳未満の乳幼児に発症する。症状発現の4週間以内に約20%に上気道感染や消化器症状を認めるとの報告があるが、PNSとして起こることがあり、小児では神経芽細胞腫の合併が2~20%、神経節神経腫の合併が7~10%の報告がある¹⁰⁾¹¹⁾。成人では肺癌、乳癌、卵巣癌が多い。近年、OMSで自己抗体の報告があり、抗GluR δ 2抗体が検出されている。抗GluR δ 2抗体が小脳症状をきたす機序については、GluR δ 2は、小脳Purkinje細胞に特異的な発現をしており、Purkinje細胞の発火率を減少させること、Purkinje細胞のシナプス効率を変化させるメカニズムである長期抑制(long-term depression)を干渉することが示され、慢性的な影響としては、樹状突起に影響して細胞死をもたらしことも示唆されている¹²⁾。高橋らは、OMS9例の検討を行い、抗GluR δ 2抗体は、血清においてIgG型が9例全例で陽性、8例でIgM型陽性(いずれも正常対照9例はすべて陰性)、髄液においてIgG型が8例で陽性、8例でIgM型が陽性と報告している。なお、抗GluR ϵ 2抗体はOMS8例中8例で陰性であった¹³⁾。OMSの報告の中に小脳失調から数ヶ月遅れて眼球のオプソクロウニスが出現したものもあったため、PNSとしてのOMSも疑ったが全経過オプソクロウニスの出現はなかった。また、抗GluR δ 2抗体は検出されず、抗GluR ϵ 2抗体が検出されたことからOMSと類似点はあるが、異なる機序であると考えられる。

認知機能においては、発症前には明らかな精神運動発達遅滞はなかったが、認知・言語面での遅れを発症後に認めている。言語障害は小脳機能による構音障害の可能性もあるが、明らかに言語理解、認知面においても発達の停滞を本症例は認めていた。近年、小脳の損傷により言語や記憶に障害を認める多数の報告があり、小脳において認知や学習といった高次機能への関与が指摘されている^{14)~18)}。また、我々は急性小脳炎後の患児に認知機能検査を経時的に施行し、聴覚性短期記憶や経時処理能力の低下を以前に報告しており¹⁸⁾、今回の症例における言語機能の停滞は小脳認知機能の障害から起因している可能性がある。また、特筆すべきは、今回認められた自己抗体が抗GluR ϵ 2抗体であり、GluR ϵ 2はNMDA受容体依存的シナプス可塑性と記憶・学習にかかわる分子であることから、記憶や学習面においても聴覚性短期記憶や系列的なプログラミングの障害を及ぼした可能性が示唆される。今後の各発達段階において、高次機能検査を行いながら認知機能を把握し、作業療法・言語療法を含めた適切な療育を行っていくことが重要であると考えられる。

腫瘍の診断および摘出にあたりアドバイスをいただきました山梨大学医学部小児科大飼岳史先生および血液チームの皆様、第2外科高野邦夫先生、蓮田憲夫先生、および病理写真を提供していただいた病理部中澤匡男先生に深謝いたします。

なお、その後の測定で、高感度ELISA法での症状再燃時の血清抗GluR ϵ 2抗体は陽性であった。

文 献

- 1) Graus F, Delattre JY, Antoine JC, et al. Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:1135-40.
- 2) Dropcho EJ. Neurologic paraneoplastic syndromes. *J Neurol Sci* 1998;153:264-78.
- 3) 高橋幸利, 久保田裕子, 山崎悦子, 松田一己. ラスマ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;48:163-72.
- 4) 高橋幸利, 山崎悦子. 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.
- 5) 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.
- 6) 高橋幸利, 山崎悦子, 西村成子, ら. 急性辺縁系脳炎・脳症とNMDA型グルタミン酸受容体. *臨床神経学* 2008;48:926-9.
- 7) Fritzier MJ, Zhang M, Stinton LM, Rattner JB. Spectrum of centrosome autoantibodies in childhood varicella and post-varicella acute cerebellar ataxia. *BMC Pediatr* 2003;3:11.
- 8) Cimolai N, Mah D, Roland E. Anticentriolar autoantibodies in children with central nervous system manifestations of Mycoplasma pneumoniae infection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:638-9.
- 9) Uchibori A, Sakuta M, Kusunoki S, Chiba A. Autoantibodies in postinfectious acute cerebellar ataxia. *Neurology* 2005;65:1114-6.
- 10) Klein A, Schmitt B, Boltshauser E. Long-term outcome of ten children with opsoclonus-myoclonus syndrome. *Eur J Pediatr* 2007;166:359-63.
- 11) 石崎朝世. Infantile opsoclonus polymyoclonia syndrome (オプソクロウニスを伴う乳幼児ミオクロウニス) 14例の臨床的研究. *日児誌* 1987;91:3325-40.
- 12) Coesmans M, Smitt PA, Linden DJ, et al. Mechanisms underlying cerebellar motor deficits due to mGluR1-autoantibodies. *Ann Neurol* 2003;53:325-36.
- 13) 高橋幸利, 西村成子, 坂口直美, ら. オプソクロウニス・ミオクロウニス症候群における抗GluR δ 2自己抗体. *Neuroimmunology* 2003;11:78.
- 14) Middleton FA, Strick PL. Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. *Science* 1994;266:458-61.
- 15) Schmahmann JD, Sherman JC. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 1998;121:561-79.
- 16) Levisohn L, Cronin-Golomb A, Schmahmann JD. Neuropsychological consequences of cerebellar tumour resection in children: cerebellar cognitive affective syndrome in a paediatric population. *Brain* 2000;123:1041-50.
- 17) Cabeza R, Nyberg L. Imaging cognition: an empirical review of PET studies with normal subjects. *J Cogn Neurosci* 1997;9:1-26.
- 18) 保坂裕美, 岩垂喜貴, 金村英秋, ら. 急性小脳炎患児の経時的認知機能. *日児誌* 2004;108:451.

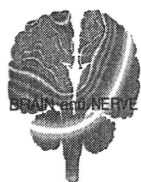
A Case of Recurrent Paraneoplastic Cerebellar Ataxia with Antibodies to GluR ϵ 2 Causally Related to Ganglioneuroma

Sayaka Noguchi, MD, Yoshimi Kaga, MD, Yukitoshi Takahashi, MD, Kakuro Aoyagi, MD, Kohsuke Nakamura, MD, Yuko Kamiya, MD, Takaya Nakane, MD, Hideaki Kanemura, MD, Kanji Sugita, MD and Masao Aihara, MD

*Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yamanashi University, Chuo, Yamanashi (SN, YK, KA, HK, KS, MA) ;
Department of Pediatrics, National Hospital Organization Kofu National Hospital, Kofu, Yamanashi (SN, YK, KN, YuK, TN) ;
National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, Shizuoka (YT)*

Acute cerebellar ataxia (ACA) in childhood following viral infection is a self-limited disease. We present a boy with recurrent episodes of paraneoplastic cerebellar ataxia associated with a ganglioneuroma. A 20-month-old boy developed the first episode of cerebellar ataxia after nonspecific respiratory tract infections. During this episode he showed a wide gait and truncal ataxia with intention tremor and horizontal nystagmus. Our initial diagnosis was ACA, and gradual improvement of ataxia was observed thereafter. At 2 years and 6 months, similar cerebellar symptoms recurred after respiratory tract infections. Speech difficulty and cognitive problems developed thereafter. We suspected paraneoplastic syndrome. Computed tomography revealed a retroperitoneal tumor, and autoantibodies against GluR ϵ 2 were detected in the cerebrospinal fluid. After the tumor resection, the cerebellar symptoms did not recur and speech difficulty and cognitive problems improved gradually. Recent neuroimaging and neuropsychological studies have revealed that cerebellar function contributes to higher brain functions including cognition and learning. We will follow up this patient's long-term cognitive function and consider special educational support and programs.

No To Hattatsu 2010;42:297-301



特集 ■ 辺縁系脳炎

辺縁系脳炎とグルタミン酸受容体抗体

Antibodies to Glutamate Receptor in Limbic Encephalitis

高橋 幸利^{1,2)} 最上 友紀子¹⁾ 高山 留美子¹⁾
池田 浩子¹⁾ 今井 克美¹⁾

Yukitoshi Takahashi^{1,2)}, Yukiko Mogami¹⁾, Rumiko Takayama¹⁾
Hiroko Ikeda¹⁾, Katsumi Imai¹⁾

Abstract

N-methyl-D-aspartate (NMDA)-type glutamate receptor (GluR), is an important molecule, which contributes to the pathophysiological processes of various neurological diseases by various molecular mechanisms.

Antibodies against NMDA-type GluR (NR) are detected by immunoblot analysis, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), or immunocytochemical analysis (Dalmay's method). Immunoblot method uses whole molecules of GluR ϵ 2 (NR2B), which are synthesized in NIH3T3 cells by using tetracycline system as antigens. In ELISA, synthesized peptides of each domain of GluR ϵ 2 and GluR ζ 1 (NR1) are used. Immunocytochemical method uses human embryonic kidney (HEK) cells transfected by expression vectors for NR1+NR2B/2A.

In non-paraneoplastic, non-herpetic acute limbic encephalitis (NHALE), serum antibodies to GluR ϵ 2 (NR2B) were detected in approximately 60% of the patients from acute to chronic stages further, these antibodies in the cerebrospinal fluid (CSF) were detected in 50% (acute stage), 40% (recovery stage), and 30% (chronic stage) of the patients. The antibodies against GluR ϵ 2 seemed to increase in the sera after infection and infiltrate the central nervous system through the blood-brain barrier (BBB), which was damaged by cytokines, etc. The antibodies against GluR ϵ 2 recognize broad regions of GluR ϵ 2 as epitopes.

In NHALE patients with ovarian teratoma, antibodies to NR recognize epitopes on GluR ϵ 2 (NR2B) and GluR ζ 1 (NR1).

Pathophysiology of antibodies against NR is estimated to cause internalization of NR on surface of neurons, resulting in inhibition of NR function.

Key words : NMDA-type glutamate receptor, GluR ϵ 2 (NR2B), GluR ζ 1 (NR1), acute limbic encephalitis, ovarian teratoma

はじめに

急性脳炎とは、急性脳炎症状を示し中枢神経系からウイルスが分離されるものと狭義には定義される。ウイルス感染時（あるいはその直後）に急性脳炎症状を示した症例であっても、髄液中のウイルス polymerase chain reaction (PCR) 検査あるいは剖検脳組織解析でウイルス

の中枢神経系直接侵達が否定される症例があり、ウイルスが中枢神経系に侵達しなくても脳炎症状を示す、傍感染脳症と呼ばれる一群がある。また、脳炎症状を示す症例の中には、ステロイド治療が臨床経過から有効と判断される症例の存在も知られていて、一部の傍感染脳症症例では、免疫的な機序で急性脳炎症状が起こっているのではないかと、以前から推測されてきていた。

急性脳炎・脳症の病態を分類すると、①ウイルス直接

1) 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター〔〒420-8688 静岡市葵区漆山 886〕 National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorders, 886 Urushiyama, Aoi-ku, Shizuoka 420-8688, Japan
2) 岐阜大学医学部小児病態学 Department of Pediatrics, Gifu University School of Medicine

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・分類不能があると推定される。②～④では免疫的機序で急性脳炎症状が起こっている可能性がある。

脳炎に関する免疫の研究は, 1960年に傍腫瘍性の辺縁系脳炎(paraneoplastic limbic encephalitis: PLE)が報告されたことに始まる¹⁾。PLEは急性・亜急性に進行する記憶力障害, 認知機能障害, 精神症状, 痙攣などを特徴とし, 肺癌(50%), 睾丸癌(20%) 乳癌(8%)などが多い²⁾。傍感染性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(non-herpetic acute limbic encephalitis: NHALE)に比べて, 亜急性の経過をとることが多い。PLEにみつかった抗Hu抗体, 抗Ma-2抗体などの自己抗体は細胞内・核内蛋白を抗原とし³⁾, 抗体のみでは組織障害は起こらず, CD8⁺T細胞の役割が重要と, 今日では考えられている²⁾。

2001年に電位依存性カリウムチャンネル(voltage-gated potassium channel: VGKC)に対する抗体(抗VGKC抗体)⁴⁾が, 傍腫瘍性のみならず非傍腫瘍性辺縁系脳炎でも報告され, 細胞表面蛋白を抗原とする自己抗体の研究が始まった。抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎(LE-VGKC)は, 壮年期発症で, 亜急性の経過をとり, 記憶障害, 見当識障害, てんかん発作, SIADHを中核症状とし, 約半数を占める傍腫瘍性では胸腺腫合併が多い⁵⁾。抗VGKC抗体の作用は, 二価のIgGが2つのVGKCをcouplingし, degradationを生じることで, 膜上のVGKCの総数を減じることによってK⁺電流の抑制が起こると考えられているが, 今後の検討が待たれる。

2001年にわれわれは, Rasmussen症候群でのN-メチル-D-アスパラギン酸(N-methyl-D-aspartate: NMDA)型グルタミン酸受容体(glutamate receptor: GluR)の1つのサブユニットであるGluR ϵ 2(NR2B)に対する抗体の経験を踏まえ⁶⁻¹¹⁾, 急性脳炎症状を呈する症例でGluR ϵ 2全長蛋白を抗原とする抗GluR ϵ 2抗体の検討を開始し, 腫瘍を合併しない症例の中に抗GluR ϵ 2抗体が存在する症例を見出し, 日本小児科学会分野別シンポジウムで報告した¹²⁾。その際の髄液抗GluR ϵ 2抗体陽性例は, IgA欠損症を有する症例で言動の異常から始まったNHALEの症例を含んでいた。その後, 傍感染性NHALEなどの急性脳炎・脳症, 感染が先行しない亜急性脳炎・脳症, 橋本脳症, PLEなどでも抗GluR ϵ 2抗体が存在する症例を見出した¹³⁾。

2005年にはenolaseのamino terminalに対する抗体(抗NAE抗体)が橋本脳症に関連する自己抗体として報告された¹⁴⁾。橋本脳症の臨床像は多彩で, 急性脳症型が大

部分であるが, 辺縁系脳炎(LE-NAE), うつや統合失調症, Creutzfeldt-Jakob病(CJD)に似た病像を示すものもある¹⁵⁾。発病年齢は壮年～老年期が主体で女性に多く, 甲状腺機能は正常が多いが抗甲状腺抗体を有し, 急性の意識障害発症が多く, 脳波異常は高率であるが頭部MRIの異常頻度が低いという特徴があるとされている。

2007年, 卵巣奇形腫を伴う急性辺縁系脳炎(NHALE-ovarian tumor: NHALE-OT)においてNMDA型GluR複合体(NR1+NR2AまたはNR2B)の細胞表面立体構造を抗原とする自己抗体が報告され¹⁶⁾, 抗NMDA型GluR抗体と急性脳炎との関係が大きく注目されることとなった。

このように近年, 辺縁系脳炎を主体とする脳炎で抗神経抗体の意義が注目されてきている。本稿では, 傍感染性NHALEおよびNHALE-OT症例でのNMDA型GluRに対する抗体についての知見を述べる。

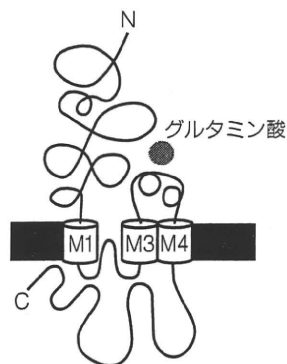
I. グルタミン酸受容体の分類

GluRは神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体で, イオンチャンネル型と代謝型が存在する^{17,18)}。イオンチャンネル型GluRは薬理的にNMDA型とnon NMDA型に分かれ, 後者はalpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)型とカイニン酸型に分類される。イオンチャンネル型GluRには18種類のサブユニットが知られ, 各サブユニットはN末が細胞外にあり, 3つの膜貫通部分を経てC末は細胞内にある共通構造であるが(Fig. 1A), 分子多様性が存在する(Table)。マウスの遺伝子解析からの命名(GluR ϵ 1など)とラットの遺伝子解析からの命名(NR1など)があるが, ヒト, マウス, ラットの遺伝子配列にはかなり相同性がある。GluRの生理的機能は多岐にわたり¹⁷⁾, さらに中枢神経系疾患の病態にもGluRは深く関与している^{11,19,20)}。

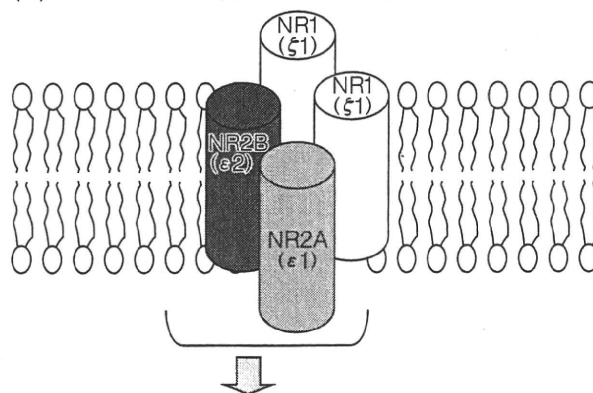
II. NMDA型グルタミン酸受容体の構造

NMDA型GluRは, 必須となるGluR ζ 1(NR1)と, GluR ϵ 1- ϵ 4(NR2A-2D)あるいはGluR χ 1- χ 2(NR3A-3B)といったサブユニットが4つ会合した4量体(複合体)構造をとり(Fig. 1B), イオンチャンネルとして機能しているが, 種々のサブユニット会合パターンがあるとされている(Fig. 1C)。

(A) サブユニットの構造



(B) サブユニットの会合によるチャネル構造：hetero-tetramer complex



(C) サブユニットの会合パターン

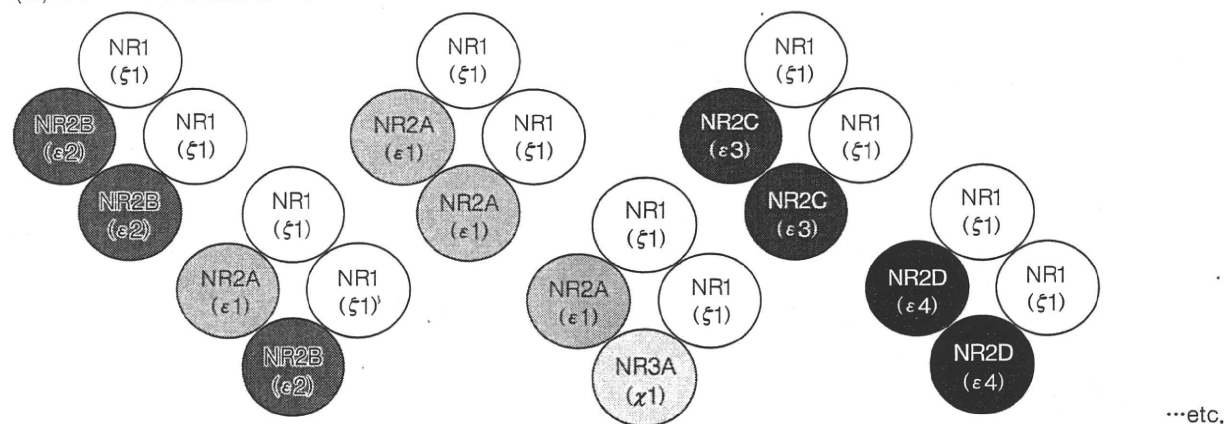


Fig. 1 NMDA 型グルタミン酸受容体の構造

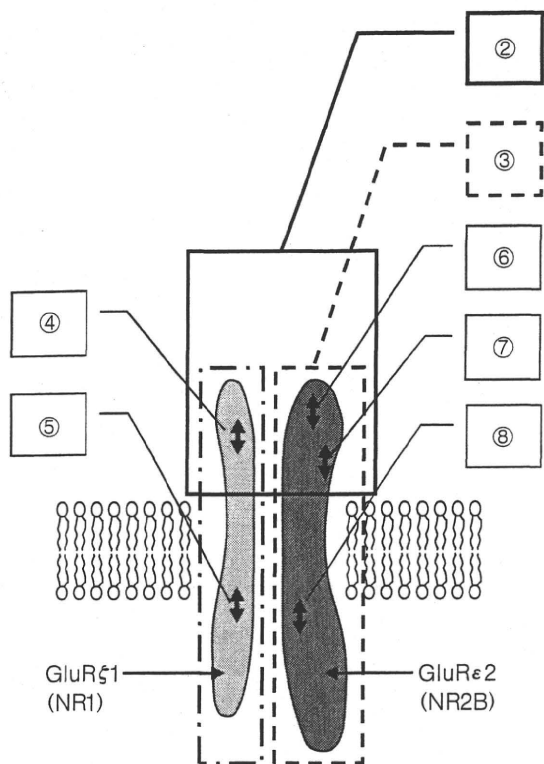
A: NMDA 型グルタミン酸受容体 (NR) のサブユニット構造は、細胞外にある N 末から 4 つの膜貫通部位を経て、細胞内側に C 末が存在する共通構造をとっている。B: NR は、必須サブユニットである $\text{GluR}\xi 1$ (NR1) と、 $\text{GluR}\epsilon 1$ - $\epsilon 4$ (NR2A-2D) あるいは $\text{GluR}\chi 1$ - $\chi 2$ (NR3A-3B) といった可変サブユニットが 4 つ会合した 4 量体構造をとっている。C: 4 量体構造には、必須サブユニットと可変サブユニットの種々の会合パターンがあるとされている。

Table イオンチャネル型グルタミン酸受容体の多様性と NMDA 型グルタミン酸受容体の機能

サブファミリー	サブユニット	マウス	ラット	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
AMPA 型	$\text{GluR}\alpha$	$\alpha 1$ - $\alpha 4$	GluR1-GluR4					
カイニン酸型	$\text{GluR}\beta$	$\beta 1$ - $\beta 3$	GluR5-GluR7					
	$\text{GluR}\gamma$	$\gamma 1, \gamma 2$	KA1, KA2					
NMDA 型	$\text{GluR}\epsilon$	$\epsilon 1$	NR2A	○	○			び漫性前脳
		$\epsilon 2$	NR2B	○		○		小脳顆粒細胞
		$\epsilon 3$	NR2C					視床, 脳幹
		$\epsilon 4$	NR2D				○	
	$\text{GluR}\xi$	$\xi 1$	NR1					び漫性
	$\text{GluR}\chi$	$\chi 1$	NR3A					
$\chi 2$		NR3B						
$\text{GluR}\delta$		$\delta 1$	$\delta 1$					内耳有毛細胞
		$\delta 2$	$\delta 2$					小脳 Purkinje 細胞

*long-term potentiation, †Morris water maze, ‡brainstem trigeminal complex, ¶open field test.

[略語] AMPA: alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, GluR: グルタミン酸受容体, KA: カイニン酸, NMDA: N-メチル-D-アスパラギン酸, NR: NMDA 型 GluR



- (A) NMDA 型グルタミン酸受容体複合体に対する抗体 (狭義の抗 NMDA 受容体抗体)
 ①[GluR ϵ 1 (NR1)+GluR ϵ 1 (NR2A)] を抗原とする抗体
 ②[GluR ϵ 1 (NR1)+GluR ϵ 2 (NR2B)] を抗原とする抗体
- (B) NMDA 型グルタミン酸受容体の各サブユニットに対する抗体
 ・全長サブユニットを抗原とする抗体
 ③抗 GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体
 ・サブユニットの各ドメインを抗原とする抗体
 ④抗 GluR ϵ 1 (NR1)-NT 抗体
 ⑤抗 GluR ϵ 1 (NR1)-CT 抗体
 ⑥抗 GluR ϵ 2 (NR2B)-NT2 抗体
 ⑦抗 GluR ϵ 2 (NR2B)-M3-M4 抗体
 ⑧抗 GluR ϵ 2 (NR2B)-CT1 抗体

測定方法

- ①② : Immunocytochemistry
 ③ : Immunoblot
 ④~⑧ : ELISA

Fig. 2 NMDA 型グルタミン酸受容体に対する抗体の分類とその抗原認識部位

現在測定されている NMDA 型 GluR (NR) に対する抗体とその抗原認識部位を示す。2 種類のサブユニットを細胞表面に発現させて、実際の神経細胞表面と同じ複合体構造をつくらせて抗原とする抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体 (狭義の抗 NMDAR 抗体) (A) と、各サブユニット分子を単独で抗原とする抗体 (B) がある。B はさらに、サブユニット全長を抗原とする抗体と、サブユニットの一部のドメインのペプチドを抗原として用いた抗体がある。②の [GluR ϵ 1 (NR1)+GluR ϵ 2 (NR2B)] を発現させた human embryonic kidney (HEK) 細胞を抗原とする抗体は、GluR ϵ 1 and or GluR ϵ 2 の細胞外ドメインを抗原とする抗体である。③の抗 GluR ϵ 2 抗体は、GluR ϵ 2 全長分子内のどこかを抗原とする抗体である。⑥の抗 GluR ϵ 2-NT2 抗体は、GluR ϵ 2 分子の細胞外 N 末を抗原とする抗体である。

III. NMDA 型グルタミン酸受容体に対する抗体の分類

NMDA 型 GluR が 4 つのサブユニットからなる多様性を有する複合体構造のため、NMDA 型 GluR に対する抗体という場合、多種の抗体が含まれる。抗体検出に用いる抗原から分類すると、A : 2 種以上のサブユニットからなる NMDA 型 GluR 複合体を抗原として検出する抗体、B : NMDA 型 GluR 複合体を構成する個々のサブユニットを抗原として検出する抗体に大別される (Fig. 2)。A は Dalmau ら¹⁶⁾ が報告した NMDA 型 GluR 複合体を認識する抗体で、日本では“抗 NMDA 受容体抗体”と呼ばれてきた。B の NMDA 型 GluR サブユニットを認識する抗体も NMDA 型 GluR を認識する抗体であり、広義の抗 NMDA 受容体抗体である。本稿では AB あわせて“広義の抗 NMDA 受容体抗体”と呼び、Dalmau

の報告した抗体は“抗 NMDA 受容体複合体抗体” (狭義の抗 NMDA 受容体抗体) と呼ぶことにする。

IV. NHALE と抗 GluR ϵ 2 抗体

1. NHALE の定義と疫学

今回の検討では、NHALE を①明らかな意識障害出現前の急性期初期に、②辺縁系症状 (Fig. 3 A の 1~4) のいずれか 1 つを示し、③その後、急性に脳炎症状が経過した症例で、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 陽性例などを除いた。

日本の成人の非ヘルペス性辺縁系脳炎罹患率は 4.7/100 万人年、急性脳炎罹患率は 19.0/100 万人年であることから、急性脳炎の 24.5% を占めると推定される。よって、NHALE は年間 550 人の発生があると推定され、重要な疾患である²¹⁾。

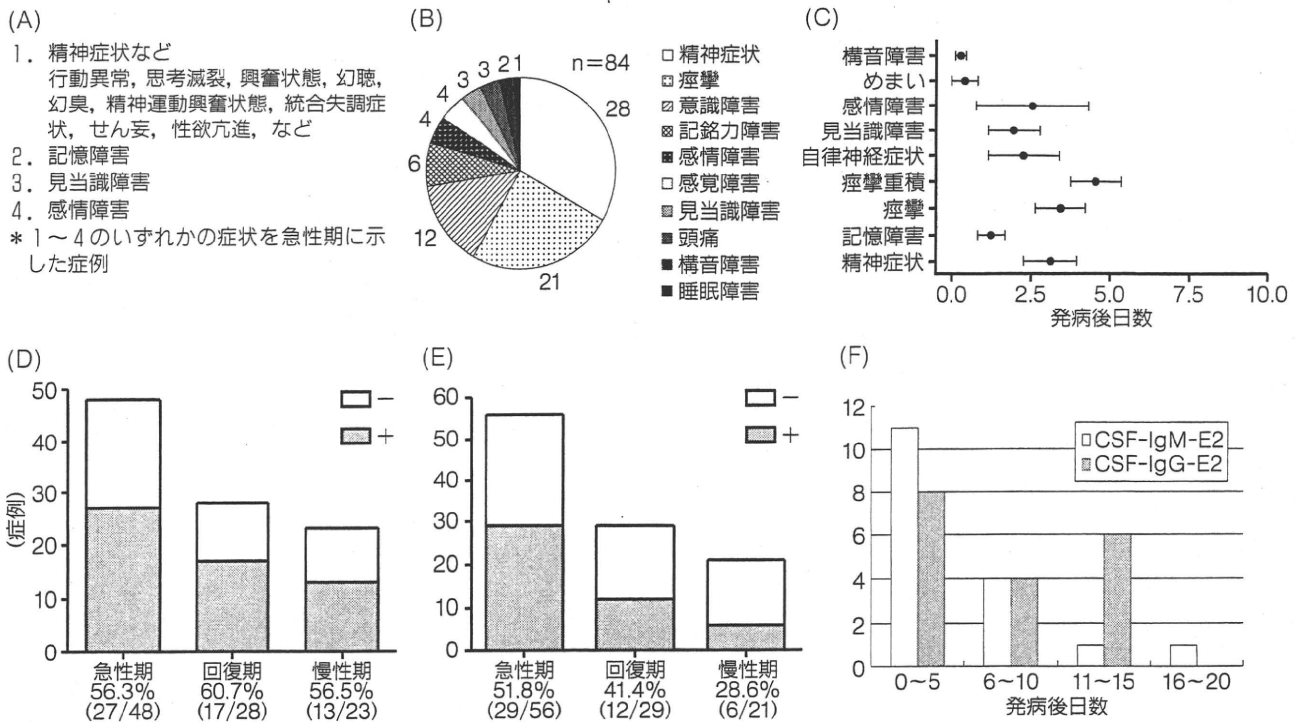


Fig. 3 成人非ヘルペス性急性性縁系脳炎 (NHLE) の臨床症状と抗 GluR ϵ 2 抗体

A: 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縁系症状ありとした。B: NHLE 症例の初発神経症状。C: NHLE 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 \pm SEM (standard error of the mean) で示した。D: NHLE 症例の血清での抗 GluR ϵ 2 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: NHLE 症例の髄液での抗 GluR ϵ 2 抗体陽性率を急性期・回復期・慢性期 (区分は D と同様) に分けて示した。F: NHLE 症例の髄液抗 GluR ϵ 2 抗体が陽性となった病日を IgG 型, IgM 型ごとに示す。

2. 抗 GluR ϵ 2 抗体

血清中抗 GluR ϵ 2 抗体 (IgG または IgM) は, 急性期から慢性期において NHLE の約 60% にみられ, 髄液中抗 GluR ϵ 2 抗体は急性期の約 50%, 回復期の約 40%, 慢性期の約 30% の症例にみられ, 陽性率は次第に低下した (Fig. 3 D, E)^{9,22)}。髄液中の抗 GluR ϵ 2 抗体は急性期でもかなり早い時期に出現した (Fig. 3 F)²²⁾。以上のことから, 血液中にできた抗 GluR ϵ 2 抗体は, 血液脳関門の破綻などによって中枢神経系に至り, なん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って髄液中での濃度が低下する可能性を考えている (Fig. 4)^{9,22)}。

3. 症状

発病年齢 (平均 \pm SD) は 35.2 \pm 16.9 歳で若年成人に多く, やや女性に多い (男 35 例, 女 49 例)^{9,22)}。先行感染症は 68.7% に認め, 先行症状から神経症状が現れるまでは 7.8 \pm 10.8 日であった。初発神経症状は行動異常, 思考減裂, 興奮状態などの精神症状で発病した症例が 33.3%

(28 例) と多く, 次に痙攣で発病する症例が 25.0% (21 例) と多かった (Fig. 3 B)。急性期にみられた神経症状のうち, 構音障害・めまい・記憶障害の頻度は少ないが早期に観察され, 見当識障害・自律神経症状・感情障害が次に出現し, 続いて精神症状・痙攣が, そして少し遅れて痙攣・痙攣重積が出現する傾向にあった (Fig. 3 C)。

抗 GluR ϵ 2 抗体の有無と臨床症状の関連を検討すると, 陽性群の初発神経症状は言動の異常が最も多く, 陰性群では痙攣が多かった²²⁾。急性期の痙攣・痙攣重積は陽性群で出現が遅かった。

4. 検査所見

髄液検査では, 細胞数 (平均 \pm SD) 55.5 \pm 139.9/mm³, 蛋白 48.1 \pm 36.0 mg/dL, IgG 4.5 \pm 3.9 mg/dL と軽度上昇がみられた。MRI 画像検査の拡散強調像では主治医の判断では 20/49 症例 (40.8%) で高信号病変がみられ, 発病後 12.5 \pm 9.4 日で出現した⁹⁾。一方, FLAIR (fluid attenuated inversion recovery) では 32/59 症例 (54.2%) で高信号病変がみられ, 発病後 14.7 \pm 17.5 日

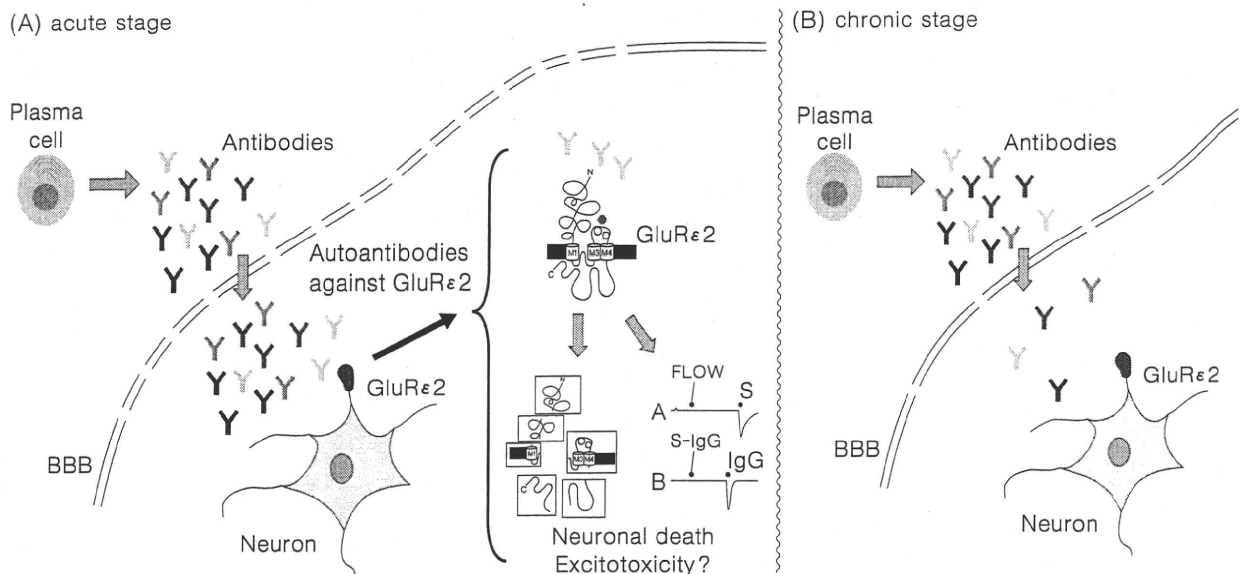


Fig. 4 抗NMDA型グルタミン酸受容体抗体と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎

血液中にできたN末エピトープを有する抗 GluR ϵ 2 抗体は、血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) の破綻などによって中枢神経系に至り、なんらかの急性期脳炎症状に寄与する (A) が、回復期・慢性期になると BBB の回復によって髄液中で低下する (B) 病態を考えている。

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 48: 163-172, 2008 より改変して転載。

で出現した。初期から MRI 病変が存在する症例、急性期の画像検査では所見が認められず遅れて出現する症例、全経過中 MRI 病変が出現しない症例もあり、多様性を示した。

抗 GluR ϵ 2 抗体の有無と検査所見の関連を検討すると、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²²⁾。

5. 抗 GluR ϵ 2 抗体エピトープ

非傍腫瘍性 NHALE での血清・髄液中抗 GluR ϵ 2 抗体のエピトープを解析するために、N末細胞外ドメイン (NT2)、膜貫通部分 3-4 間の細胞外ドメイン (M3-M4)、C末細胞内ドメイン (CT1) のペプチドを合成し、それらを抗原として ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法で抗体を測定した (抗 GluR ϵ 2-NT2 抗体, 抗 GluR ϵ 2-M3-M4 抗体, 抗 GluR ϵ 2-CT1 抗体) (Fig. 2 ⑥~⑧)。

抗 GluR ϵ 2 抗体陽性の NHALE では、GluR ϵ 2 分子の N末・膜貫通部分 3-4 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^{23,24)}。よって感染ウイルスなど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わ

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-M4 抗体などと思われる。

V. 卵巣奇形腫を伴う NHALE と抗 NMDA 受容体複合体抗体

2007 年, NHALE-OT 症例 12 例の血清・髄液中に, human embryonic kidney (HEK) 細胞に発現させた [NR1+NR2B (NR2A)] の NMDA 型 GluR 複合体とは反応するが, NR1 あるいは NR2B (NR2A) 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, 「antibodies to NR2B-and NR2A-containing heteromers of the NMDAR」と記載された¹⁶⁾。この抗 NMDA 受容体複合体抗体は, autoimmune NMDAR-related encephalitis の原因とされ, 狭義で“抗 NMDA 受容体抗体”と呼ばれてきた。抗 NMDA 受容体複合体抗体検出抗原としては, [GluR ζ 1(NR1)+GluR ϵ 1(NR2A)] と, [GluR ζ 1+GluR ϵ 2] を発現させた HEK 細胞が通常使われ, 免疫細胞化学的に抗体の有無は判定される (Fig. 2 ①②)。

Dalmau らは, この方法によって検出される抗体は GluR ζ 1 や GluR ϵ 1 または GluR ϵ 2 の単独サブユニットとは反応せず, 複合体の細胞外立体構造を認識している

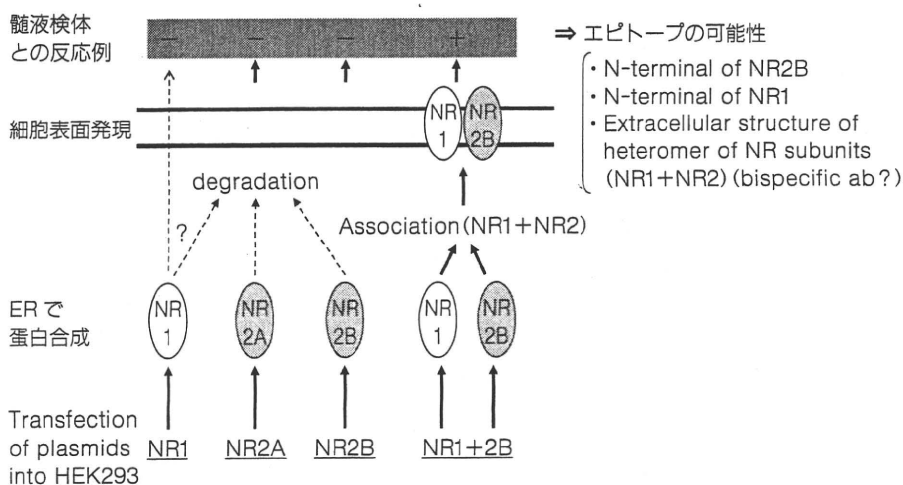


Fig. 5 抗 NMDA 受容体複合体抗体の解釈の注意点

Dalmau らの方法によって, human embryonic kidney (HEK) 細胞に遺伝子導入し NMDA 型 GluR の各サブユニットを発現させる場合, GluR ϵ 1- ϵ 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。GluR ζ 1 (NR1) 単独の細胞表面発現については見解が異なる。GluR ζ 1 と GluR ϵ 1- ϵ 4 の遺伝子を同時に導入するとサブユニットが会合し, NMDA 型 GluR 複合体として細胞表面に発現する。例えば, 髄液などが本図上段に示すように GluR ζ 1 を発現させた HEK 細胞・GluR ϵ 2 (NR2B) を発現させた HEK 細胞とは immunocytochemistry で反応しないが, [GluR ζ 1+GluR ϵ 2] を発現させた HEK 細胞と反応する抗体であれば, GluR ζ 1 サブユニットあるいは GluR ϵ 2 サブユニットの細胞外ドメインを, またはその両方のサブユニットの細胞外ドメインを, エピトープとしている可能性がある。[略語]NR: NMDA 型 GluR, ER: 小胞体

特殊な bispecific antibody のような抗体と, 当初は考えていたようである。2008 年 7 月, われわれは Dalmau によって抗 NMDA 受容体複合体抗体陽性と診断された 5 症例 (NHALE-OT: 3 例, OT なし: 1 例, OT 不明: 1 例) の髄液について抗 GluR ϵ 2 抗体 (Fig. 2 ③) を検討し, 5 例全例で検出でき, 抗 NMDA 受容体複合体抗体の一部は GluR ϵ 2 をエピトープとしていることを報告した²⁵⁾。その後さらにわれわれは, 19 例の NHALE-OT の急性期髄液について NMDA 型 GluR に関係する抗体を検討し, 抗 GluR ϵ 2 抗体 (Fig. 2 ③) は 40.0% の症例で陽性, 抗 GluR ϵ 2-NT2 抗体 (Fig. 2 ⑥) は 69.2% の症例で陽性, Dalmau らの測定による抗 NMDA 受容体複合体抗体 (Fig. 2 ②) は 90.9% の症例で陽性であることを報告した²⁶⁾。よって NHALE-OT 症例の少なくとも 2/3 は GluR ϵ 2 の N 末を認識する抗体を有しており, 抗 NMDA 受容体複合体抗体の多くが GluR ϵ 2 の N 末をエピトープとしていると推測される。『Lancet Neurology』2008 年 12 月号で, Dalmau ら²⁷⁾は NHALE-OT の症例を含む抗 NMDA 受容体複合体抗体陽性例 100 例を検討し, 抗 NMDA 受容体複合体抗体の多くが NR1 (GluR ζ 1) の細胞外ドメイン (N 末 25~380) をエピトープとする抗体で, これらの抗体が中枢神経系で産生され,

ニューロンの NMDA 型 GluR の細胞表面発現を可逆的に減じることを報告した。つまり, Dalmau の抗 NMDA 受容体複合体抗体も, 複合体立体構造を抗原とする特異な抗体というより, 他の抗体と同じくサブユニット (NR1 and or NR2?) をエピトープとしているということになりそうである。Dalmau らのこの考察に対して, Vincent ら²⁸⁾は中枢神経系優位にこの抗体が産生されているとは言えないのではないかとコメントしている。

2007 年当初, 抗 NMDA 受容体複合体抗体は傍腫瘍性特に卵巣奇形腫に伴う自己抗体とされていたが, 陽性例の 40% は腫瘍がみつからない症例となってきており²⁷⁾, そのような症例報告も増加している²⁹⁻³²⁾。また, 脳炎以外でも抗 NMDA 受容体複合体抗体がみつかるようになってきており³³⁾, 抗 GluR ϵ 2 抗体と同じく疾患 (NHALE-OT など) の特異的な診断マーカーではなさそうである。

Dalmau らの NMDA 受容体複合体を抗原とする抗体測定法 (免疫染色) では 2 種類のサブユニットに対する抗体を同時にスクリーニングできる利点があるが, 2 種類のうちのどちらのサブユニットが, あるいは両方がエピトープとなっているかを決めることができない欠点がある。GluR ζ 1 (NR1) 遺伝子のみ組み込んだ HEK 細胞

で GluR ϵ 1 (NR1) が細胞表面に発現するかどうかは見解の分かれるところであるが, GluR ϵ 2 (NR2B) については単独では細胞表面に発現しないことで一致している (Fig. 5)。そのため, Dalmau 法では GluR ϵ 2 (NR2B) に対する抗体の有無は, 少なくとも判定できない。NHAE-OT などの免疫分子学的機序を解析するには, われわれが開発した ELISA 法による高感度測定法 (抗 GluR ϵ 2-NT2 抗体, 抗 GluR ϵ 1-NT 抗体など) で, 各サブユニットに対する抗体を測定することが有用である。NHAE-OT では, 卵巣奇形腫に複数の GluR サブユニットを含む神経分子が発現している可能性があり, GluR ϵ 2・GluR ϵ 1 など複数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。

VI. 抗 GluR ϵ 2 抗体・抗 NMDA 受容体複合体抗体の病態機能仮説

1. 電気生理学的作用

抗 GluR3 抗体は, Rasmussen 症候群で報告された AMPA 型 GluR に対する抗体であるが, AMPA 型 GluR の活性化・興奮毒性による神経細胞死³⁴⁾といった細胞生物学的作用があるとする報告がある。

抗 GluR ϵ 2 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, GluR ϵ 2 (NR2B) の N 末側に対するウサギ抗体・Rasmussen 症候群患者の IgG-GluR ϵ 2 抗体の興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current: 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 (Fig. 6)³⁵⁾。シナプスの NMDA 型 GluR を構成するサブユニットは, 成熟とともに GluR ϵ 2 を含むものから GluR ϵ 1 (NR2A) を含むものに変化していくことが知られており¹⁸⁾, 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 GluR ϵ 2 (NR2B) がシナプスには少なく, 抗 GluR ϵ 2 抗体を加えてもシナプス電流には作用を示さなかった可能性もあると考えている。

2. 抗体によるアポトーシス

一方, SLE (systemic lupus erythematosus) 患者の抗 ds-DNA 抗体は, GluR ϵ 2 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 NMDA 型 GluR (NR2A/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, LPS

(lipopolysaccharide) やエピネフリンで血液脳関門の透過性を高めると, 細胞外ドメイン抗体が中枢神経系に至り, 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³⁶⁻³⁸⁾。

NMDA 型 GluR の活性化があまりに過剰であると, Ca²⁺-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³⁹⁾, 抗 GluR ϵ 2 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) によって神経保護に働くが, シナプス外の NR2B の活性化は CREB の遮断, Ca²⁺-dependent mitochondrial dysfunction, nNOS-dependent toxic response, JNK-dependent toxic response などを介して細胞機能障害・細胞死につながるということが報告されている³⁹⁻⁴¹⁾。

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¹⁰⁾, 抗 GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体によって成熟神経細胞の NR2B が強く活性化されると細胞機能障害・細胞死につながるということが想定される。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ポトーシスに作用するデータがある⁴²⁾。この研究からも, 抗 GluR ϵ 2 抗体によって成熟神経細胞の NR2B が強く活性化されると, 細胞機能障害・細胞死につながるということが想定される。

3. NMDA 型 GluR 複合体の内在工作

Dalmau ら²⁷⁾ は, 患者血清中の抗 NMDA 受容体複合体抗体は NMDA 型 GluR を internalization (細胞内取りこみ) させることを報告し, 抗体による internalization は, NMDA 型 GluR 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などの精神症状に関連しているかもしれない。

抗 GluR ϵ 2 抗体は NHAE を含むさまざまな脳炎・脳症, 中枢神経障害に見出され, 特定の中枢神経疾患の診断マーカーではなく, GluR 自己免疫介在性中枢神経障害を示唆する病態マーカーである。GluR ϵ 2 は幅広く中枢神経系に分布しており, 抗 GluR ϵ 2 抗体の到達する部位による症状の違い, 抗 GluR ϵ 2 抗体の到達する濃度の違いによる神経機能障害の程度の違い (細胞機能障害~細胞死) が生まれ, 複雑な臨床症状を形成しているものと考えている。