

資料 2. 傍感染性辺縁系脳炎・脳症の診断登録基準

<概念>

亜群のうち①③④などの既知の疾患カテゴリーに入らない疾患であって、MR 画像所見、あるいは、臨床症状から辺縁系脳炎が疑われる。

<範囲>

- A) 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(楠原・庄司:NHALE)、自己抗体介在性急性可逆性辺縁系脳炎(根本・湯浅:AMED-ARLE)、若年女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎(亀井:AJFNHE)の一部を含む。
- B) 髄液のウイルス培養陽性・PCR 陽性にてウイルスの直接 CNS への侵襲が証明された症例・傍腫瘍性機転がある場合は除く。
- C) 血清抗体価の有意な上昇や、臨床的に(既知の)典型的な感染症の先行があり、この(ウイルス)感染症に随伴または引き続いて起こった脳炎も含まれる。

<特徴>

- A) 臨床の特徴
 - 1. 比較的若年(女性>男性)を冒す(但し、年齢基準は設けない)。
 - 2. 感冒様症状などの前駆症状が見られることが多い。
 - 3. 急性・亜急性に発症する脳炎、脳症である。
 - 4. 辺縁系症状(フローチャートの辺縁系障害を示唆する臨床症状・所見を参照)を有する。
- C) 検査の特徴
 - 1. 髄液の軽度の異常(細胞数と髄液蛋白軽度上昇)
 - 2. MRI の異常(辺縁系に異常所見を認めることがある)
- D) 生物学的な特徴
 - 抗 GluR2 抗体が証明されることがある。

<必要な検査>

- A) 血清・髄液中のグルタミン酸受容体(GluR2・GluRδ2)に対する自己抗体の測定(血清・髄液各 2m l)。
- B) 血液・髄液中のサイトカインなどを測定。
- C) 抗 VGKC 抗体(血清 1m l)
- D) 抗 NMDA 受容体複合体抗体(Dalmau 抗体)(髄液 500 μ l)

資料 3. 傍腫瘍性辺縁系脳炎・脳症の診断登録基準

<概念>

担癌患者に生じる急性・亜急性脳炎・脳症であるが、神経症状発症時には悪性腫瘍が見つからない場合も多い。

<範囲>

担癌者において、腫瘍の直接浸潤・治療の副作用・栄養障害・感染などの明らかな原因がなく、免疫学的機序で精神症状・痙攣・意識障害などを呈するもので、肺小細胞癌・精巣癌などに伴うことが多い。

<診断>

A) 臨床の特徴

本症の症状は基本的には辺縁系病変による共通の症状（けいれん、記憶力低下、混迷、性格変化、幻覚、うつ状態など）であるが、症状の完成に至るまでの期間が数日から 12 週程度と亜急性進行性の経過をたどること、辺縁系以外の病変に由来する多彩な症候を合併する可能性が高いこと、などの特徴を有する。

1. 壮年期の男女（男性は testicular cancer に伴い若年発症がある）
2. 数日から 12 週程度の経過で症状が急性～亜急性に進行する
3. 大脳辺縁系の症候（けいれん、意識障害、精神症状など）を主軸とし、小脳失調・四肢感覚障害・筋力低下など他の症候を合併することがある
4. 過去 5 年以内に悪性腫瘍の既往・存在がある（現在検出できないが今後 5 年以内に出現する可能性があるため、腫瘍がない場合も排除できない）
5. 悪性腫瘍の治療に関連した神経症状の改善あるいは進行停止がある

B) 検査の特徴

1. 髄液に炎症性変化を認める
2. MRI で辺縁系などの異常を認めることが多い（一過性の場合もある）。

C) 抗体の証明

1. 本症に特異的な抗体（Yo/Hu/Ri/Ma-2/CRMP-5/VGKC/amphiphysin）を検出する
2. 本症で出現したと報告された、上記以外の抗体に一致する特徴を有する抗体を検出する

<必要な検査>

- A) 抗 Yo 抗体
- B) 抗 Hu 抗体
- C) 抗 Ri 抗体
- D) 抗 CV2 (CRMP-5) 抗体
- E) 抗 Ma-2 抗体
- F) 抗 amphiphysin 抗体
- G) 抗 NMDA 受容体複合体抗体 (Dalmau 抗体) (髄液 500 μ l)
- H) 血清・髄液中のグルタミン酸受容体 (GluR α 2・GluR δ 2) に対する自己抗体の測定 (血清・髄液各 2 ml)。

現在、A)-F)は必要に応じてご相談の上測定しております。予めご相談ください。

資料 4. その他・分類不能の特徴を有する症例の診断登録基準

<概念>

急性～亜急性に脳炎症状を呈し、臨床的あるいは神経画像的に辺縁系脳炎と考えられる症例であるが、①ウィルス直接感染、②傍感染性の免疫学的機序、③傍腫瘍性の機序、④膠原病合併による機序が否定される症例、あるいは登録の時点では分類ができていない症例。

<範囲>

重症薬疹のひとつである Hypersensitivity syndrome に伴う辺縁系脳炎、骨髄移植合併辺縁系脳炎などが挙げられる。

資料 5. 連絡先

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-

研究代表者	研究者所属施設	Tel・Fax・E-mail
高橋幸利	独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター（臨床研究部）	054-245-5446 054-247-9781 takahashi-ped@umin.ac.jp

抗体検査などのお問い合わせは、上記メールアドレスにお送りください。

研究分担者	所属研究機関
森 寿	富山大学大学院医学薬学研究部、分子神経科学
西田拓司	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

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) 班員名簿

研究分担者	所属研究機関
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
湯浅 龍彦	医療法人社団木下会鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター
庄司 紘史	国際医療福祉大学福岡リハビリテーション学部
岡本 幸市	群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学
熊本 俊秀	大分大学医学部脳神経機能統御講座（内科学第三）
米田 誠	福井大学第二内科(神経内科)
森島 恒雄	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、小児科学
田中 恵子	金沢医科大学脳脊髄神経治療学（神経内科学）
犬塚 貴	岐阜大学医学系研究科神経統御学講座 神経内科・老年学分野
中島 健二	鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科部門・神経内科
森 寿	富山大学大学院医学薬学研究部、分子神経科学
渡邊 修	鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 脳神経センター 神経内科
市山 高志	山口大学医学部附属病院小児科
吉川 哲史	藤田保健衛生大学・小児科

資料 6. 急性脳炎・脳症の疫学-20100728-

A. 疫学調査の方法

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）（以下、当研究班）では、急性に脳炎症状を呈する急性脳炎・脳症を病態別に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・分類不能と分類した。

当研究班で行った鳥取県における2001年から2005年の5年間の急性脳炎の疫学調査（後ろ向き）の結果を示す。

表 1. 16歳以上成人における急性脳炎の罹患率

年齢 (歳)	男性+女性		男性		女性	
	人数	罹患率	人数	罹患率	人数	罹患率
全体	49	19.0	30	24.7	19	14.0
16-19	2	13.4	0	-	2	27.7
20-29	10	29.6	5	29.0	5	30.2
30-39	8	22.6	6	34.1	2	11.3
40-49	9	23.2	4	20.7	5	25.7
50-59	5	11.1	5	22.0	0	-
60-69	4	10.9	1	5.9	3	15.3
70-79	9	26.8	8	56.7	1	5.1
≥80	2	10.5	1	17.6	1	7.4

罹患率： /100万人年

B. 急性脳炎・脳症の疫学

全体で49例の急性脳炎・脳症症例が発症し、男性は30例で、女性は19例であった（表1）。男性では70歳代が8例と最も多く、女性では20歳代および40歳代が5例と最も多かった。16歳以上の成人における急性脳炎罹患率は全体で19.0/100万人年（95%信頼区間：14.4～25.1）であった。

急性脳炎の内訳（図1）は、①ウイルス直接侵襲（1次性）脳炎は11例（22%），②傍感染性脳炎・脳症は12例（25%），③傍腫瘍性脳炎・脳症は4例（8%），④全身性膠原病合併脳炎・脳症は2例（4%），⑤その他・分類不能は20例（41%）であった。

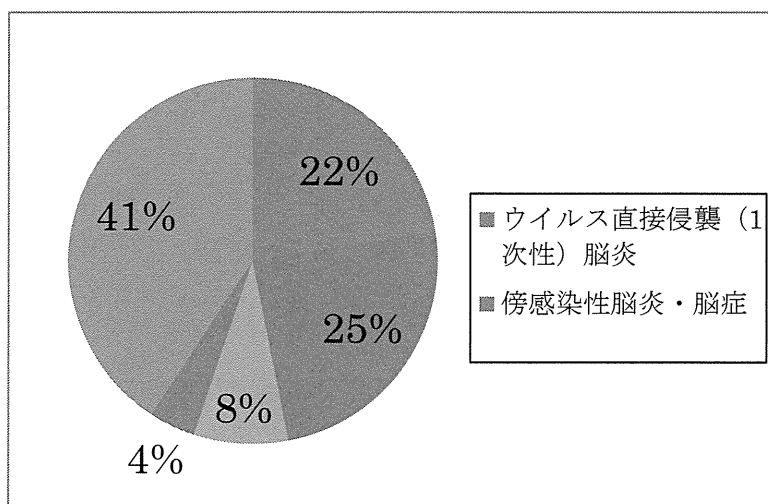


図 1 急性脳炎の内訳

C. 傍感染性脳炎・脳症の疫学

16歳以上成人における傍感染性脳炎・脳症の罹患率を表2に示す。全体の罹患率は4.7/100万人年(95%信頼区間:2.4~7.6)であった。男性5例は30から50歳代までほぼ均等に分布しており平均発症年齢は44.8歳で、男性全体の罹患率は4.1/100万人年であった。女性7例は20歳代が最も高頻度で分布に片寄りがあり、平均発症年齢は31.6歳で、女性全体の罹患率は5.1/100万人年であった。特に、20代女性の罹患率は最も高く24.2/100万人年であった。

表2. 16歳以上成人における傍感染性脳炎・脳症

年齢 (歳)	男性+女性		男性		女性	
	人数	罹患率	人数	罹患率	人数	罹患率
全体	12	4.7	5	4.1	7	5.1
20-29	4	11.8	0	-	4	24.2
30-39	3	8.5	2	11.4	2	5.7
40-49	2	7.8	1	5.2	1	10.3
50-59	2	4.4	2	8.8	0	-

罹患率: /100万人年

D. 全国推計

以上の疫学調査の結果を基にわが国における1年間の罹患数を推計すると、急性脳炎・脳症は約2000例が、傍感染性脳炎・脳症は約550例が新規に発症すると推計された。

資料 7. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症の発作症状 (Seizure symptom)

A. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE) の発作(Seizure)

急性脳炎症例に見られる発作(Seizure)には、初期に見られる急性症候性発作(Acute symptomatic seizure)と、通常回復期から見られるてんかん発作(Epileptic seizure)がある。

B. NHALE の急性症候性発作合併頻度

我々の NHALE 61 例 (小児 14 例、成人 47 例) の検討では、小児の 35.7%、成人の 19.1% の初発神経症状が急性症候性発作である。脳炎の発病からさらに急性期全体で見るとは、小児の 50.0%、成人の 73.8% に急性症候性発作が観察され、急性症候性発作重積 (けいれん重積) は小児 35.7%、成人 56.1% に出現する (図 1)。

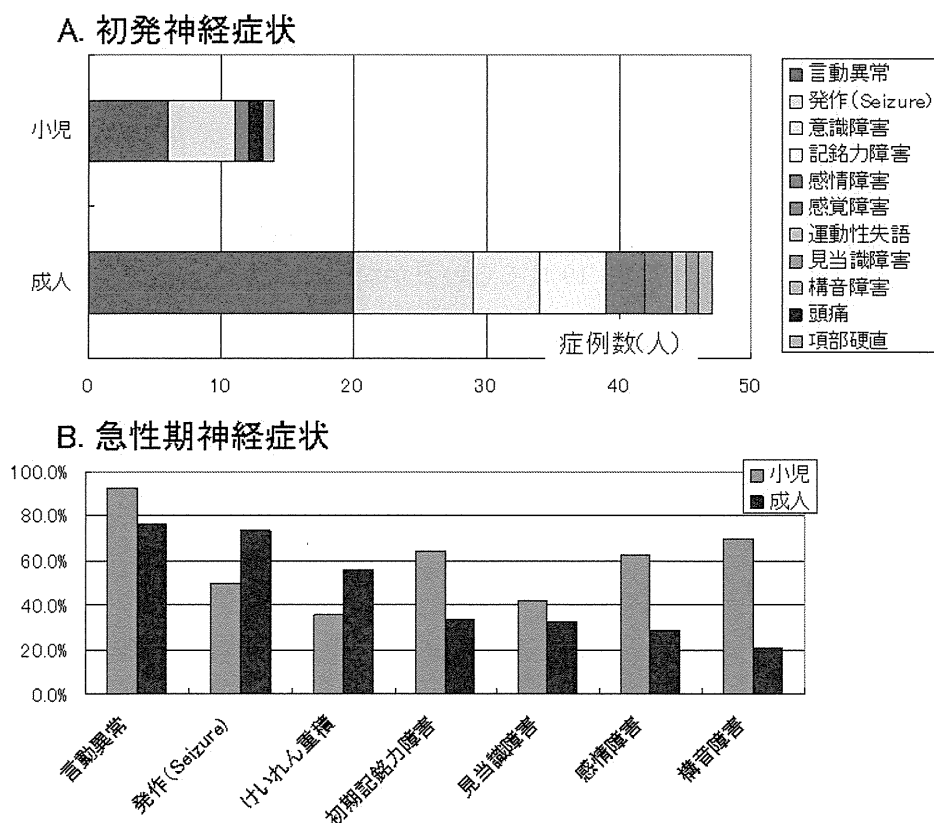


図 1. NHALE の初発神経症状 (A) と急性期に見られる神経症状 (B)

C. NHALE の初発神経症状としての急性症候性発作の症状

急性症候性発作で発病した 14 例中 5 例は小児、9 例は成人で、8 例は無熱性発作、5 例は有熱発作 (1 例は不明) であった。よって脳炎であっても、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 (図 2)。

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。しかし、有熱発作の 5 例中 1 例、無熱発作の 8 例中 3 例が痙攣兆候を伴わない複雑部分発作で、脳炎でありながら、てんかん発作をイメージさせる「痙攣を示さない複雑部分発作」で初発する症例がかなり存在することが分かる。

A. 初発神経症状と発熱

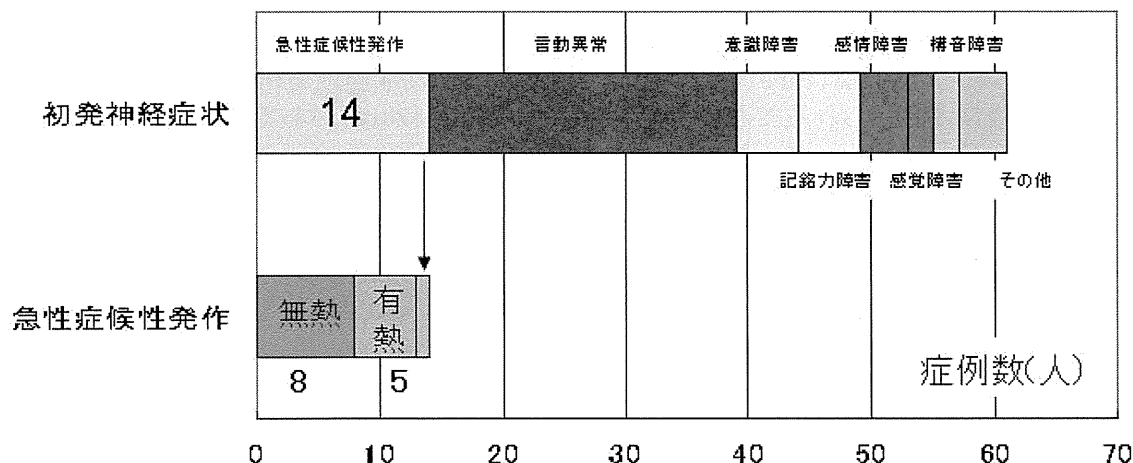


図 2. NHLE の初発神経症状としての急性症候性発作の特徴

D. NHLE の発病から急性期にかけて見られた急性症候性発作の特徴

NHLE では 61 例中 38 例が発病から急性期にかけて急性症候性発作を経験し、平均的には脳炎発病後 2-3 日で発作が出現するが、30 歳代は発病から 10 日くらいとかなり日数が経ってから発作が出現する傾向にある。

発作症状は、単純部分発作(1 例)、痙攣兆候を伴わない複雑部分発作(8 例)、痙攣兆候を伴う複雑部分発作 (13 例)、2 次性全般化強直間代発作 (9 例)、重積 (11 例)、その他(3 例)である。痙攣兆候を伴わない複雑部分発作には、意識レベルの低下のみの発作や、眼球の共同偏視を示すものなどが含まれる。痙攣兆候を伴う複雑部分発作には、一側顔面の痙攣などを示した症例が含まれる。発作で発病した 14 例中 8 例、発作以外で発病した 24 例中 21 例が、その後痙攣性の発作を呈しており、急性症候性発作以外の発病であってもその後の経過ではむしろ痙攣性の発作が出現しやすいことが分かる。

参考：

1. 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。

資料8. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE) のMRI拡散強調画像 (DWI) -20090816- (岩手医科大学佐々木真理先生監修)

A. ディスプレーでの標準化表示・評価法

1. 装置コンソールやDICOM画像表示端末上で、 b_0 (ビーゼロ) 画像 (DWIと同時に取得されるEPI T2強調画像) における正常脳実質 (視床など) のIntensityを測定し、 SI_{b_0} とする。
2. DWI画像ディスプレイのウィンドー幅を SI_{b_0} とし、ウィンドーレベルを $0.5 \times SI_{b_0}$ とする。
3. 小児ではADCが大きいので、ウィンドーレベルは $0.6 \times SI_{b_0}$ 程度とする。

注意点

- 施設や操作者 (技師・医師) 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ため、標準化した方法でDWI画像を表示・判定する。
- 低磁場機器のDWI画像は評価しないほうが良い。1.5T以上の機器で判断する。
- DWIは正常者でも高信号となる部位があり、側頭葉内側部、前頭葉内側部、島は高信号に出やすい。
- DWI高信号病変であっても、SPECTなどで血流増加した部位は、けいれん重積等を反映した病変である可能性がある。

B. NHALEのMRI拡散強調画像 (DWI) の特徴

1. 両側あるいは片側の内側側頭葉 (海馬など) に淡いADCの低下を示すDWI高信号病変が出現することが特徴である (図1-4、7)。
2. 特徴的病変が出現しない症例が多く、我々の典型的臨床症状を示したNHALE14例の内2例 (14.3%) に典型的な側頭葉内側部のDWI高信号病変出現が確認された (表1)。
3. 典型的DWI所見が出たのは、0~1病日と早期であった。所見出現時期については今後症例を増やして検討する必要がある (表1)。
4. 一過性脳梁膨大部所見が典型的臨床症状のNHALE 14例中2例 (14.3%) に見られた (表1)。

注意点

- 新皮質のDWI高信号病変: NHALEを疑われた症例の中に、新皮質のDWI高信号病変が見られた症例が3例あったが、2例はNHALEではない症例で発作重積型の脳炎症例 (図5)、認知症あるいはposterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) と思われる症例であった。1例は臨床症状がNHALEではあるが、微小血栓症の合併によるDWI高信号病変と推定された。新皮質のDWI高信号病変はNHALEの特異的所見ではないと思われる。
- 側頭葉内側部のDWI高信号病変: 再発性脳炎に見られた側頭葉内側部のDWI高信号病変 (図6) はNHALEのものに似るが、NHALEとは異なりADCの低下がなく、ADCの低下の確認が重要である。

画像標準化検討の参考:

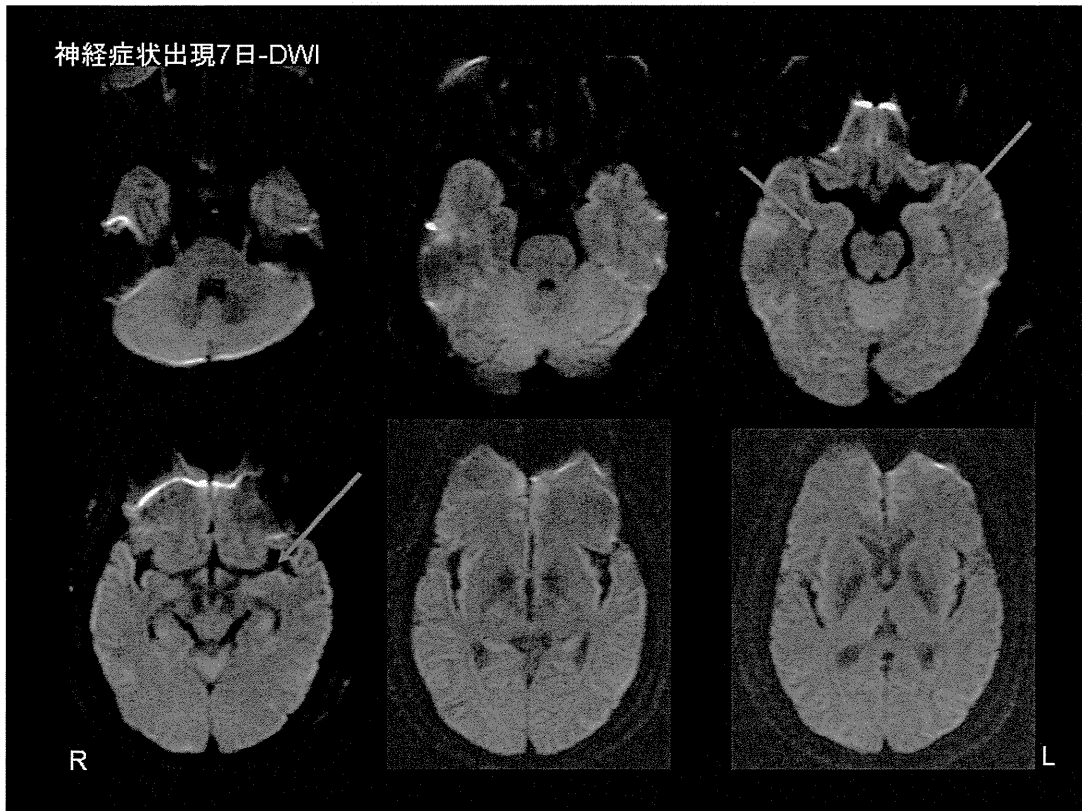
- 厚生労働省平成17年度循環器病研究委託費17公-3急性期脳梗塞におけるCT, MRI検査の標準化に関する研究班、<http://asist.umin.jp/>
- Sasaki M, Ida M, Yamada K, Watanabe Y, Matsui M. Standardizing Display Conditions of Diffusion-weighted Images Using Concurrent b_0 Images: A Multi-vendor Multi-institutional Study. Magn Reson Med Sci 2007; 6: 133-137.

表 1. 検討 17 症例の DWI 所見のまとめ (NHLE またはその辺縁群の脳炎を疑われて DICOM 画像を供与された 17 例を検討)

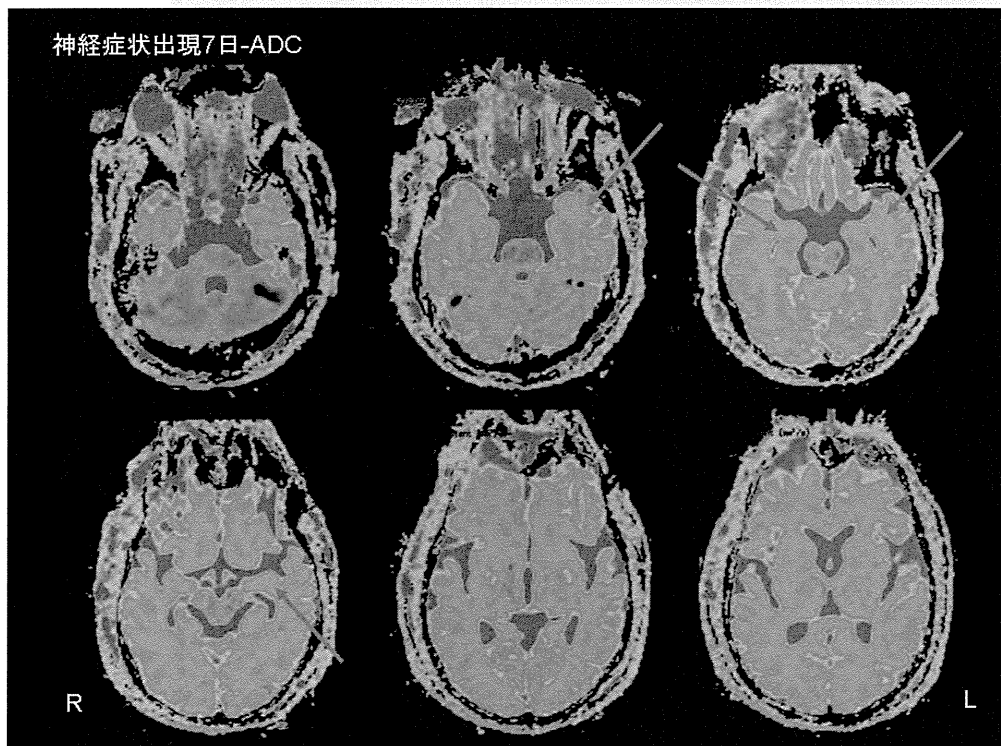
症例番号	抗 GluRε2 抗体	タイプ	性	発病 (歳)	臨床特徴	発病関連因子	初発神経症状	画像病変出現病日	画像変化	ADC	備考
1	A+	TTT	男	58.0	ALE	発熱	歩行障害	7	左右側頭葉内側部わずかに高信号(図 1)	低下 (図 2)	
2	A2+	TTT	女	36.0	ALE	発熱	異常言動	1	左海馬に一致した高信号(図 3)	低下 (図 4)	
3	A+	AA	男	78.0	発作重積型	頭痛	視覚性要素のてんかん発作	1	右後頭葉から頭頂葉に浮腫状病変: てんかん重積による病変(図 5)	低下 (図 5)	てんかん重積による血流増加変化は DWI でも FLAIR でも高信号となるので、DWI と FLAIR では区別がつかない
4	A-	ATA	男	77.0	再発性脳炎	なし	意識障害	1	左側頭葉内側部から側頭極にかけて高信号病変(図 6)	正常 (図 6)	ADC 正常で、拡散低下のない症例
5	A2+	TA	男	66.0	ALE	発熱	異常言動	5	右側頭葉・後頭葉の皮質・皮質下に高信号あり		DWI は微小血栓による病変の可能性、ALE だが海馬病変がない症例
6	A-	TA	男	75.0	認知症	白内障手術	認知症症状	7	両側前頭葉内側に高信号域、海馬正常	低下	PRES とと思われる症例
7	A+	TN	男	38.0	ALE	発熱	異常言動	10	脳梁膨大部腫張と高信号、海馬は正常	低下	一過性脳梁膨大部所見の症例
8	A2+	TN	女	18.0	ALE	卵巣奇形腫	異常言動	11	脳梁膨大部病変		一過性脳梁膨大部所見の症例
9		TN	男	25.0	ALE	頭痛	異常言動	29	異常所見なし		偽陽性とされた症例
10	A+	TN	女	64.0	ALE	なし	物忘れ	-	2 病日異常所見なし		
11	A2+	TN	女	36.0	ALE	発熱	異常言動	-	10 病日異常所見なし		
12	A+	TN	女	18.0	ALE	発熱	異常言動	-	急性期・回復期異常所見なし		
13	A2+	TN	男	32.0	ALE	発熱	異常言動	-	6 病日異常所見なし		
14	A+	TN	女	45.0	ALE	なし	異常言動	-	27 病日異常所見なし		
15	A+	TN	女	21.0	ALE	発熱	異常言動	-	0 病日異常所見なし		
16	A2+	TN	男	29.0	ALE	頭痛	異常言動	-	6 病日異常所見なし		
17	A+	TN	男	12.0	ALE	喘息ステロイド治療	異常言動	-	3 病日異常所見なし		

抗 GluRε2 抗体: A2+、髄液・血清とも陽性; A+、髄液のみ陽性、A-、血清のみ陽性。タイプ: TTT、臨床症状典型的+DWI 典型的+ADC 典型的; AA、臨床症状非典型的+DWI 非典型的; ATA、臨床症状非典型的+DWI 典型的+ADC 非典型的; TA、臨床症状典型的+DWI 非典型的; TN、臨床症状典型的+DWI 正常範囲。ALE, acute limbic encephalitis. Posterior reversible encephalopathy syndrome, PRES.

症例 1 : 典型的 NHALE

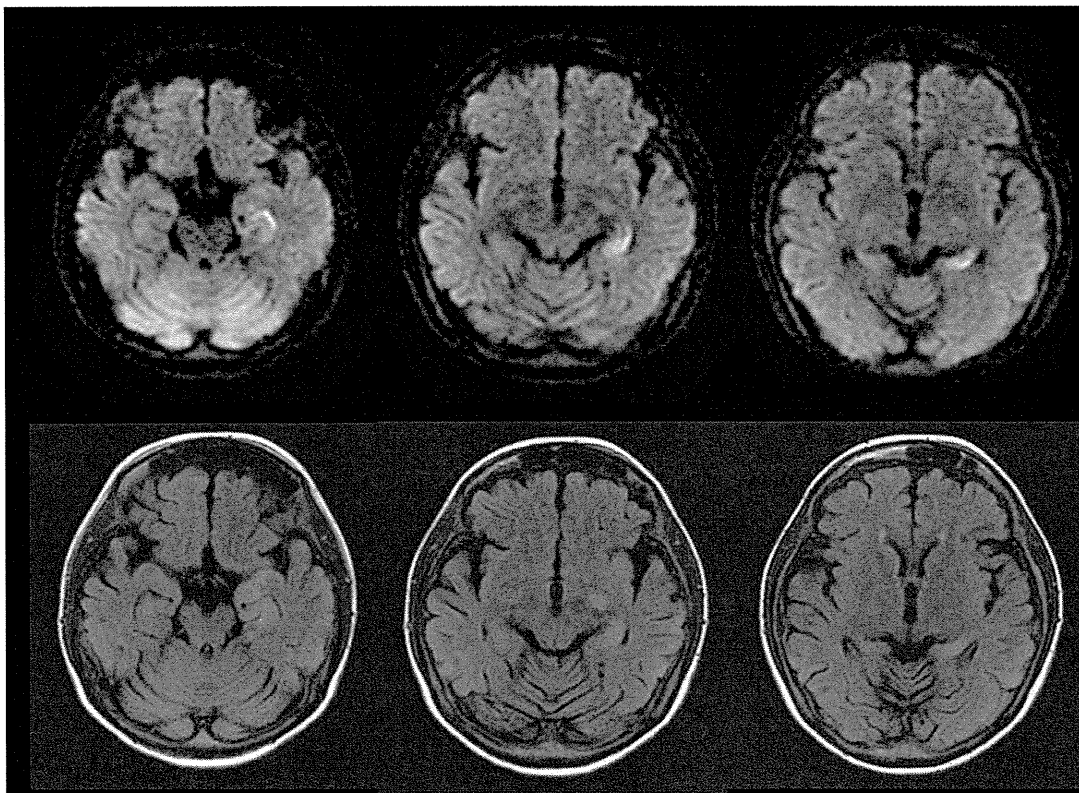


右 左
図 1. 症例 1 の DWI 画像. 左右側頭葉内側部にわずかに高信号病変を認める. 小脳失調があり、小脳虫部なども高信号になっている。

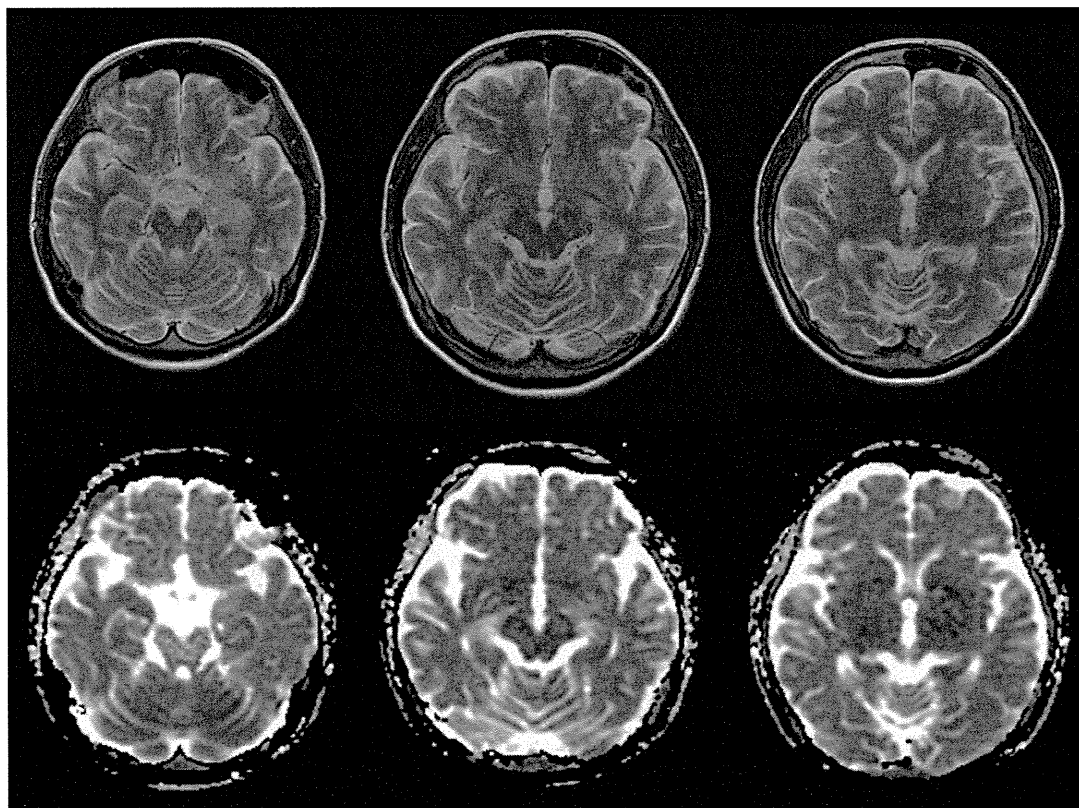


右 左
図 2. 症例 1 の ADC マップ. DWI でみられたわずかな高信号病変は、ADC が低下している。

症例 2 : 典型的 NHALE

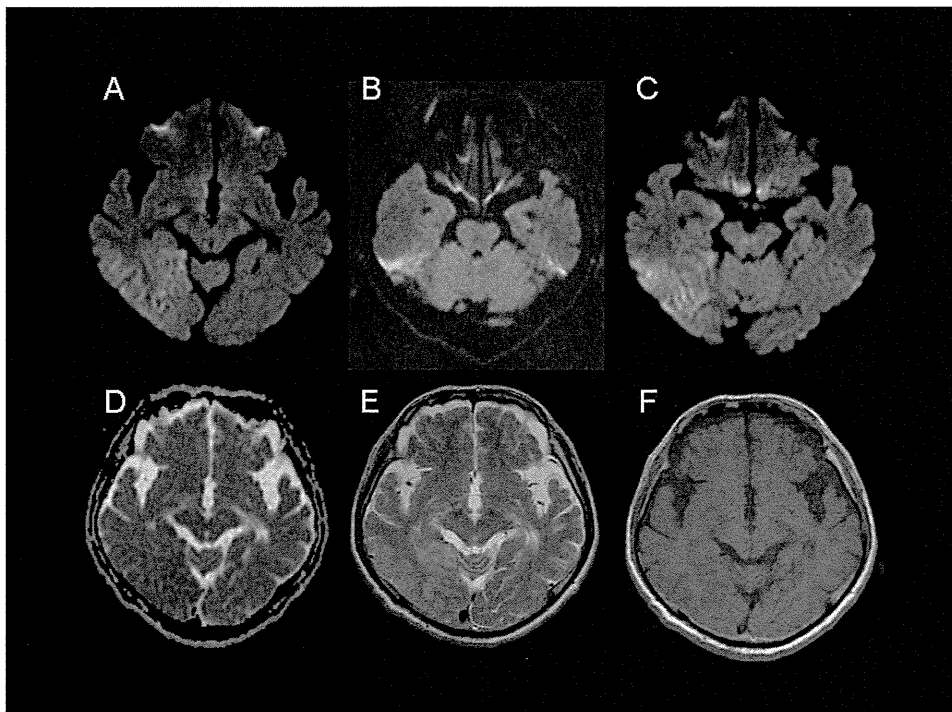


右 左
図 3. 症例 2 の DWI 画像 (上段) FLAIR 画像 (下段). 左海馬に高信号病変を認める.



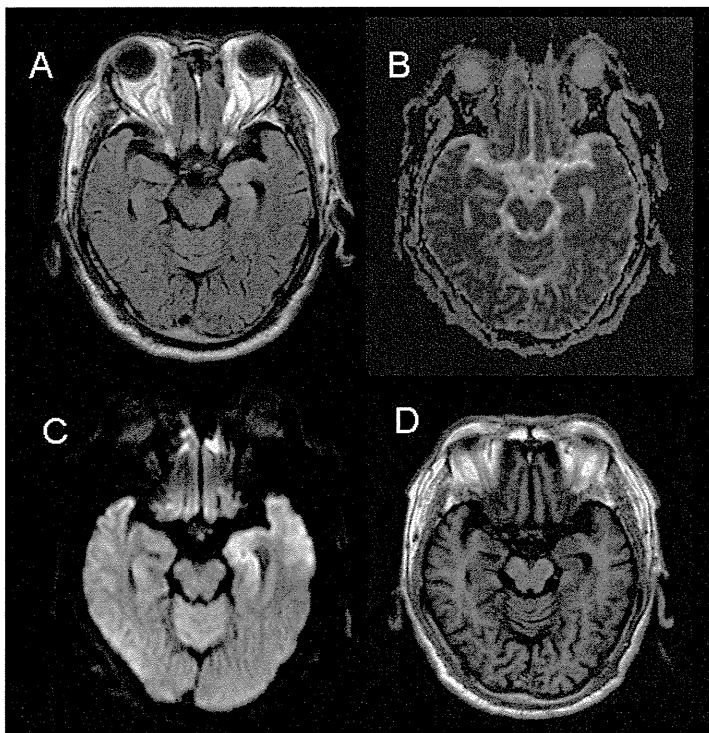
右 左
図 4. 症例 2 の T2 強調画像 (上段) ADC マップ (下段). 左海馬に T2 高信号病変、ADC の低下を認める.

症例 3 : 発作重積発病の脳炎症例



右 左
図 5. 症例 3 の MRI. A-C, DWI 画像 ; D, ADC マップ ; E, T2 強調画像 ; F, T1 強調画像.
右後頭葉皮質などに DWI 高信号病変があり、その部位の ADC の軽度低下、T2 高信号が見られるが、
海馬には DWI 高信号病変は認めない。

症例 4 : 再発性脳炎



右 左
図 6. 症例 4 の MRI. A、FLAIR 画像、B、ADC マップ ; C, DWI 画像 ; D, T1 強調画像.
左海馬に DWI 高信号病変を認めるが、ADC の低下はない。

症例18：軽症NHALE

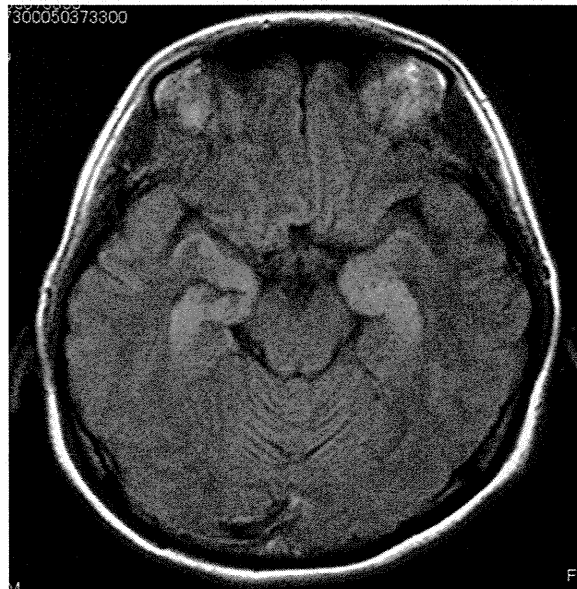
(DICOM 画像は供与されていない)

感冒症状後、記憶障害で発病した NHALE (42 歳、女性)、抗 GluRe2 抗体は血清で陽性。

A. DWI



B. FLAIR



右

図7. 症例18のMRI. A、DWI画像、B、FLAIR画像
両側海馬にDWI・FLAIR高信号病変を認める。

A. 検討対象：非ヘルペス性急性辺縁系脳炎・脳症 (NHALE)

急性脳炎・脳症関連 369 症例から、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 陽性例などを除き、辺縁系症状 (表 1) で神経症状が始まった 15 歳以上の NHALE 91 例について検討した結果を示す。

表 1. 辺縁系症状

急性辺縁系脳炎の定義

- ・明らかな意識障害出現前の急性期初期に
- ・辺縁系症状(1-4)のいずれかひとつを示し、
- ・その後、急性に脳炎症状が経過した症例

辺縁系症状

1.精神症状等

行動異常、思考滅裂、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

高橋幸利, 他, 脳炎における抗GluR抗体の意義, 第48回日本神経学会総会シンポジウム(SY-3)神経疾患と自己抗体

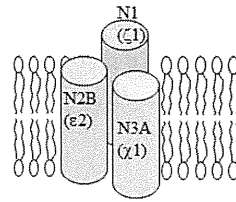
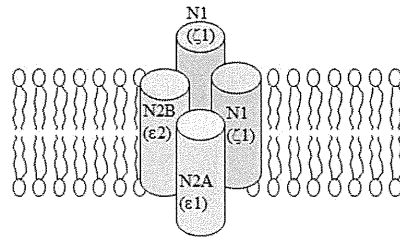
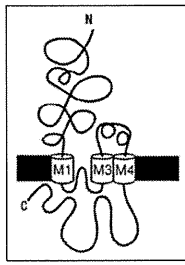
B. NMDA 型グルタミン酸受容体 (GluR) の構造

多くの NMDA 型 GluR は、必須となる GluR ζ 1 (NR1) と、GluR ϵ 1-4 (NR2A-2D) あるいは GluR χ 1-2 (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(一部 3 量体構造)をとり(図 1-B, C)、イオンチャ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-D)。NMDA 型 GluR はイオンを通過による電位変化で情報を伝えるのみではなく、細胞内ドメインには種々の分子が会合し、分子情報伝達が行われる(図 1-E)。

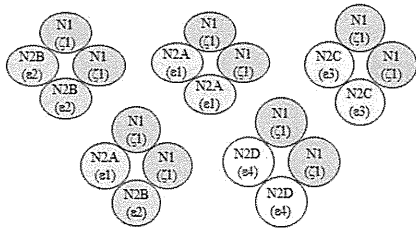
C. NMDA 型 GluR の分類

イオンチャネル型 GluR には 18 種類のサブユニットがあり、分子多様性が存在し、中枢神経系内の早い興奮性シナプス伝達の中心的役割を担っている重要な分子である。マウスの遺伝子解析からの命名は GluR ζ 1, GluR ϵ 1-4 などと呼ばれ、ラットの遺伝子解析からの命名は NR1, NR2A-2D などと呼ばれるが、人、マウス、ラットの遺伝子は相同性が非常に高い(表 2)。

A. subunit B. hetero-tetramer complex C. hetero-trimer complex



D. Combination of subunits



E. Section of NMDAR complex

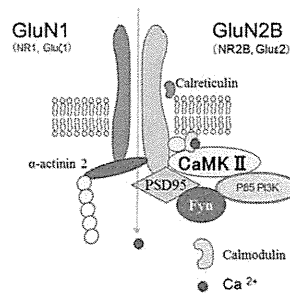


図 1. NMDA 型グルタミン酸受容体 (GluR) の構造-1-

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, C : NR の多くは、必須サブユニットである GluR ζ 1 (NR1) と、GluR ϵ 1-4 (NR2A-2D) あるいは GluR χ 1-2 (NR3A-B) 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。一部は可変サブユニットが 3 つ会合した 3 量体構造をとっている。
 D : 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。
 E : 各サブユニットの C 末側にはシグナル伝達系の分子などが会合している。

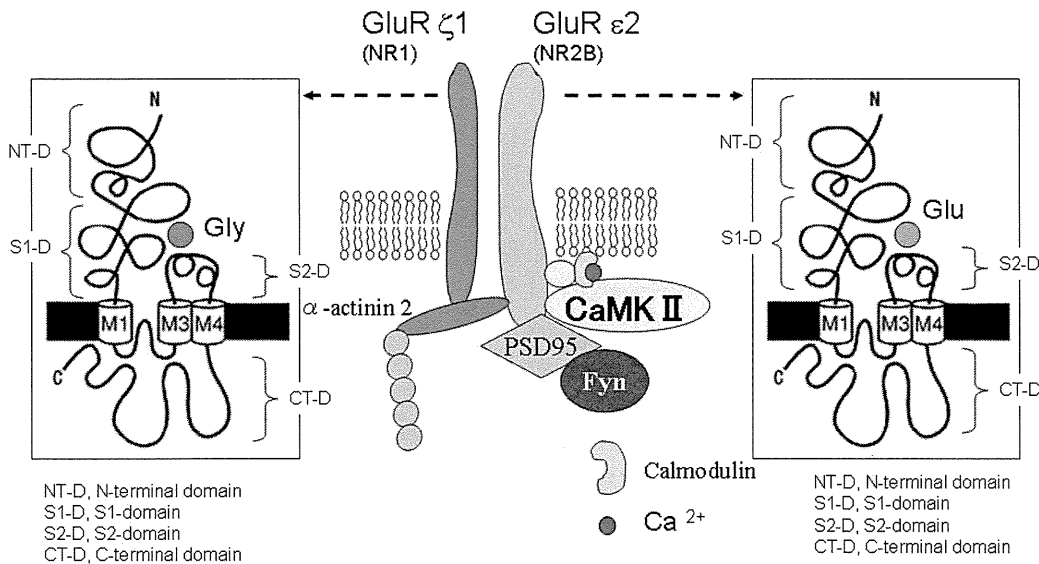


図 2. NMDA 型グルタミン酸受容体 (GluR) の構造-2-

表2. グルタミン酸受容体の多様性

Subfamilies	サブユニット		シナプス可塑性*	記憶学習†	神経パターン形成‡	自発運動¶	発現部位
	マウス	ラット					
AMPA GluR α	$\alpha 1-\alpha 4$	GluR1- GluR4					
Kainate GluR β GluR γ	$\beta 1-\beta 3$ $\gamma 1, \gamma 2$	GluR5-GluR7 KA1, KA2					
NMDA GluR ϵ	$\epsilon 1$	NR2A	○	○			びまん性
	$\epsilon 2$	NR2B	○		○		前脳
	$\epsilon 3$	NR2C					小脳顆粒細胞
	$\epsilon 4$	NR2D				○	視床, 脳幹
GluR ζ	$\zeta 1$	NR1					びまん性
GluR χ	$\chi 1$	NR3A					
	$\chi 2$	NR3B					
GluR δ	$\delta 1$	$\delta 1$					内耳有毛細胞
	$\delta 2$	$\delta 2$					小脳プルキンエ細胞

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

D. 抗 NMDA 型 GluR 抗体の測定法

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図 3 に示す。

A) cell-based assay: 二種類のサブユニットを培養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作らせて抗原とする抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体 (狭義の抗 NMDAR 抗体)、2 の [GluN1 (NR1) +GluN2B] を発現させた HEK 細胞を抗原とする抗体は、NR1 and or NR2B の細胞外ドメインを抗原とする抗体である。

B) サブユニット分子全長を抗原としてイムノブロットで判定する抗体。3 の抗 GluR $\epsilon 2$ (NR2B) 抗体は、GluR $\epsilon 2$ 全長分子内のどこかを抗原とする抗体である。

C) サブユニットの一部のドメインの合成ペプチドを抗原として使い、ELISA で検出する抗体。6 の抗 NR2B-NT2 抗体は、NR2B 分子の細胞外 N 末のペプチドを抗原とする抗体である。

A) Cell-based assay

1. [GluN1(NR1)+GluN2A(NR2A)]
2. [GluN1(NR1)+GluN2B(NR2B)]

B) Immunoblot assay

3. whole molecule of GluN2B(NR2B)

C) ELISA

4. GluN1(NR1)-NT
5. GluN1(NR1)-CT
6. GluN2B(NR2B)-NT2
7. GluN2B(NR2B)-M3-4
8. GluN2B(NR2B)-CT

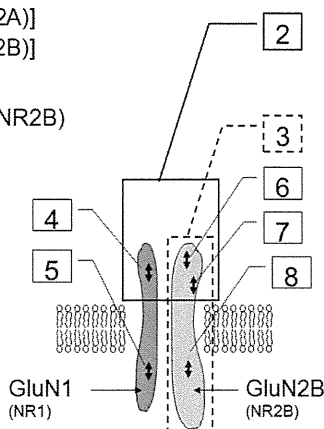


図 3. 抗 NMDA 型グルタミン酸受容体抗体検出のための抗原部位

E. NHALE と抗 GluR ϵ 2 抗体(免疫ブロット法)

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 NHALE の約 60%に見られ、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%の症例に見られ、陽性率は次第に低下した(図 4-C)。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。

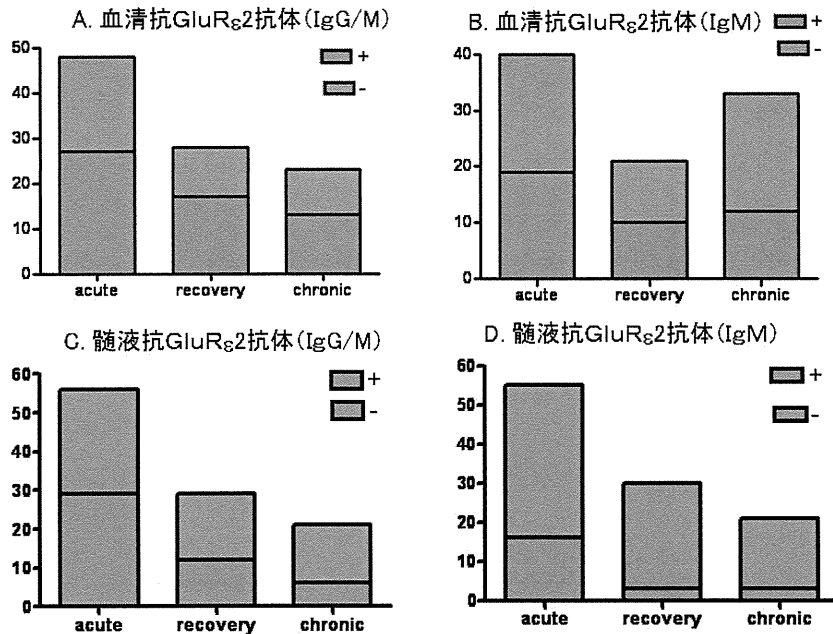


図 4. 全長 GluR ϵ 2 分子を抗原とする抗 GluR ϵ 2 抗体

F. Cell-based assay と ELISA による髄液抗 NMDA 型 GluR 抗体の比較

Dalmau らによる cell-based assay で抗 NMDA 受容体複合体抗体陽性 19 検体、陰性 7 検体の髄液について、我々の ELISA で抗 NR2B-NT2 抗体を測定すると、cell-based assay 陽性群は有意に陰性群に比べて ELISA 値が高値であり、抗 NR1-NT 抗体についても cell-based assay 陽性群は有意に陰性群に比べて ELISA 値が高値であった(図 5)。抗 NR1-NT 抗体は cell-based assay 陽性群の 5/14 検体で cell-based assay 陰性群と同等の値であったが、これらの検体では抗 NR2B-NT2 抗体は明らかに高値であり、抗 NR2B 抗体のみを有する可能性がある。

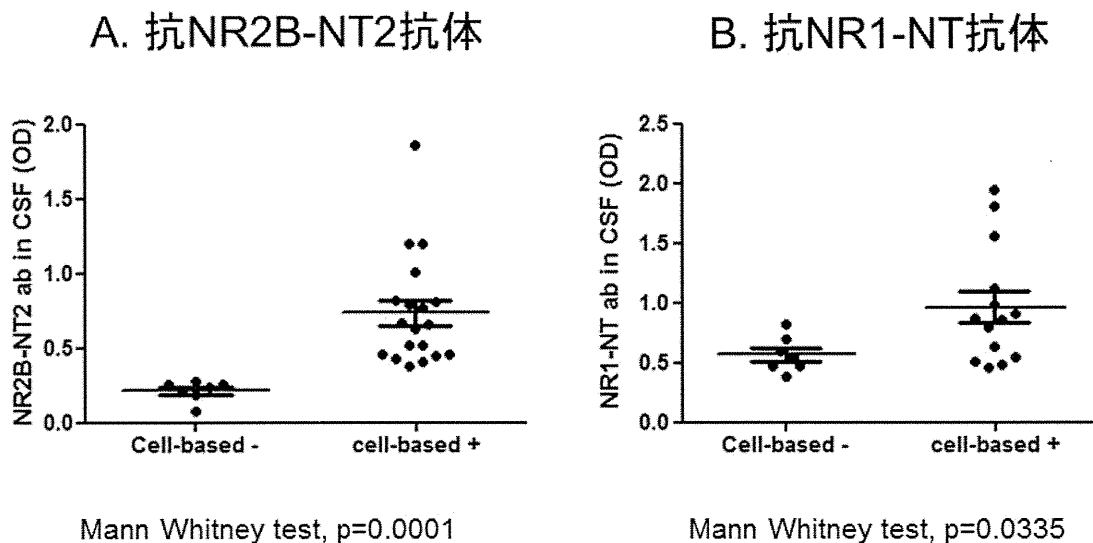


図 5. Cell-based assay と ELISA による髄液抗 NMDA 型 GluR 抗体の比較

G. NHALE と抗 GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体、抗 GluR ϵ 2 (NR2B) 抗体 (ELISA 法)

ELISA による抗 NMDA 型 GluR 抗体の半定量では、髄液抗 NR2B 抗体が N 末ドメイン、M3-4 間ドメイン、C 末ドメインに対するエピトープを有し、幅広い領域に対して抗体が産生されていることが判明した (図 6-A)。髄液抗 NR2B 抗体は発病から 40 日ほど経過すると低下する経過が推定された (図 6-B)。髄液抗 NR1 抗体も N 末ドメイン、C 末ドメインに対するエピトープを有し、幅広い領域に対して抗体が産生されていた (図 6-C)。発病初期抗体値は分布が広く、この抗体が関与していない症例も含まれていることを示唆し、40 日ほど経過すると低下する経過が推定された (図 6-D)。

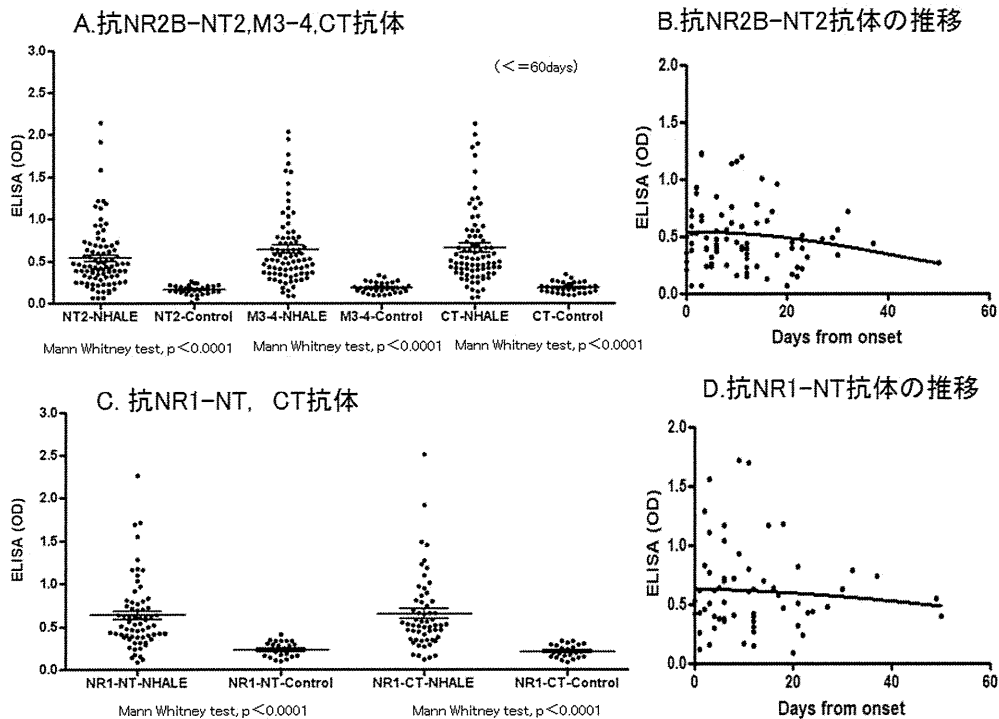


図 6. 髄液抗 NMDA 型 GluR 抗体 (ELISA) のエピトープと推移

H. 抗 NMDA 型 GluR 抗体の病態意義

Dalmau らは、患者血清中の NMDA 型 GluR 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た (図 7)。抗体による internalization は、NMDA 型 GluR の拮抗作用 = 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辺縁系症状に関連している可能性がある。我々の研究グループの Takano らはこの NMDA 型 GluR 内在化が温度感受性を有することを見出している (Takano, Mori, Takahashi, et al., *Neurosci Res*, 2011 Nov;71(3):294-302)。 (図 8)

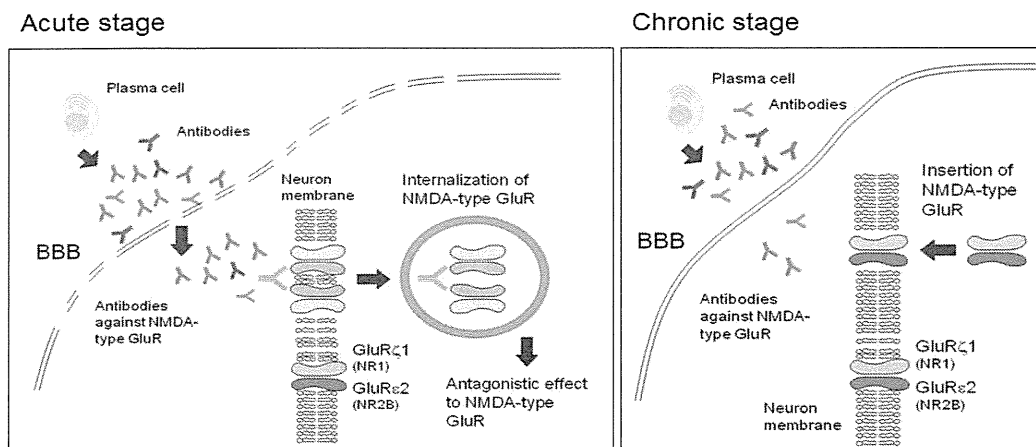
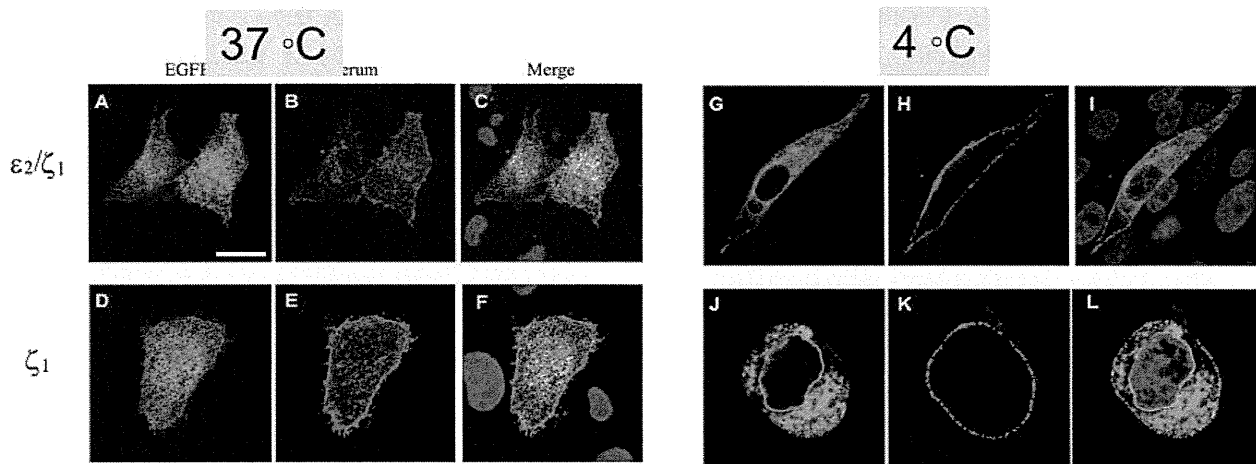


図 7. 抗 NMDA 型 GluR 抗体と非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態仮説



The $\epsilon 2/\zeta 1$ - (A-C and G-I) and $\zeta 1$ - (D-F and J-L) subunit-transfected CHO cells were incubated with patients' serum (1:200) at 37 °C (A-H) or at 4 °C (G-L) for 1h, then fixed and observed by confocal laser microscopy. The fluorescence signal of EGFP (green, A, D, G and J), and the immunofluorescence signals of the antibody in the serum (magenta, B, E, H and K) samples from patients were detected and merged with the signal of DAPI (blue, C, F, I and L). Scale bars: 25 μ m (for interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of the article).

図 8. 抗 NMDA 型 GluR 抗体とによる温度依存性内在化 Takano, Mori, Takahashi, et al., *Neurosci Res*, 2011 Nov;71 (3) :294-302。

I. まとめと考察

血液中にできた抗 GluR $\epsilon 2$ 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、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の濃度が低下、症状回復する可能性を考えている。髄液抗 GluR $\epsilon 2$ 抗体は NHALE の診断マーカーではなく、Rasmussen 症候群などの自己免疫が関与する疾患でも検出され、GluR 自己免疫の関与を示唆する病態マーカーである。抗 NMDA 型 GluR 複合体抗体 (Dalmau 抗体) についても、急性辺縁系脳炎以外に、てんかん、クロイツフェルト・ヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob disease: CJD) などで見つかるようになっている。

参考文献：

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. Dalmau J, et al., Paraneoplastic Anti-N-methyl-D-aspartate Receptor Encephalitis Associated with Ovarian teratoma, *Ann Neurol* 2007; 61: 25-36. (NHALE-OT での Dalmau の抗 NMDA 受容体複合体抗体)
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 $\epsilon 2$ 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)