

を検討した。2013年度は非傍腫瘍性NHALE42例を対象とし、一般臨床検査値の検討を行った。感染症対照は、てんかん患者で感染症状を呈した年齢・性をNPNHALEに合わせた42例、対照は年齢・性を合わせた感染のないてんかん小児と健康成人42例を用いた（高橋）。

10. NHALE先行症状期における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（GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体）等を測定する（高橋）。

11. 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NMDA型GluR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）。

12. NMDA型GluR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

NHALEの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Akt濃度およびリン酸化Akt（pAkt）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分画の神経細胞への影響を評価した（高橋）。

13. NHALE患者髄液のGluN2B-NT2抗体 IgGサブクラスの検討

ELISA法でGluN2B-NT2抗体のIgGサブクラスを測定する系を確立し、髄液GluN2B-NT2抗体陽性の217例の非傍腫瘍性NHALEから、免疫治療前の髄液が十分保存されていた22例の髄液と、疾病対照17例の髄液を検討した（高橋）。

14. 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（GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体）等を測定する（高橋）。

15. 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（GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体）等を測定する（高橋）。

16. 免疫調節遺伝子（*Foxp3*, *CTLA-4*, *PDCD-1*, *T-bet*）の発現検討

NHALE患者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*, *CTLA-4*; *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）。

17. 免疫調節遺伝子（*Foxp3*, *CTLA-4*, *PDCD-1*, *T-bet*）のSNP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)にてリファ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データと比較する(高橋)。

18. 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、NMDA型GluR (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)。

19. 統合失調症患者の血清を用いた抗NMDAR抗体の計測

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

(森)。

20. NHALE急性期の抗体産生に関わるNMDA型GluR抗原の検討

NHALE急性期のNMDA型GluR抗体産生の抗原刺激となるNMDA型GluR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(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. イオンチャネル型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	ラスマ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
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
2012-5	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
2013-1	自己免疫介在神経疾患の免疫調節関連遺伝子の解析201304	2013年4月26日
2013-2	自己免疫介在性神経疾患に関する研究-対照症例について	2013年4月26日
2013-27	自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究2013	2014年1月24日
2013-29	自己免疫介在性神経疾患に関する研究-対照調査研究について	2014年1月24日

C. 研究結果

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

2012年-2013年の集積数は、NHAE (148例/年)、卵巣奇形腫合併脳炎 (18例/年)、痙攣重積型脳炎 (38例/年)、その他の急性脳炎 (69例/年)、局在関連性てんかん (153例/年) など、合計724例/年であった (表4)。

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

2013年3月に、NMDA型GluR構造とGluN2B (GluR ϵ 2) 抗体の項などに最近の知見を加え、ホームページの診断スキーム

(<http://www.shizuokamind.org/images/stories/pdf/06-1-2-15.pdf>) を更新した。2014年度は、スキームを見直すべく検討中である (高橋、森、西田)。

3. NHAE患者にみられる既往歴の検討

傍腫瘍性NHAE患者107名中に、産婦人科関連既往症が9名 (8%)、精神障害関連が5名 (5%)、脳炎・髄膜炎が4名 (4%)、てんかんが3名 (3%) 見られた。産婦人科関連の内訳は、妊娠中・出産直後・帝王切開4名、卵管手術2名、子宮頸癌1名、子宮筋腫手術1名、不妊治療1名だった。精神障害関連既往症の内訳は、気分障害3名、不安障害1名、摂食障害1名だった (西田)。

4. NHAE患者の前駆期自己免疫状況の検討

2013年度は207例全例にアンケート調査を送付したが、前駆期の保存検体の存在は確認できなかった。

NHAE発病前に献血のある9症例より、献血保存検体を使用する同意を得た。しかし、日赤血液センターからは、保存血使用の公募研究は承認されず、保留となっている。日赤での許可が出次第、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 (GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体) 等を測定する (高橋)。

5. NHAE前駆期の可能性のある精神・神経症状を有する若年者の検討：精神疾患

対象患者23名の血清中、GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体

のいずれかが対照血清と比較して平均+2SD以上の高値を示したのは3名 (13%) (高抗体価群) だった。高抗体価群 (3名) と正常抗体価群 (20名) の臨床特徴を比較すると、脳炎の既往は、高抗体価群は0名、正常抗体価群は4名だった。外傷、脳腫瘍、脳外科手術などの既往は、高抗体価群は0名、正常抗体価群は5名だった。てんかん精神病のタイプは、高抗体価群は発作間欠期精神病3名、正常抗体価群は発作間欠期精神病14名、発作後精神病6名だった。精神病発症から検査時までの期間は、高抗体価群は平均7か月 (6~9か月) に対し、正常抗体価群は平均7年 (1か月~24年) だった (西田)。

6. NHAE前駆期の可能性のある精神・神経症状を有する若年者の検討：甲状腺自己免疫疾患

抗甲状腺抗体陽性で精神症状のあるNMDA型GluR抗体陽性6例と陰性6例を比較した。2群の臨床背景として、年齢、罹病期間、MMSEの値に違いはなかった。精神神経学的症状では、抗体陽性群で感情不安定 ($p=0.030$) が多く、幻覚 ($p=0.038$)、妄想 ($p=0.001$) が少なかった (千葉、高橋)。

7. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布と推移

0-20歳の非炎症性の病因のてんかん症例と、静岡てんかん・神経医療センター職員の血清を用いて、健常者の自己抗体 (GluN2B, GluN1, GluD2) を検討した。女性では30-40歳にピークとなる回帰曲線分布が見られ、20-40歳には回帰曲線からかなり外れた高い値をとる群が存在した (図3)。男性では50-60歳にピークとなる回帰直線分布が見られ、GluN2B-NT2抗体とGluN1-NT抗体では40-60歳には回帰直線からかなり外れた高い値をとる群が存在した。今後、自己抗体の値と一般臨床検査値との関連を検討する (高橋)。

8. NMDA型GluR抗体のPassive transfer-行動解析

開始後22日に脳を摘出し、病理組織学的検査を実施したところ、組織学的検討でウサギGluN2B-NT2抗体は全例、海馬に投与されていることが判明した。行動観察では、ウサギ

GluN2B-NT2抗体群で有意な変化が見いだされ、検討中である。病理組織学的検査ではHE染色の結果、投与部位、海馬領域及び脳室への炎症細胞浸潤が生理食塩液群とウサギGluN2B-NT2抗体群でほぼ同程度に認められた。また、抗ウサギIgG抗体によるGluN2B-NT2免疫染色では、大脳辺縁系にウサギGluN2B-NT2抗体の集積は認められなかった。

9. NHALE患者にみられる先行症状期の一般マーカーの検討

RBC数は、感染症対照 ($p < 0.03$)、対照 ($p < 0.05$) に比べて有意に高値であったが、発病前の日数とは明らかな関係は認めなかった。リンパ球数は感染症対照 ($p < 0.01$)、対照 ($p < 0.01$) に比べて有意に低値で、発病日に向けて低下する傾向を認めた。血小板数は感染対照 ($p < 0.05$) や対照 ($p < 0.01$) より有意に低値であった。アルブミン濃度は感染症対照と比べて有意差がなかったが、対照 ($p = 0.01$) より有意に低値で、発病日に向けて低下する傾向を認めた。CRPは、発病日に向けて増加する傾向を認め、対照 ($p < 0.02$) より有意に高値であったが、感染症対照 ($p < 0.01$) より有意に低かった。IgG ($p < 0.02$)、IgM ($p < 0.01$) は対照より有意に高値であったが、感染症対照とは有意差がなかった。IgAは感染症対照 ($p < 0.03$) や対照 ($p < 0.01$) より有意に高値であったが、発病日との明らかな関係は認めなかった (高橋)。

10. NHALE先行症状期における免疫マーカーの検討

先行症状期の保存検体の収集は、後方視的、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)。

11. 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

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 (森)。

12. NMDA型GluR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

NHALE-total CSFを加えた場合のLDH濃度比 (検体/同時測定対照) は、10DIVにおいて7DIVより有意に高値であった (Mann Whitney test, $p = 0.0393$)。Total Akt濃度比 (検体/同時測定対照) は、有意差は見られなかった。

NHALE-total CSFを加えた場合の7DIVのp-Akt濃度比 (検体/同時測定対照) は、7DIVのNHALE-CSF-IgGを加えた場合 ($p = 0.0312$) 及び10DIVのNHALE-total CSFを加えた場合

($p < 0.0001$) より有意に高値であった。p-Akt/total Akt比は、7DIVのNHALE-total CSFを加えた場合が、7DIVのNHALE-CSF-IgG ($p = 0.0337$) 及び10DIVのNHALE-total CSF ($p < 0.0001$) より有意に高値であった (高橋)。

13. NHALE患者髄液のGluN2B-NT2抗体 IgGサブクラスの検討

非傍腫瘍性NHALE髄液では、IgG 1-4すべてのサブクラスが疾病対照髄液に比べて有意に高値であった。脳炎発病後の経過で見ると、発病から10-15病日にかけてIgG1、IgG3のサブクラスが高値となる検体が増加、IgG4サブクラスは徐々に低値の検体が増加した。IgG1サブクラスは急性期入院日数 ($p = 0.03$)、てんかん発作予後 ($p = 0.01$)、認知機能予後 ($p = 0.04$) と直線的回帰が認められ、相関関係が認められた。IgG3サブクラスは、Barthel score ($p < 0.01$)、てんかん発作予後 ($p < 0.01$)、認知機能予後 ($p < 0.01$)、運動機能予後 ($p < 0.01$) と直線的回帰が認められ、相関した (高橋)。

14. 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

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 (GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体)等を測定中である (高橋)。

15. 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

疾病対照として、てんかん患者の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 (GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体)等を測定中である (高橋)。

16. 免疫調節遺伝子 (*Foxp3*, *CTLA-4*, *PDCD-1*, *T-bet*) の発現検討

NHALE患者の免疫調節遺伝子 (*forkhead box P3*, *Foxp3*; *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*, *CTLA-4*; *programmed cell death-1*, *PDCD-1*;

T-bet) の発現を検討している (高橋)。

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

NHALE患者の免疫調節遺伝子 (*forkhead box P3*, *Foxp3*; *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*, *CTLA-4*; *programmed cell death-1*, *PDCD-1*; *T-bet*) の両鎖ダイレクトシーケンスを行い、検体を蓄積中である (高橋)。

18. 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 (森)。

19. 統合失調症患者の血清を用いた抗NMDAR抗体の計測

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 (森)。

20. NHALE急性期の抗体産生に関わるNMDA型GluR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	201211-201310
非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	136	141	148
卵巣奇形腫合併脳炎	20	14	18
痙攣重積型脳炎	44	37	38
脳幹脳炎	1	6	5
その他の急性脳炎	72	67	69
CNS ループス	6	11	8
橋本脳症	4	13	9
ADEM	7	7	4
再発性脳炎	19	29	37
亜急性脳炎	49	46	54
傍腫瘍性脳炎	7	2	8
ALS	10	7	0
CJD	17	7	6
精神疾患	26	29	51
Rasmussen 症候群	28	24	13
局在関連性てんかん	100	101	153
West 症候群	7	6	9
症候性全般てんかん	11	9	11
小脳炎	44	31	27
不随意運動	7	8	3
その他	63	79	53
合計	678	674	724

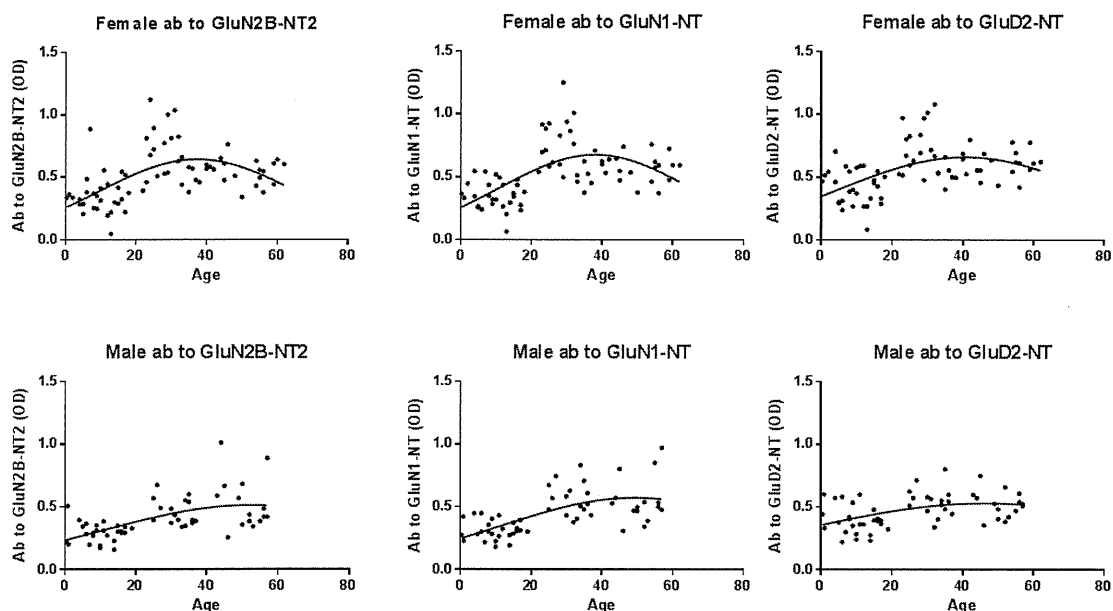


図3. 対照血清の年齢・性別GluR抗体値

D. 考察

前駆期研究のまとめと今後の戦略

前駆期に対するアプローチの中で、患者既往歴についての検討は順調に進んでいて、NHALEの10%程度の症例に、前駆期症状と推定できる既往歴があった。しかし、前駆期の保存血清の入手が困難で、その時期の免疫マーカーの解析はすぐにはできないことが判明した。そこで、方針を大きく変えることとし、NMDA型GluR抗体をマウスにpassive transferすることで、行動変化、分子生化学的変化をとらえる動物モデルを構築し、前駆期病態を検討することにし、現在進捗している。

2013年度研究で、正常対照の中に血清NMDA型GluR抗体が著しく高値の群が見つかり、その群の年齢・性がNHALEの好発年齢である若年女性に一致した。この高値群が前駆期症状を有しているかどうかを検討し、前駆期の研究につなげたい。

1. NHALE患者にみられる既往歴の検討

2012年度研究で、非傍腫瘍性の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、2013年度研究では傍腫瘍性NHALE患者の5%で精神障害関連の既往が見られ、4%

に脳炎・髄膜炎、3%にてんかんの既往がそれぞれみられた。傍腫瘍性NHALEも非傍腫瘍性NHALEでもNMDA型GluR抗体が発病前から存在し、前駆期症状として精神障害を含む神経症状をもたらしている可能性がある。NMDA型GluR抗体はNMDA型GluRを内在化して拮抗作用を示すとされているが、NMDA型GluR拮抗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る。

傍腫瘍性NHALEの急性期の髄液NMDA型GluR抗体の値は、非傍腫瘍性NHALEより高値のことが多く、前駆期からNMDA型GluR抗体が高値のために、非傍腫瘍性NHALEに比べてより強い前駆期症状である髄膜炎やてんかんが起こる可能性がある。

2. てんかん精神病患者の検討

てんかん精神病患者23名中3名が血清GluR抗体高値を示し、発作間欠期精神病の病像を示し、発病から検査までの期間が1年以内と短かった。てんかん精神病の一部で急性期から亜急性期

において、NMDA型GluR抗体がその病態に関与している可能性が考えられ、前駆期症状となる可能性がある。

3. NMDA型GluR抗体のPassive transfer-行動解析

ウサギにGluN2B-NT2ペプチドを用いて免疫して作成したポリクローナルIgG抗体（ウサギGluN2B-NT2抗体）を用い、マウスにpassive transferすることで、行動変化、分子生化学的变化をとらえる動物モデルを構築してきている。このモデルを用いて、NMDA型GluR抗体単独での作用を見ていく予定である。

田中らは、脳炎患者髄液そのものをマウスに投与し、致命的な結果を報告している（抗NMDA受容体脳炎患者髄液を用いた動物モデルの作成と病態の解析、田中恵子、他、日本神経免疫学会、2013年11月27-29日、下関）。一方、患者髄液IgG分画では変化がなかったとしている。我々のこれまでの研究では、患者髄液の中のIgG分画以外の成分が培養神経細胞にアポトーシスをもたらすこと（参照1）、髄液中のgranzyme Bが高値で、細胞傷害性T細胞が関与する症例があることが分かっている（参照2）。このようにNHLEの髄液は、NMDA型GluR抗体のみならず、異なる免疫病態を担う複雑な成分を含むと推定され、NMDA型GluR抗体のみの作用は、passive transferモデルで、量的な要素を含めて検討する必要があると考えている。

4. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布と推移

0-20歳の非炎症性の病因のてんかん症例と、静岡てんかん・神経医療センター職員の血清を用いた健常者のGluN2B-NT2抗体等の検討で、NHLE後発年齢帯の20-40歳の女性にNMDA型GluR抗体が著しく高い群が認められたことは、NHLEの発病前にNMDA型GluR抗体が著しく高い前駆期が存在することを示唆すると考える。今後、20-40歳の女性でNMDA型GluR抗体が著しく高い群について、健康調査を行い前駆期症状の有無を検討したい。

先行症状期研究のまとめと今後の戦略

2012年度の先行症状期の臨床症状研究では、NHLE207例中78%に先行症状を認め、感染病原体が確定される症例は14%と少なく、発熱、頭痛といった非特異的な症状が多いこと、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ことが分かった。2013年度の傍腫瘍性NHLEの既往歴調査で4%に脳炎・髄膜炎があったことと合わせると、前駆期から髄膜炎を発症してNHLEの先行症状期に至り、その後NHLE発病期に至るという我々の仮説が支持される。

2013年度の先行症状期の一般臨床検査値の検討では、リンパ球、血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的低値が特徴として見られ、早期診断に繋がる可能性があることが分かった。発熱、頭痛といった非特異的な症状の症例で、リンパ球、血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的低値がある場合位には、積極的に髄液一般検査、髄液NMDA型GluR抗体測定を行い、早期診断につながる可能性がある。

一般検査で分かったリンパ球・血小板の減少は、リンパ球・血小板からのNMDA型GluR放出を示唆し、抗原となってNMDA型GluR抗体のブースターをもたらししている可能性が強く、抗原供給の観点から発病予防につながる治療があるか？今後検討したい。

発病期研究のまとめと今後の戦略

NMDA型GluR抗体陽性NHLE患者髄液による培養ラット胎児神経細胞への影響をin vitroでみる研究から、NHLEの髄液の中のIgG分画はシナプス外NMDA型GluR複合体の内在化を起しアポトーシスを抑制するが、シナプスNMDA型GluR複合体の内在化を起さないため、シナプス機能への影響が少ない可能性が示唆され、IgG分画は脳に対して強い傷害を起しにくいと、現段階では推測している。一方、IgG以外の髄液成分、例えばgranzyme Bなどはアポトーシスを誘導し、NHLEの中樞神経傷害をもたらししており、対策が必要である。NHLEの髄液成分はNMDA型GluR抗体のみならず、補体、granzyme Bなど複数の因子が病態に影響している、複雑な病態を形成しているものと思われる（図4）。

発病期のNMDA型GluR抗体ブースターのメカ

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。

1. NMDA型GluR抗体のシナプス外NMDA型GluRに対する作用の検討

NMDA型GluR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はシナプス外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。

2. NMDA型GluR抗体のシナプスNMDA型GluRに対する作用の検討

2012年度の培養ラット胎児神経細胞にNMDA型GluR抗体陽性NHALE患者髄液あるいは患者髄液IgG分画を加え、培養細胞の総cAMP-Responsive-Element-Binding protein (tCREB) 濃度およびリン酸化CREB (pCREB) 濃度の変化を見る研究で、NHALE髄液IgGは、培養上清のLDHを増加させず、CREBリン酸化を促進しており、シナプス結合蛋白にアンカーされたNMDA型GluR複合体の内在化を起さない可能性が示唆された(参照2)。

2013年度の培養ラット胎児神経細胞にNMDA型GluR抗体陽性NHALE患者髄液あるいは患者髄液IgG分画を加え、培養細胞の総Akt濃度およびリン酸化Akt濃度の変化を見る研究で、NHALE髄液 (IgG及びIgG以外の成分) は、対照髄液に比べてAktリン酸化に特異的な影響はなかった。NMDA型GluR抗体はシナプス外NMDA型GluR複合体の内在化を起すが、シナプスのNMDA型GluR複合体内在化が顕著でないために、Aktリン酸化に特異的な影響はないものと推測した。

CREBおよびAktの検討から、NMDA型GluR抗体はシナプス外NMDA型GluR複合体の内在化を起すが、シナプス結合蛋白にアンカーされたシナプスNMDA型GluR複合体の内在化は起さない(起こしても軽度)ことが推定され、そのために急性期の意識障害がせん妄程度と軽い

場合があるのではないかと、また、比較的早期に回復する症例があるのではないかと、推測している。

3. NHALE患者髄液のGluN2B-NT2抗体 IgGサブクラスの検討

非傍腫瘍性NHALEでは、髄液GluN2B-NT2抗体はすべてのIgGサブクラスが増加し、遅れて上昇すると思われるIgG3、IgG1サブクラス抗体と関連すると補体介在性の神経障害が、NPNHALEの重症度、予後を規定している可能性がある。

4. NMDA型GluR抗体以外の髄液成分のNHALEにおける役割

2012年度のNHALEのgranzyme Bの検討では、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(参照2) (図4)。

髄液granzyme B濃度の高い群で髄液NMDA型GluR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NMDA型GluR抗体が産生されている可能性が示唆された。このNMDA型GluR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、NMDA型GluR抗体を標的とした治療が、予後を改善している可能性がある。

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

2012年度に、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±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

液で土であったが、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。

2. 自己抗体測定系の改良

E. 結論

前駆期に対する研究アプローチの中で、NHLEの10%程度の症例に、前駆期症状と推定できる既往歴があり、20-40歳の女性正常対照の中に血清NMDA型GluR抗体が著しく高値の群が見つかり、NMDA型GluR抗体高値の前駆期が存在するものと確信してきた。今後は、NMDA型GluR抗体をマウスにpassive transferする動物モデルを確立し、前駆期病態を免疫分子学的に検討したい。

先行症状期の研究では、発熱、頭痛といった非特異的な症状が多いこと、脳炎症状出現前に

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、ビーズ法による抗体測定系確立の検討を行っていく。

3. 自己免疫介在性脳炎・脳症の診断スキームの作成

2013年3月、「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3)。今後さらに病態等の知見を加えていく予定である。

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こと、一般検査ではリンパ球・血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的低値が特徴として見られ、早期診断に繋がる可能性があることが分かった。リンパ球・血小板からのNMDA型GluR放出がNMDA型GluR抗体のプロースターをもたらしている可能性が強く、今後は、NMDA型GluR抗体をマウスにpassive transferする動物モデルを確立し、前駆期から先行症状期への移行のメカニズムも明らかにしたい。

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

平成25年10月9日、NMDAR抗体IgGサブクラス測定法の開発、発明者：高橋幸利、西村成子⇒特願2013-211813、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

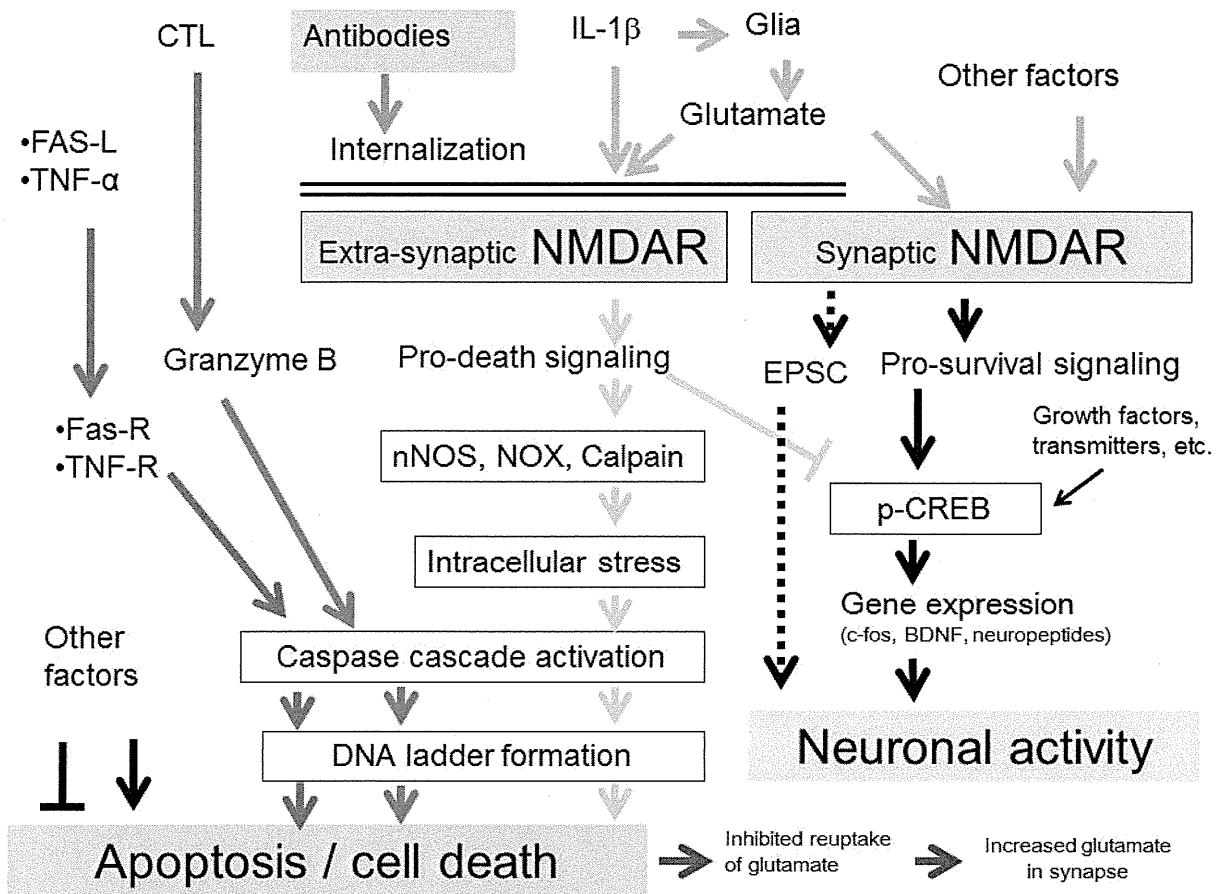


図4. NHALEの病態仮説

参照 4

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。

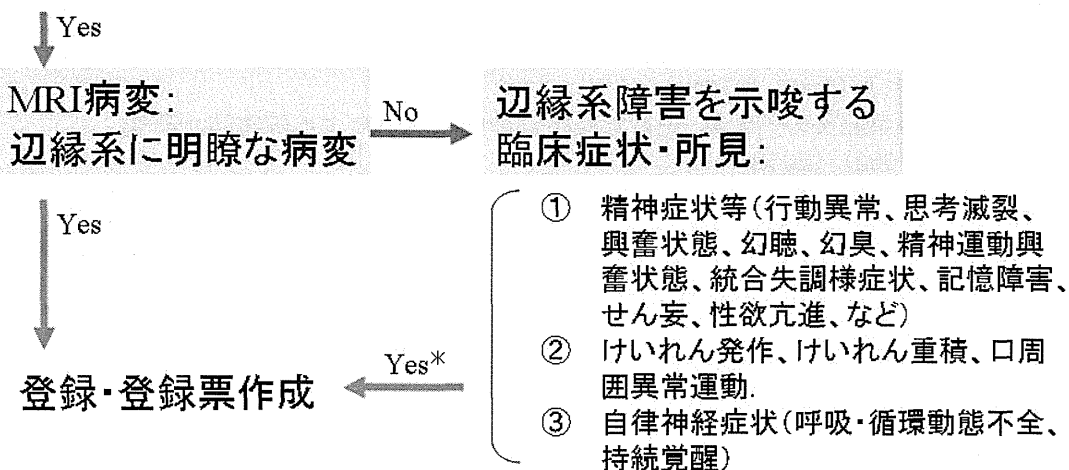
この診断スキームでは、自己免疫介在性脳炎・脳症の正確な診断法、より良い治療法を早期に確立するために、現時点で必要かつ可能と思われる検査およびその所見についてまとめた。

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。



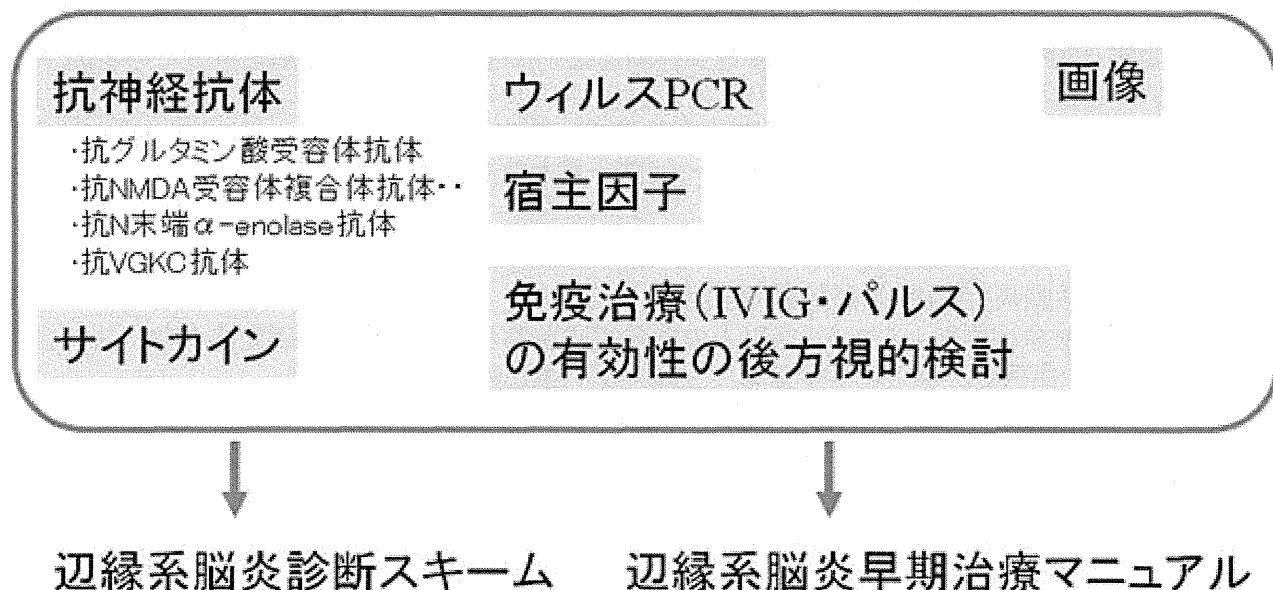
* ①-③から総合的に辺縁系脳炎が疑われる

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ウイルス直接侵襲性(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GluR ϵ 2抗体・抗GluR δ 2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 GluR ϵ 2 (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GluR ϵ 2(NR2B)分子のN末(細胞外ドメイン)をエピトープとする抗GluR ϵ 2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.

<NHLE と抗 GluR2 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. (イムノブ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GluR2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-GluR $\epsilon 2$ 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 GluR $\epsilon 2$ 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。

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。
- B) 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)
- C) 生物学的な特徴
 - 抗 GluR ϵ 2 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 (GluR ϵ 2・GluR δ 2) 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)