

B. 研究方法

1. 急性辺縁系脳炎・脳症の多施設共同研究による症例の収集

研究班で作成した多施設共同研究のための症例登録基準(参照2の中の資料1-4)に合わせて前方視的に幅広く急性辺縁系脳炎・脳症の症例を集積し、自己免疫病態を検討した。

2. 「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームの改訂

この診断スキームは先行研究班で作成開始し、自己免疫介在性脳炎・脳症の正確な診断法、より良い治療法を情報提供するために、現時点で必要かつ可能と思われる検査について記載し、これまでの知見・文献などを整理し、広く臨床に役立ててもらふことを目的としている。これまでに明らかになった知見を追加した(高橋)。

3. NHALE患者にみられる既往歴の検討

NHALEでは、発病時にうつ、幻覚、妄想、滅裂な言動、行動異常などの精神症状が出現することが知られているが、NHALE患者には脳炎発病以前より何らかの精神障害の既往がみられることがある。NHALE患者の既往歴を調査し、脳炎発病以前からみられた精神症状を明らかにすることで、NMDARに対する抗体が脳炎の発病以前から中枢神経系機能に何らかの影響を及ぼしている可能性を示唆する所見を得ることを目的として、NHALE患者のうち非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名を対象として、既往歴について後方視的に資料を検討した(西田)。

4. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

これまでに集積したNHALE症例について前駆期の有無を調査し、病院での保存検体の有無を確認する。

これまでに集積した症例あるいは、患者会の協力を得て、NHALE発病前に献血のある症例を調査する。院内の倫理委員会に研究を申請し、承認を得たのち、日赤血液センターの公募研究に応募し、献血保存血の使用を許可していただく。

各病院の保存血清検体あるいは献血保存検体について、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, GluRδ2,

LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体に対する抗体)等を測定する(高橋)。

5. NHALE前駆期の可能性のある精神・神経症状のある若年者の検体の自己免疫状況の検討

思春期から若年成人期にうつなどの精神症状を呈した症例で、血清あるいは髄液の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, GluRδ2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体)等を測定する(高橋)。

6. NHALE患者にみられる先行症状の検討

NHALEの先行症状期の病態を明らかにし、早期診断、脳炎発病予防を実現するため、髄液抗NMDAR抗体陽性非傍腫瘍性NHALE217例の先行症状期の臨床症状、病原体検索結果を検討した(高橋)。

7. NHALE先行症状期における一般・免疫マーカーの検討

NHALEの先行症状期の病態を明らかにし、早期診断、脳炎発病予防を実現するため、髄液抗NMDAR抗体陽性非傍腫瘍性NHALE217例の先行症状期の一般臨床検査値を検討する。さらに、先行症状期の保存検体を収集し、血清あるいは髄液の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, GluRδ2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体)等を測定する(高橋)。

8. 浮遊系293F細胞を用いた抗NMDAR抗体ならびに抗デルタ型GluR抗体測定系の開発

現在の固定培養細胞(HEK293T)を用いたcell-based assayによる細胞表面上NMDARを認識する自己抗体のスクリーニングシステムでは、定性反応であることと、結果判定までに約7日を要するという問題があった。そこで、浮遊系293F細胞にNMDARならびにデルタ型GluRの遺伝子発現ベクターを導入して、浮遊細胞を用いた簡便なスクリーニングシステムの開発を試みた(森)。

9. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体スクリーニングの検討

Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis

Mosaic1のキットを用いて、抗NMDAR抗体、抗AMPAR抗体、抗GABA_BR抗体、抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体の測定を簡便に行えるかどうかを検討した。このキットはcell-based assayを少し改変したもので、各受容体発現ベクターを導入したHEK細胞をプレパラートに固定し、発現受容体を抗原として、自己抗体をスクリーニングするものである。

対象はNHALE6例（血清6検体、髄液4検体）、卵巣奇形種合併脳炎2例（血清2検体、髄液2検体）、再発性脳炎2例（血清2検体、髄液2検体）、痙攣重積型脳症1例（血清1検体、髄液1検体）、橋本脳症2例（血清3検体）、脳炎後部分てんかん3例（血清3検体、髄液3検体）、傍腫瘍症候群4例（血清4検体、髄液3検体）、精神症状1例（血清1検体、髄液1検体）、抗VGKC抗体陽性脳炎2例（血清2検体、髄液2検体）、亜急性脳炎2例（血清2検体、髄液2検体）であった（高橋）。

10. NHALEの神経細胞死に対する細胞傷害性T細胞の役割の検討

剖検で明らかになっているNHALEの海馬ニューロンの減少の原因を明らかにするため、NHALEの血清及び髄液のgranzyme BをELISAで測定し、髄液一般検査値、予後との関連を統計的に検討した（高橋）。

11. 抗NMDAR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

NHALEの抗NMDA型GluR抗体のシナプスNMDARに対する作用を明らかにするために、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髄液あるいは髄液IgGの神経細胞への影響を評価した（高橋）。

12. NHALE後遺症期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

NHALE回復後の患者さんで、上気道炎などの感染症罹患時の血清などを収集し、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, GluR2, LGI1, Caspr2, ADAM2

2, ADAM23, NMDAR複合体)等を測定する（高橋）。

13. 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

健康対照あるいは疾病対照で、上気道炎などの感染症罹患時の血清などを収集し、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, GluR2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体)等を測定する（高橋）。

14. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA4, PDCD1, T-bet) の発現を検討 (Real-Time PCR)

NHALE患者の自己抗体などの自己免疫病態を解明する目的で、免疫調節遺伝子 (forkhead box P3, Foxp3; Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4, CTLA4; programmed cell death-1, PDCD-1; T-bet) の発現を検討した。パックスジーンにて採血した血液からRNAを抽出し、QuantiTect® Reverse Transcription kit (QIAGEN)を用いてcDNAを作成、Real-Time PCR (LightCycler) 用キット (ヒト: Foxp3リアルタイムPCRプライマーセット、ロシュ、4450205; ヒト: CD152リアルタイムPCRプライマーセット、ロシュ、488932; ヒト: PDCD1リアルタイムPCRプライマーセット、ロシュ、486777; ヒト: T-betリアルタイムPCRプライマーセット、ロシュ、487232) を用いて免疫調節遺伝子濃度を定量し、β-actin遺伝子濃度との比で検討した（高橋）。

15. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet) のSNPの検討

患者のEDTA血から、ゲノムDNAをMagNA Pure (ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)により分離し、連結可能匿名化した。その後、タカラバイオ株式会社にてゲノム多型変異解析を行った。CTLA4 遺伝子は全長6175bp を10領域に分け、PCR 増幅した。PDCD1 遺伝子は全長9625bp 及びエクソン1上流領域、エクソン5下流領域を16領域に分け、PCR 増幅した。T-bet遺伝子は全長12876bp、プロモーター領域 (-1993T>C、-1514T>C、-1499G>A)、5' UTR (rs17244544)、エクソン6下流領域 (3' UTR (rs17250967)) を10領域に分け、PCR 増幅した。それぞれのPCR産物を鋳型に両鎖ダイレクトシーケンスを行った。得られたシーケンスデータは、解析ソフト (SEQUENCHER)にてリフ

アレンス配列と比較し変異塩基をリストアップした。ゲノム頻度を日本人HapMapデータと比較した（高橋）。

16. アジア地域での原因不明脳炎患者の抗

NMDAR抗体の検討

既に報告した、NMDAR (GluR ϵ 2N/R-DsRed と GluR ζ 1N/R-EGFP) を安定的に発現する HEK293細胞株を用いたOn-cell Western法にて、本邦の症例、ならびに、大分大学との共同でアジア地域での原因不明脳炎患者の血清と脳脊髄液中の抗NMDAR抗体の定量的解析を行った（森）。

17. NHALE急性期の抗体産生に関わるNMDAR抗原の検討

NHALE急性期の抗NMDAR抗体産生の抗原刺激となるNMDAR抗原の起源を明らかにする目的で、急性期の患者血液からRNAを抽出し、QuantiGene Plex 2.0 Assay (Magnetic Assay)

kit (Veritas)を用いてGRIN2D、GRIN2A、PGK1、GAPDH、TBP、GRID2、GRIN1、GRIN2B、HPRT1、GRIN2Cの発現量を検討した（表2）（高橋）。

（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各研究は、倫理委員会の承認の方法にて行っている（表3）。

表2. GluRサブユニット命名法

	NC-IUPHAR subunit nomenclature	Previous nomenclatures	Human gene name
AMPA	GluA1	GLU _{A1} , GluR1, GluRA, GluR-A, GluR-K1, HBGR1	<i>GRIA1</i>
	GluA2	GLU _{A2} , GluR2, GluRB, GluR-B, GluR-K2, HBGR2	<i>GRIA2</i>
	GluA3	GLU _{A3} , GluR3, GluRC, GluR-C, GluR-K3	<i>GRIA3</i>
	GluA4	GLU _{A4} , GluR4, GluRD, GluR-D	<i>GRIA4</i>
Kainate	GluK1	GLU _{K5} , GluR5, GluR-5, EAA3	<i>GRIK1</i>
	GluK2	GLU _{K6} , GluR6, GluR-6, EAA4	<i>GRIK2</i>
	GluK3	GLU _{K7} , GluR7, GluR-7, EAA5	<i>GRIK3</i>
	GluK4	GLU _{K1} , KA1, KA-1, EAA1	<i>GRIK4</i>
	GluK5	GLU _{K2} , KA2, KA-2, EAA2	<i>GRIK5</i>
NMDA	GluN1	GLU _{N1} , NMDA-R1, NR1, GluR ζ 1	<i>GRIN1</i>
	GluN2A	GLU _{N2A} , NMDA-R2A, NR2A, GluRe1	<i>GRIN2A</i>
	GluN2B	GLU _{N2B} , NMDA-R2B, NR2B, hNR3, GluRe2	<i>GRIN2B</i>
	GluN2C	GLU _{N2C} , NMDA-R2C, NR2C, GluRe3	<i>GRIN2C</i>
	GluN2D	GLU _{N2D} , NMDA-R2D, NR2D, GluRe4	<i>GRIN2D</i>
	GluN3A	GLU _{N3A} , NMDA-R3A, NMDAR-L, chi-1	<i>GRIN3A</i>
Orphan	GluN3B	GLU _{N3B} , NMDA-R3B	<i>GRIN3B</i>
	GluD1	GluR δ 1	<i>GRID1</i>
	GluD2	GluR δ 2	<i>GRID2</i>

Greek symbols in NMDA receptor subunit names were applied to the mouse orthologue only.

Neuropharmacology, 2009 January; 56(1): 2–5. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.06.063.

表3. 倫理委員会申請研究課題

承認番号	課題名	承認日
2007-12	ラスムッセン症候群等の自己免疫介在性中枢神経系疾患に関する研究 (2007改訂)	2007年7月20日
2008-19	自己免疫介在性中枢神経系疾患に関する国際共同研究	2008年11月28日
2009-25	自己免疫介在神経疾患の免疫調節関連遺伝子の解析	2010年3月30日
2012-3	自己免疫介在性脳炎・脳症の病態解明のための感染症症例に関する研究	2012年10月1日
2012-4	自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究2012	2012年10月1日
2012-5	自己免疫介在性脳炎・脳症の病態解明のための精神症状例に関する研究	2012年10月1日
2012-12	自己免疫介在性脳炎・脳症に関する前駆期研究	2012年12月14日

C. 研究結果

1. 急性辺縁系脳炎・脳症の多施設共同研

2. 究による症例の収集

2010年-2012年の集積数は、NHALE (約140例/年)、卵巣奇形腫合併脳炎 (約15例/年)、痙攣重積型脳炎 (約40例/年)、その他の急性脳炎 (約70例/年)、局在関連性てんかん (約100例/年) など、合計約670例/年であった (表4)。

3. 「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームの改訂

2012年度は、2010年10月にホームページに掲載した診断スキーム

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>) を見直し、NMDA型GluR構造と抗GluRε2 (NR2B) 抗体の項に最近の知見を加えた (参照2-資料9)。また、自己抗体介在性脳炎の特徴として、最近明らかになってきた抗AMPA抗体、抗GABA_B抗体、抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体、抗NAE抗体などの自己抗体の関係する脳炎の特徴を序論のところにまとめ、7つの最近の文献を紹介した

(<http://www.shizuokamind.org/wp-content/uploads/2012/03/scheme20130317.pdf>) (高橋)。

4. NHALE患者にみられる既往歴の検討

NHALE患者のうち非傍腫瘍性NHALE患者217名を対象として、既往歴について後方視的に資料を検討した。精神障害関連既往症が21

名 (10%) で、自己免疫性疾患関連が9名 (4%) で、婦人科関連が8名 (4%) でみられた。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名だった (西田)。

5. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

髄液データのある非傍腫瘍性NHALE217例の中で、前駆期ありと推定できる症例が47例あり、前駆期保存検体がありそうな症例は数例あったが、紹介元病院で血清などの保存は必ずしも行われていない現状から、これまでの症例の前駆期の血液あるいは髄液の自己免疫病態の検討は困難と推定した。

そこで、これまでに集積した症例あるいは、患者会の協力を得て、NHALE発病前に献血のある症例で、献血保存検体を使用する研究を行うこととした。院内の倫理委員会で「自己免疫介在性脳炎・脳症に関する前駆期研究」を審議いただき、承認を得た。その後、2013年1月に日赤血液センターの公募研究に応募した。許可が出次第、献血保存血清の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, GluRδ2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体) 等を測定する。現在6名の患者さんからご協力の申し出を得ている (高橋)。

6. NHALE前駆期の可能性のある精神・神経症

状のある若年者の検体の自己免疫状況の検討

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。検査時年齢(平均±SD)は36.6±15.5歳であった。抗NR2B-NT2抗体(平均±SD)(最低-最高)は0.358±0.153(0.183-0.719)で、半数が疾病対照の平均+2SDを超えていた。抗NR1-NT抗体は0.533±0.135(0.376-0.699)で、3/4が疾病対照の平均+2SDを超えていた。抗GluR δ 2-NT抗体は0.468±0.166(0.255-0.820)で、6/16が疾病対照の平均+2SDを超えていた。今後臨床症状との関係を含め、症例を増やして検討したい(高橋)。

7. NHALE患者にみられる先行症状の検討

207例(男、87例;女、120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例について先行症状を検討すると、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。先行症状から脳炎発症までの期間は、インフルエンザ(平均4.3日)、上気道炎(平均5.4日)、下痢(平均5.5日)では、無菌性髄膜炎(平均8.7日)より有意に短かった(高橋)。

8. NHALE先行感染症期における一般・免疫マーカーの検討

髄液抗NMDAR抗体陽性非傍腫瘍性NHALE217例中40例で一般臨床検査値を収集できた。今後詳細に検討する予定である。

先行症状期の保存検体の収集は、前方視的に依頼しているが、集まっていない。今後も依頼を継続していく予定である(高橋)。

9. 浮遊系293F細胞を用いた抗NMDAR抗体ならびに抗デルタ型GluR抗体測定系の開発

簡便で定量性の高い自己抗体検出系を確立するために、浮遊性293F細胞株を用いた安定発現株の作製とFACSによる自己抗体解析系の確立を進めている(森)。

10. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体スクリーニングの検討

Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis Mosaic1のキットを用いて測定したところ、髄液の抗NMDAR抗体は卵巣奇形種合併脳炎1検体で陽性、他の疾患ではすべて陰性であった。血清の抗NMDAR抗体はNHALEの1/4で±、脳炎後部分てんかんの1/3で±、傍腫瘍性症候群の3/4で±、亜急性脳炎の1/2で±、VGKC抗体陽性脳炎で陰性であった(表5)。

抗AMPA R1抗体はすべての髄液、血清検体で陰性であった。髄液抗AMPA R2抗体は再発性脳炎の1/2で±であった以外はすべて陰性であった。血清抗AMPA R2抗体はすべての検体で陰性であった。

髄液抗CASPR2抗体はすべての検体で陰性、血清抗体は痙攣重積型脳症、精神症状症例で±であった。

髄液抗LGI1抗体は脳炎後部分てんかん症例2/3で±、他は陰性で、血清抗体は痙攣重積型脳症1例、橋本脳症2/3例、脳炎後部分てんかん2/3例、精神症状1例で±であったが、抗VGKC抗体陽性例では2例とも陰性であった。

髄液抗GABA_BR抗体は全例陰性で、血清抗体は痙攣重積型脳症1/1例、脳炎後てんかん1/3例、傍腫瘍症候群1/4例、精神症状例1/1例で±であった(高橋)。

11. NHALEの神経細胞死に対する細胞傷害性T細胞の役割の検討

髄液はNHALE45検体、疾病対照47検体を解析、血清はNHALE43検体、対照18検体のデータを解析した。

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($p < 0.005$)。血清と髄液のgranzyme Bの値に相関関係はなかった。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。髄液granzyme Bは予後(急性期入院日数、Barthelスコア)との関連は認めなかった(高橋)。

12. 抗NMDAR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

NHALE、疾病対照髄液を加えた培養ラット胎

児神経細胞系では平均LDH比が1.00以上であったが、NHALE髄液IgGを加えた系では平均LDH比が1.00以下で、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。

培養ラット胎児神経細胞 tCREB 濃度比は、NHALE 髄液を加えた系では疾病対照を加えた系に比べて有意に高値であった。NHALE 髄液 IgG を加えた系の t CREB 濃度比は、疾病対照髄液を加えた系に比べて有意に高かった。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。NHALE 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 (高橋)。

13. NHALE後遺症期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

現在のところ、NHALE回復後の患者さんで、上気道炎などの感染症罹患時の血清などを収集できていない。今後紹介医に依頼していく (高橋)。

14. 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

てんかん患者の上気道炎などの感染症罹患時の血清12検体を収集した。今後さらに検体を

集める予定である (高橋)。

15. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet) の発現を検討 (Real-Time PCR)

成人NHALE18例、小児NHALE15例、成人卵巣奇形種合併脳炎8例の測定を行った。今後データの増加を待つ解析を進める予定である (高橋)。

16. 免疫調節遺伝子 (Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet) のSNPの検討

成人NHALE25例、小児NHALE9例、成人卵巣奇形種合併脳炎9例、小児痙攣重積型脳炎11例局在関連性てんかん5例、健康対照13例などの測定を行った。今後データの解析を進める予定である (高橋)。

17. アジア地域での原因不明脳炎患者の抗 NMDAR抗体の検討

アジア地域の原因不明脳炎の多数サンプル解析では、抗NMDAR抗体の検出頻度ならびに抗体価が非常に低い事が明らかとなった (森)。

18. NHALE急性期の抗体産生に関わるNMDAR 抗原の検討

成人NHALE16例、小児NHALE7例、成人卵巣奇形種合併脳炎8例、小児痙攣重積型脳炎8例、健康対照1例などの、末梢血のRNAを用いたGluR 発現量の測定を行った。今後データを増やしたのち解析を進める予定である (高橋)。

表4. 多施設共同研究の症例収集状況 病態分類別症例数

	201011-201110	201111-201210
非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	136	141
卵巣奇形腫合併脳炎	20	14
痙攣重積型脳炎	44	37
脳幹脳炎	1	6
その他の急性脳炎	72	67
CNS ループス	6	11
橋本脳症	4	13
ADEM	7	7
再発性脳炎	19	29
亜急性脳炎	49	46
傍腫瘍性脳炎	7	2
ALS	10	7
CJD	17	7
精神疾患	26	29
Rasmussen 症候群	28	24
局在関連性てんかん	100	101
West 症候群	7	6
症候性全般てんかん	11	9
小脳炎	44	31
不随意運動	7	8
その他	63	79
合計	678	674

表5. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体判定結果

疾患		NMDAR	AMPA1	AMPA2	CASPR2	LGI1	GABARB1
NHALE	血清	±, 1 ; -, 3	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4
	髄液	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4
卵巣奇形腫 合併脳炎	血清	±, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1
	髄液	+, 1 ; -, 1	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2
再発性脳炎	血清	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2
	髄液	-, 2	-, 2	±, 1 ; -, 1	-, 2	-, 2	-, 2
痙攣重積脳 症	血清	-, 1	-, 1	-, 1	±, 1	±, 1	±, 1
	髄液	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1
橋本脳症	血清	-, 3	-, 3	-, 3	-, 3	±, 2 ; -, 1	-, 3
脳炎後部分 てんかん	血清	±, 1 ; -, 2	-, 3	-, 3	-, 3	±, 2 ; -, 1	±, 1 ; -, 2
	髄液	-, 3	-, 3	-, 3	-, 3	±, 2 ; -, 1	-, 3
傍腫瘍症候 群	血清	±, 3 ; -, 1	-, 4	-, 4	-, 4	-, 4	±, 1 ; -, 3
	髄液	-, 3	-, 3	-, 3	-, 3	-, 3	-, 3
精神症状	血清	-, 1	-, 1	-, 1	±, 1	±, 1	±, 1
	髄液	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1	-, 1
抗VGKC抗体 脳炎	血清	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2
	髄液	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2
亜急性脳炎	血清	+, 1 ; -, 1	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2
	髄液	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2	-, 2

NMDAR, N-methyl-D-aspartate-type glutamate receptors; AMPAR, alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid-type glutamate receptors; AMPAR1, GluR1; AMPAR2, GluR2; CASPR2, contactin-associated protein 2; LGI1, leucine-rich glioma-inactivated protein 1; GABARB1, gamma-aminobutyric acid receptors B1; +, positive; ±, weak positive; -, negative; NHALE, nonherpetetic acute limbic encephalitis; VGKC, voltage-gated potassium channel. +, 1 ; -, 1は陽性1検体、陰性1検体を示す。

D. 考察

前駆期に関する研究

1. NHALE患者にみられる既往歴の検討

NHALE患者の10%に、うつなどの気分障害およびアルコールや覚醒剤に対する依存症が既往歴として見られたが、いずれも辺縁系の機能障害との関連が示唆されており、抗NMDA型GluR抗体が何らかの影響を及ぼし、NHALEの前駆期の精神障害関連既往症をもたらしているとする仮説と矛盾しないと考えた。

Dalmauらの提唱する抗NMDA受容体自己抗体陽性脳炎では、100例中77例で不安、焦燥、奇異な行動、妄想、幻視、幻聴などの精神症状を呈した。また、3週間の経過のうちに88例が意識障害を呈し、緊張病様状態に進展した。一方、NHALEでも統合失調症様の精神症状で発病することが多く、抗NMDA受容体自己抗体陽性脳炎と共通の病態基盤がある可能性が考えられている。NMDA型GluR阻害作用をもつケタミン、フェンサイクリジンなどは統合失調症の陽性症状、陰性症状、認知機能障害と類似した症状を惹起することが知られておりNMDA型GluRと各種精神症状の関連が示唆されている（西田）。

2. NHALE前駆期の可能性のある精神・神経症状のある若年者の検体の自己免疫状況の検討

思春期から成人期にうつなどの精神症状を呈した症例では抗NR2B-NT2抗体が半数の症例で高値であり、抗NR1-NT抗体は3/4で高値、抗GluR δ 2-NT抗体は6/16で高値であり、精神症状、一過性の認知機能障害を呈する症例の中には、抗NMDAR抗体が関与するものがありそうである。よって、縦断的な証明はできていないが、うつなどの気分障害およびアルコールや覚醒剤に対する依存症が抗NMDAR抗体によりもたらされ、前駆期の既往歴を形成し、その後大量に抗NMDAR抗体が作用したり、あるいは他の病態も加わったりし、NHALEを発病する可能性があると考えた（高橋）。

3. 今後の方針

献血保存血清による研究の日赤承認を待って、血清中の自己免疫マーカーの研究を進める。また、非脳炎症例で精神症状、認知機能障害のある症例で、症状の内容と抗NMDAR抗体との関

連を検討し、前駆期症状の早期発見につなげたい（西田、高橋）。

先行症状期に関する研究

1. NHALE患者にみられる先行症状の検討

今回の207例のNHALEの検討では、NHALEの30-70%は、局所の感染症が先行しない無菌性髄膜炎で発病していると推定された。このような症例では先行症状から脳炎発症までが長く、前駆期から存在する抗NMDAR抗体が何らかの原因による緩徐な経過の血液脳関門障害で中枢神経系に至り、NMDA型GluRの内在化を起し、辺縁系脳炎を発病させていると推定した。この群のNHALEでは前駆期に抗NMDAR抗体の除去や血液脳関門障害の治療を行うことで、NHALEの発病予防が可能となる可能性がある。また、先行症状期に抗NMDAR抗体や血液脳関門障害によりNHALEリスクの存在の診断が可能となり、早期脳炎治療開始により予後が改善できる可能性がある。

一方、インフルエンザウィルス感染症などの局所感染症が先行する症例も25-70%存在し、そのような症例では先行症状から脳炎発症までが短く、先行感染症による急性の血液脳関門障害に伴い、抗NMDAR抗体が中枢神経系に至りNMDA型GluRの内在化を起し、辺縁系脳炎を発病させていると推定できる（高橋）。

2. 今後の方針

先行症状期の一般臨床検査値の検討を進め、早期診断を可能にする。また引き続き、先行症状期の保存血清の確保に努める（高橋）。

発病期に関する研究

1. NHALEの神経細胞死に対する細胞傷害性T細胞の役割の検討

今回のNHALEの血清、髄液granzyme Bの検討では、平均髄液granzyme B濃度が疾病対照に比べて有意に高く、髄液granzyme B濃度が髄液細胞数と相関したことから、髄液中の細胞傷害性T細胞からのgranzyme B分泌が起こっている可能性が示唆された。中枢神経系での細胞傷害性T細胞を標的とした治療が、予後を改善する可能性がある。

また髄液granzyme B濃度の高い群で髄液抗

NR抗体が高値であったことから、granzyme Bによる細胞傷害により遊離したNMDA型GluRが抗原となって中枢神経系内で抗NMDAR抗体が産生されている可能性が示唆された。この抗NMDAR抗体が、後遺症としての認知機能低下に関与している可能性があり、抗NMDAR抗体を標的とした治療が、予後を改善していける可能性がある。髄液granzyme Bと予後因子が関連を示さなかった点は、用いた因子が重篤度をうまく反映していないためかもしれない（高橋）（図3）。

2. 抗NMDAR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

今回の培養ラット胎児神経細胞に対するNHLE髄液あるいは髄液IgG分画の生物学的影響の検討から、以下のことが明らかになった。

①髄液を加える系ではNHLEも疾病対照もLDH比が1.00以上であり、対照髄液の中にも初期の培養ラット胎児神経細胞を細胞死に導く因子が含まれていることを示唆し、生理的なアポトーシス誘導因子かもしれない。

②NHLE髄液の中には7 DIVから10 DIVにかけて失活する、軽いt CREB増加因子があり、IgG分画もわずかにt CREB増加作用を有する。おそらくはNHLE髄液内の細胞死誘導因子でアポトーシスに傾くために、その代償として細胞生存のためのt CREBが増えているものと推定した。

③NHLE及び対照髄液の中には、7 DIVから10 DIVにかけて失活するIgG以外の強いp CREB増加因子が存在する。おそらくは成長因子や神経伝達物質やホルモンなどが関与しているものと思われる。NHLE髄液IgG分画も1.47倍にp CREBを増加させることから、抗NMDAR抗体がシナプス外NMDA型GluRを内在化することでシナプス外NMDA型GluRによるCREBリン酸化抑制を抑制することで、CREBリン酸化が増えている、あるいはシナプスNMDA型GluRを活性化させてCREBリン酸化が増えている可能性がある。NHLE髄液IgGによりCREBリン酸化が障害されないことから、抗NMDA型GluR抗体によるシナプスNMDA型GluRの内在化（減少）は起こらない、起こっても軽度と推定される。おそらくはシナプスNMDA型GluRが多くの蛋白でシナプスにアンカーされているため内在化が困難であるためと思われる。Dalmauらの免疫組織検討でもシ

ナプスNMDA型GluRは保持されているように見える。

以上から、NHLEの髄液成分は抗NMDAR抗体のみならず、granzyme Bなど複数の因子が病態に影響していて、複雑な病態を形成しているものと思われる（高橋）（図3）。

3. 今後の方針

発病期の自己抗体産生のメカニズムを明らかにするために、末梢血におけるNMDA型GluR抗原等の発現検討をさらに進め、免疫調節遺伝子の発現量を検討する。神経細胞死の病態を、自己抗体、granzyme B以外の因子についても検討を行い、予後の改善につなげる（高橋）。

その他の研究

1. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体スクリーニングの検討

Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis Mosaic1のキットを用いて、髄液、血清のスクリーニングを検討した。痙攣重積型脳症の血清は抗GABA_BR抗体、抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体について弱陽性であり、この検出系には特異性の問題がある可能性がある。抗VGKC抗体陽性例の血清では抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体ともに陰性であり、これらの抗体検出系の感度が低いと思われる。抗AMPA抗体は再発性脳炎の1例の髄液で弱陽性であったが、感度がやはり低い可能性がある。抗NMDAR抗体は髄液では卵巣奇形種合併脳炎1検体で陽性、他の疾患ではすべて陰性であり、特異性が高い可能性があるが、卵巣奇形種合併脳炎でも陰性例があり、抗NR2B-NT2抗体がELISAで高い症例でも陰性であり、感度が低い可能性がある。キットにはポジコン血清が1種類ついているのみであるため、判定が困難な面があり、多種類の自己抗体を判定できるようになるには複数回購入し、熟練を要する（高橋）。

2. 自己抗体測定系の改良

抗NMDAR抗体の、より簡便で定量性の高い検出系を確立するために、浮遊性293F細胞株を用いた安定発現株の作製とFACSによる自己抗体解析系の確立を進め、ビーズ法による自己抗体測定系確立の検討を行っていく（森、高橋）。

3. 自己免疫介在性脳炎・脳症の診断スキームの作成

2012年度は「急性辺縁系脳炎等の自己免疫介在性脳炎・脳症」の診断スキームの自己抗体部分をアップデートした（参照2：
<http://www.shizuokamind.org/wp-content/up>

loads/2012/03/scheme20130317.pdf)。今後さらに病態等の知見を加えていく予定である。

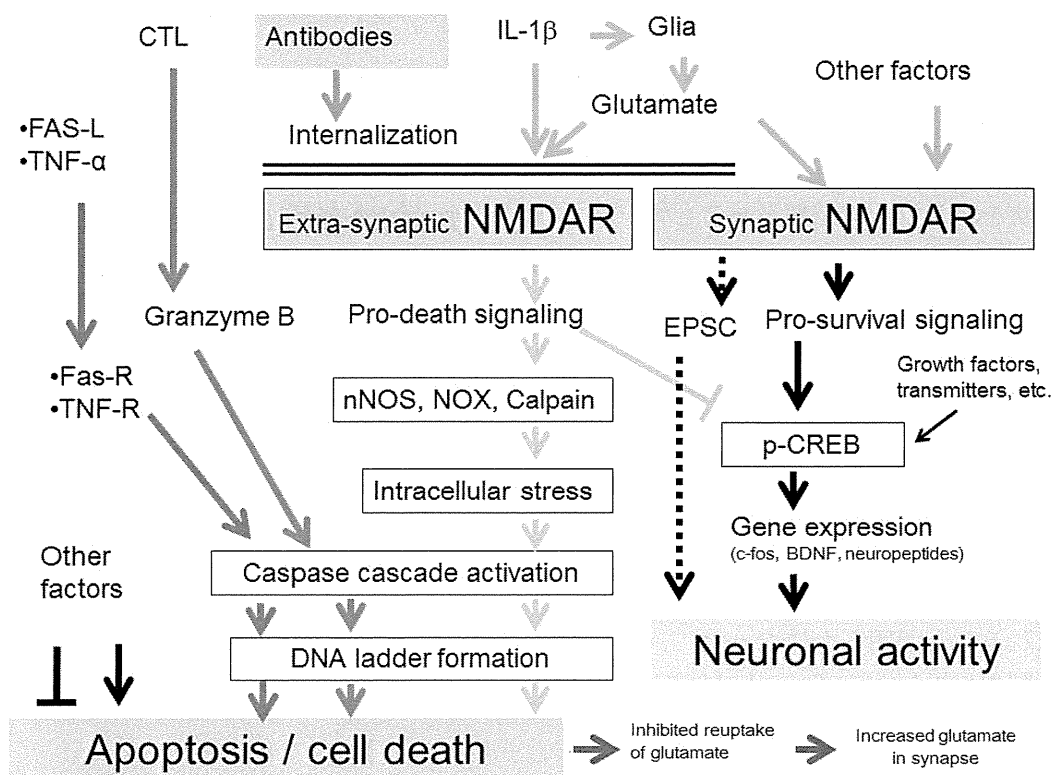


図3. NHALEの病態仮説

E. 結論

NHALE既往歴の検討からは①NHALE患者の10%に、うつなどの気分障害およびアルコールや覚醒剤に対する依存症が既往歴として見られること、②思春期から成人期にうつなどの精神症状を呈した症例の髄液中に、抗NMDAR抗体陽性例がかなり存在すること、先行症状期の検討から③中枢神経系以外の感染症が先行せず、髄膜炎で発病している症例がかなりに上ることが明らかになった。これら①-③の知見は、NHALE患者に抗NMDAR抗体がかなり以前から存在し、軽度の精神神経症状を呈しうる前駆期があるとする理解しやすい。

NHALE発病期の検討では、①抗NMDAR抗体などの自己抗体がシナプス外NMDARを内在化し、アポトーシスを抑制していること(2010年度報告)、②抗NMDAR抗体などの自己抗体によるシナプスNMDARの内在化は乏しいこと、③髄液のIgG以外の成分に、アポトーシス促進因子が含まれ、④granzymeBはアポトーシス促進因子の一つであること、⑤髄液のIgG以外の成分に t CREB、pCREB 増加因子が含まれることが明らかになった。

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には課題が多く、現状では臨床的には用いることは難しいと考えた。抗NMDAR抗体をはじめ、個々の自己抗体の感度、特異度の高い、簡便な測定法の開発が望まれる。

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 3

厚生労働科学研究費補助金障害者対策総合研究事業

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) (2008-2010)

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
(H24-神経・筋-一般-002) (2012-)

「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 -20130317-

1. はじめに

我々の急性脳炎とグルタミン酸受容体自己免疫病態に関する研究班 (H17-こころ-一般-017) (H20-こころ-一般-021) (H24-神経・筋-一般-002) (以下、当研究班) では、急性に脳炎症状を呈する急性脳炎・脳症を病態から分類すると、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・分類不能があると考えている。当研究班の調査によると、日本の成人の急性脳炎・脳症罹患率は、19.0/100 万人年 (年間 2114 例) と推計され、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% で、その他・分類不能 40.8% であった。よって、成人では約 35% (②+③+④) が自己免疫介在脳炎・脳症の可能性を有する。

2. 目的

ウイルス直接侵襲による 1 次性脳炎 (①) 以外の症例の、正確な病態の解明、鑑別診断法の確立、病態に基づいた治療法の開発が、急性脳炎・脳症の予後向上のために不可欠である。

当研究班では、2006 年 8 月より多施設共同研究を開始し、傍感染性脳炎・脳症 (②)、傍腫瘍性脳炎・脳症 (③)、全身性膠原病合併脳炎・脳症 (④)、その他・分類不能 (⑤) に分類した脳炎の病態の中で、自己免疫関連因子 (自己抗体・サイトカイン・T 細胞など)・血液脳関門 (BBB) 機能関連因子・血管透過性関連因子などが何らかの役割を担っているのではないかと推測し、検討している。

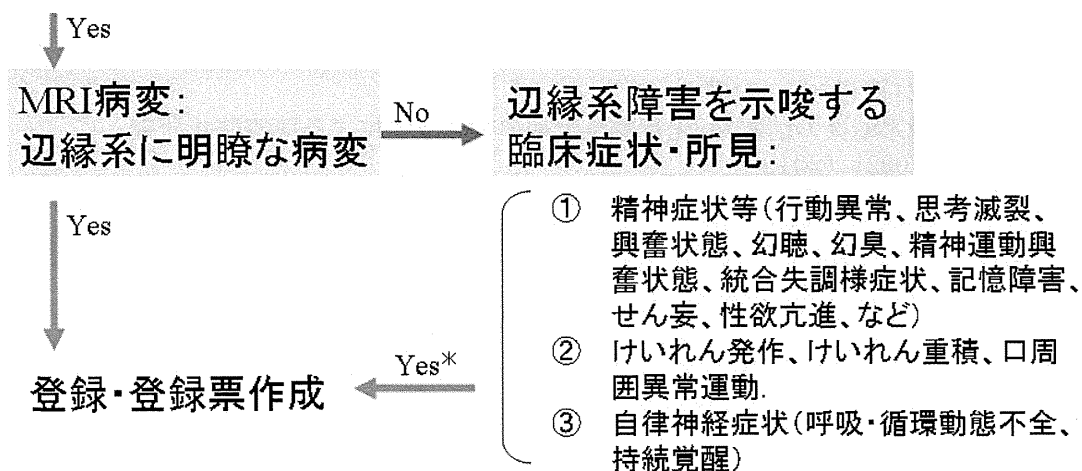
この診断スキームでは、自己免疫介在性脳炎・脳症の正確な診断法、より良い治療法を早期に確立するために、現時点で必要かつ可能と思われる検査およびその所見についてまとめた。

3. 急性辺縁系脳炎症例等の登録基準概要

登録の対象は原則として 16 歳以上の内科領域患者とする。班員、研究協力者、およびその関連施設の症例を、以下に示す基準で登録する (亜急性の症例を含む)。

病態分類の、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・分類不能については、各診断登録基準を参考に分類する。(資料 1-4)

急性(亜急性)脳炎・脳症である。



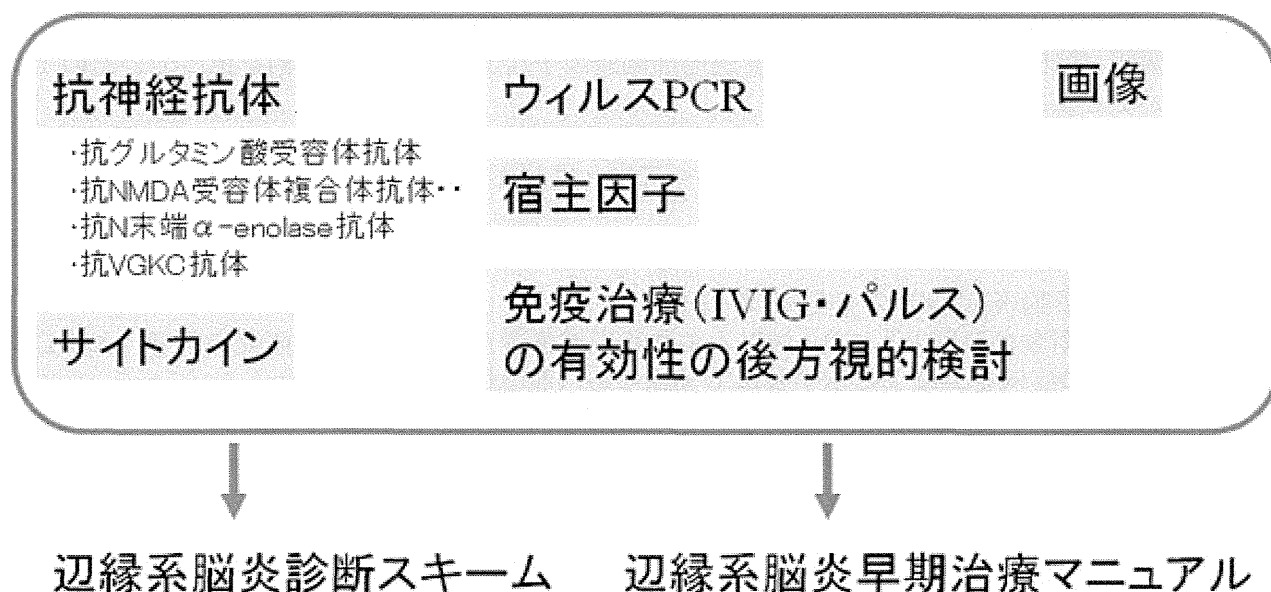
* ①-③から総合的に辺縁系脳炎が疑われる

この基準に該当し、登録可能な症例では、亜群の診断を臨床的に行い、当研究班に連絡をする。連絡先は主任研究者(資料5)のメールアドレス(takahashi-ped@umin.ac.jp)とする。当研究班の多施設共同研究の説明同意書を入手し、同意が得られた症例について、記載に従い必要な検体を臨床情報とともに送付する。

4. 自己免疫関係の検査

亜群の診断登録

①ウイルス直接感染性(1次性)脳炎・脳症、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



当研究班で可能な検査:

- 血清・髄液中の抗GluRε2抗体・抗GluRδ2抗体(保険適応)を全例で測定する。
- 抗NMDA型GluR複合体抗体(Dalmau抗体)は当研究班で必要と判断された症例で測定する。抗VGKC抗体(抗LGI1抗体、抗Caspr2抗体)、抗NAE抗体など種々の自己抗体については測定可能施設を紹介する。

- サイトカイン測定、宿主因子の検討、血液脳関門などに関する分子病態研究も、当研究班で必要と判断された症例で行う。

5. これまでの集積症例研究からの知見

A) 急性脳炎・脳症の疫学(資料 6)

成人(16歳以上)の疫学調査の結果、わが国における1年間の罹患数は、急性脳炎・脳症は約2000例、傍感染性脳炎・脳症は約550例と推計された。

B) 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)(資料 7)

小児の39.1%、成人の27.5%の初発神経症状が急性症候性発作(acute symptomatic seizure)である。また、脳炎であっても、かなりの症例がてんかんと同じ無熱発作(afebrile seizure)で発病することを忘れてはならない。発作症状は14例とも部分発作と推定され、解析できた13例のうち9例がけいれん性の症状を伴っており、けいれんの要素が多い。詳細は資料7を参照されたい。

C) MRI 拡散強調画像による NHALE 診断(岩手医科大学佐々木真理先生監修)(資料 8)

NHALEのMRI 拡散強調画像(DWI)の特徴は、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ことが特徴である。詳しくは資料8を参照されたい。

D) NMDA型GluR構造と抗GluR2(NR2B)抗体(資料 9)

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症(NHALE)では、急性期にGluR2(NR2B)分子のN末(細胞外ドメイン)をエピトープとする抗GluR2抗体などが血清・髄液中で高率に検出される。血液脳関門の破綻などにより中枢神経系に至り、あるいは中枢神経系で産生されて、NMDA型GluRを内在化させ、辺縁系症状に寄与するが、回復期・慢性期になると血液脳関門の回復により髄液中から消失する病態メカニズムを考えている。詳しくは資料9を参照されたい。

E) 卵巣奇形腫合併 NHALE と抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体

2007年、卵巣奇形腫を伴う非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(Nonherpetic acute limbic encephalitis with ovarian teratoma, NHALE-OT)症例12例の血清・髄液中に、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)単独サブユニット分子とは反応しない抗体が存在することが、Dalmauらにより報告され、Antibodies to NR2B- and NR2A-containing heteromers of the NMDARと記載された。この抗NMDA受容体複合体抗体は、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、我々はDalmauにより抗NMDA型GluR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抗体を検討し、5例全例で検出でき、抗NMDA型GluR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(Takahashi Y, Ann Neurol)。2008年Lancet Neurology12月号で、Dalmauらは抗NMDA型GluR複合体抗体陽性例100例を検討し、抗NMDA型GluR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。Dalmauらのこの考察に対して、Vincentら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型GluR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%は腫瘍が見つからない症例となっており、そのような症例

報告も増加している。また、脳炎以外でもてんかん、クロイツフェルト・ヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob disease: CJD) などで抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体が見つかるようになってきている。

F) NHALE と髄液サイトカイン (資料 10)

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE) および単純ヘルペス脳炎 (HSE) の髄液サイトカインを比較すると、NHALE 群の IL-6、IL-10 および HSE 群の IL-6、IL-10、IFN γ 、sTNFR1 値は非感染性非炎症性神経疾患 (コントロール群) に比して有意に高値だった。NHALE 群と HSE 群の比較では、IFN γ 、sTNFR1 値が後者で有意に高値だった。NHALE はウイルス主体の病態でないことが示唆された。詳しくは資料 10 を参照されたい。

G) NHALE の血液脳関門病態 (資料 11)

NHALE 群の急性期血清 MMP-9 値および MMP-9/TIMP-1 比は正常対照群に比し、有意に高値だった。急性期血清 TIMP-1 値は正常対照群に比し、有意に低値だった。NHALE 群の回復期血清においても同様の傾向だった。NHALE 群の血清 MMP-9 値と MMP-9/TIMP-1 比は急性期に比し、回復期に回復したが、TIMP-1 値は有意な変化がなかった。血液脳関門機能の低下は末梢血中の免疫担当細胞の中枢神経系内への侵入を容易にし、中枢神経系内炎症を促進しやすい状態と考えられた。詳しくは資料 11 を参照されたい。

H) 神経病理 (資料 12)

NHALE 剖検脳では、肉眼的異常はみられない。

MRI 病変のない症例の剖検脳では、①ヘマトキシリン・エオジン (H-E) 染色では、海馬 CA1 領域を含め大脳皮質の神経細胞の変性・壊死像は目立たない。②海馬領域を中心に小血管周囲にリンパ球浸潤がみられた。③海馬領域、大脳皮質、基底核にはマクロファージが多数出現しているが、GFAP (glial fibrillary acidic protein) 陽性の星状細胞の増生はほとんどない。

MRI 病変のみられた症例の剖検脳では、①海馬 CA1 領域を中心に神経細胞の変性・壊死像、星状細胞の増生、小血管周囲の軽度のリンパ球浸潤がみられ、マクロファージの浸潤も著明であった。②その他の MRI 病変部位にも、星状細胞の増生、マクロファージの浸潤が多数みられた。詳しくは資料 12 を参照されたい。

I) 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE) の予後 (資料 13)

成人の非傍腫瘍性 NHALE の予後は比較的良好とされているが、約 30% の症例にてんかん発作、精神症状、知的障害、運動障害が残り、60% の症例に記憶障害が残る。詳しくは資料 13 を参照されたい。

J) 橋本脳症 (資料 14)

疾患概念としては、慢性甲状腺炎 (橋本病) に伴う自己免疫性脳症で、発症年齢は平均 58 歳 (19~87 歳) である。急性脳症型 (辺縁系脳炎含む) が 7 割を占める。抗甲状腺抗体は全例で陽性で、甲状腺機能は 7 割で正常である。髄液は半数で蛋白上昇、細胞増多は稀である。抗 N 末端 α -エノラーゼ (NAE) 抗体は 43% で陽性である。詳しくは資料 14 を参照されたい。

K) 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、Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (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。最近では VGKC そのものではなく、VGKC に会合する分子である LGI1 や Caspr2 に対する抗体が原因として明らかになってきている。

L) 自己抗体介在性脳炎の特徴

最近明らかになってきた自己抗体の関係する脳炎の特徴を以下にまとめる。詳細は文献（高橋幸利、自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム、臨床神経学、2012；52(11)：836-839）を参照されたい。

神経細胞表面抗原に対する抗体と脳炎の特徴

	抗NMDAR抗体	抗LGI1抗体	抗Caspr2抗体	抗GABA _B R抗体	抗AMPA抗体	抗GAD抗体	抗GlyR抗体	抗NAE抗体
好発年齢(歳)	6-39 (Mean 26.5)	30-80 (Median 60)	46-77 (Median 60)	24-75 (Median 62)	38-87 (Median 60)	若い成人 女性		28-85 (Mean58)
性	小児:男>女 成人:男<女	65%男	85%男	男=女	90%女性	女性		81%女性
臨床症状	急性に、言動異常、記憶障害、他)	亜急性、急性に、記憶障害、てんかん発作	Morvan症候群	記憶障害、てんかん発作	記憶障害	てんかん、軽度認知障害、	筋強剛、ミオクローヌス、驚愕反応、	急性脳症>精神病型>小脳失調型
検査	50%MRI病変	84%MRI病変、60%低Na血症	40%MRI病変	66%MRI病変	90%MRI病変	抗GAD抗体>1000U/ml		100%TPO抗体、MRI正常
腫瘍合併	卵巣奇形腫	まれ	胸腺腫など	60%肺小細胞がん	70%肺がんなど	まれ	報告なし	
抗体	IgG1主体	IgG4>IgG1	IgG4>IgG1	IgG1主体	?	IgG1主体	IgG1主体	
予後	比較的良好、再発あり	単相性	腫瘍に依る	不良	再発	慢性経過	免疫治療有効例、	ステロイド"有効

以下の論文を引用改変:Lancaster E et al., Neurology 2011; 77: 179-189. Vincent A et al., Lancet Neurol 2011; 10: 759-72. 米田誠, Bio Clinica 2009; 24: 1199-1205.

NMDAR, NMDA 型 Glutamate receptor; LGI1, leucine-rich glioma-inactivated 1; Caspr2, contactin-associated protein 2; GABABR, γ -aminobutyric acid type B receptor; AMPAR, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor; GAD, glutamic acid decarboxylase; GlyR, glycine receptor; NAE, N-terminal α -enolase.

高橋幸利、自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム、臨床神経学、2012；52(11)：836-839.

M) その他

- 傍腫瘍性辺縁系脳炎の症例などで、抗 Hu 抗体などの自己抗体が検出されている。
- NHALE では、自己抗体、サイトカイン、調節性 T 細胞などの免疫因子、さらには血液脳関門因子などが脳炎病態に関与していることを明らかにした。
- 抗 GluR2 抗体陽性 NHALE 症例で、ステロイド有効の症例が報告されている。

6. 参考文献

<非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE) を含む脳炎の臨床関連>

1. Wada-Isoe K et al., Epidemiological study of acute encephalitis in Tottori Prefecture, Japan. Eur J Neurol. 2008; 15(10): 1075-9. (疫学研究)
2. 高橋幸利、他、急性脳炎の後遺症に関する調査、-ADL・てんかん発作・知的障害・精神障害・記憶障害・運動障害-、Neuroinfect. 2009；14：106-112. (脳炎予後)

3. 高橋幸利、他、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；48：163-172.
4. 高橋幸利、山崎悦子、脳炎に伴うけいれん、編集：兼本浩祐、山内俊雄、精神科臨床リュミエール 14、精神化領域におけるけいれん・けいれん様運動、p144-150. 東京、中山書店.
5. 庄司紘史、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の後遺症の検討、国際医療福祉大福岡リハビリテーション学部・福岡看護学部紀要、2009；5：11-17.
6. 高橋幸利、自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム、臨床神経学、2012；52(11)：836-839.
7. 高橋幸利、植田佑樹、保立麻美子、山口解冬、那須裕郷、高山留美子、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎、小児内科、2013；45(2)：376-380.

<NHAE と抗 GluR ϵ 2 抗体>

1. Takahashi Y., et al. Autoantibodies to NMDA receptor in patients with chronic forms of epilepsy partialis continua. *Neurol.* 2003；61(7)：891-896. (イムノプロット測定方法など)
2. 根本英明、他、自己抗体介在性急性可逆性辺縁系脳炎 (autoantibody-mediated acute reversible limbic encephalitis (AMED-ARLE))、*Neuroinfect.* 2005；10：44-46.
3. Takahashi Y., Infections as causative factors of epilepsy, *Future Neurol.* 2006；1, No. 3：291-302. (脳炎症例での抗GluR ϵ 2抗体)
4. 高橋幸利、他、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；48：163-172.
5. 高橋幸利、他、免疫性神経疾患：最近の進歩、NMDA 型グルタミン酸受容体と神経疾患、*Neuroimmunology*, 2009；17(2)：245-255.
6. 高橋幸利、他、急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明、編集：鈴木則宏、他、*Annual Review 神経* 2010、p85-93、東京、中外医学社、2010年1月.
7. Koji Fujita, Tatsuhiko Yuasa, Yukitoshi Takahashi, Keiko Tanaka, Wataru Sako, Hidetaka Koizumi, Yasuhi Iwasaki, Mari Yoshida, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji, Antibodies to N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in Creutzfeldt-Jakob disease patients, *J Neuroimmunology*, 2012；251(1-2)：90-3. (ELISA による抗体測定法など)
8. 高橋幸利、グルタミン酸受容体抗体の意義、脳と発達、2013；45：99-105. (ELISA 測定法の cell-based assay との比較検証、病態意義など)

<抗 NMDAR 抗体＝抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体>

1. Dalmau J, Tu " zu " n E, Wu H, et al., Paraneoplastic Anti-N-methyl-D-aspartate Receptor Encephalitis Associated with Ovarian teratoma, *Ann Neurol.* 2007；61：25-36.
2. Takahashi Y, Epitope of autoantibodies to NMDA-receptor in paraneoplastic limbic encephalitis, *Ann Neurol.* 2008；64：110-111.
3. Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, et al., Cellular and Synaptic Mechanisms of Anti-NMDA Receptor, *The Journal of Neuroscience*, 2010；30：5866-5875. (NMDA 型 GluR の抗体による内在化)
4. Shiho Takano, Yukitoshi Takahashi, Hiroyuki Kishi, Yoshiharu Taguchi, Shutaro Takashima, Kortaro Tanaka, Atsushi Muraguchi, Hisashi Mori, Detection of autoantibody against extracellular epitopes of N-methyl-D-aspartate receptor by cell-based assay, *Neurosci Res.* 2011；71(3)：294-302. (NMDA 型 GluR の抗体による温度依存性内在化)

<抗VGKC抗体総説>

1. Vincent A, et al., Potassium channel antibody-associated encephalopathy: a potentially immunotherapy responsive form of limbic encephalitis, *Brain* 2004；127：701-712.
2. 渡邊修、有村公良、抗 VGKC 抗体と非ヘルペス性辺縁系脳炎、*医学の歩み*、2007；223：281-285.
3. 高橋幸利、自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム、臨床神経学、2012；52(11)：836-839.

<抗NAE抗体総説>

1. Fujii A, et al., Autoantibodies against the amino terminal of alpha-enolase are a useful diagnostic marker of Hashimoto's encephalopathy. *J Neuroimmunol.* 2005; 162: 130-136.
2. 米田誠、橋本脳症と抗NAE抗体、*医学の歩み*、2007; 223: 277-280.
3. Yoneda M., et al., High prevalence of serum autoantibodies against the amino terminal of α -enolase in Hashimoto's encephalopathy. *J Neuroimmunol* 2007; 185: 195-200.
4. 高橋幸利、自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム、*臨床神経学*、2012; 52(11): 836-839.

<傍腫瘍症候群と辺縁系脳炎>

1. Gultekin SH, et al., Paraneoplastic limbic encephalitis: neurological symptoms, immunological findings and tumour association in 50 patients, *Brain*, 2000; 123: 1481-1494.
2. Dalmau J, et al., Paraneoplastic Anti-N-methyl-D-aspartate Receptor Encephalitis Associated with Ovarian teratoma, *Ann Neurol.* 2007; 61: 25-36.
3. 田中恵子、傍腫瘍性辺縁系脳炎、*医学の歩み*、2007; 223: 286-290.

<症例報告>

1. 林 祐一、他、抗グルタミン酸受容体 $\delta 2$ 、 $\epsilon 2$ 抗体を認めた非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例、*臨床神経学* 2005; 45(9): 657-662. (ステロイドパルス有効例)
2. Ito H, et al., A case of acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures, presenting autoantibody to glutamate receptor Glu $\epsilon 2$, *Brain & Dev.*, 2005; 27: 531-534. (ステロイドパルス有効例)
3. Mochizuki Y, et al., Acute limbic encephalitis: a new entity?, *Neurosci Lett.*, 2006; 394: 5-8. (剖検例)
4. 石田 博、他、前障と海馬に病変を認めた非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1小児例、*脳と発達*、2006; 38: 443-447.
5. Miyazaki M, et al., Encephalitis of unknown etiology with anti-GluRe2 autoantibody, showing divergent neuroradiologic and clinical findings, *Eur Neurol* 2007; 57: 111-113.
6. Yoshino A, et al., Limbic encephalitis with autoantibodies against the glutamate receptor epsilon 2 mimicking temporal lobe epilepsy, *Psych Clin Neurosci*, 2007; 61: 335.
7. Saito Y, et al., Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures: case reports of this unusual post-encephalitic epilepsy, *Brain & Dev.*, 2007; 29: 147-156.
8. 永井勅久、他、長期の人工呼吸管理後軽快した重症非ヘルペス性辺縁系脳炎の1例、*神経内科* 2008; 68: 282-286.
9. Kashihara K, et al., Autoantibodies to glutamate receptor GluRepsilon2 in a patient with limbic encephalitis associated with relapsing polychondritis. *J Neurol Sci.* 2009; 287: 275-277.
10. 増田曜章、他、髄液抗グルタミン酸受容体 $\epsilon 2$ 抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎をともなった Vogt-小柳-原田病の1例、*臨床神経*、2009; 49: 483-487.
11. 千葉悠平、他、ステロイドパルス療法により認知機能障害が改善した、抗グルタミン酸受容体 $\epsilon 2$ 抗体陽性の橋本脳症の1例、*精神科治療学* 2009; 24: 1405-1410.
12. 甲斐太、他、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性であった可逆性脳梁膨大部病変を伴った脳炎(MERS)の1例、*神経内科*、2009; 71(4): 397-401.
13. 小野浩明、他、インフルエンザ感染を契機に非ヘルペス性辺縁系脳炎を発症した1例、*脳と発達*、2010; 42(1): 58-60.
14. Uzawa A, Mori M, Takahashi Y, Ogawa Y, Uchiyama T, Kuwabara S. Anti-N-methyl d-aspartate-type glutamate receptor antibody-positive limbic encephalitis in a patient with multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg.* 2012; 114(4): 402-4.

資料 1. ウィルス性辺縁系脳炎の診断登録基準

<概念>

辺縁系脳炎登録基準に合致する症例であって、発症にウィルス直接感染の関与が証明されたものをウィルス性辺縁系脳炎とする。

<範囲>

単純ヘルペスウィルスの中枢神経感染が証明されたものを単純ヘルペス性辺縁系脳炎、単純ヘルペスウィルス感染が証明されず、その他のウィルスの中枢神経感染が証明されたものを非単純ヘルペス性ウィルス性辺縁系脳炎とする。

<診断>

A) 単純ヘルペス性辺縁系脳炎の特徴

1. 臨床

初発神経症状では「精神症状」>「意識障害」>「痙攣」が多い。

発熱・髄膜刺激症状・せん妄を含む意識障害・痙攣発作・幻覚・記憶障害などが中核症状である。

2. 検査

髄液ではリンパ球優位の細胞増加・蛋白増加・PCR 法による抗原同定、血清髄液での CF・EIA 法による抗体価上昇が見られる。

3. 生物学的特徴

- 髄液中に単純ヘルペスウィルス DNA が検出される。
- 髄液中に単純ヘルペスウィルス抗原が検出される。
- 髄液中に単純ヘルペスウィルス抗体価の著明な上昇（血清／髄液<20）を認める。
- 経時的に採取した血清・髄液で単純ヘルペスウィルス抗体の4倍以上の増加を認める。

B) 非単純ヘルペス性ウィルス性辺縁系脳炎

1. 臨床

- VZV:HIV 感染者等で脳炎を起こす、髄液 PCR 陽性は 60%以下
- CMV: HIV 感染者等の免疫能低下症例で脳炎を起こす、髄液 PCR 陽性は 95%超。
- HHV-6:突発性発疹症の原因ウィルスで、成人に潜伏感染。
- エンテロウィルス: 広汎性脳病変あるいは限局性脳病変。

2. 生物学的特徴

髄液中に単純ヘルペスウィルス 1・2 以外のウィルス遺伝子が検出された場合、あるいはウィルスが分離された場合を非ヘルペス性ウィルス性辺縁系脳炎とする。

<必要な検査>

A) PCR 法実施施設

ヘルペスウィルス科の検出は、藤田保健衛生大学小児科（吉川哲史）において行う。

B) 髄液検体の保存と輸送

ウィルス検出用の髄液検体(0.5ml 必要)は、-80℃の超低温槽に保存し、凍結融解を繰り返さない。出来る限り発症早期の検体を、0.5ml 程度保存しておくことが望ましい。同時に採取した血清検体があれば、同様に保存する。

輸送には、厚手の発泡スチロールの箱に大量のドライアイスを入れて蓋をシールして、凍結のまま主任研究者のもとに送付する。

C) 結果報告

現在のところ、リアルタイムに結果を報告することは困難である。

従って、単純ヘルペスウィルスの診断については、従来通り各施設にて対応する。その他のウィルスについては、各年度末までにすべての結果を報告する。