

27. 卵巣奇形腫に随伴した辺縁系脳炎症例の奇形腫の診断と治療に関する考察と提案

近年抗グルタミン酸受容体抗体を伴う急性(辺縁系)脳炎encephalopathy with anti-glutamate receptor antibody (EAGRA)に卵巣奇形腫(OT)が合併することが注目されている。しかし、EAGRAにおけるOTの意義と、EAGRAにおけるOTの治療方針に関しては未だ一定の見解が得られていない。これらの点を明らかにする為に本研究班で今後以下のテーマで研究を推進することが重要である。即ち、(1)OTを合併するEAGRAの症例収集、(2)抗GluR ϵ 2抗体陽性例における抗NMDAR抗体の陽性率、(3)抗GluR ϵ 2抗体陽性例におけるOTの合併率、(4)EAGRA例におけるOTの迅速診断と治療指針、(5)偶発的にみつかるとOT例における自己抗体(抗GluR ϵ 2抗体など)の陽性率の検証である(湯浅)。

28. 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った。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であった。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、治療期間が長期に及ぶ傾向にあった。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、何らかの理由で、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)。

29. 抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎における抗LGI抗体

対象は非ヘルペス性辺縁系脳炎の臨床診断で、平成22年7までに血清が鹿児島大学に送付された300余症例。¹²⁵I-alpha-dendrotoxin (IaDTX)を用いた免疫沈降により抗VGKC抗体を測定して、>400 pMの高力価を呈する39例を抽出した。これらの症例血清を用い、LGI-1導入細胞を用いた免疫組織学的検討では、VGKC-LE症例の64%でLGI-1を標的抗原としていた。一部のVGKC-LE患者血清が反応しなかった。一方、Isaacs症候群11例中3例で抗LGI抗体が認められた(渡邊)。

30. 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)。

31. 抗NAE抗体の作用機序の検討

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が、対照血清添加したものよりも有意に減少しているスポットが存在し、そのスポットから質量分析を行ったところ、エネルギー代謝やロイシン代謝に関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（米田）。

32. 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）。

33. 抗NOLC1抗体の測定（ELISA）法の開発

患者血清を用いたELISAの結果、検索した血清の中でRasmussen型脳炎の一人の患者において、抗NOLC1抗体価が高いことが明らかとなった（森）。

34. 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）。

35. 新型インフルエンザによる脳症における急性期遺伝子発現のプロファイル

脳症群では急性期に116遺伝子の発現の増強が認められた(3倍以上、 $P < 0.05$)。一方肺炎群では288遺伝子の発現増強が認められた。GO解析の結果では脳症群の高発現遺伝子群では Innate immune response、IL-1、Regulation of

inflammatory response)に関連する遺伝子群の増強が示された。一方肺炎群ではInflammatory response、Innate immune response、パントテン酸、補体、IL-1、IL-8、Phospholipid scramble、Oxygen homeostasis に関連する遺伝子群の増強が認められた（森島）。

36. NHLE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

2009年度、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。2010年度は10検体中VZV、HHV-6、HHV-7、CMV、HHV-8 DNA陽性検体はなかったが、昨年度同様1例で12500コピー/mlのEBV DNAが検出された（吉川）。

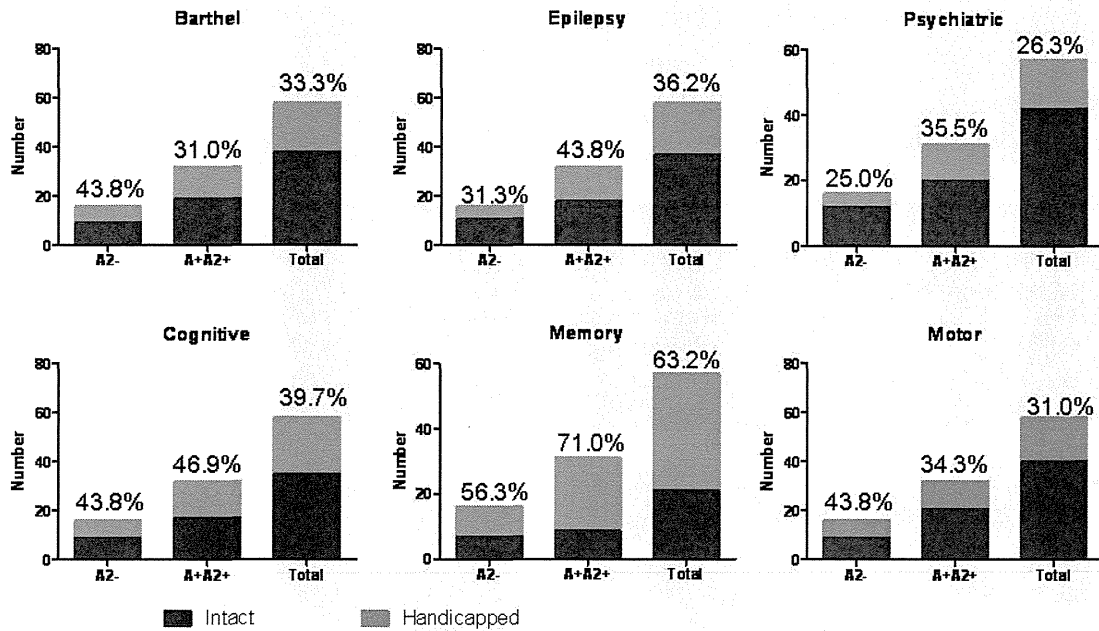
対象は2003年から2009年までに大阪医科大学、清恵会病院に入院した、急性非ヘルペス性辺縁系脳炎7例、急性脳炎12例、無菌性髄膜炎6例。平均年齢はそれぞれ40歳、48歳、42歳で、いずれの症例も原因としてHSVは否定され、悪性腫瘍やHIV、免疫抑制薬投与など免疫抑制状態をきたす基礎疾患はなく、経過中に帯状疱疹の合併はなかった。急性脳炎の1例よりVZV DNAが定性PCRにて検出された（中嶋）。

37. 炎症性サイトカインの血液脳関門への影響の検討

マウスにIL-6、IL-1 β 、TNF- α を投与し、Evans blue extravasation into brain法により血液脳関門の評価を行ったところ、TNF- α 投与24時間で有意差を認めた。またTNF- α 投与3時間で脳のMMP-9の上昇を認めた（森島）。

ADL・てんかん発作・精神症状・知的障害・記憶障害・運動障害の合併頻度

成人NPNHALE, 86例

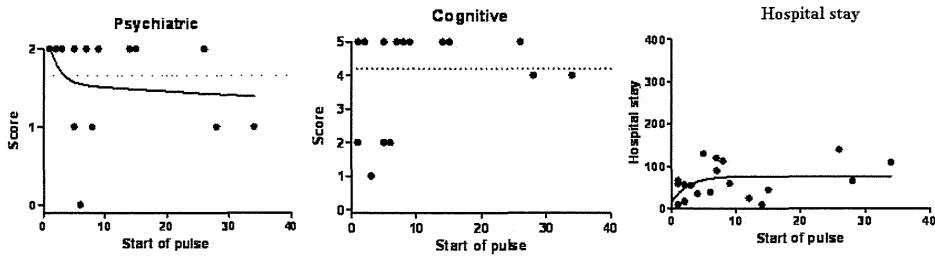


(%, ratio of patients with each sequelae)

図5. 急性辺縁系脳炎・脳症の後遺症合併率. A2-、陰性群；A+A2+、陽性群；Total、陰性群+陽性群+血清陽性群.

パルス治療開始日と後遺症の程度

髄液抗GluR ϵ 2抗体陽性群



髄液抗GluR ϵ 2抗体陰性群

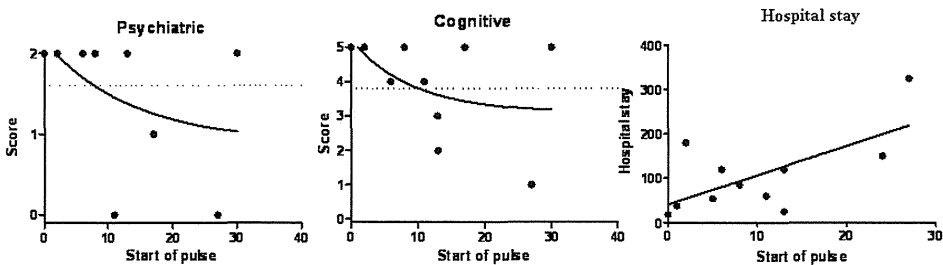


図6. 成人NPNHALEにおけるパルス治療開始日と後遺症の関連

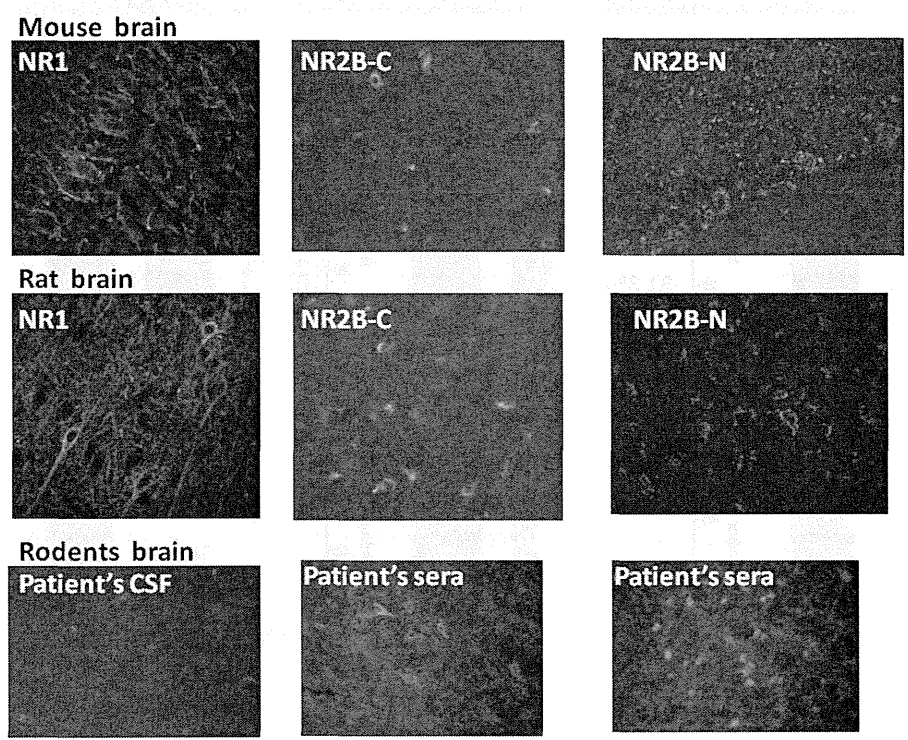


図7. 抗NMDA型GluR抗体染色パターン

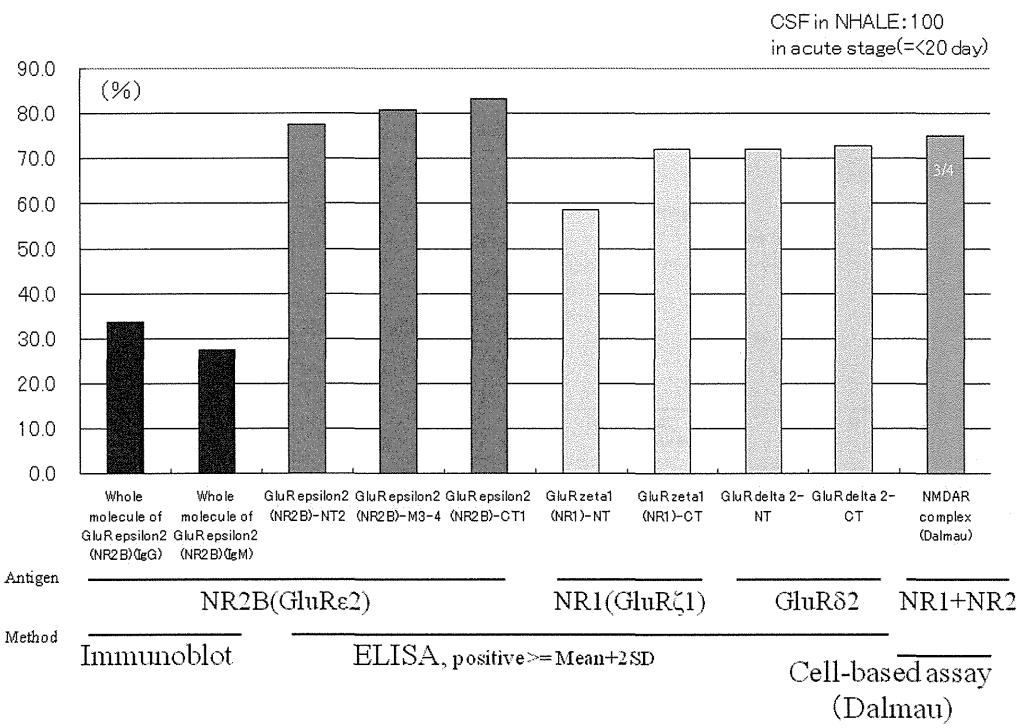


図8. NHALE100例の急性期髄液検体抗GluR抗体の陽性率

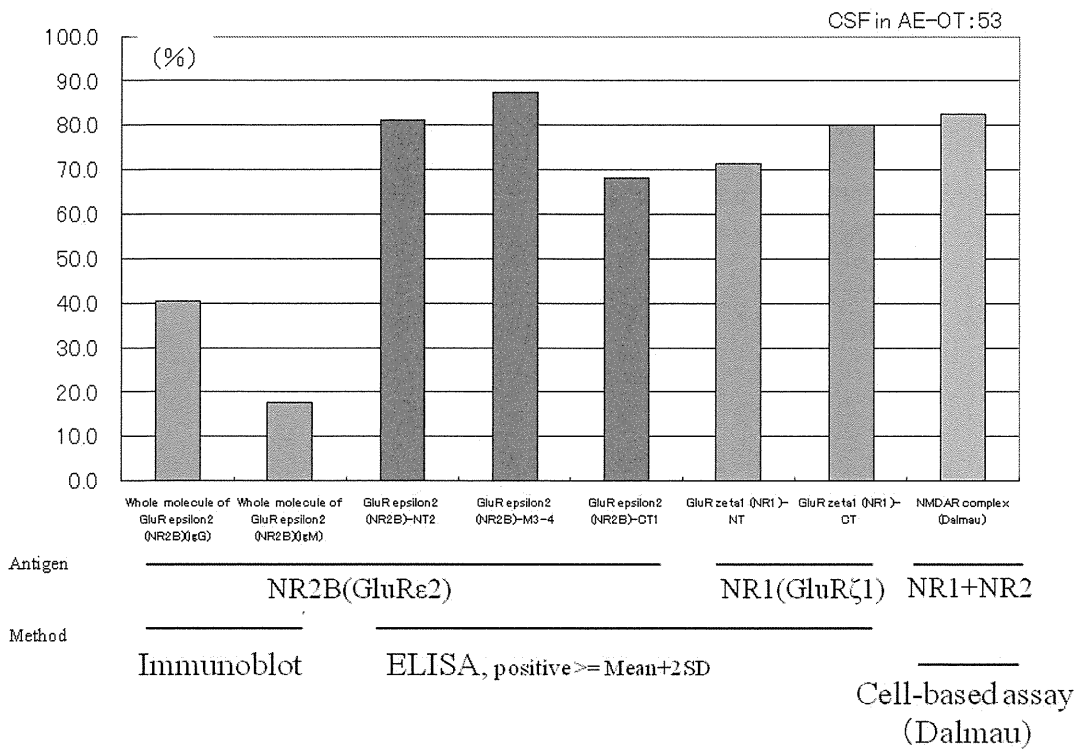


図9. 卵巣奇形腫合併急性脳炎53例の急性期髄液検体抗GluR抗体の陽性率

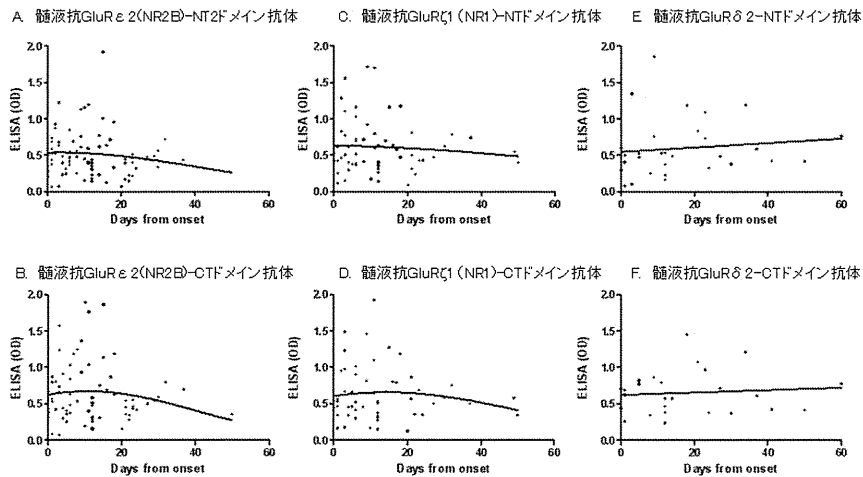


図10. NHALE症例の髄液抗GluR ε 2, GluR ζ 1, GluRδ2抗体の経過変動

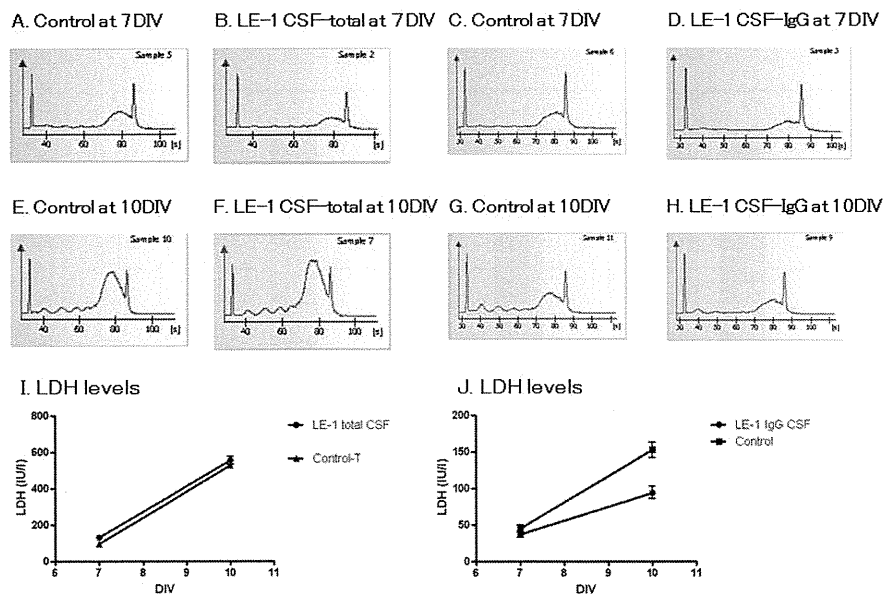


図11. 辺縁系脳炎症例 (LE-1) の髄液のアポトーシスへの影響.

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E-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。

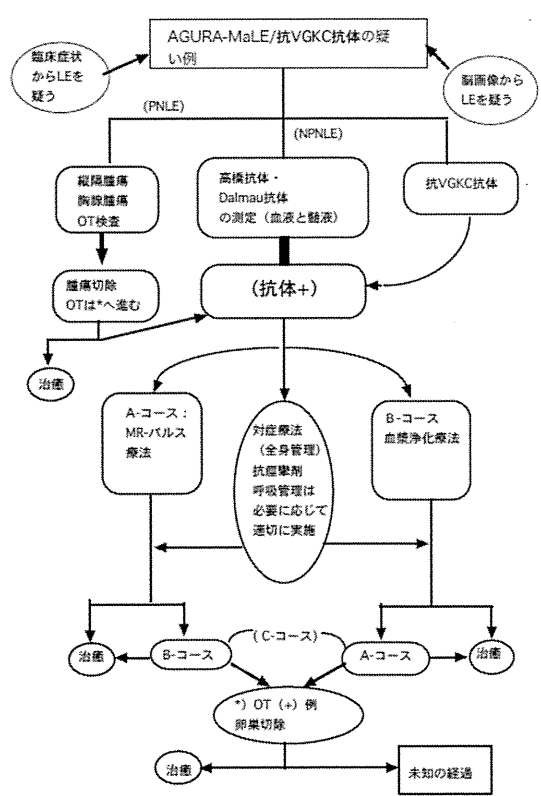


図12. GURA-MaLeの治療アルゴリズム (案)

D. 考察

【NHALEの疫学】

我々の鳥取県における後方視的研究で、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・脳症の後方視的疫学研究では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極めて重要である。

病態別に見ると、成人では、単純ヘルペス性20.4%、傍感染性24.8%、傍腫瘍性8.2%、膠原病性4.1%、ウイルス性（単純ヘルペス以外）2.0%、その他・分類不能40.8%であった（2006年度研究）。小児ではインフルエンザ（25%）、HHV-6,7（11%）、ロタウイルス（4%）、マイコプラズマ（3%）、ムンプス（3%）の順で、原因不明が27.6%を占めた。成人ではウイルス直接侵襲が証明できる症例は22.4%と少なく、傍感染性の病態が重要と思われ、小児においてもウイルス直接侵襲が証明できないインフルエンザ脳症、75%の症例では髄液中ウイルスが証明できないHHV6脳炎・脳症などが多かった。

正確な罹患率を把握するには前向き調査が必要であり、我々は鳥取県内の急性期診療を行っている基幹病院神経内科を中心に前向き調査を2007年1月から2010年8月に行った。単純ヘルペス性辺縁系脳炎例の発症年齢は平均61.3歳（23～86歳）でその罹患率は3.2/100万人年であった。一方、傍感染性脳炎・脳症例の発症年齢は平均27.8歳（16～34歳）で、2.2/100万人年であった。前向き調査の結果よりわが国における傍感染性脳炎・脳症例の年間発生数は約230人と推計された。前向き調査における傍感染性辺縁系脳炎・脳症が2.2/100万人年であり、2001年～2005年の後ろ向き調査の罹患率のおよそ半数であった。特に前向き調査期間では女性の罹患者が少なかった。この原因については不明であるが、傍感染性辺縁系脳炎・脳症については、流行性があるのかもしれない。今後は対象人口を広げた検討あるいは調査期間を延長させた検討が必要と思われた（中島、森島）。

【自己免疫介在性脳炎・脳症の診断スキームの作成】

これまでの研究をまとめた「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームは16項目34頁となった

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)（参照2）。今後さらに病態等の知見を加えていく予定である。

【NHALEの精神症状の特徴】

精神症状はNHALEの発病時にみられることが多く、精神疾患と誤診されることも多い。今回NHALEの発病初期の精神症状を分析し、滅裂思考24名（55%）、まとまりのない会話24名（55%）、意識レベルの低下・見当識障害18名（41%）、奇異な行動16名（36%）、興奮12名（27%）などが多かったが、NHALEの精神症状と統合失調症などの内因性精神疾患でみられる精神症状との鑑別は非常に難しいが、前駆症状の有無、意識障害の進行、てんかん発作や不随意運動などの神経症状の有無などから鑑別するほかない（西田）。

【NHALEの発作症状（seizure）の特徴】

NHALEの発病時にみられることが多いけいれんなどの発作症状も、無熱であったり、一過性意識障害のみで痙攣がなかったり、てんかんに見られる発作との鑑別が難しい場合も多い。発作後の神経症状、経度の意識変容などに注意して観察する必要がある（参照2-資料7）（高橋）。

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

2008年度の我々の卵巣奇形腫に合併する急性脳炎（AE-OT）19例の臨床的検討では、若年女性に好発し、感染症が先行することが多く、精神症状、意識障害、痙攣、不随意運動、自律神経症状および中枢性低換気など非傍腫瘍性NHALEと類似の症状を呈するが、非傍腫瘍性NHALEより重症であることが分かっている（高橋）。

【NHALEのMRI拡散強調画像】

非傍腫瘍性NHALEのMRI拡散強調画像（DWI）は施設や操作者によりウィンドー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。標準化した方法で表示・判定する必要がある（参照2-資料8）。

NHALEのDWIの特徴・意義はまだ完全な解明には至っていないが、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く、NHALEの診断に必須条件ではないと思われ、③0～1病日と早期に出現することが上げられた。辺縁系のDWI高信号病変はけいれん重積や再発性脳炎であっても見られ、DWI高信号病変のみでNHALEと診断するのは危険である。①著しい高信号で淡くない場合、②ADCの低下がない場合、③SPECTなどで血流増加がある場合には、慎重な判断が必要である。また、出現頻度はlowく、NHALEの診断に必須条件ではないと思われることを明らかにしてきた（湯浅、岡本、熊本、佐々木、高橋）。

NHALEの診断は臨床症状を主体に、画像所見、自己抗体などを参考に、総合的に診断する必要がある。参考となる事例の画像を

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)（参照2）に掲載しているので参照願いたい。

【NHALE急性期SPECT画像】

SPECT画像の検討からNHALE症例の拡散強調画像の高信号域は脳血流増加を示し、痙攣による変化であり、辺縁系の脳血流低下は神経細胞の機能障害を反映している可能性が考えられた。海馬傍回、島皮質、帯状回などの辺縁系の血流低下は、早期診断に有用な所見である可能性がある。急性脳炎・脳症における画像変化を考える際、けいれんに伴う画像変化との鑑別が必要だが、その一助として髄液中の総タウ蛋白高値は痙攣の影響がCNSで大きいことを示す（熊本）。

【NHALEの予後】

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。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。これらの障害の程度は、イムノブロット法での抗GluRε2抗体陽性群と陰性群で有意差がなく、抗GluRε2抗体の関与というよりは、辺縁系が侵される非傍腫瘍性NHALEとしての特徴から来るものかもしれない（高橋）。

非傍腫瘍性NHALE・卵巣奇形腫関連のNMDAR群3ヵ月の後遺症頻度の比較では、NHALE群で記憶障害の頻度が高く、NMDAR群においてはADL・知的障害・記憶障害など全般的に障害されていた。有意水準を10%に定めるとき、NHALE、NMDAR両群での後遺症程度の比較において、3ヵ月・1年の差ではNMDAR群で改善が示唆され（ $p=0.068$ ）、NMDAR 3ヵ月群で重度障害されていた（ $p=0.055$ ）。卵巣奇形腫関連のNMDARの1症例では発症後7ヵ月の時点において、自発性・意欲の重度障害が明らかになり、1年後も職業復帰が困難な状況である。神経心理学的検査において前頭葉機能低下が認められた。これらの疾患群において急性期言動異常の頻度の高い点からも人格・性格異常の後遺症に注目する必要がある（庄司）。

2009-10年度の研究では神経細胞を構成する主要な細胞骨格蛋白であるneurofilament（NF）の血清動態を解析し、NHALE群の一部において急性期血清pNF-H値が上昇していたことは神経細胞脱落を示す症例の存在を示唆した。一方で急性期、回復期とも血清pNF-H値の上昇を認めない症例が約6割あったことは、神経細胞の脱落を認めないNHALEも稀ではないことが示唆された（市山）。

予後とこのようなバイオマーカーの関係も今後検討する必要がある。

【NHALEの治療と予後】

成人NHALE後の予後調査の時期が必ずしも一定ではなく、正確に後遺症のレベルを示していないかもしれないが、パルス治療・IVIg治療ともに、治療開始が早いほど精神症状・急性期入院日数などの予後が良い傾向を示した。イムノ

プロット法での抗GluR ϵ 2抗体陽性群ではパルス治療の方がIVIGより有意にてんかん発作予後が良好であったことから、非傍腫瘍性NHALEではなるべく早い時期にパルス治療、IVIG治療の順に免疫学的治療を検討するのが良いかもしれない（高橋）。

【NMDA型GluRに対する抗体測定法の比較】

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）。腫瘍を合併しない非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（NHALE）におけるイムプロット法による髄液中抗GluR ϵ 2抗体の陽性率は約30%、ELISAによるGluR ϵ 2のN末ドメインに対する抗体の陽性率は77.5%、ELISAによるGluR ζ 1のN末ドメインに対する抗体の陽性率は56.9%、ELISAによるGluR δ 2のN末ドメインに対する抗体の陽性率は70.8%、Dalmau法のcell-based assayの陽性率は75.0%であったことから（図5）、ELISAによるGluR ϵ 2のN末に対する抗体はDalmau法のcell-based assayとほぼ同等の感度を有すると思われる。2009年度に報告した卵巣奇形腫合併例（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（イムプロット法）は40%とかなり低いが、抗GluR ϵ 2-NT2抗体（ELISA）は81.3%、抗GluR ζ 1-NT抗体は71.4%、抗NMDA受容体複合体抗体（Dalmau法）は82.6%の症例で陽性で、ほぼ同等であった（図6）。Dalmau法による抗NMDA受容体複合体抗体はてんかん症例にも検出され、必ずしも特異度が100%ではないがかなり脳炎に特異的であるとされている。Dalmau法のcell-based assayは特殊な細胞を構築する必要があり、その細胞のviabilityの影響問題、定量できないという問題がある。ELISA法はNHALE、AE-OTで80%前後の陽性率があり感度は問題なく、どんな施設でも一晩で測定可能であり、便利である（高橋）。

GluR ϵ 2N/R-DsRedとGluR ζ 1N/R-EGFPをHEK293細胞に導入した ϵ 2+ ζ 1の発現安定細胞株を用い、on cell Western法で抗体価の定量的解析測定を行ったところ、髄液では、患者とコントロールで、統計学的有意差を認め有用であったが（ $p=0.003$ ）、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。よって髄液ではNMDA型GluR細胞外ドメインに対する抗体を定量する道が開けてきている（森）

このような種々の抗GluR抗体測定法の特徴を生かして、自己免疫介在脳炎の早期診断、特異的診断を構築していきたい（高橋）。

【NHALEにおけるNMDA型GluR抗体の変動からみた病態】

2007年度までの検討で、成人NHALE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。よって感染ウィ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。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。

2010年度、卵巣奇形腫などの腫瘍を同定できないNHALEの100例を対象として、抗GluR抗体の意義、変動を検討した。

NHALE髄液における抗GluR抗体の急性期陽性率は、ドメインペプチドを抗原とするELISA法およびDalmauらの確立したcell-based assayでの陽性率が約80%程度であった(図8)。よってNHALEでは約8割の症例で抗NMDA型GluR抗体が関与している可能性がある」と推定される。

抗GluR抗体の血清・髄液のELISA法での値の発病後の経時的変動を見ると、病勢と比例して変動していると思われるのはNMDA型GluR ϵ 2 (NR2B) 及びGluR ζ 1 (NR1) に対する抗体で、抗GluR δ 2抗体は有意な変動を示さなかった(図10)。NHALEではGluRのうちでもNMDA型GluRに対する抗体の関与が推定される。抗NMDA型GluR抗体に血清・髄液に比例した変動がみられ、血清は10 μ lでの測定で、髄液が100 μ lでの測定であることを考えると、血清中の抗NMDA型GluR抗体が血液脳関門の破綻に伴って髄液中に侵入している病態が推定される。

血清中では等量存在すると思われる抗NMDA型GluR抗体のN末をエピトープとする抗体とC末をエピトープとする抗体のBBB透過率が同じとすると、N末をエピトープとする抗体がGluRのN末に吸着するため、吸着できないC末に対する抗体より髄液中では低値となる。その吸着率を推定すると主に吸着するのは抗GluR ϵ 2 (NR2B) 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る。抗GluR ζ 1 (NR1) 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。NMDA型GluR機能が抑制されるとシナプスでNR2BがNR2Aより多くなるようにNR2Bが産生されるため、吸着が持続する可能性がある(高橋)。

【抗NMDA型GluR抗体の基礎的意義】

2009年度の研究で、辺縁系脳炎患者血清中の自己抗体は37 $^{\circ}$ CでNMDA型GluR (GluR ζ 1+ GluR ϵ 2) をinternalization (細胞内取り込み) させるが、4 $^{\circ}$ Cでは細胞内取り込みが起こらないことを明らかにした。2010年度の研究では、自己抗体は37 $^{\circ}$ CでGluR ζ 1単独発現のNMDA型GluRをinternalization (細胞内取り込み) させることを見出した。自己抗体による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等の精神症状に関連しているかもしれない。また、4 $^{\circ}$ Cでは細胞内取り込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(森)。

2010年度の抗GluR ϵ 2抗体陽性NHALE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NHALE患者髄液IgGはアポトーシスを抑制し、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(図11)。

抗GluR ϵ 2抗体・抗GluR ζ 1抗体などがNMDA型GluR複合体細胞外ドメインに吸着し、複合体がクラスリンなどの作用で細胞表面から内在化すると、グルタミン酸やIL-1 β などのNMDA型GluR複合体に対する作用が遮断され、NMDA型GluR拮抗作用が現れ、精神症状などが生じるが、一方で興奮毒性が抑制されるため、アポトーシスが抑制され、予後が比較的良くなるものと推測している(図13)。

一方、SLE患者の血清抗ds-DNA抗体(IgG分画)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に分子相同性があり、中枢神経系でNMDA型GluR (NR2A/2B)と交叉反応し、マウス海馬にアポトーシスを起こすこと、SLE患者髄液がマウス海馬にアポトーシスを起こすことが動物実験で示されている。この研究では患者血清IgGをDWEYSVWLSN peptide-conjugated sepharose columnで精製したものをを用いており、種々の抗体やIgGサブクラスが

含まれている可能性があり、患者髄液はIgG分画を用いておらず、抗体以外の髄液成分の作用を否定できない。

今後さらに症例数を増やしてNHLE患者髄液およびその成分である抗GluR抗体の作用を明らかにしたい（高橋）。

2010年度、マウス脳スライスを用いて、抗NMDA型GluR抗体陽性髄液の海馬ニューロンの長期増強誘導（LTP）への影響を検討し、NMDA型GluR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型GluR抗体陽性髄液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型GluR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、抗体陽性髄液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型GluR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。今回見出されたNMDA受容体抗体を含む患者髄液のLTPへの影響が、NMDA受容体抗体関連脳炎での記憶力障害・意識障害・けいれんなどに関与していると考えられた（田中）。

【卵巣奇形腫合併急性脳炎（AE-OT）と抗NMDA型GluR抗体】

AE-OTの抗GluR ϵ 2-NT2・CT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（図9）。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、腫瘍のない非ヘルペス性辺縁系脳炎（NHLE）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、ほぼ同じOD値となることから、血清中の抗体価の方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。

AE-OTの抗NMDA型GluR抗体も、森やDalmauら研究が示すように、NMDA型GluR複合体の細胞表面から細胞内への内在化をもたらしているものと推定される。今後さらなる検討が待たれる（高橋）。

【非傍腫瘍性NHLEと血液脳関門】

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。

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、種々の後遺症との関連があるかもしれない（市山）。

TNF- α は動物実験で脳でのMMP-9を増加させることが明らかとなったが、NHLEでのsTNFR1は上昇・不変両説あって確定できていない。NHLEではTNF- α あるいはその他の炎症性サイトカインなどによるMMP-9上昇、さらには血液脳関門の破綻が起こっている可能性がある。今後この病態を解明する必要がある。

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が大きいほど記憶・

運動スコアが低く、急性期入院日数が長くなる傾向が見られ、BBB破綻の程度が予後規定していることが推定できた（高橋）。

2009-10年度の研究では神経細胞を構成する主要な細胞骨格蛋白であるneurofilament (NF) の血清動態を解析し、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（市山）。

脳炎発病から5日以内のBBB保護が、予後を改善できる可能性があり、MMP-9などのBBB障害因子に対する対策、あるいはMMMP-9産生メカニズムの解明に基づく新たな治療法の確立が望まれる（高橋）。

【サイトカイン】

2005-2007年度研究では、傍感染性のNHALEの髄液では、炎症性サイトカインであるIL-6と抗炎症性サイトカインであるIL-10が上昇し、炎症の存在が示唆されるが、単純ヘルペス脳炎（HSE）で上昇するIFN- γ が正常であり、炎症の原因はウィルスが主役ではないことが分かった。一方、HHV-6脳炎・脳症でも、HHV-6 DNAの検出頻度・量は少なく、髄液IL-8、IL-6が高値を示し、局所での炎症性サイトカインが病態に重要な役割を演じていることが推測された。よってウィルス感染が契機となるNHALEであっても中枢神経系ではウィルスよりサイトカインなどが病態の主役を務めている可能性があるものと思われる。今後さらに症例数を増やし、予後との関連も含めて検討したい。

【中枢神経病理】

非傍腫瘍性NHALE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。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傷

害性T細胞もNHALEの病態に関与している可能性がある。今後さらに症例を増やし検討していく予定である（岡本）。

【卵巣奇形腫の免疫病理解析】

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2007年報告され、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なかった（岡本）。

2010年度研究で、NMDA型GluR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、両群に差異は認めなかった。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（田畑）。

NHALE-OTのNMDA型GluRに対する抗体ができて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。

【非傍腫瘍性NHALEとウィルス】

非傍腫瘍性NHALE71例の髄液検体中、2検体でEBV DNAが検出されたが、VZV、HHV-6、HHV-7、CMV DNA陽性検体はなかった。多くのNHALEではウィルスの中枢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（吉川）。

【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、2010年、抗VGKC抗体はVGKC複合体の構成分子であるLeucine-rich glioma-inactivated 1 (LGI1)を認識することが報告され、抗VGKC複合体抗体関連辺縁系脳炎と称されるようになった。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。本邦VGKC-LEでは、およそ6割が抗LGI-1抗体を有していた。今後、ADAM22などの他のVGKC複合体の構成分子の検討も加えていく必要がある（渡邊）。

【橋本脳症の臨床的特徴】

橋本脳症とは甲状腺自己免疫疾患に関連した脳症で、甲状腺機能が正常あるいは補正して

いるにも関わらず精神神経症状を来すことが特徴である。臨床的には、脳梗塞のように巣症状を伴う急性脳症型(72%)、緩徐進行の認知機能障害亜急性・慢性精神病(10%)、小脳失調型・CJD様・不随意運動特殊型(12%)がある。

抗NAE抗体陽性の橋本脳症では平均発病年齢は53歳(23-83歳)で、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。

小脳失調型は慢性の失調症状を呈し、甲状腺機能や髄液所見が正常で、脊髄小脳変性症類似症例において、特に眼振を欠き、脳波の徐波化を伴い、頭部MRIで小脳の萎縮が乏しい場合は、治療可能な橋本脳症の可能性も念頭に置く必要があると考えられた（米田）。

【抗NAE抗体の作用機序】

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。脳内の細胞の機能異常を来す可能性が示唆された。しかし、1例のみの検討であり、症例数を増やした検討や代謝産物の変化を確認する必要がある（米田）。

【若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎】

これまでの検討で、若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(AJFNHE)は、抗GluR2抗体が66%で陽性、卵巣腫瘍との関連を約30%で確認することができ、一部はDalmauらの報告する卵巣奇形腫に合併する抗グルタミン酸受容体抗体関連脳炎に包含されることが分かっている。

2008年度の検討では、AJFNHE男性例の臨床像は女性例と極めて類似しているが、腫瘍の合併がないことが相違点であることが明らかとなった。今後、男性例における神経抗体や腫瘍のより詳細な検索が望まれると考えた（亀井）。

【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た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 (犬塚)。

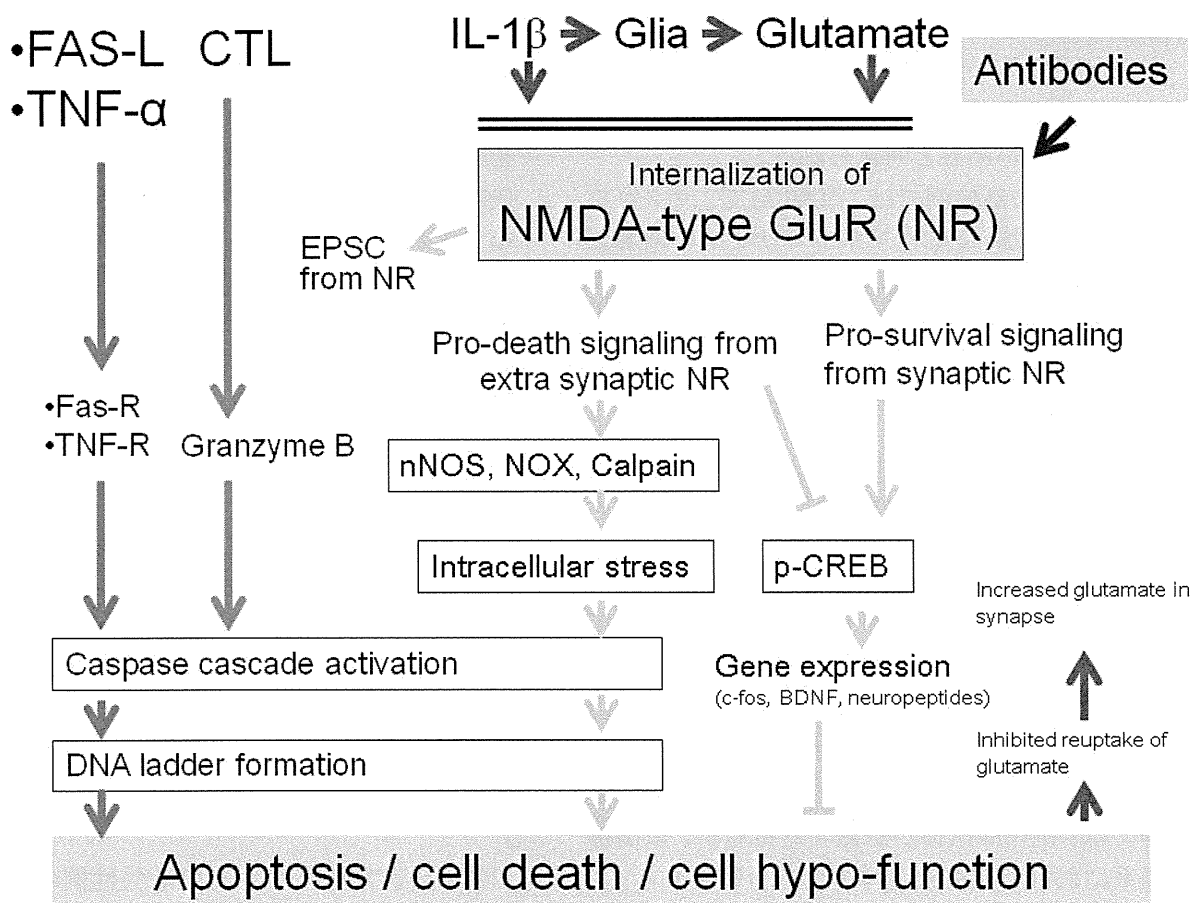


図13. NMDA型GluR複合体の内在化とアポトーシス。

E. 結論

鳥取県内の基幹病院神経内科を中心に前向き疫学調査を2007年1月から2010年8月に行った。非傍腫瘍性MHALE症例を主体とする成人傍感染性脳炎・脳症例の発病年齢は平均27.8歳（16～34歳）で、罹患率は2.2/100万人年であった。一方、成人単純ヘルペス性辺縁系脳炎例の発病年齢は平均61.3歳（23～86歳）でその罹患率は3.2/100万人年であった。

NHALEの発病時にみられることが多い精神症状は、統合失調症などの内因性精神疾患で見られる精神症状との鑑別は非常に難しく、発作（seizure）症状もてんかんに似る場合があり、前駆症状の有無、意識障害の進行、てんかん発作や不随意運動などの神経症状の有無などから総合的に鑑別する必要がある。

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く、NHALEの診断に必須条件ではないと思われる、③0～1病日と早期に出現することが上げられた。拡散強調画像の高信号域は脳血流増加を示し、痙攣による変化と推定される。

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。Dalmauらが報告したNMDAR脳炎は比較的軽症・経過が均質であり予後も良いとされるが、卵巣奇形腫合併例は、非合併例に比べて重症で予後も不良な傾向がみられた。非傍腫瘍性NHALEと卵巣奇形腫合併群での発病後3ヵ月での後遺症頻度の比較では、NHALE群で記憶障害の頻度が高く、卵巣奇形腫合併群においてはADL・知的障害・記憶障害など全般的に障害されていた。神経細胞を構成する主要な細胞骨格蛋白であるneurofilament（NF）の血清pNF-H値が上昇しない症例がNHALEの約6割にあったことは、NHALEでは神経細胞の脱落を認めない予後良好例が稀ではないことと合致する。

非傍腫瘍性MHALE症例では、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、GluRに対する抗体が高頻度に認められる。イムノブロット法による髄液中抗GluR ϵ 2抗体の陽性率は約30%と低いが、ELISAによるGluR ϵ 2のN末ドメインに対する抗体の陽性率は77.5%、ELISAによるGluR ζ 1のN末ドメインに対する抗体の陽性率は56.9%、ELISAによるGluR δ 2のN末ドメインに対する抗体の陽性率は70.8%、Dalmau法のcell-based assayの陽性率は75.0%であったことから（図8）、ELISAによるGluR ϵ 2のN末に対する抗体はDalmau法のcell-based assayとほぼ同等の感度を有すると思われる、診断に有用である。

非傍腫瘍性MHALE症例では、NMDA型GluRのGluR ϵ 2（NR2B）、GluR ζ 1（NR1）に対する抗体は病勢に反応して変動していたが、髄液抗GluR δ 2抗体は変動がとぼしく、病態とは関連が乏しいと考えられ、主にNMDA型GluR抗体が関与しているものと推測された。

非傍腫瘍性MHALE症例および卵巣奇形腫を伴う急性脳炎（AE-OT）症例では、血清および髄液中抗GluR ϵ 2抗体がGluR ϵ 2分子のN末・M3-4間・C末をエピトープとする抗体をほぼ等しく含んでおり、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GluRに対する交叉反応ではなく、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る。

NHALEならびにAE-OT患者血清中のNMDA型GluR自己抗体は温度依存性にNMDA型GluR（NR1+NR2B、NR1単独）を内在化（細胞内取り込み）させ、NMDA型GluR拮抗作用を示し、急性期の意識障害や行動異常等の精神症状に関連していると推定される。

抗GluR ϵ 2抗体陽性NHALE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NHALE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。

マウス脳スライスを用いて、抗NMDA型GluR抗体陽性髄液の海馬ニューロンの長期増強誘導(LTP)への影響を検討し、NMDA型GluR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。今回見出されたNMDA型GluR抗体を含む患者髄液のLTPへの影響が、NMDA型GluR抗体関連脳炎での記憶力障害・意識障害・けいれんなどに関与していると考えられた。

病理学的には、NHALEの海馬にはマクロファージ/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。

非傍腫瘍性NHALE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、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。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。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。

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2)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
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

参照2

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

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の前駆期-先行感染症期の病態解明による 障害防止研究

研究代表者 高橋 幸利

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター統括診療部長

研究要旨

【目的】我々のこれまでの研究で、成人発病の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（NHALE）は年間220人が罹患していて、記憶障害は63.2%に残り、1万人程度がNHALEによる記憶障害などの後遺障害を患っている可能性が明らかになっている。これらの障害を防ぐために、発病の数年前の前駆期、発病直前の先行症状期に着目し、その病態を明らかにすることで、早期診断治療、発病予防につなげたい。

【既往歴】非傍腫瘍性NHALE患者217名の検討では、精神障害関連既往症が21名（10%）に、自己免疫性疾患関連が9名（4%）に、婦人科関連疾患が8名（4%）にみられた。精神障害関連既往症の内訳は、気分障害8名、依存症8名、発達障害5名であった。

【精神・神経症状のある非脳炎患者の自己抗体】思春期から成人期にうつなどの精神症状を呈した症例19例の髄液で検討した。抗NR2B-NT2抗体は半数の症例で疾病対照の平均+2SDを超えていた。抗NR1-NT抗体は3/4例で疾病対照の平均+2SDを超えていた。

【先行症状】NHALE207例中162例（78%）に先行症状を認め、162例中23例（14%）で感染病原体が確定された。先行症状がありながら病原体の確定ができなかった139例について検討すると、発熱（81%）>頭痛（53%）>悪心嘔吐（24%）>上気道炎症状（18%）>下痢（3%）の順で、上気道炎などの中枢神経系以外の局所感染症状は比較的少なかった。脳炎症状出現前に髄液検査された18例中18例で無菌性髄膜炎の診断がされていた。

【抗体スクリーニングシステム】Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis Mosaic1のキットを用いた抗NMDAR抗体、抗AMPA抗体、抗GABABR抗体、抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体のスクリーニングを、NHALE6例、卵巣奇形種合併脳炎2例、抗VGKC抗体陽性脳炎2例等で行った。感度、特異度の点で課題を認めた。

【細胞傷害性T細胞の役割】血清granzyme B濃度は、NHALEと対照との間に有意差がなかった。発病から20病日以内の髄液granzyme Bは疾病対照に比べ有意に高値で（ $p < 0.0009$ ）、髄液細胞数との間に正の相関があった（ $p < 0.005$ ）。髄液granzyme Bが疾病対照の平均+2SD以上の群ではそれ以下の群と比べて、抗NR2B-NT2抗体、抗NR2B-CT抗体、抗NR1-NT抗体、抗NR1-CT抗体が有意に高値であった。

【抗NMDA型GluR抗体のシナプスNMDARに対する作用】培養ラット胎児神経細胞に抗NMDAR抗体陽性NHALE患者髄液あるいは患者髄液IgG分画を加え、培養上清のLDH濃度、培養細胞の総cAMP-Responsive-Element-Binding protein（tCREB）濃度およびリン酸化CREB（pCREB）濃度を測定し、同時測定対照との比を求めて評価した。NHALE髄液IgGを加えた系では、髄液を加えた系に比べて有意にLDH濃度比が低値であった。NHALE髄液を加えた系の7DIVのpCREB濃度比は、疾病対照髄液を加えた系と有意差がなかったが、10DIVのNHALE髄液によるpCREB濃度比に比べて有意に高値であった。7DIVでのNHALE髄液によるpCREB濃度比は、NHALE髄液IgGを加えた系のpCREB濃度比に

比べて有意に高値であった。NHLE髄液IgGを加えた系では、7DIVでのpCREB比が平均1.47(>1.00)であり、CREBリン酸化は障害されることなく軽度亢進していた。

【まとめ】これらの知見は、NHLE患者に抗NMDAR抗体がかなり以前(前駆期)から存在し、軽度の精神神経症状を呈しうるとすると理解しやすい。NHLE発病期の病態は抗NMDAR抗体のみでは説明できず、granzymeBなどの複数の因子が関与している。

これらの研究結果は、学問的に検討過程にあり即臨床応用できる段階ではないことに、ご注意願いたい。

分担研究者：

- 森 寿、富山大学大学院医学系研究科分子神経科学、教授。
- 西田拓司、静岡てんかん・神経医療センター、精神科医長。

研究協力者：

- 宮 一志、富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座、医員。
- 田村賢太郎、富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座、医員。
- 西村成子、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。
- 高尾恵美子、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。
- 笠井理沙、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。
- 井上有史、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。

- 植田佑樹、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。
- 保立麻美子、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。
- 山口解冬、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。
- 那須裕郷、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。
- 高山留美子、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。
- 大谷英之、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。
- 池田浩子、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。
- 今井克美、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。
- 重松秀夫、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。

A. 研究目的

1. これまでの研究のまとめと研究仮説

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2008-10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、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHLE)を中心に病態解明を行い、「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-20101017-にまとめてきた(参照1:2008-2010研究班総合報告書)(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>)。

我々のこれまでの研究で、成人発病の非ヘル

ペス性急性辺縁系脳炎(NHLE)は年間220人が罹患していて、ADL障害は33.3%に、てんかん発作は36.2%に、精神症状は26.3%に、知的障害は39.7%に、運動障害が31.0%に、記憶障害は63.2%に見られ、1万人程度がNHLEによる記憶障害などの後遺障害を患っている可能性が明らかになっている。

NHLE 100例の既往歴を調査すると、脳炎発病の数年前(前駆期と呼ぶ)から、うつ症状(6例)、薬物等依存(5例)、発達障害(5例)等が見いだされ、前駆期からすでに18例で何らかの中枢神経症状が始まっている可能性が示唆された。またNHLEには、急性期に言動異常が1-2日あるのみで発熱や痙攣や意識障害がなく収束し、その後記憶障害が明らかとなる軽症例がかなり見られる。また、脳炎症状が再発性の

経過をとる症例も存在する。これらの事実は、NHALEの発病前の前駆期から抗NMDA型GluR抗体が存在し、軽度の一過性中枢神経系症状を発現する可能性を示唆する(図1、2)。視神経脊髄炎(NMO)では発症の10年前から抗AQP4抗体が認

められた症例が東北大学より報告されており(Nishiyama, et al., Neurology)、抗体が血清中に存在する前駆期がかなり長く存在することが分かっている。

目的: NHALE前駆期—先行感染症期の病態解明 → 障害の防止・軽減

方法: A) 前駆期自己免疫状況

- ① NHALE症例の前駆期保存検体
- ② 若年成人で精神・神経症状のある症例

B) 感染症に対する生体反応

- ① NHALE先行感染症における経時的变化
- ② NHALE後遺症期患者の非脳炎感染症時における経時的变化
- ③ 健康対照の非脳炎感染症時における経時的变化

C) 病歴

NHALE患者既往歴・家族歴

効果:

リスク因子

早期発病リスク診断

発病予防・早期治療

障害の防止・軽減

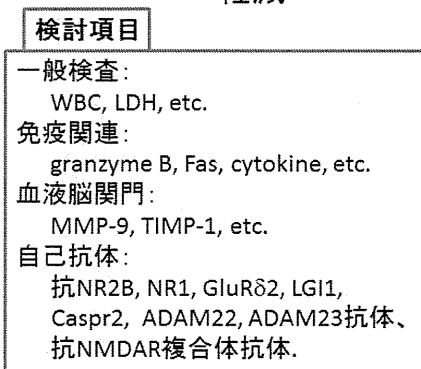


図1. 研究の目的、方法及び期待される効果(流れ図)

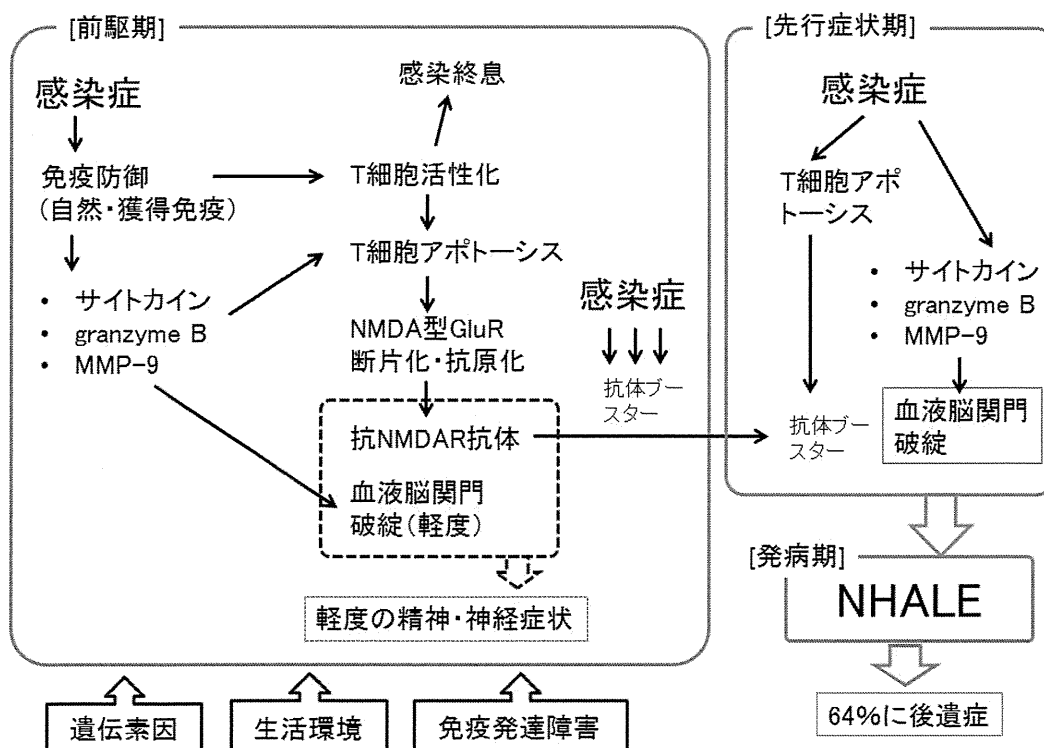


図2. 研究仮説

2. 2012年度研究計画

抗NMDA型GluR抗体のエピトープはGluRの細胞外ドメインから細胞内ドメインまで幅広く、感染交差免疫ではなくNMDA型GluR (NMDAR) 自身が抗原となっていることをこれまでに見出している。末梢血T細胞にNMDARが発現し、PHA刺激で発現増加することが知られており (Migilio, et al. BBRC 2005)、感染によるリンパ球の活性化→NMDAR発現→リンパ球アポトーシス→NMDAR断片化→抗NMDAR抗体産生という仮説を立てている(図2)。脳炎発病数年前(前駆

期)からこのプロセスが徐々に始まり、一部の症例では軽度の中樞神経症状が観察され、その後先行感染症に伴ってNHALEが発病するという病態仮説のもとに、今回の研究では、これまで国内外で検討されてこなかった前駆期と発病直前の先行症状期の病態を詳しく検討し、感染症出現時点でのNHALE発病リスク診断、NHALE発病抑止対策、早期治療を可能にする。

2012年度は表1に示す研究を計画した。

表1. 2012年度研究計画内容

1. NHALE 症例の前駆期保存検体を用いた前駆期自己免疫状況の検討 (H24-25 年度、高橋、森が担当) (図 1)
集積したNHALE症例400例に於いて、前駆期保存検体の有無、成人例献血(保存検体)の有無を調査し、協力が得られる症例の血清で血液脳関門攻撃因子(MMP-9)、サイトカイン(BioPlex)、細胞傷害性T細胞因子(granzyme B)、自己抗体(NR2B, NR1, GluR82, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体)等を測定する。(目標20例)
2. 精神・神経症状のある若年成人の検体を用いた前駆期自己免疫状況の検討 (H24-26 年度、高橋、森が担当)
これまでに集積した20例を含め、前方視的に血清(髄液)でMMP-9、サイトカイン、granzyme B、自己抗体(前述)等を測定する。(目標50例)
3. NHALE 先行感染症期における一般・免疫マーカーの経時的変化の検討 (H24-26 年度、高橋、森が担当)
先行感染症期のリンパ球アポトーシス指標としてのWBC, LDH、等の一般検査値、MMP-9、サイトカイン、granzyme B、自己抗体(前述)等を、経時的に測定する。(目標50例)
4. NHALE 後遺症患者の非脳炎感染症時における一般・免疫マーカーの経時的変化 (H24-26 年度、高橋、森が担当)
先行感染症時の一般・免疫マーカーの反応がNHALE特異的なのか? NHALE患者の素因に基づくものなのか?を明らかにするため、NHALE回復後の患者さんで感染症時の一般・免疫マーカーの変動を検討する。(目標20例)
5. 健康対照の非脳炎感染症時における一般・免疫マーカーの経時的変化 (H24-26 年度、高橋、森が担当)
先行感染症時の一般・免疫マーカーの反応がNHALE特異的なのか? NHALE患者の素因に基づくものなのか?を明らかにするため、健康対照で感染症時の一般・免疫マーカーの変動を検討する。(目標20例)
6. NHALE 患者既往歴・家族歴の検討 (H24-26 年度、高橋、西田が担当)
前駆期にみられる精神神経症状などの中樞神経症状を詳しく検討し、NHALE発病時の辺縁系症状などと比較検討する。またNRはリンパ球のみならず正常卵巣にも発現している (Tachibana, Takahashi, et al., 2010)、NHALE症例では不妊治療や帝王切開が直前に見られることがある。リンパ球以外のNR抗原供給が発病に影響していないか? 病歴を調査する。家族歴における自己免疫疾患等の頻度を調査する。(目標300例)
7. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet) の発現を検討 (ELISA, Real-Time PCR)
8. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet) の SNP を検討