

抗NMDAR複合体抗体の測定とGluR基礎研究

分担研究者 森 寿¹

富山大学大学院医学薬学研究部分子神経科学講座 教授

研究要旨

変異型NMDA受容体安定発現細胞を用いて、急性脳炎・脳症患者血清中に存在する抗NMDA受容体自己抗体の定量解析を実施した。更に、より簡便で定量的な自己抗体スクリーニング系の開発を目指し、浮遊性培養細胞での変異型NMDA受容体、デルタ型グルタミン酸受容体の発現を試みた。

研究協力者：宮 一志²、田村 賢太郎³、（1 富山大学大学院医学薬学研究部分子神経科学講座、2 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座・助教、3 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座・医員）

A．研究目的

急性辺縁系脳炎の病態に関わると考えられる抗NMDA受容体（NMDAR）自己抗体を、既に確立した培養細胞アッセイ系を用いて定量解析する。また、病態機構解明のために、NMDARならびにデルタ型グルタミン酸受容体（GluR）発現浮遊培養細胞を用いたスクリーニング系を確立して、より簡便な抗体測定系を構築することを目的に研究を行った。

B．研究方法

既に報告した、変異型NMDAR（GluR 2N/R-DsRed と GluR 1N/R-EGFP）を安定的に発現するHEK293細胞株を用いた免疫細胞化学法ならびにOn-cell Western法にて、本邦の症例、大分大学と共同したアジア地域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、さらに、イスラエル、ヘブライ大学との共同研究で、NMDAR機能低下が示唆される統合失調症患者の血清を用いた抗NMDAR抗体の計測を実施した。また、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、細胞株樹立を試みた。

（倫理面への配慮）

本研究には遺伝子組換え実験が含まれるので、本学の組換えDNA実験安全委員会に研究申請を行い、第二種使用等拡散防止措置の確認を受けて構築した発現ベクターを用いて研究を実施した。

また、使用した患者血清は、本学倫理委員会ならびに、国立静岡てんかん・神経医療センター等における倫理委員会で承認を受けたものを使用した。

C．研究結果

培養細胞株を用いた自己抗体測定系で、本邦のいくつかの症例で抗NMDAR自己抗体を検出した。また、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自己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。イスラエルの統合失調症患者では、1名で抗NMDAR抗体を検出した。浮遊性293F細胞株を用いた安定発現株の作製では、デルタ型GluRの安定発現細胞株を得た。

D．考察

アジア地域での原因不明脳炎では、抗NMDAR自己抗体がほとんど検出されなかったことから、今後は、患者の臨床情報を十分に吟味する必要が示唆された。一方、統合失調症の一部には抗NMDAR抗体が関与する可能性が示された。この抗体の作用を明らかにすることで、脳炎と統合失調症で観察される精神症状機構の理解につながる可能性がある。また、デルタ型GluRの安定発現細胞株を用いて自己抗体を計測し、抗体の作用機構をあきらかにすることで、小脳が関わる運動障害の病態過程の診断と発症機構の解明に資すると考えられる。

E. 結論

培養細胞による自己抗体定量測定系は、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態診断さらには、一部の統合失調症の発症機構の解明に資する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Perera HK, Matsumoto T, Dassanayake M, Mitui MT, Mori H, Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K. Human bocavirus in patients with encephalitis, Sri Lanka, 2009-2010. *Emerg Infect Dis.* 2013 Nov;19(11):1859-62.
- Horio M, Ishima T, Fujita Y, Inoue R, Mori H, Hashimoto K. Decreased levels of free D-aspartic acid in the forebrain of serine racemase (Srr) knock-out mice. *Neurochem Int.* 2013 May;62(6):843-7.
- Horio M, Mori H, Hashimoto K. Is D-cycloserine a prodrug for D-serine in the brain? *Biol Psychiatry.* 2013 Jun 15;73(12):e33-4.
- Hata Y, Mori H., Tanaka A., Fujita Y., Shimomura T., Tabata T., Kinoshita K., Yamaguchi Y., Ichida F., Kominato Y., Ikeda N., Nishida, N. Identification and characterization of a novel genetic mutation with prolonged QT syndrome in an unexplained postoperative death. *Int. J. Legal Med.* 128: 105-115, 2014.
- Inoue, R., Yoshihisa, Y., Tojo, Y., Okamura, C., Yoshida, Y., Kishimoto, J., Luan, X., Watanabe, M., Mizuguchi, M., Nabeshima, Y., Hamase, K., Matsunaga, K., Shimizu, T.,

Mori, H. Localization of serine racemase and its role in the skin. *Journal of Investigative Dermatology* In press.

- Miya, K., Takahashi, Y., Mori, H. Anti-NMDAR autoimmune encephalitis. *Brain & Development. Review.* in press.

2. 学会発表

- Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Matsumoto T, Mitui MT, Mori H, Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K. Bocavirus encephalitis in Sri Lankan children and adults: The 28th International Congress of Chemotherapy and Infection; 2013 Jun 5-8, Yokohama
- 宮一志, 田中朋美, 宮脇利男, 高橋幸利, 森寿. 培養細胞を用いた NMDA 型グルタミン酸受容体に対する自己抗体測定の検討; 第 55 回日本小児神経学会学術集会; 2013 May 31; 大分.
- 田端彩子, 森寿, 井上蘭. セリンラセマーゼノックアウトマウスでの炎症性疼痛感受性の上昇; Neuro2013; 2013 Jun 21; 京都
- 堀尾茉央, 石間環, 藤田有子, 井上蘭, 森寿, 橋本謙二. セリンラセマーゼ遺伝子欠損マウス脳における D-アスパラギン酸濃度の低下; 第 9 回 D-アミノ酸研究会学術講演会; 2013 Sep 5; 大阪.
- 井上蘭, 吉久陽子, 東條洋介, 岡村智恵子, 吉田雄三, 岸本治朗, Luan Xinghua, 渡辺雅彦, 水口峰之, 鍋島裕子, 浜瀬健司, 松永憲治, 清水忠道, 森寿. 皮膚におけるセリンラセマーゼの発現および機能解析; 第 9 回 D-アミノ酸研究会学術講演会; 2013 Sep 5; 大阪.

3. 書籍の刊行

- 井上蘭, 森寿. *Clinical Neuroscience.* Vol.31; 中外医学社; 2013. 海馬における D-セリンの役割: p1409-10.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得、出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし