

表1. 脳病理組織学的検査

	Saline					Normal rabbit serum protein A fraction					GluN2B-NT2-immunized rabbit protein A fraction				
	1101	1102	1103	1104	1108	1202	1203	1204	1205	1207	1301	1302	1303	1304	1305
Injection site: Inflammatory cell infiltration	1	1	1	1	/	0	2	2	1	2	1	1	1	1	1
Hippocampus: Perivascular inflammatory cell infiltration	0	1	0	0	/	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
Lateral ventricle: Inflammatory cell infiltration	1	1	1	1	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	2
Leptomeninx: Inflammatory cell infiltration	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Immunostaining of rabbit IgG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

22日:各群の代表5例について評価した。

表2. 有意差検定で発現量低下の見られた遺伝子(T-test)

Description	Gene symbol	蛋白機能
Musculus N-ethylmaleimide sensitive fusion protein attachment protein alpha (Napa), mRNA [NM_025898]	Napa	シナプス放出系のタンパク、 α -SNAP: N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein, alpha, also known as NAPA or alpha-SNAP
Musculus synaptic vesicle glycoprotein 2c (Sv2c), mRNA [NM_029210]	Sv2c	線条体などで発現するシナプス小胞タンパク
Musculus peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase (Pam), mRNA [NM_013626]	Pam	Pam (Protein associated with Myc), TSC2と反応する酵素
lincRNA:chr5:137411861-137413010 forward strand		
Musculus family with sequence similarity 53, member B (Fam53b), mRNA [NM_212473]	Fam53b	needed for cell proliferation and that it is probably associated with the maintenance of a pluripotent state.

表3. 有意差検定で発現量増加の見られた遺伝子 (T-test)

Description	Gene symbol	蛋白機能
Mus musculus trafficking protein particle complex 2 (Trappc2), mRNA [NM_025432]	Trappc2	Spondyloepiphyseal dysplasia (SED) の原因遺伝子、role in endoplasmic reticulum-to-Golgi vesicular transport
Mus musculus phosphodiesterase 5A, cGMP-specific (Pde5a), mRNA [NM_153422]	Pde5a	PDE5A metabolically inactivates the intracellular second messenger cGMP. PDE5A is most highly expressed in smooth muscle, notably in the vasculature .
CWC22 spliceosome-associated protein homolog (S. cerevisiae)	Cwc22	hCWC22 is required for mRNA splicing
Mus musculus nephrosis 2 homolog, podocin (human) (Nphs2), mRNA [NM_130456]	Nphs2	Neph proteins are expressed in the developing nervous system of mammals and suggest that these proteins may have a conserved function in synapse formation or neurogenesis .
Mus musculus trafficking protein particle complex 2 (Trappc2), mRNA [NM_025432]	Trappc2	Spondyloepiphyseal dysplasia (SED) の原因遺伝子、role in endoplasmic reticulum-to-Golgi vesicular transport
Mus musculus MORN repeat containing 2 (Morn2), mRNA [NM_194269]	Morn2	
PREDICTED: Mus musculus N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase-like 2, transcript variant 2 (Naaladl2)	Naaladl2	N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase is a membrane-bound brain peptidase which cleaves the neuropeptide N-acetyl-aspartyl-glutamate to N-acetyl-aspartate and glutamate.
Mus musculus forkhead box J1 (Foxj1)	Foxj1	自己免疫抑制遺伝子
Mus musculus 16 days embryo lung cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:8430411H10 product:gross passage A viral integration region 1, full insert sequence. [AK018404]	Gin1	
Mus musculus osteoglycin (Ogn),	Ogn	OG was associated with the vasculature of all the organs analyzed
PREDICTED: Mus musculus predicted gene 6280 (Gm6280), mRNA [XM_886462]	Gm6280	

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態解明：NMDA型GluR抗体のAktに対する影響の検討

研究代表者 高橋 幸利^{1, 2, 3}

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター副院長

研究要旨

【目的】非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（NHALE）の病態に重要な役割を果たすNMDA型GluR抗体の生物学的機能を明らかにする。

【方法】培養ラット胎児神経細胞にNMDA型GluR抗体陽性NHALE患者の髄液あるいは髄液IgG分画を加え、培養上清のLDH濃度、培養細胞の総Akt（tAkt）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によって影響を評価した。

【結果】tAkt濃度：tAkt濃度比（検体/同時測定対照）には、有意差は見られなかった。pAkt濃度：pAkt濃度比（検体/同時測定対照）は、7DIVのNHALE-total CSF（ 1.06 ± 0.15 , $n=16$ ）が、7DIVのNHALE-CSF-IgG（ 0.97 ± 0.09 , $n=14$ ）（Mann Whitney test, $p=0.0312$ ）及び10DIVのNHALE-total CSF（ 0.78 ± 0.15 , $n=12$ ）（Mann Whitney test, $p<0.0001$ ）より有意に高値であった。p-Akt/tAkt比は、7DIVのNHALE-total CSF（ 1.06 ± 0.15 , $n=16$ ）が、7DIVのNHALE-CSF-IgG（ 0.97 ± 0.10 , $n=14$ ）（Mann Whitney test, $p=0.0337$ ）及び10DIVのNHALE-total CSF（ 0.75 ± 0.12 , $n=12$ ）（Mann Whitney test, $p<0.0001$ ）より有意に高値であった。

【結論】NHALE患者髄液中のIgG分画に含まれるNMDA型GluR抗体が、シナプスNMDA型GluRを内在化してAktリン酸化を抑制していると考えた。

研究協力者：西村成子¹、高尾恵美子¹、笠井理沙¹、平松宏実¹、井上有史¹（1 国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、2 岐阜大学医学部小児病態学、3 静岡県立大学薬学部）

A. 研究目的

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、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、運動障害は31.0%に、記憶障害は63.2%に見られ、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。

2002年に我々はN-methyl-D-aspartate（NMDA）-type GluRsのサブユニットの一つであるGluN2B（ $\epsilon 2$ 、NR2B）に対する抗体を脳炎患者等の髄液中に見出し（高橋幸利、日児誌、2002）、2007年Dalmauらは卵巣奇形腫合併脳炎症例でNMDA型GluR複合体に対する抗体（抗NMDAR抗体）を報告（Dalmau、Ann Neurol、2007）、抗NMDAR抗体による脳炎が注目されるようになった。

抗NMDAR抗体の役割として、2010年Hughesは患者髄液によるNMDA型GluRの内在化を、培養海馬組織を用いて報告した（J Neurosci、2010）。2011年我々は、NMDA型GluR抗体陽性脳炎髄液は培養神経細胞のアポトーシスを促進するが、髄液IgG分画はシナプス外NMDA型GluRを内在化し、興奮毒性によるアポトー

シスを抑制することを報告した。このことからNMDA型GluR抗体はシナプス外NMDA型GluRを内在化して脳を護る作用を持つことが分かった。

2012年我々は、シナプスNMDA型GluRの活性化でリン酸化されるcAMP-Responsive-Element-Binding protein (CREB)のリン酸化を、培養神経細胞を用いて検討した。NMDA型GluR抗体陽性NHALE髄液は、髄液IgG分画より強くCREBリン酸化を促進した。対照髄液もCREBリン酸化を促進したことから、正常髄液成分の中にCREBリン酸化を促進する成分が含まれると推定した。NHALE患者髄液IgGは、対照髄液IgG分画に比べてCREBリン酸化が低く、わずかにシナプスNMDA型GluRを内在化している可能性が示唆された。

シナプスNMDA型GluRの活性化でリン酸化されるAktについて培養神経細胞で検討したので詳細を報告する。

B. 研究方法

【対象】GluR抗体検索目的で静岡てんかん・神経医療センターに依頼のあった脳炎例の中で、言動異常などの辺縁系症状で発病したNHALE8例の髄液を用いた。疾病対照は心因性非てんかん発作などの非てんかん症例3例の髄液を用いた。

【方法】

1. 培養ラット胎児神経細胞の調製：妊娠ラット（ウイスターラット、日本SLC）より胎生15日目の胎児を取り出し断頭、脳を取り出し大脳半球の懸濁液作成し、三種類のステンレスメッシュ（150、75、53 μ m）で濾過した後、血清培地にて培養した。
2. 髄液IgG分画の調製：Econo-Pac Serum IgG purification Kit (BioRad)を用いて行った。
3. 髄液及び髄液IgG分画の培養細胞に対する作用の検討：培養ラット胎児神経細胞の3DIVに血清培地から無血清培地へ変更し、NMDA型GluR抗体陽性患者髄液（髄液0.2ml+培養液1.8ml）あるいは患者髄液由来Ig

G（髄液0.2ml由来IgG分画+培養液1.8ml）を加え、7days in vitro (DIV)と10DIVに培養上清及び細胞を回収した。同時並行で培養液のみで培養したものを同時測定対照とした。

4. 培養上清LDH測定：シカリキッド LDH J (7170)（関東化学（株））を用いる自動分析装置 BioMajesty (JCA-BM 6010、日本電子（株））により定量、同時測定対照との比（増加率）で作用を推定した。LDHはNHALE10例（21検体）、疾病対照5例（16検体）を測定した。
5. 総Akt (tAkt) 及びリン酸化Akt (pAkt) 測定：7DIVと10DIVに培養神経細胞を回収し、Bio-Plex Phospho Akt (Ser473) アッセイキット (BioRad) (#171-V21075)を用いて定量、同時測定対照との比（増加率）で作用を評価した。AktはNHALE 4症例（8検体）、疾病対照2例（8検体）で測定した。
6. 統計：LDHおよびAktに対する髄液あるいは髄液IgG分画を加えた系での影響は、同時測定対照の値との比（平均 \pm SD）で評価した。有意差はMann Whitney testを用いた。

（倫理面への配慮）

静岡てんかん・神経医療センター倫理委員会にて承認された「自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究2011」の方法により同意を得た患者を対象とした。

C. 研究結果

1. NHALE症例の臨床特徴

NHALE8例（男2例、女6例）の脳炎発病年齢は33.6 \pm 8.6歳で、21-43歳に分布した。疾病対照3例は8-67歳に分布し、脱水後遺症、心因性非てんかん発作、Munch Hausen症候群の髄液を用いた。

2. 培養上清LDH濃度

LDH濃度比（検体/同時測定対照）は、NHALE-total CSFを加えた10DIVの値（1.08 \pm 0.12, n=28）は、7DIVの値（0.98 \pm 0.21, n=28）

に比べて有意に高値であった (Mann Whitney test, $p=0.0393$) (図1)。

3. 総Akt (tAkt) 濃度

tAkt濃度比 (検体/同時測定対照) には、NHALE患者髄液-対照髄液間、NHALE患者髄液IgG分画-対照髄液IgG分画間、NHALE患者髄液7DIV-10DIV間、NHALE患者髄液IgG分画7DIV-10DIV間に有意差は見られなかった (図2)。

4. リン酸化Akt (pAkt) 濃度

p-Akt濃度比 (検体/同時測定対照) は、7DIVのNHALE-total CSFの値 (1.06 ± 0.15 , $n=16$) は、7DIVのNHALE-CSF-IgGの値 (0.97 ± 0.09 , $n=14$) (Mann Whitney test, $p=0.0312$) 及び10DIVのNHALE-total CSFの値 (0.78 ± 0.15 , $n=12$) (Mann Whitney test, $p<0.0001$) より有意に高値であった (図3)。

5. リン酸化Akt/総Akt (pAkt/tAkt) 比

p-Akt/tAkt比は、7DIVのNHALE-total CSFの値 (1.06 ± 0.15 , $n=16$) は、7DIVのNHALE-CSF-IgGの値 (0.97 ± 0.10 , $n=14$) (Mann Whitney test, $p=0.0337$) 及び10DIVのNHALE-total CSFの値 (0.75 ± 0.12 , $n=12$) (Mann Whitney test, $p<0.0001$) より有意に高値であった (図4)。

D. 考察

今回の培養ラット胎児神経細胞に対するNHALE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。

培養液中のLDHは、NHALE髄液を加える系では7DIVに比べて10DIVには有意に高値となったが、髄液IgG分画を加える系では有意な変化はなく、NHALE髄液の中のIgG以外の成分に培養ラット胎児神経細胞を細胞死に導く因子が主として含まれていることが分かった。

総Akt濃度を同時測定対照との比 (検体/同時測定対照) でみると、NHALE髄液およびNHALE髄液IgG分画ともに変化をもたらさず、Akt産生には影響がなかった。しかし、Aktリン酸化およびリン酸化Akt/総Akt比は、NHALE髄液を加える系では7DIVに比べて10DIVには有

意に低値となり、7DIVにおいて髄液IgG分画を加える系ではNHALE髄液を加える系に比べて有意に低値であった。よって、NHALE髄液IgG分画の中にAktリン酸化を抑制する因子があると考えられた。おそらくはNMDA型GluR抗体がシナプスNMDA型GluRを内在化して、Aktリン酸化を抑制しているものと考えた (図5)。

NHALE髄液IgG分画はAktリン酸化を0.89倍に抑制し、我々の同じ培養神経細胞を用いたDNAラダー研究では、NHALE髄液IgG分画はシナプス外のNMDA型GluRを内在化して興奮毒性を0.65倍に抑制していることを報告したが、抗体による内在化の程度がシナプスNMDA型GluRで弱いことを示唆し、おそらくはシナプスNMDA型GluRが多く、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に困難があるためと思われる。

E. 結論

NMDA型GluR抗体がシナプスNMDA型GluRを内在化して、Aktリン酸化を抑制しているものと考えた。NHALEではNMDA型GluR以外にも、複数の病態因子があると思われ、病態をさらに検討し、脳炎の予後を改善したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Interaction between sulthiame and clobazam: Sulthiame inhibits the metabolism of clobazam, possibly via an action on CYP2C19, *Epilepsy & Behavior*, 2014; 34: 124-126.
2. Armangue T, Takahashi Y, et al., A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma. *Ann Neurol*. 2014; 75(3): 435-441.
3. Kimura N, Takahashi Y. et al., Brain perfusion SPECT in limbic encephalitis associated with autoantibody against the glutamate receptor epsilon 2. *Clin Neurol Neurosurg*. 2014; 118: 44-48. doi: 10.1016/j.clineuro.2013.12.006. Epub 2013 Dec 27.
4. Yamaguchi Y, Takahashi Y, et al., Multifocal Encephalopathy and Autoimmune-mediated Limbic Encephalitis Following Tocilizumab Therapy. *Intern Med*. 2014; 53(8):

- 879-882.
5. Mayumi Ueta, Yukitoshi Takahashi, et al., Independent strong association of HLA-A*02:06 and HLA-B*44:03 with cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome with severe mucosal involvement, *Scientific Reports*, 2014 Apr 30;4: 4862. doi: 10.1038/srep04862.
 6. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Neuronal Antibodies in Creutzfeldt-Jakob Disease, *JAMA Neurology*, 2014; 71(4): 514. doi:10.1001/jamaneurol.2014.27.
 7. Kazuyuki Inoue, Takahashi Yukitoshi, et al., Influence of Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 2B7 -161C>T Polymorphism on the Concentration of Valproic Acid in Pediatric Epilepsy Patients, *Therapeutic Drug Monitoring*, 2014; 36: 406-409.
 8. Wen-Hung Chung, Yukitoshi Takahashi, et al., Genetic Variants Associated With Phenytoin-Related Severe Cutaneous Adverse Reactions, *JAMA*. 2014; 312(5): 525-534. doi:10.1001/jama.2014.7859.
 9. Rumiko Takayama, Yukitoshi Takahashi, et al., Long-term course of Dravet syndrome: a study from an epilepsy center in Japan, *Epilepsia*, 2014; 55(6): 942-943.
 10. Kengo Moriyama, Yukitoshi Takahashi, et al., Another case of respiratory syncytial virus-related limbic encephalitis, *Neuroradiology* 2014; 56(5): 435-436. DOI 10.1007/s00234-014-1350-2.
 11. Kazuyuki Inoue, Yukitoshi Takahashi, et al., 4217C>A polymorphism in carbamoyl-phosphate synthase 1 gene may not associate with hyperammonemia development during valproic acid-based therapy, *Epilepsy Research*, 2014; 108(6): 1046-1051.
 12. Sakakibara E, Takahashi Y, et al., Chronic periodic lateralised epileptic discharges and anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. *Epileptic Disord. Epileptic Disord.* 2014; 16(2): 218-222. doi: 10.1684/epd.2014.0655
 13. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Impact of cytochrome P450 inducers with or without inhibitors on the serum clobazam level in patients with antiepileptic polypharmacy, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2014; 70(10): 1203-1210.
 14. Takeshi Kondo, Yukitoshi Takahashi, et al., Limbic encephalitis-associated relapsing polychondritis responded to infliximab and maintained its condition without recurrence after discontinuation -a case report and review of the literature, *Nagoya journal*, 2014; 76(3-4): 361-368.
 15. Nobusuke Kimura, Yukitoshi Takahashi, et al., Developmental outcome after surgery in focal cortical dysplasia patients with early-onset epilepsy, *Epilepsy Research*, 2014; 108(10): 1845-1852.
 16. Hayata Y, Takahashi Y. et al., Anti-glutamate epsilon 2 receptor antibody positive and anti-NMDA receptor antibody negative lobar encephalitis presenting as global aphasia and swallowing apraxia. *Case Rep Neurol*, 2014; 6: 291-296.
 17. Kazushi Miya, Yukitoshi Takahashi, Hisashi Mori, Anti-NMDAR autoimmune encephalitis, *Brain & Development*, 2014; 36(8): 645-652.
 18. Hiroyuki Fujita, Y. Takahashi, et al., The serum level of HMGB1 (high mobility group box 1 protein) is preferentially high in drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms, *British Journal of Dermatology*, 2014 Dec;171(6):1585-1588. doi: 10.1111/bjd.13162. Epub 2014 Oct 27.
 19. Chiba Yuhei, Takahashi Yukitoshi, et al., Lymphopenia Helps Early Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus for Patients with Psychosis as an Initial Symptom, *Psychosomatics*, in press, 2013 Sep 23. doi:pii: S0033-3182(13)00136-9. 10.1016/j.psym. .
 20. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Individualized phenytoin therapy for pediatric Japanese epilepsy patients based on CYP2C9 and CYP2C19 genotypes, *Therapeutic Drug Monitoring*, in press.
 21. Takahiro Furukawa, Yukitoshi Takahashi, et al., Increased proinflammatory cytokines in sera of patients with multifocal motor neuropathy, *J Neurol Sci.* 2014 Aug 4. pii: S0022-510X(14)00505-X. doi: 10.1016/j.jns.2014.07.059.
 22. Hiroshi Sakuma, Yukitoshi Takahashi, et al., Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in febrile infection related refractory status epilepticus, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, in press.
 23. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Influence of uridine diphosphate glucuronosyltransferase inducers and inhibitors on the plasma lamotrigine concentration in pediatric patients with refractory epilepsy, *Drug*

- Metabolism and Pharmacokinetics, in press.
24. Masaki Yoshimura, Yukitoshi Takahashi, et al., An analysis of epileptic negative myoclonus by magnetoencephalography, *Epilepsy Research*, in press.
 25. Norimichi Higurashi, Yukitoshi Takahashi, et al., Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy, *Seizure*, in press.
 26. Matsumoto R, Takahashi Y, et al., Possible induction of multiple seizure foci due to parietal tumour and anti-NMDAR antibody. *Epileptic Disord.* 2015 Feb 3, in press.
 27. Yoshiaki Kawamura, Yukitoshi Takahashi, et al., Pathogenic role of human herpesvirus 6B infection in mesial temporal lobe epilepsy, *Journal of infectious disease*, in press.
 28. 高橋幸利、束本和紀、てんかん、編集、山崎麻美、坂本博昭、小児脳神経外科学（改訂2版）、金芳堂、p、印刷中。
 29. 高橋幸利、渡辺陽和、2脳炎-1総論、編集：兼本浩祐、他、「臨床てんかん学」、医学書院、p、印刷中。
 30. 高橋幸利、大星大観、2脳炎-2免疫介在性脳炎（小児）、編集：兼本浩祐、他、「臨床てんかん学」、医学書院、p、印刷中。
 31. 高橋幸利、西田拓司、山口解冬、自己免疫性脳炎、編集：辻省次、吉良潤一、アクトリアル脳・神経疾患の臨床、免疫性神経疾患 病態と治療のすべて、中山書店、印刷中。
 32. 高橋幸利、山口解冬、難治性てんかんの病態を探る-脳炎後てんかんと免疫、脳と発達、2014；46：195-201。
 33. 高橋幸利、他、てんかん-基礎・臨床研究の最新知識-III-10. 抗てんかん薬の副作用、日本臨床、2014；72：908-919。
 34. 神里尚美、高橋幸利、他、両手指の麻痺性拘縮を呈した抗 NMDA 型グルタミン酸受容体抗体陽性脳炎の一例、沖縄県立南部医療センター・こども医療センター雑誌、2014；7：13-17。
 35. 戸島 麻耶、高橋幸利、他、急性無菌性髄膜脳炎の経過中に局所性皮質反射性ミオクローヌスを呈し抗グルタミン酸受容体抗体が検出された2例、臨床神経学、54：543-549、2014。
 36. 高橋幸利、他、抗てんかん薬の薬物動態・薬剤相互作用、小児内科、2014；46：1238-1241。
 37. 横山桃子、高橋幸利、他、水痘に続発して起こった非ヘルペス性辺縁系脳炎の4歳女児例、小児科臨床、2014；67(9)：1481-1486。
 38. 高橋幸利、他、免疫介在性神経疾患、小児感染免疫、2014；26：403-414。
 39. 関谷芳明、高橋幸利、他、甲状腺クリーゼに抗 NMDA 受容体脳炎を併発した1例、日本集中治療医学会雑誌、2014；21：659-660。
 40. 許全利、高橋幸利、他、高齢男性に発症した抗 NMDA 受容体脳炎の症例、老年精神医学雑誌、2014；25(10)：1153-1159。
 41. 真野ちひろ、高橋幸利、他、subclinical seizure が観察された非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1症例、小児科臨床、2014；67：2153-2158。
 42. 長濱明日香、高橋幸利、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の症状を呈した橋本脳症の1小児例、小児科臨床 2014；67(11)：2145-2151。
 43. 高橋幸利、他、小児の慢性進行性持続性部分てんかん・非進行性持続性部分てんかん：Rasmussen 症候群を主体に、別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ、2014；31：41-46。
 44. 高橋幸利、他、神経疾患と NMDA 型グルタミン酸受容体抗体、日本小児科学会誌、2014；118(12)：1695-1707。
 45. 高橋幸利、他、新しい抗てんかん薬の適応と使い方、小児科診療、2015；78：207-214。
 46. 朱膳寺圭子、高橋幸利、他、前頭葉に病変が及んだ非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1例、東京女子医科大学雑誌、2014；84(s1)：197-203。
 47. 保坂孝史、高橋幸利、他、先行感染後に opsoclonus-myoclonus syndrome を認め、髄液中の抗 GluR δ 2 抗体と GluR ϵ 2 抗体が陽性であった1例、運動障害、2014；24(1)：1-6。
 48. 出口健太郎、高橋幸利、他、卵巣奇形腫摘出術後に痙攣重積状態をきたした抗 NMDA 受容体脳炎の1例、ICU と CCU、2014；38(9)：648-651。
 49. 宮城哲哉、高橋幸利、他、失語発作を主症状とする成人型ラスマッセン症候群の一例、てんかん研究、2015；32：556-563。
 50. 西口亮、高橋幸利、他、両側耳介軟骨炎に抗グルタミン酸受容体 (GluR ϵ 2) 抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎を合併した1例、臨床神経学、印刷中。
 51. 高橋幸利、他、自己免疫性脳炎、Medical Practice、印刷中
 52. 上野弘恵、高橋幸利、他、めまいで発症し亜急性に四肢の筋力低下・歩行障害が進行した橋本脳症の1男児例、脳と発達、印刷中。
 53. 高橋幸利、他、増刊号：免疫性神経疾患-基礎・臨床研究の最新知見- Rasmussen 症候群（脳炎）、日本臨床、印刷中。
2. 学会発表
 1. 高橋幸利、難治てんかんの病態・治療 - 脳炎後てんかんとスパズム-、Shizuoka-Kumamoto collaboration meeting of epilepsy towards better community healthcare 第1回勉強会、2014年4月25日、熊本。
 2. 高橋幸利、他、シンポジウム3 脳炎後てんかんの病態・治療を探る、免疫病態、第

- 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
3. 高橋幸利、薬事委員会主催セミナー、Rasmussen 症候群に対するタクロリムスの有効性、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 4. Yukitoshi Takahashi, Pre-congress symposium: Update of Rasmussen syndrome: Immunopathogenesis, The 48th Congress of the Japan Epilepsy Society, Oct 1st-3rd 2014, Tokyo.
 5. 高橋幸利、他、シンポジウム 5 VGKC 複合体等に関連する免疫介在性亜急性脳炎とてんかん: VGKC 複合体抗体陽性例の NMDA 型 GluR 抗体の意義、第 48 回日本てんかん学会学術集会、2014 年 10 月 2-3 日、東京。
 6. 高橋幸利、NMDA 型 GluR 抗体の機能解明 in vitro & in vivo、第 44 回日本臨床神経生理学会学術大会 教育講演、2014 年 11 月 19-21 日、福岡。
 7. 高橋幸利、他、HPV ワクチン後に中枢神経症状が出現した症例のステロイドパルス治療、ワークショップ「Human Papillomavirus (HPV) ワクチン関連神経免疫異常症候群 (HANS: ハンス症候群)」、第 29 回日本臨床リウマチ学会、2014 年 11 月 30 日、福岡。
 8. 高橋幸利、脳炎と脳炎後てんかんの病態・治療、第 9 回日本てんかん学会中国・四国地方会、2015 年 2 月 7 日、徳島。
 9. 高橋幸利、NMDA 型 GluR 免疫と疾患、第 49 回慶應ニューロサイエンス研究会、2015 年 2 月 21 日、東京。
 10. 小池大輔、高橋幸利、他、早期の治療介入により良好な経過をたどったインフルエンザワクチン後非ヘルペス性辺縁系脳炎の 1 例、第 93 回山陰小児科学会、2014 年 4 月 6 日。
 11. 村田強志、高橋幸利、他、特異な橋病変を呈した自己免疫関連性脳炎の一例、日本内科学会総会、2014 年 4 月 11-13 日、東京。
 12. 高橋幸利、他、NMDAR 抗体陽性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の早期診断: 先行症状期血液検査値の検討、第 117 回日本小児科学会学術集会、2014 年 4 月 11-13 日、名古屋。
 13. 藤田貴子、高橋幸利、他、当院における突発性発疹症の神経合併症、第 117 回日本小児科学会学術集会、2014 年 4 月 11-13 日、名古屋。
 14. 河村吉紀、高橋幸利、他、内側側頭葉硬化症発症におけるヒトヘルペスウイルス 6B の役割、第 117 回日本小児科学会学術集会、2014 年 4 月 11-13 日、名古屋。
 15. 大久保真理子、高橋幸利、他、両側性の Epilepticus Partialis Continua を呈した 1 例、第 64 回多摩小児神経懇話会、2014 年 4 月 19 日、八王子。
 16. 山田舞乃、高橋幸利、他、当院での自己免疫性脳炎の経過 抗 NMDA 受容体脳炎は再発に注意が必要である、第 55 回日本神経学会学術大会、2014 年 5 月 22-24 日、福岡。
 17. 上野弘恵、高橋幸利、他、橋本脳症の 1 男児例-小児における橋本脳症の臨床像の検討-、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 18. 鳥巢浩幸、高橋幸利、他、小児多発性硬化症における治療抵抗性の検討、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 19. 中野祐子、高橋幸利、大脳皮質に局限した病変を示した自己免疫性辺縁系脳炎の 1 例、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 20. 西倉紀子、高橋幸利、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 7 例の臨床的検討、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 21. 森山剣光、高橋幸利、他、RS ウイルス感染関連 NMDA 受容体抗体陽性辺縁系脳炎の 1 例、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 22. 渡辺陽和、高橋幸利、他、Rasmussen 症候群のステロイドパルス療法の検討、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 23. 佐久間啓、高橋幸利、他、難治頻回部分発作重積型急性脳炎の髄液中におけるインターフェロン誘導性ケモカインの増加、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 24. 平澤絢香、高橋幸利、他、WISC-IV で処理速度低下を示した軽症抗 NMDA 受容体脳炎の一例、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 25. 山口解冬、高橋幸利、他、シンポジウム 3 脳炎後てんかんの病態・治療を探る、脳炎脳症後てんかんの慢性期におけるステロイドパルス治療の経験、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 26. 谷口祐子、高橋幸利、他、限局性の脳皮質病変を示した自己免疫性辺縁系脳炎の 1 例、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 27. 藤井裕士、小林良行、石川暢恒、高橋幸利、グルタミン酸受容体 (GluR) 抗体が陽性であった Late onset Lennox-Gastaut 症候群の 14 歳女児例、第 56 回日本小児神経学会、2014 年 5 月 29-31 日、浜松。
 28. 庄司圭祐、今高橋幸利、他、関節リウマチの免疫療法中に発症した抗グルタミン酸受容体抗体陽性の互急性白質脳症の一例、第 204 回日本内科学会近畿地方会、2014 年 6 月 14 日、大阪。
 29. 杉本精一郎、高橋幸利、他、うつ症状を呈した辺縁系脳炎の一症例、第 206 回日本神経学会九州地方会、2014 年 6 月 28 日、宮崎。
 30. 小野田 統、高橋幸利、他、単純ヘルペス脳炎に続発した抗 NMDA 受容体脳炎の 1 例、第 139 回日本神経学会東海北陸地方会、平成 26 年 7 月 5 日、名古屋。
 31. 元木崇裕、高橋幸利、他、免疫グロブリン治療が奏功した抗グルタミン酸受容体抗

- 体陽性のでんかん性脳症の1例、第8回日本てんかん学会関東・甲信越地方会、2014年7月11日。
32. 浅田昌照、高橋幸利、他、抗NMDA受容体脳炎による意識障害を呈し診断に難渋した一例、近畿精神医学会、2014年7月26日
 33. 高橋幸利、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態解明：NMDAR型GluR抗体のpassive transfer研究、第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会、2014年9月4-6日、金沢。
 34. 高橋幸利、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態解明：正常対照のGluR抗体と年齢、第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会、2014年9月4-6日、金沢。
 35. 高橋幸利、他、HPVワクチン後に中枢神経症状が出現した症例の検討：髄液の自己免疫学的検討、第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会、2014年9月4-6日、金沢。
 36. 武久康、高橋幸利、他、NMDA受容体脳炎の治療とその効果に対する検討、第19回日本神経感染症学会総会・第26回日本神経免疫学会、2014年9月4-6日、金沢。
 37. 河村吉紀、高橋幸利、他、内側側頭葉硬化症発症におけるヒトヘルペスウイルス6Bの役割、第19回日本神経感染症学会総会、2014年9月4-6日、金沢。
 38. 先浜大、高橋幸利、他、伝染性単核球症に続発した自己免疫介在性脳炎の1例、日本内科学会第205回近畿地方会、2014年9月20日、大阪。
 39. Yoshiki Kawamura, Yukitoshi Takahashi, 他、Pathogenic role of human herpes virus 6B in mesial temporal sclerosis, 第48回日本てんかん学会、2014年10月2-3日、東京。
 40. 福岡正隆、高橋幸利、他、左右大脳半球に再発性病変を呈しRasmussen脳炎が疑われた1例、第48回日本てんかん学会学術集会、2014年10月2-3日、東京。
 41. Kazumi Matsuda, Yukitoshi Takahashi, 他、Pre-congress symposium: Update of Rasmussen syndrome: Update of Rasmussen syndrome : Neuroimaging and histopathology of Rasmussen syndrome, The 48th Congress of the Japan Epilepsy Society, Oct 1st-3rd 2014, Tokyo.
 42. 宇田川紀子、高橋幸利、他、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎後に難治てんかんを残した1男児例、第48回日本てんかん学会学術集会、2014年10月2-3日、東京。
 43. 阿部圭市、高橋幸利、他、発作型、焦点、画像上の変化を認めた慢性肉芽腫性脳炎による難治性てんかんに対し側頭葉切除を行った一例、第48回日本てんかん学会学術集会、2014年10月2-3日、東京。
 44. 東本和紀、高橋幸利、他、髄液中リンパ球表面マーカーの検討：疾病対照の年齢経過、第48回日本てんかん学会学術集会、2014年10月2-3日、東京。
 45. 山本達也、高橋幸利、他、リツキシマブによる治療を行ったオプソクロノス・ミオクロノス症候群の1例、第20回日本小児神経学会東北地方会、2014年10月18日、盛岡。
 46. 池田光憲、高橋幸利、他、当センターで経験した非ヘルペス性急性辺縁系脳炎(NHALE)9例の臨床的検討、日本救急医学会総会、2014年10月28日。
 47. 村上丈伸、高橋幸利、他、特異な橋病変を呈した抗NMDA受容体抗体陽性脳炎の一例、臨床神経生理学学会、2014年11月19-21日、福岡。
 48. 武久康、高橋幸利、他、NMDA受容体脳炎における脳血量SPECT、第26回日本脳循環代謝学会、2014年11月21-22日、岡山。
 49. 布施ひと美、高橋幸利、他、抗てんかん薬により認知機能が改善した抗NMDA受容体抗体陽性の側頭葉てんかん、第27回日本総合病院精神医学会、2014年11月28日、つくば。
 50. 眞山英徳、高橋幸利、NMDA型GluR抗体が検出された髄膜脳炎発症の混合性結合組織病の1例、神経学会関東地方会、2014年11月29日、東京。
 51. 井上沙織、高橋幸利、他、抗NR2抗体陽性辺縁系脳炎に対するシクロフォスファミド大量静注療法が有効であったがループス腎炎が再燃した小児期発症SLEの一例、日本リウマチ学会関東支部学術集会、2014年12月14日、横浜。
 52. 伊藤弘道、高橋幸利、他、VNSにより発作頻度、認知行動面に改善が認められたAERRPSの1例、第9回日本てんかん学会中国・四国地方会、2015年2月7日、徳島。
 53. 関口由利子、高橋幸利、他、抗NMDA型グルタミン酸受容体抗体陽性であった、非ヘルペス性急性脳炎の1女児例、第32回日本小児科学会神奈川県地方会、2015年2月21日、横浜。
 54. 永迫友規、高橋幸利、他、口唇のけいれんで始まり、失調性構音障害、失読失書・失名辞を呈した抗グルタミン酸受容体抗体陽性脳炎、第212回神経学会地方会、2015年3月14日、東京。
3. 書籍の刊行
該当なし。
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 - 2014年8月29日、NMDA型グルタミン酸受容体抗体による不安モデルマウスの開発、発明者：高橋幸利⇒特願2014-174749、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。
 - 2014年10月30日、プライマーセット及び免疫介在性てんかんの診断方法、発明者：高橋

幸利⇒特願 2014-221632、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。

3. その他
なし

2. 実用新案登録
なし

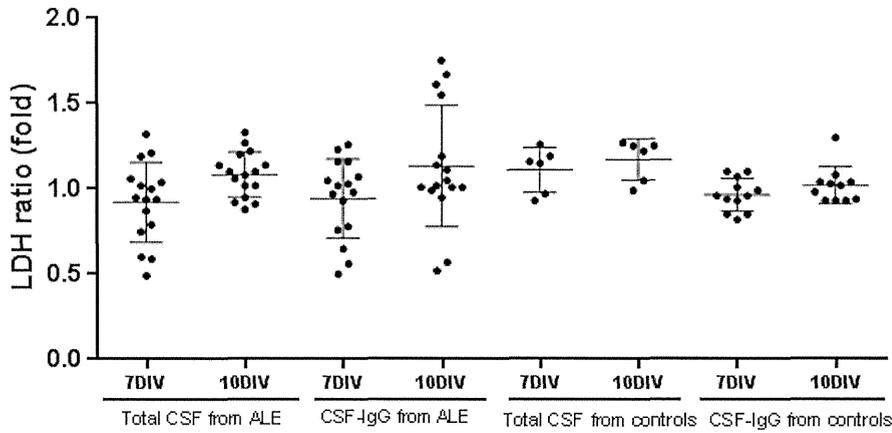


図1. Effect for LDH ratios at 7&10 DIV.

Mann Whitney test between ALE & controls: Total CSF at 7 DIV, $p=0.1192$; Total CSF at 10 DIV, $p=0.1960$; CSF-IgG at 7 DIV, $p=0.792$; CSF-IgG at 10 DIV, $p=0.2352$.

* Mann Whitney test between total CSF & CSF-IgG: ALE at 7 DIV, $p=0.6757$; ALE at 10DIV, $p=0.9926$;

Mann Whitney test between 7DIV & 10DIV: total CSF from ALE, $p=0.0309$; CSF-IgG from ALE, $p=0.2062$; CSF-IgG from ALE, $p=0.2088$; total CSF from controls, $p=0.2900$; CSF-IgG from controls, $p=0.4028$.

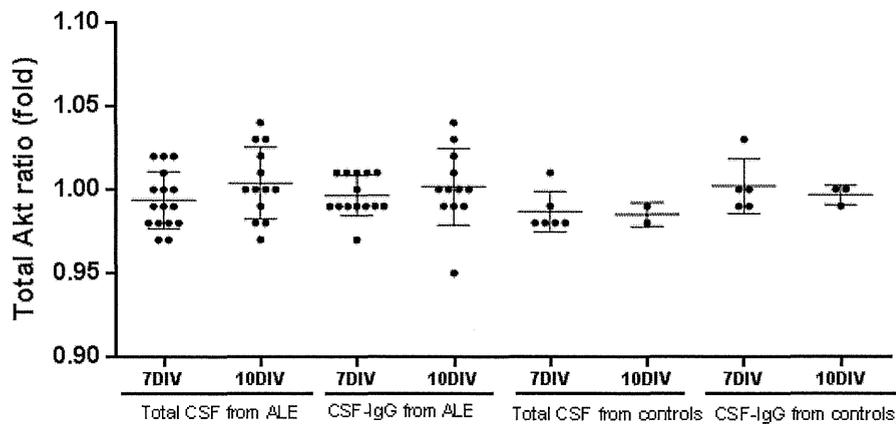


図2. Effect for total Akt levels at 7&10 DIV.

Mann Whitney test between ALE & controls: Total CSF at 7 DIV, $p=0.3954$; Total CSF at 10 DIV, $p=0.2571$; CSF-IgG at 7 DIV, $p=0.6474$; CSF-IgG at 10 DIV, $p=0.6615$.

* Mann Whitney test between total CSF & CSF-IgG: ALE at 7 DIV, $p=0.5457$; ALE at 10 DIV, $p=0.9252$;

Mann Whitney test between 7DIV & 10DIV: total CSF from ALE, $p=0.1967$; CSF-IgG from ALE, $p=0.3854$;

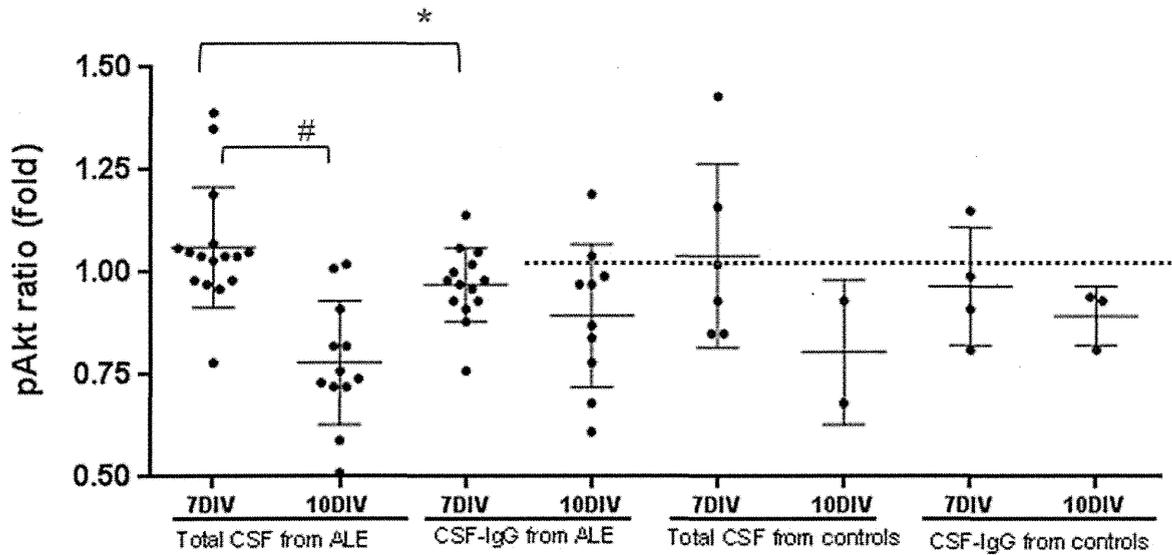


图3. Effect for phosphorylated Akt levels at 7&10 DIV.

Mann Whitney test between ALE & controls: Total CSF at 7 DIV, $p=0.4373$; Total CSF at 10 DIV, $p>0.9999$; CSF-IgG at 7 DIV, $p=0.9013$; CSF-IgG at 10 DIV, $p=0.7867$.

* Mann Whitney test between total CSF & CSF-IgG: ALE at 7 DIV, $p=0.0312$; ALE at 10 DIV, $p=0.1353$;

Mann Whitney test between 7DIV & 10DIV: total CSF from ALE, $p<0.0001$; CSF-IgG from ALE, $p=0.2523$;

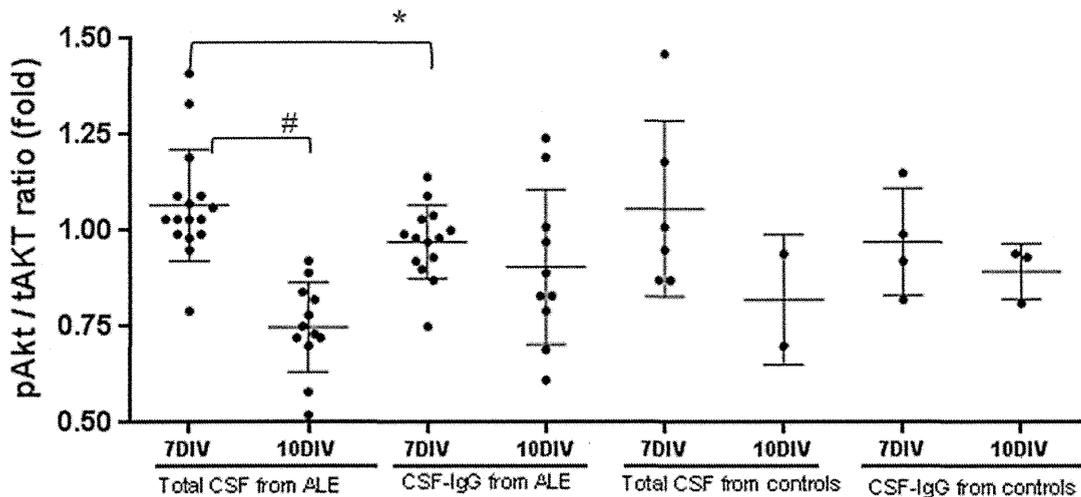


图4. Effect for phosphorylated Akt/ total Akt ratios at 7&10 DIV.

Mann Whitney test between ALE & controls:

Total CSF at 7 DIV, $p=0.4581$; Total CSF at 10 DIV, $p=0.7033$; CSF-IgG at 7 DIV, $p=0.9402$; CSF-IgG at 10 DIV, $p>0.9999$.

* Mann Whitney test between total CSF & CSF-IgG: ALE at 7 DIV, $p=0.0337$; ALE at 10 DIV, $p=0.0614$;

Mann Whitney test between 7DIV & 10DIV: total CSF from ALE, $p<0.0001$; CSF-IgG from ALE, $p=0.2177$;

NMDA型GluR抗体陽性脳炎の髄液成分

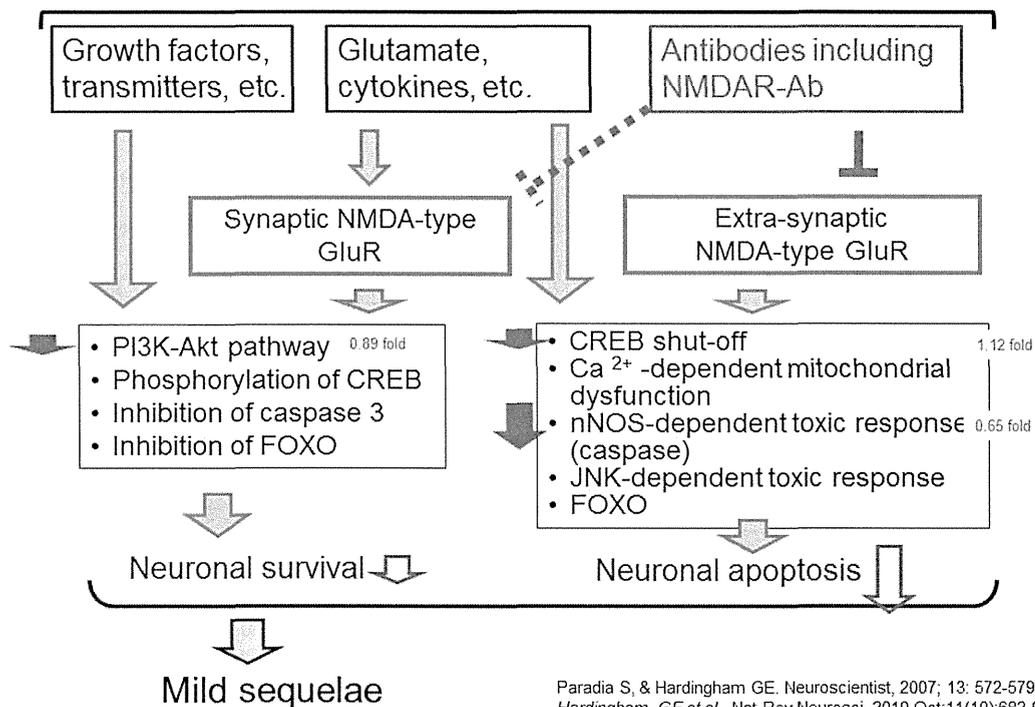


図5. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎髄液の影響

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎患者の 臨床的特徴の検討

研究分担者 西田 拓司

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター精神科医長

研究要旨

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（以下NHAE）は、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示すことが多く、臨床的には発病時にうつ、幻覚、妄想、滅裂な言動、行動異常などの精神症状がみられる。一方、統合失調症、てんかん精神病などの精神疾患患者の一部でも抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示す例が報告されている。本研究の目的は、抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者とNHAE患者の臨床的特徴との類似点を見出し、抗グルタミン酸受容体抗体が精神症状発現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にある。髄液中のGluN2B-NT2抗体が高値を示した精神疾患患者8名の主たる精神症状は、抑うつ2名、幻覚妄想2名、躁1名、行動異常1名、不安1名、見当識障害1名だった。既往歴は、アルコール依存あるいは大量飲酒が3名、橋本病が1名でみられた。精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名は全例部分てんかんで、主たる精神症状は、興奮、衝動行為、行動異常、幻聴だった。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者でアルコール関連の既往、自己免疫疾患の既往がみられた。これまでの報告で、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名のうち21名（10%）で精神障害の既往がみられ、アルコールを含めた依存症が8名でみられた。また9名（4%）で自己免疫性疾患の既往がみられた。一方、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名（11%）で、精神・神経障害の既往がみられた。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者とNHAE患者の間の臨床的特徴に共通点が見られ、何らかの共通する機序がある可能性が考えられる。

A. 研究目的

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（以下NHAE）は、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示すことが多く、臨床的には発病時にうつ、幻覚、妄想、滅裂な言動、行動異常などの精神症状がみられる。一方、統合失調症、てんかん精神病などの精神疾患患者の一部でも抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示す例が報告されている。これまで、NHAE患者と抗グルタミン酸受容体抗体陽性を示す精神疾患患者の臨床的特徴の違いは明らかにされていない。本研究の目的は、抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患

者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者の臨床的特徴を明らかにすることで、NHAE患者の臨床的特徴との類似点を見出し、抗グルタミン酸受容体抗体が精神症状発現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にある。

B. 研究方法

髄液中のGluN2B-NT2抗体が対照髄液（非炎症性部分てんかん）の平均+2SD以上の高値を示した精神疾患患者8名と精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名で、既往歴と精神症状について

後方視的に資料を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、既に文書にて同意を得ている患者にて行った。院内の倫理申請で承認を得ている。

C. 研究結果

精神疾患患者8名の主たる精神症状は、抑うつ2名、幻覚妄想2名、躁1名、行動異常1名、不安1名、見当識障害1名だった。既往歴は、アルコール依存あるいは大量飲酒が3名、橋本病が1名でみられた。精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名は全例部分てんかんで、主たる精神症状は、興奮、衝動行為、行動異常、幻聴だった。

D. 考察

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者の精神症状は多彩であった。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者でアルコール関連の既往、自己免疫疾患の既往がみられた。一昨年および昨年の班会議で報告したように、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名のうち21名(10%)で精神障害の既往がみられ、アルコールを含めた依存症が8名でみられた。また9名(4%)で自己免疫性疾患の既往がみられた。一方、傍

腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名(11%)で、精神・神経障害の既往がみられた。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者とNHALE患者の間の臨床特徴に共通点がみられ、何らかの共通する機序がある可能性が考えられる。

E. 結論

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者とNHALE患者の臨床的特徴との類似点を見出し、抗グルタミン酸受容体抗体が精神症状発現に何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 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

てんかん精神病と抗グルタミン酸受容体抗体の経時的変化

研究分担者 西田 拓司

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター精神科医長

研究要旨

てんかんには幻覚、妄想などの精神病症状、うつ症状、不安症状など様々な精神症状が出現するが、その機序は不明である。昨年の班会議にて、てんかん精神病患者23名中3名（13%）で、血清中の抗グルタミン酸受容体抗体が対照血清抗体価の平均+2SD以上の高値を示すことを報告した。今回は、てんかん精神病患者の抗グルタミン酸受容体抗体の経時的変化に注目し検討した。対象は、静岡てんかん・神経医療センターでStructured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I) にて、調査時の精神病症状あるいは過去の精神病症状の既往が確認できたてんかん患者のうち、複数回血清あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定できた8名である。対象患者の血清中あるいは髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-C抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体をELISAにより測定し（高橋, 2013）、経時的変化を検討した。てんかん精神病患者3名で、血清中あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体（GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体）のいずれかが、対照血清あるいは髄液抗体価の平均+2SD以上の高値を示した。3名中1名では精神病症状寛解後も血清中の抗体価は高値を示し、1名では精神病症状寛解後は血清中の抗体価は高値を示さなくなり、1名では精神病症状寛解後も髄液中の抗体価は高値を示したが低下した。抗グルタミン酸受容体抗体と精神病症状の経時的関連は更なる検討を要する。

A. 研究目的

てんかんには幻覚、妄想などの精神病症状、うつ症状、不安症状など様々な精神症状が出現するが、その機序は不明である。昨年の班会議にて、てんかん精神病患者23名中3名（13%）で、血清中の抗グルタミン酸受容体抗体が対照血清抗体価の平均+2SD以上の高値を示すことを報告した。今回は、てんかん精神病患者の抗グルタミン酸受容体抗体の経時的変化に注目し検討した。

精神病症状あるいは過去の精神病症状の既往が確認できたてんかん患者のうち、複数回血清あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定できた8名である。対象患者の血清中あるいは髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-C抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体をELISAにより測定し（高橋, 2013）、経時的変化を検討した。患者の抗体価が対照（てんかん、あるいは不随意運動をもつ患者）の血清あるいは髄液と比較して平均+2SD以上を示す場合を高値とした。

（倫理面への配慮）

B. 研究方法

対象は、静岡てんかん・神経医療センターでStructured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I) にて、調査時の精

本研究は、文書にて同意を得た患者にて行った。院内の倫理申請で承認を得ている。

C. 研究結果

血清あるいは髄液中、GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体のうちいずれかが高値を示したのは3名だった。症例1. 34歳女性、特発性全般てんかん/強直間代発作。てんかんは15発病。発作はコントロールされていた。幻聴、被害妄想など精神病発病9か月後、血清中のGluN1-NT抗体が高値を示した。抗精神病薬治療により精神症状は寛解。初回測定 of 1年7か月後、血清中のGluN1-NT抗体は依然高値を示した。症例2. 47歳男性、病因不明の症候性部分てんかん/複雑部分発作。てんかんは9歳発病。発作は週単位で難治に経過していた。幻聴、被害妄想など精神病発病6か月後、血清中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体が高値を示した。抗精神病薬治療により精神症状は寛解。初回測定 of 10か月後、血清中のいずれの抗体も高値を示さなかった。症例3. 66歳男性、外傷後の症候性部分てんかん/複雑部分発作。てんかんは29歳発病。発作は年単位。長年の飲酒によるコルサコフ症候群。幻聴、宗教妄想などの精神病発病1か月後、髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体が高値を示した。抗精神病薬治療により精神症状は寛解。初回測定 of 2か月後、髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体は依然高値を示したが、1回目の抗体価より低下した。

D. 考察

これまでの報告では、若年女性の原因不明の初発てんかんにおいて、19名中5名でNMDA型グルタミン酸受容体に対する自己抗体がみられ、うち4名は精神症状を呈した (Niehusmann P, 2009)。一方、統合失調症、統合失調感情障害患者51名中4名でNMDA型グルタミン酸受容体に対する自己抗体がみられた

が、うち2名はてんかん発作を呈した (Tsutsui K, 2012) しかし、これまで、てんかん精神病患者を対象とした抗グルタミン酸受容体抗体に関する研究はなく、継時的変化も不明である。

本研究では、てんかん精神病患者3名で、血清中あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体 (GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体) のいずれかが、対照血清あるいは髄液抗体価の平均+2SD以上の高値を示した。3名中1名では精神症状寛解後も血清中の抗体価は高値を示し、1名では精神症状寛解後は血清中の抗体価は高値を示さなくなり、1名では精神症状寛解後も髄液中の抗体価は高値を示したが低下した。抗グルタミン酸受容体抗体と精神症状の経時的関連は更なる検討を要する。

E. 結論

てんかん精神病の病態に、グルタミン酸受容体自己免疫学的が関与している可能性が考えられたが抗体価と精神症状の継時的関連は更なる検討を要する。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（障害者対策総合研究開発事業））
分担研究報告書

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

NMDA型GluR抗体陽性非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の早期診断 ：先行症状期髄液検査値の検討

研究代表者 高橋 幸利^{1, 2, 3}

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター副院長

研究要旨

【目的】非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（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。

【方法】非傍腫瘍性NHALEの中で、髄液NMDA型GluR抗体陽性で、脳炎症状出現前の先行症状期の髄液データがある17例（NHALE群）について、非炎症性のてんかん等で髄液検査を行った86例（疾病対照群）、無菌性髄膜炎で脳炎に移行しなかった78例（感染対照群）の3群について、髄液一般検査値を比較した。

【結果】NHALE群の髄液細胞数（平均±SD、 320.8 ± 372.8 counts /mm³）は、疾病対照群（ 20.8 ± 372.8 counts /mm³）に比べて有意に多く（ $p < 0.0001$ ）、脳炎発病に向けて低下した（ $p = 0.03$ ）。NHALE群の髄液蛋白濃度（ 120.6 ± 97.4 mg/dl）は、感染対照群（ 40.7 ± 21.5 mg/dl）、疾病対照群（ 20.9 ± 8.7 mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p < 0.0001$ ）。NHALE群の髄液糖濃度（ 56.9 ± 21.0 mg/dl）は、感染対照群（ 59.5 ± 10.3 mg/dl）、疾病対照群（ 61.1 ± 6.8 mg/dl）に比べて有意に低値であった（ $p = 0.0006$ 、 $p = 0.0230$ ）。髄液糖は発病年齢が高いほど高値をとる傾向を示した（ $p = 0.0168$ ）。NHALE群の髄液IgG濃度（ 7.6 ± 2.6 mg/dl）は、疾病対照群（ 1.8 ± 1.3 mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p < 0.0001$ ）。NHALE群の髄液albumin濃度（ 51.0 ± 34.3 mg/dl）は、疾病対照群（ 13.5 ± 6.8 mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p < 0.0001$ ）。

【結論】不明熱症例では積極的に髄液検査を行い、上記髄液データの特徴を認めた場合にはNHALE発症に注意して経過を慎重に診ていく必要がある。先行症状期のリンパ球細胞死の病態、血液脳関門の傷害病態をさらに検討し、脳炎への進展予防を可能にしたい。

研究協力者：宮一志⁴⁾、今村淳⁵⁾、木村暢佑⁶⁾、美根潤⁷⁾（1 国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、2 岐阜大学医学部小児病態学、3 静岡県立大学薬学部、4 富山大学小児科、5 岐阜県総合医療センター小児科、6 大津赤十字病院小児科、7 島根大学小児科）

A. 研究目的

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22

0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、運動障害は31.0%に、記憶障害は63.2%に見られ、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。

2012年度、NHALE217例の既往歴を調査すると、脳炎発病以前よりうつ、依存症などの精神障害が10%にみられ、発病前（前駆期）からすでに何らかの中樞神経系への影響が始まっている症例の存在が示唆された（図1）。一方、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あり (Nishiyama, Neurology 2009)、自己免疫介在神経疾患では、血中自己抗体が発病するかなり前から存在する可能性が示唆されている。NHALEでもNMDA型GluR抗体が前駆期から存在し、軽度のCNS症状を表出している可能性があると考えている。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することで、先行症状出現時点でのNHALE発病リスク診断、発病予防、早期診断治療を可能にしたい。

2012年度研究では、NHALE207例中162例 (78%) に先行症状を認めたが、162例中23例 (14%) で感染病原体が確定されたに過ぎなかった。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。

2013年度は、NHALEの先行症状期の末梢血臨床検査値を検討し、リンパ球数は感染症対照群 ($p < 0.01$)、対照群 ($p < 0.01$) 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。血小板数も感染対照群 ($p < 0.05$) や対照群 ($p < 0.01$) より有意に低値であった。CRPは、発病日に向けて増加する傾向を認め、対照群 ($p < 0.02$) より有意に高値であったが、感染症対照群 ($p < 0.01$) より有意に低かった。以上から、先行症状期には、リンパ球、血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的low値が特徴として見られ、早期診断マーカーとなる可能性、リンパ球、血小板からのNMDA型GluRが抗原となってNMDA型GluR抗体のブースターをもたらしている可能性を明らかにした。

2014年度は先行症状期のCNS病態を明らかにするために、先行症状期の髄液一般検査値を検討した。

B. 研究方法

【対象】GluR抗体検査目的で静岡てんかん・神経医療センターに依頼のあった脳炎例の中で、①明らかな意識障害出現前の急性期初期に辺縁系症状があり、②急性に意識障害を含む脳炎症状が出現・経過、③単純ヘルペスウイルス感染の否定ができ、④NMDA型GluRの内のGluN2BのN末 (GluN2B-NT2) に対する髄液抗体 (ELISA) 陽性症例で、卵巣奇形腫も含めて腫瘍の合併のない症例 (非傍腫瘍性NHALE) 217例を選択した (図2)。217例の中で脳炎症状出現前の先行症状期の髄液データがある17例 (NHALE群)、非炎症性のてんかん等で髄液検査を行った症例中、NHALE群と年齢を可能な範囲でマッチさせた86例 (疾病対照群)、無菌性髄膜炎で脳炎に移行しなかった症例中、NHALE群と年齢を可能な範囲でマッチさせた78例 (感染対照群) の3群について、髄液一般検査値を比較した。

【方法】非傍腫瘍性NHALE症例の先行症状期に採取した髄液、疾病対照の原因疾患検索目的で採取した髄液、感染対照の無菌性髄膜炎診断目的で採取された髄液の一般検査値を後方視的に検討した。有意差検定はMann Whitney testを用いた。

(倫理面への配慮)

静岡てんかん・神経医療センター倫理委員会にて承認された「自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究2011」の方法により同意を得たNHALE患者および疾病対照患者を対象とした。感染対照は、診断のためのデータをこの研究に使用することを、後日、口頭で了承を得た。

C. 研究結果

症例の特徴：NHALE群の17例 (男7、女10例) の発病年齢 (平均±SD) は27.8±14.9歳で、4-62歳に分布、脳炎症状出現前-3.6±2.4 (-9~-1) 日の髄液データを用いた。疾病対照群86例 (男43、女43例) の検査時年齢 (平均±SD) は10.2±7.3歳で、4-48歳に分布した。感染対照群78例 (男51、女27例)

の発病年齢（平均±SD）は7.8±3.1歳で、4-15歳に分布した。

NHALE群の髄液細胞数（平均±SD）（NHAE, 320.8±372.8 counts /mm³）は疾病対照群（controls, 320.8±372.8 counts /mm³）に比べて有意に多く（ $p<0.0001$ ）、20-30歳で発病する症例で特に高値で、脳炎発病に向けて低下する傾向を示した（ $p=0.03$ ）（図3）。

NHALE群の髄液蛋白濃度（120.6±97.4mg/dl）は、感染対照群（aseptic meningitis, 40.7±21.5mg/dl）、疾病対照群（20.9±8.7mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p<0.0001$ ）。

NHALE群の髄液糖濃度（56.9±21.0mg/dl）は、感染対照群（59.5±10.3mg/dl）、疾病対照群（61.1±6.8mg/dl）に比べて有意に低値であった（ $p=0.0006$ 、 $p=0.0230$ ）。髄液糖は発病年齢が高いほど高値をとる傾向を示した（ $p=0.0168$ ）。

NHALE群の髄液IgG濃度（7.6±2.6mg/dl）は、疾病対照群（1.8±1.3mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p<0.0001$ ）（図4）。

NHALE群の髄液albumin濃度（51.0±34.3mg/dl）は、疾病対照群（13.5±6.8mg/dl）に比べて有意に高値であった（ $p<0.0001$ ）。

D. 考察

2012年度の我々の研究では、NHALEの脳炎症状出現前に髄液検査された18例中18例（全例）で無菌性髄膜炎の診断がされていて、多くのNHALE症例が無菌性髄膜炎を経て脳炎を発病していると考えている。2014年度、非傍腫瘍性NHALE217例の中で先行症状期の髄液データがある17例について検討すると、髄液細胞数が非炎症性の疾病対照群に比べて有意に多く、脳炎発病に向けて低下した。このことは、NHALE先行症状期に無菌性髄膜炎があり、CNSでリンパ球が細胞死を起こし、リンパ球に発現するNMDA型GluRの破砕-抗原提示が起こり、CNS内でNMDA型GluR抗体産生にブースターがかかるために、NHALE発症につながる可能性が推定される。CNSでリンパ球

が細胞死を起こし、NMDA型GluR抗体産生にブースターがかかることで髄液IgG濃度が増加しているものと推測している。2013年度研究で末梢血のリンパ球や血小板が先行症状期に減少することも分かっており、末梢においてもNMDA型GluRの破砕-抗原提示が起こり、NMDA型GluR抗体産生にブースターがかかるものと思われる。NHALEの発病予防のためには、末梢およびCNSでリンパ球の細胞死を導く要因を検討する必要がある。

NHALE群の髄液albumin濃度が高いのは、血液脳関門の破綻によるものと推測している。2013年度研究で、末梢血albumin濃度は、対照より有意に低値で、発病日に向けて低下する傾向を認め、先行症状期から血液脳関門の破綻があり、albuminが血中から中枢神経系へシフトしていることを示唆している。NHALE発病予防には血液脳関門の保護も重要である。

E. 結論

不明熱症例では積極的に髄液検査を行い、髄液データの特徴をもとに、NHALE早期診断発症予測を試みる必要がある。

NHALEでは、末梢血、CNS中でリンパ球の細胞死が起こり、リンパ球等に発現するNMDA型GluRの断片化-抗原化-抗体産生が起こっているものと推測した。このリンパ球細胞死の過程をさらに検討し、脳炎への進展予防を可能にしたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Interaction between sulthiame and clobazam: Sulthiame inhibits the metabolism of clobazam, possibly via an action on CYP2C19, *Epilepsy & Behavior*, 2014; 34: 124-126.
2. Armangue T, Takahashi Y, et al., A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma. *Ann Neurol*. 2014; 75(3): 435-41. doi: 10.1002/ana.23917.
3. Kimura N, Takahashi Y. et al., Brain perfusion SPECT in limbic encephalitis associated with autoantibody against

- the glutamate receptor epsilon 2. *Clin Neurol Neurosurg.* 2014; 118: 44-8. doi: 10.1016/j.clineuro.2013.12.006. Epub 2013 Dec 27.
4. Yamaguchi Y, Takahashi Y, et al., Multifocal Encephalopathy and Autoimmune-mediated Limbic Encephalitis Following Tocilizumab Therapy. *Intern Med.* 2014; 53(8): 879-882.
 5. Mayumi Ueta, Yukitoshi Takahashi, et al., Independent strong association of HLA-A*02:06 and HLA-B*44:03 with cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome with severe mucosal involvement, *Scientific Reports*, 2014 Apr 30;4: 4862. doi: 10.1038/srep04862.
 6. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Neuronal Antibodies in Creutzfeldt-Jakob Disease, *JAMA Neurology*, 2014; 71(4): 514. doi:10.1001/jamaneurol.2014.27.
 7. Kazuyuki Inoue, Takahashi Yukitoshi, et al., Influence of Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 2B7 -161C>T Polymorphism on the Concentration of Valproic Acid in Pediatric Epilepsy Patients, *Therapeutic Drug Monitoring*, 2014; 36: 406-409.
 8. Wen-Hung Chung, Yukitoshi Takahashi, et al., Genetic Variants Associated With Phenytoin-Related Severe Cutaneous Adverse Reactions, *JAMA.* 2014; 312(5): 525-534. doi:10.1001/jama.2014.7859.
 9. Rumiko Takayama, TYukitoshi Takahashi, et al., Long-term course of Dravet syndrome: a study from an epilepsy center in Japan, *Epilepsia*, 2014; 55 (6): 942-943.
 10. Kengo Moriyama, Yukitoshi Takahashi, et al., Another case of respiratory syncytial virus-related limbic encephalitis, *Neuroradiology* 2014; 56 (5): 435-436. DOI 10.1007/s00234-014-1350-2.
 11. Kazuyuki Inoue, Yukitoshi Takahashi, et al., 4217C>A polymorphism in carbamoyl-phosphate synthase 1 gene may not associate with hyperammonemia development during valproic acid-based therapy, *Epilepsy Research*, 2014; 108(6): 1046-1051.
 12. Sakakibara E, Takahashi Y, et al., Chronic periodic lateralised epileptic discharges and anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. *Epileptic Disord. Epileptic Disord.* 2014; 16(2): 218-222. doi: 10.1684/epd.2014.0655
 13. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Impact of cytochrome P450 inducers with or without inhibitors on the serum clobazam level in patients with antiepileptic polypharmacy, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2014; 70 (10): 1203-1210.
 14. Takeshi Kondo, Yukitoshi Takahashi, et al., Limbic encephalitis-associated relapsing polychondritis responded to infliximab and maintained its condition without recurrence after discontinuation -a case report and review of the literature, *Nagoya journal*, 2014; 76(3-4): 361-368.
 15. Nobusuke Kimura, Yukitoshi Takahashi, et al., Developmental outcome after surgery in focal cortical dysplasia patients with early-onset epilepsy, *Epilepsy Research*, 2014; 108(10): 1845-1852.
 16. Hayata Y, Takahashi Y. et al., Anti-glutamate epsilon 2 receptor antibody positive and anti-NMDA receptor antibody negative lobar encephalitis presenting as global aphasia and swallowing apraxia. *Case Rep Neurol*, 2014; 6: 291-296.
 17. Kazushi Miya, Yukitoshi Takahashi, Hisashi Mori, Anti-NMDAR autoimmune encephalitis, *Brain & Development*, 2014; 36(8): 645-652.
 18. Hiroyuki Fujita, Y. Takahashi, et al., The serum level of HMGB1 (high mobility group box 1 protein) is preferentially high in drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms, *British Journal of Dermatology*, 2014 Dec;171(6):1585-1588. doi: 10.1111/bjd.13162. Epub 2014 Oct 27.
 19. Chiba Yuhei, Takahashi Yukitoshi, et al., Lymphopenia Helps Early Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus for Patients with Psychosis as an Initial Symptom, *Psychosomatics*, in press, 2013 Sep 23. doi:pil: S0033-3182(13)00136-9. 10.1016/j.psym.
 20. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Individualized phenytoin therapy for pediatric Japanese epilepsy patients based on CYP2C9 and CYP2C19 genotypes, *Therapeutic Drug Monitoring*, in press.
 21. Takahiro Furukawa, Yukitoshi Takahashi, et al., Increased proinflammatory cytokines in sera of patients with multifocal motor neuropathy, *J Neurol Sci.* 2014 Aug 4. pii: S0022-510X(14)00505-X. doi: 10.1016/j.jns.2014.07.059.
 22. Hiroshi Sakuma, Yukitoshi Takahashi, et al., Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in febrile infection related