

201510020A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

「先天性 GPI 欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：

発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」

平成27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村上良子

平成28（2016）年5月

目 次

I. 総括研究報告

- 「先天性 GPI 欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」に関する研究-----1
村上 良子

II. 分担研究報告

1. 先天性 GPI 欠損症の疾患マーカーの検索
診療ガイドラインの作成と臨床情報のデータベース化----- 5
井上 徳光
2. 先天性 GPI 欠損症の疾患マーカーの検索：血清 GPI アンカー蛋白
----- 8
高橋 幸利

III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----13

IV. 研究成果の刊行物・別刷-----16

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
総括研究報告書

「先天性GPI欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：
発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」に関する研究

研究代表者 村上良子 大阪大学微生物病研究所 准教授

研究要旨

原因不明の精神発達障害や難治性てんかん患者の中から先天性 GPI 欠損症 (Inherited GPI Deficiency, IGD) が見つかっている。診断が確定すればビタミン B6 (ピリドキシン) による治療が奏効する可能性があるため、早期の的確な診断が重要である。末梢血のフローサイトメトリー検査でのスクリーニングと GPI 生合成に関連する遺伝子のターゲットシークエンスや全エクソーム解析による IGD の診断システムを確立し、診療ガイドラインを完成させて日本小児神経学会のホームページに公開している。疾患ホームページの日本語版、英語版が完成したので、国内外で疾患の周知に努めたいと考えている。さらに REDCap を使った疾患データベースが完成し、さらなる症例の集積と患者情報の収集を進め、より鋭敏な疾患マーカーを見つけて的確な診断に役立てることを目指している。

研究分担者

井上徳光 地方独立行政法人大阪府立病院機構
大阪府立成人病センター研究所腫瘍免疫学部門
長
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 副院長

A. 研究目的

GPI (Glycosylphosphatidylinositol) アンカーは 150 種以上の蛋白質を細胞膜に繋ぐ糖脂質でその生合成と修飾に 27 個の遺伝子が必要である。これらの遺伝子に変異があると重要な機能を担う種々の GPI アンカー型蛋白質(GPI-AP)の細胞膜上の発現が低下、あるいはアンカーの構造が異常となり、精神発達障害やてんかん、時に高アルカリホスファターゼ (ALP) 血症を来す。また重症例では脳の形成異常、聴覚障害等の神経症状、顔貌異常、四肢、心臓、腎・尿路系の奇形、鎖肛・ヒルシュスプルング病等の腸管奇形、魚鱗癬等広範な症状を示す。本研究班ではまず、

このように新しい疾患である先天性 GPI 欠損症 (IGD) の疾患概念を確立し診断基準・診療ガイドラインを作成する。また効率的な診断システムを確立し、診断が確定すれば、匿名化した上で疾患データベースに患者情報を集積して情報を共有し今後の診断に役立てる。ビタミン B6 (ピリドキシン) の投与が難治性てんかんに著効する症例があるので早期の的確な診断が重要である

B. 研究方法

(1) 患者の診断と患者情報の収集

精神発達障害、てんかんと特徴的な奇形や高 ALP 血症を伴う患者の末梢血を正常コントロール血とともに送付してもらい、フローサイトメトリー検査で顆粒球における GPI アンカー型タンパク質の発現を確認する。CD16b の発現低下が見られれば、IGD の診断は確定する。責任遺伝子同定の為に末梢血から抽出したゲノムを用いて GPI 関連遺伝子のターゲットエクソームシ

ークエンس、あるいは横浜市立大学の遺伝子解析拠点班と連携して全エクソームシーケンズを行った。さらに患者情報の集積の為に現在大阪大学未来医療開発センターと共同して、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を使ったデータベースの構築を前年度から開始している。

(2) 診療ガイドライン、疾患ホームページの作成、患者会の設立

国内患者の詳細な観察をもとに昨年度の班会議で診療ガイドラインの草稿を作成したが、それをもとに今年度完成させ、日本小児神経学会のホームページに掲載している。また昨年度日本語版が完成した疾患ホームページに新たに英語版を加えて公開しており、メールで問い合わせる海外の研究者や IGD 患者の保護者などに周知を努めている。ホームページには診療ガイドラインを掲載し、今までに明らかになったことを一般向けと医療関係者向けに分けてわかりやすく紹介し、新しい疾患である IGD を特に一般臨床医に広く周知するため正確な情報を発信している。昨年 10 月には第 1 回患者会を開催した。

(倫理面への配慮)

診断に遺伝子解析を伴うので、大阪大学におけるヒトゲノム倫理委員会に申請し承認されている。遺伝子診断に伴う利益、不利益などにつき書面提示し、患者の保護者に対して説明し同意を得た。また、診断や結果に対して、不安が生じた場合は、遺伝カウンセリングを提供できる体制を整えており、いつでも相談できる旨を併せて説明した。動物実験についても研究機関に計画書を提出し承認されている。

C. 研究結果

(1) 患者の診断と患者情報の集積

今年度は国内から 61 例のフローサイトメトリー解析を行い、5 人で CD16 の明らかな低下を認め、IGD と診断した。現在横浜市立大学にて全エクソーム解析を施行中であるが、まだ責任遺伝子が判明していない。また日本の症例を含めた海外との共同研究により世界で初めて PIGG 欠損症を報告した。PIGG 欠損症は早期発症型てんかん性脳症の症例から見つかっている。PIGG は GPI アンカーの 2 番目のマンノースにエタノールアミンを付加する酵素であるが、このエタノールアミンがなくても反応が進み、後にこのエタノールアミンが除かれるステップがあるため PIGG ノックアウトの培養細胞では GPI アンカー型タンパク質は細胞表面に正常量、かつ正常の構造で発現することがわかっている。そのため今まで PIGG が担うステップの役割が不明であった。しかし患者が発見されたことで、この遺伝子に変異が起ると重篤な発達異常やけいれんがおこることが明らかになり、神経発達に重要な働きをしていることがわかった。また最近では GPI pathway 以外の遺伝子変異による IGD も見つかっており、他の疾患とオーバーラップする症例も今後見つかってくると考えられる。多くの症例を集積してその特徴を詳細に観察することが重要である。患者情報の集積については大阪大学未来医療開発センターと共同して、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を使ったデータベースが完成し、運用を始めている。現在英語版を作製中で、海外症例も含める予定である。

(2) 診療ガイドライン、疾患ホームページの作成

診療ガイドラインが完成し、日本小児神経学会のホームページに掲載している。また昨年度日本語版が完成した疾患ホームページに新たに英語版を加えて公開している。

(<http://igd.biken.osaka-u.ac.jp/>)

D. 考察

疾患ホームページを作成したので、そこで多くの臨床医に IGD の診療ガイドラインを示すことにより、多くの原因不明の疾患からスクリーニングにより IGD を抽出することが可能になる。さらには遺伝子解析に至る前にベッドサイドでより正確に診断する為に新規の疾患マーカーを検索する必要がある。リン酸化のないビタミン B6 (ピリドキシン) の投与がけいれん発作に著効する症例があり、神経発達にも効果がある可能性がある。IGD の神経症状は生後も進行性で早期治療により症状の軽減が期待されるので、早期の的確な診断が重要である。

E. 結論

先天性 GPI 欠損症 (IGD) は新しい疾患であるが最近原因不明の運動発達障害や難治性てんかんの症例の中から次々と見つかっている。末梢血のフローサイトメトリーでスクリーニングが可能であり、遺伝子解析で変異遺伝子を同定し、機能解析で確認できる系がある。またビタミン B6 (ピリドキシン) の投与がけいれん発作に著効する症例がある。早期診断・早期治療を実現する為にベッドサイドでの鋭敏な疾患マーカーの検索と、新たな治療法の開発が重要である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Makrythanasis P, Kato M, Zaki MS, Saitou H, Nakamura K, Santoni FA, Miyatake S, Nakashima M, Issa MY, Guipponi M, Letourneau A, Logan CV, Roberts N, Parry DA, Johnson CA, Matsumoto N, Hamamy H, Sheridan E, Kinoshita T, Antonarakis SE, Murakami Y. Pathogenic Variants in PIGG Cause Intellectual Disability with Seizures and Hypotonia. Am J Hum Genet. 2016 Apr 7;98(4):615-26
- Nakagawa T, Taniguchi-Ikeda M¹, Murakami Y¹, Nakamura S, Motooka D, Emoto T, Satake W, Nishiyama M, Toyoshima D, Morisada N, Takada S, Tairaku S, Okamoto N, Morioka I, Kurahashi H, Toda T, Kinoshita T, Iijima K. A novel *PIGN* mutation and prenatal diagnosis of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. Am J Med Genet A. 2016 Jan;170(1):183-8.¹Correspondence
- Ilkovski B, Pagnamenta AT, O'Grady GL, Kinoshita T, Howard MF, Lek M, Thomas B, Turner A, Christodoulou J, Sillence D, Knight SJ, Popitsch N, Keays DA, Anzilotti C, Goriely A, Waddell LB, Brilot F, North KN, Kanzawa N, Macarthur DG, Taylor JC, Kini U, Murakami Y, Clarke NF. Mutations in *PIGY*: expanding the phenotype of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiencies. Hum Mol Genet. 2015 Nov 1;24(21):6146-59.
- Hirata T, Fujita M, Nakamura S, Gotoh K, Motooka D, Murakami Y, Maeda Y, Kinoshita T. Post-Golgi anterograde transport requires GARP-dependent endosome-to-TGN retrograde transport. Mol Biol Cell. 2015 Sep 1;26(17):3071-84.
- Bosch DG, Boonstra FN, Kinoshita T, Jhangiani S, de Ligt J, Cremers FP, Lupski JR, Murakami Y, de Vries BB. Cerebral visual impairment and intellectual disability caused by *PGAP1* variants. Eur J Hum Genet. 2015 Dec;23(12):1689-93.
- Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kanno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita T, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in *PIGL* in a patient with Mabry

syndrome. Am J Med Genet A. 2015
Apr;167A(4):777-85.

2. 学会発表

- 第43回日本小児神経学会東海地方会 特別
講演 2015年8月1日
「先天性 GPI アンカー欠損症—精神運動発達
遅滞とてんかんを主症状とする新しい疾患—」
- FASEB Summer Research Conference “Protein
Lipidation, Signaling, and Membrane Domains”
「Inherited GPI deficiency」 Saxtons River,
Vermont, USA, July 21, 2015
- 第57回日本小児神経学会学術集会 特別
企画 2015年5月29日
「先天性 GPI 欠損症：てんかん・知的障害を
主症状とする新しい疾患」
- 第118回日本小児科学会学術集会 教育講演
2015年4月17日
「先天性 GPI 欠損症：知的障害・てんかんを
呈する新しい疾患」
- 第52回日本補体学会学術集会 優秀賞 2015
年8月16年間延べ121回にわたる反復性無菌性
髄膜炎にPIGT変異によるPNHを合併し
Eculizumabが著効した一例 その2 分子メ
カニズム

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

Ⅱ. 分担研究報告

「先天性 GPI 欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：
発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」に関する研究

先天性 GPI 欠損症の疾患マーカーの検索
診療ガイドラインの作成と臨床情報のデータベース化

研究分担者 井上 徳光 地方独立行政法人大阪府立成人病センター研究所

研究要旨

先天性 GPI 欠損症 (IGD) のてんかん発作のコントロールに、ビタミン B6 が有効である症例があるため、原因不明の知的障害やてんかんを持つ患者から、IGD を鑑別診断する事は極めて重要である。今回、私たちは、研究代表者のグループと協力して、ホームページ作成による疾患の啓発、疾患データベースの構築、第 1 回患者の会を行った。また、遺伝子診断や好中球膜表面の GPI アンカー型タンパク質の発現低下以外の患者スクリーニングとして効果的な診断マーカーの探索を行った。

A. 研究目的

今まで原因不明とされてきた知的障害、運動発達障害、てんかんをきたす疾患から、先天性 GPI 欠損症 (IGD) を鑑別診断することは、ビタミン B6 投与が、少なくとも一部の IGD の難治性てんかん発作のコントロールに極めて有効な症例がある事から、重要である。しかし、IGD の原因遺伝子としての候補遺伝子が少なくとも 27 遺伝子存在するにもかかわらず、未だ、遺伝子異常の見つかっていない GPI 生合成関連遺伝子もあり、私たちのこれまでの取り組みによって急増してはいるが、未だ診断されず、てんかん発作がコントロールできずに苦しんでいる患者が存在すると予想される。また、これらの症例を早期に診断する事により、発達の遅れを軽減または回復させる可能性もある。約 150 種類の GPI アンカー型タンパク質が知られており、異常な GPI アンカー型タンパク質の種類、発現の低下の程度、GPI 生合成のステップによって、

IGD は、知的障害、けいれんや運動発達障害に加えて、多様な症状を呈していると考えられる。また、その多様な症状を持つ上、症例数が限られるため、多くの知的障害、てんかんや運動発達障害をきたす疾患から、IGD を見つけ出すのは、容易ではない。そこで、私たちは、研究代表者と共に、IGD に遭遇する多くの小児科医に本疾患を知ってもらおうと共に、簡単にスクリーニングしたり、鑑別する方法を開発する事を目的とする。そのためには、よりよい診断マーカーの探索が重要である。FACS 解析は確実であるが、正常と比較して低下が微妙である事も多く、また、常に正常コントロールが必要となることや、好中球で測定するため、安定性に問題もある。GPI アンカー型タンパク質の細胞表面の発現が低下しない IGD も存在する。血清アルカリホスファターゼは、乳幼児では、年齢による変化が大きく、また、骨疾患など他の疾患でも上昇するため、より効果的な診断マーカーが必要

である。さらに、IGD 原因遺伝子の関わる生合成ステップによっては、血清アルカリホスファターゼに変化が無い事もあり、それらを疑う事のできる診断マーカーが必要となる。

そこで、今回、研究代表者と協力して、広く医師への IGD の啓発活動および有効な診断マーカーの探索を行った。

B. 研究方法

(1) IGD の啓発への取り組み

大阪府立成人病センター研究グループは、広く本疾患を医師に知ってもらうために、研究代表者と協力して、ホームページの充実、診断ガイドラインの日本小児神経学会への承認申請、大阪大学小児科と共同で、患者の会の開催に向けての計画をおこなった。

(2) 新規診断方法の開発

新規診断マーカー候補として、リン酸化および脱リン酸化ビタミン B6 の末梢血および髄液中の量、ビタミン B1 を補酵素とする酵素活性低下による代謝産物の変化、還元型葉酸代謝産物の髄液中での量が、診断や治療効果のマーカーとなる可能性がある。そこで、研究代表者と共同で、北海道医療大学の小林大祐先生、島根大学医学部の山口清次先生、岡山大学の秋山倫之先生と共同で、これらの物質の中で有効なマーカーを検索した。さらに、正常範囲に幅がある血清アルカリホスファターゼに代わる、よりの確な診断マーカーが必要なため、すでに、臨床検査で使用されている検査のうち GPI アンカー型蛋白を検索し、その測定を行った。

(倫理面への配慮)

当センター研究所と併設の病院に患者が受診する事は無く、直接患者の個人情報を取扱う事は無いが、同定された IGD 原因遺伝子の解析を行うため、当センターの倫理審査委員会遺伝子部

会に倫理申請を行い、本研究がヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき行われる研究計画である事が審査され、承認された。

C. 研究結果

(1) IGD の啓発への取り組み

大阪府立成人病センター研究グループは、研究代表者と共同で、IGD を多くの医師に知ってもらい、患者の情報を集めるために、ホームページを公開した。さらに、作製した診療ガイドラインを日本小児神経学会で承認していただき、日本小児神経学会のホームページでも公開した。また、大阪で、第 1 回患者の会を大阪大学小児科のグループと開催し、患者家族と交流した。Web 上で患者情報を入れられるよう大阪大学未来医療開発部データセンターと、REDCap システムサービスを利用して作製し、臨床データや遺伝子異常を入力できるシステムを構築した。2016 年度には、情報を蓄積できるようになると考えられる。

(2) 新規診断方法の開発

研究代表者や共同研究者と共同して、遺伝子変異が同定され GPI 欠損症と確定診断された症例、GPI アンカー型蛋白の発現低下が検出された症例、その他、GPI 欠損症が疑われたが GPI 欠損症ではないと考えられた症例に関して、ビタミン B1 欠乏による酵素活性の低下により、異常となる尿中代謝産物の測定、リン酸化および脱リン酸化ビタミン B6 の血漿中濃度の測定、活性型葉酸代謝産物濃度測定を行い、解析した。また、腫瘍マーカーとして知られる血清 CEA 濃度を測定した。これらのマーカーのうち、症例によっては、異常値を示す症例があったが、まだ、症例数が少なく、ビタミン B1, B6, 葉酸に関して、有効なマーカーになるかは結論を出す事はできないため、更なる症例数の蓄積が必要である。また、血清中の CEA が新たな診断マ

カーとなる可能性があるが、やはり同様に症例の蓄積が必要である。

D. 考察

ホームページの公開などの啓発活動により、症例は、確実に集まってきているが、まだまだ、発達障害やけいれんをきたす疾患から IGD 患者を選び出す事は難しい。それ故、もう少し、大掛かりな調査研究が必要と考えられた。そのため、よりよい診断マーカーの確立も必要である。今後、CEA 等の測定、GPI アンカー型タンパク質の発現解析のシステムの構築することにより IGD 患者の収集の効率を高めたい。また、海外も含めた国際データベースに発展させたい。

E. 結論

大阪大学に既にデータベースも構築し、今後は、より広い症例の中からスクリーニングし、新規患者を同定する。また、大阪大学小児科や静岡てんかん・神経医療センターと協力して、ビタミンの補充療法の臨床研究に協力していきたい。

代謝マーカーに関しては、症例数がまだ少なく、現在まだ有効性の判断はできないが、新たなマーカーも含め、網羅的で大規模スクリーニングが必要であると考えられる。それ故、患者及びマウスモデルを利用して、代謝プロファイルングを行い、よいマーカーを探索したい。

G. 研究発表

1. 論文発表

●Roy, N., Ohtani, K., Matsuda, Y., Mori, K., Hwang, I., Suzuki, Y., Inoue, N., Wakamiya, N. Collectin CL-P1 utilizes C-reactive protein for complement activation. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1860(6): 1118-1128

●Nakanishi, K., Kukita, Y., Segawa, H., Inoue, N., Ohue, M., and Kato, K. Characterization of the T cell receptor beta chain repertoire in tumor infiltrating lymphocytes *Cancer Medicine in press*

2. 学会発表

- 赤澤隆、井上徳光 Development of bacteria-mimicked tumor cell vaccine modified with engineered TLR2 ligands 第19回に本がん免疫学会総会 2015.7.9-11 東京
- 井上徳光 がん微小環境における免疫変調メカニズム 第26回日本生体防御学会学術総会 2015.7.10-12 東京 (シンポジスト)
- 井上徳光、赤澤隆 Complement Receptor 4 (CR4) を介した樹状細胞ターゲット抗がんアジュバントの更なる改変 第52回補体シンポジウム 2015.8.21-22, 名古屋
- 村上良子、井上徳光、川本未知、村瀬翔、吉村元、幸原伸夫、木下タロウ. 16年間延べ121回にわたる反復性無菌性髄膜炎に PIGT 変異による PNH を合併した Eculizumab が奏効した1例 その2分子メカニズム 第52回補体シンポジウム 2015.8.21-22, 名古屋

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

「先天性 GPI 欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：
発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」 に関する研究

先天性 GPI 欠損症の疾患マーカーの検索:血清 GPI アンカー蛋白

研究分担者 高橋 幸利

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター副院長

研究要旨

先天性 Glycosylphosphatidylinositol (GPI) 欠損症の効率的なスクリーニング・診断システムを確立するために、血清 GPI アンカー型蛋白質(GPI-AP)の中で診断マーカーとなる GPI-AP を検討した。

測定した蛋白は神経系に発現する蛋白として Cadherin-13、Contactin-4、Ephrin-A4、Oligodendrocyte-myelin glycoprotein、Reticulon-4 receptor-like 2 を、免疫系等末梢蛋白として Semaphorin-7A、Folate receptor β 、Hyaluronidase-2、Integrin β -1 を選択し、それぞれ ELISA にて測定した。患者 9 例の血清 10 検体 (PIGA 欠損症、1 例；PIGL 欠損症、3 例 4 検体；PIGW 欠損症、1 例；PIGO 欠損症、4 例) を測定し、疾病対照は、周産期障害などを原因とするてんかん症例 (25 例、0.7 歳-26 歳) の血清を用い、疾病対照の平均+2SD 以上を高値とした。

Folate receptor β は、先天性 GPI 欠損症の全例で高値であった。Semaphorin-7A と Ephrin-A4 は、PIGL の 2/4 例で高値、Hyaluronidase-2 と Contactin-4 は、PIGL の 1/4、PIGO の 2/4 例で高値であった。Contactin-4 は PIGA の 1/1 例で高値、Integrin β -1 は、PIGL の 2/4 例で高値であった。

血清 Folate receptor β は PIGA、PIGL、PIGW、PIGO 欠損症の全検体で平均+ 2 SD 以上の高値をとり、感度が 100% で先天性 GPI 欠損症のスクリーニングに有用と思われた。

A. 研究目的

Glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカーは、150 種以上の蛋白質を細胞膜に繋ぐ糖脂質で、その合成と修飾に 27 個の遺伝子が必要である。GPI アンカー型蛋白質(GPI-AP)の細胞膜上の発現が低下すると、精神発達遅滞、てんかん、緊張異常、不随意運動、四肢の奇形、血栓症など広範な臨床症状が出現することが分かってきて、先天性 GPI 欠損症として認知されるようになり、14 疾患 97 例の報告がある。

先天性 GPI 欠損症の中には重度の発達遅滞・難治てんかんを呈する症例が多く含まれるが、

ビタミン B6、ビタミン B1、活性化葉酸（ホリナート）補充療法の有効性が推測されている疾患もあり、早期診断・治療による予後改善が期待されている。

現在、先天性 GPI 欠損症のマーカーとなりうる血清 GPI-AP としては、アルカリホスファターゼ (ALP) が知られているが、先天性 GPI 欠損症全例で ALP が上昇する訳ではなく、時期変動も大きく、小児期では対照でも比較的高値のため、感度・特異度が低い。我々は、先天性 GPI 欠損症診断スキームを確立するため、より感度・特異度に優れる血清 GPI-AP を見つけるため

に、血清 GPI-AP の測定を、患者および疾病対照の血清で行った。

B. 研究方法

GPI-AP として知られている 136 種類の GPI-AP 中から主に神経系に発現する蛋白として Cadherin-13 (細胞骨格再構成に関与し、心、大血管、神経細胞、脊髄などに発現)、Contactin-4 (神経発生における軸索の接合に関与し、胎児期脳、心、末梢血などに発現)、Ephrin-A4 (神経系発生、赤血球発生に関与し、前立腺、心、樹状細胞などに発現)、Oligodendrocyte-myelin glycoprotein (神経突起伸長抑制に関与し、視床下部、前頭葉、後頭葉などに発現)、Reticulon-4 receptor-like 2 (軸索損傷後の再生を阻害、脳内の学習と記憶のプロセスを強化する、大脳、小脳、心、腎などに発現) を選択した。免疫系等末梢発現優位の蛋白として Semaphorin-7A (免疫セマフォリン分子で、活性化リンパ球、延髄、大脳などに発現)、Folate receptor β (葉酸受容体 \rightarrow 葉酸による DNA 合成促進に関与し、胎盤、心、肺、骨髄、胸腺、単球由来の細胞などに発現)、Hyaluronidase-2 (ヒアルロン酸分解 \rightarrow 組織透過性高進に関与し、肺、心、などに発現)、Integrin β -1 (細胞-細胞外マトリックスの接着、細胞-細胞の接着に関与し、リンパ球、血小板、肺、腎、精囊などに発現) を選択した。

血清蛋白測定は ELISA により、神経系蛋白は以下のキット、Cadherin-13 (CSB-E13817H、CUSABIO, Hubei, China)、Contactin-4 (SEB210HU、USCN Life Science, Cologne, Germany)、Ephrin-A4 (SEE110HU、USCN Life Science, Cologne, Germany)、Oligodendrocyte-myelin glycoprotein (CSB-EL016334HU、CUSABIO, Hubei, China)、Reticulon-4 receptor-like 2 (CSB-EL020576HU、CUSABIO, Hubei, China) を用いた。免疫系等末梢発現優位の蛋白は、Semaphorin-7A (CSB-EL021000HU、CUSABIO, Hubei, China)、Folate receptor β (DY5697、R and

D systems, MN, USA)、Hyaluronidase-2 (CSB-EL010919HU、CUSABIO, Hubei, China)、Integrin β -1 (CSB-EL011880HU、CUSABIO, Hubei, China) を用いた。

先天性 GPI 欠損症 9 例の血清 10 検体 (PIGA 欠損症、1 例; PIGL 欠損症、3 例 4 検体; PIGW 欠損症、1 例; PIGO 欠損症、4 例) を測定した。疾病対照は周産期障害などを原因とするてんかん症例 (25 例、0.7 歳-26 歳) を選んだ。

(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、「てんかん・高アルカリフォスファターゼ血症・精神運動発達遅滞等を呈する患者における GPI アンカー型蛋白質の生合成および修飾に関わる遺伝子の変異の検索」及び「自己免疫介在性脳炎・脳症に関する多施設共同研究 201504」研究の承認を得たのち、患者同意を得た。

C. 研究結果

疾病対照血清では、Reticulon-4 receptor-like 2 は年齢とともに増加($p=0.0455$)、Hyaluronidase-2 は低下する傾向($p=0.0276$)があり、Cadherin-13 は全例感度以下であった。

疾病対照の平均+2SD以上を高値とすると、Folate receptor β は、PIGLの4/4、PIGOの2/4、PIGWの1/1、PIGAの1/1例で高値であり、4疾患で感度100%であった。Semaphorin-7AとEphrin-A4は、PIGLの2/4例で高値と、感度50%であった。Hyaluronidase-2とContactin-4は、PIGLの1/4、PIGOの2/4例で高値であった。Contactin-4はPIGAの1/1例で高値、感度100%であった。Integrin β -1は、PIGLの2/4例で高値であった。Cadherin-13とOligodendrocyte-myelin glycoproteinは、全例感度以下で、Reticulon-4 receptor-like 2は、全例平均+2SD以内であった。

D. 考察

先天性 GPI 欠損症の臨床症状には、発達遅滞、てんかん、特異顔貌などのある程度共通してみられる症状と、血栓症、爪や骨格の異常、難聴、

口蓋裂といった一部の酵素欠損症でのみみられる症状がある。このように症状は幅広く、多様性があるため、先天性 GPI 欠損症の臨床診断は難しい。さらに、末梢血顆粒球の CD59 などの細胞表面マーカーのスクリーニングで先天性 GPI 欠損症が疑われても、27 種類の亜型を臨床的に診断 (推測) することはほぼ困難である。そのため、現在では、臨床的に疑われる症例は末梢血顆粒球の表面マーカーの CD59 などの発現量でスクリーニングし、発現低下症例では、全エクソーム解析に進み、遺伝子診断されている。しかし、生きた細胞を研究施設に送らねばならない末梢血顆粒球の表面マーカーの解析に躊躇する臨床医が多いこともあって、診断症例数は増加が乏しい。

現在の全エクソーム解析に頼る診断スキームでは、診断確定までに数か月を待たねばならないこともある。先天性 GPI 欠損症を早期に診断し、ビタミン B6 や葉酸の治療を試みることは、予後改善につながる可能性があり、診断の迅速化は重要である。今回我々が検討した血清 GPI-AP の中で、Folate receptor β は PIGA、PIGL、PIGW、PIGO の全検体で平均+2SD 以上の高値をとり、感度が 100% で先天性 GPI 欠損症のスクリーニングに有用と思われた。臨床症状に血清 Folate receptor β のスクリーニングを加えることで、先天性 GPI 欠損症の確立が高まり、生きた細胞を送らねばならない末梢血顆粒球の表面マーカーの解析を積極的に依頼する臨床医が増加する可能性がある。

先天性 GPI 欠損症の検体が 9 例 10 検体と少なかったので必ずしも断定はできないが、血清 Folate receptor β 高値で PIGA、PIGL、PIGO、PIGW 欠損症が疑われ、Contactin-4 がさらに高値であると PIGA、PIGL、PIGO に絞られ、さらに Hyaluronidase-2 が高値であると PIGL、PIGO に絞られ、Ephrin-A4 と Integrin β -1 が高値であると、PIGL に絞られるというアルゴリズムが成立す

る。このように複数の GPI-AP のスクリーニングで亜型の診断も可能になるかもしれない。

血清の送付は比較的簡便で、スクリーニングの検体としては集めやすく、凍結保存もしやすく、海外からも輸送が可能である。その結果、全世界から、昔の保存検体もも含めて、効率よくスクリーニングできる可能性がある。今後は、症例を増やし、今回測定した以外の血清 GPI-AP の測定なども行い、病院レベルでスクリーニングができないか? 検討していきたい。

E. 結論

先天性 GPI 欠損症のスクリーニングの一つとして、GPI-AP である Folate receptor β の有用性を見出した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Norimichi Higurashi, Yukitoshi Takahashi, et al., Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy, *Seizure*, 2015; 27: 1-5.
2. Hiroshi Sakuma, Takahashi, et al., Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in febrile infection related refractory status epilepticus, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 2015; 86: 820-822.
3. Tetsuhiro Fukuyama, Yukitoshi Takahashi, et al., Semi-quantitative analyses of antibodies to N-methyl-D-aspartate type glutamate receptor subunits (GluN2B & GluN1) in the clinical course of Rasmussen syndrome, *Epilepsy Research*, 2015; 113: 34-43.
4. Amiko Hakuta, Yukitoshi Takahashi, et al., Reduction of IL-10 production by B cells in intractable toxic epidermal necrolysis, *J Dermatol*, 2015; 42(8): 804-808.
5. Kaori Morimoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Analysis of a child who developed abnormal neuropsychiatric symptoms after administration of oseltamivir: a case report, *BMC Neurol*. 2015; 15: 130. doi: 10.1186/s12883-015-0393-2.
6. Daisuke Kurita, Yukitoshi Takahashi, et al., Deterioration of clinical features of a patient with autism spectrum disorder after anti-NMDA-receptor encephalitis, *Psychiatry Clin Neurosci*. 2015; 69(8): 507. doi:

- 10.1111/pcn.12323.
7. Ryohei Takahashi, Yukitoshi Takahashi, et al., Determination of stiripentol in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Japanese Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences*, 2015; 41(9): 643-650.
 8. Takashi Hosaka, Yukitoshi Takahashi, et al., Opsoclonus associated with autoantibodies to glutamate receptors $\delta 2$, *Neurological Sciences*, 2015; 36(9): 1741-1742.
 9. Takahiro Furukawa, Yukitoshi Takahashi, et al., CSF cytokine profile distinguishes multifocal motor neuropathy from progressive muscular atrophy. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2015; 2(5): e138.
 10. Yoshiki Kawamura, Yukitoshi Takahashi, et al., Pathogenic role of human herpesvirus 6B infection in mesial temporal lobe epilepsy, *Journal of Infectious disease*, 2015; 212(7): 1014-1021.
 11. Shinsaku Yoshitomi, Yukitoshi Takahashi, et al., Three patients manifesting early infantile epileptic spasms associated with 2q24.3 microduplications, *Brain & Development*, 2015; 37(9): 874-879.
 12. Tomoyuki Saito, Yukitoshi Takahashi, et al., Brain FDG-PET reflecting clinical course of depression induced by systemic lupus erythematosus: two case reports, *Journal of the Neurological Sciences*, 2015; 358(1-2): 464-466.
 13. Morimoto K, Takahashi Y, et al., Analysis of a child who developed abnormal neuropsychiatric symptoms after administration of oseltamivir: a case report. *BMC Neurol.* 2015 Aug 5; 15: 130.
 14. Akiko Tamasaki, Yukitoshi Takahashi, et al., Effects of donepezil and serotonin re-uptake inhibitor on acute regression during adolescence in Down syndrome, *Brain & Development*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2015.06.006>.
 15. Akihiko Miyauchi, Yukitoshi Takahashi, et al., A case of anti-NMDAR encephalitis presented hypotensive shock during plasma exchange, *Brain & Development*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2015.10.009>.
 16. Hiroko Ikeda, Yukitoshi Takahashi, et al., Characteristic phasic evolution of convulsive seizure in PCDH19-related epilepsy, *Epileptic Disord*, in press.
 17. Mori T, Takahashi Y, et al., Usefulness of ketogenic diet in a girl with migrating partial seizures in infancy. *Brain & Development*, 2016 Jan 11. pii: S0387-7604(15)00280-6. doi: 10.1016/j.braindev.2015.12.012.
 18. Yuko Sato, Yukitoshi Takahashi, et al., Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures: Pathological findings and a new therapeutic approach using tacrolimus, *Brain & Development*, in press.
2. 学会発表
 1. Yukitoshi Takahashi, et al., Autoimmune-mediated Epilepsy in Children, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 2. Yukitoshi Takahashi, Photosensitivity in population & epileptic patients, The 17th Annual Meeting of Infantile Seizure Society, September 25-26, 2015, Tokyo.
 3. Takako Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Neurological complications of in-patients with exanthem subitum, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 4. Jun Mine, Yukitoshi Takahashi, et al., Clinical manifestations of non-herpetic acute limbic encephalitis in four pediatric cases, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 5. Hiromi Yamaguchi, Yukitoshi Takahashi, et al., A case of Hashimoto Encephalopathy with Grave's disease, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 6. Norimichi Higurashi, Yukitoshi Takahashi, Shinichi Hirose, Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 7. Kazuyuki Nakamura, Yukitoshi Takahashi, et al., A Case of Rapid-progressive Bilateral Rasmussen's Encephalitis, 13th Asian & Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN), May 14th to 17 th 2015. Taipei.
 8. Y. Yamamoto, Y. Takahashi, et al., Therapeutic drug monitoring for lamotrigine in pediatric epilepsy patients, The 12th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics Madrid, Spain, 27-30 June, 2015.
 9. Yukitoshi Takahashi, et al., Function of antibodies to n-terminal of GluN2B in vivo, The inaugural Asia-Pacific School of Neuroimmunology Meeting, August 30th 2015, Tokyo.
 10. Petrus J de Vries, Yukitoshi Takahashi, et al., TSC-Associated Neuropsychiatric Disorders

- (TAND): Baseline data from the TOSCA international disease registry, The Society for the Study of Behavioural Phenotypes 2015 conference, 4-5 September 2015. London.
11. Takeo Saito, Yukitoshi Takahashi, et al., Pharmacogenomics analysis identifies HLA-DRB1 as a risk for Lamotrigine-induced cutaneous adverse drug reactions in a Japanese population. The 2015 World Congress of Psychiatric Genetics, 16-20, Oct, 2015, Tronto.
 12. Mazereeuw-Hautier, Yukotoshi Takahashi, et al., Dermatological manifestations of TSC in TOSCA – TuberOus SCLerosis registry to increase disease Awareness, 11th European Association of Dermato-Oncology (EADO) Congress, 28-31 October, 2015, Marseille.
 13. Anna Jansen, Yukotoshi Takahashi, et al., TOSCA – TuberOus SCLerosis registry to increase disease Awareness: Second interim analysis results with a focus on neurologic manifestations, 20th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology, November 19-22, 2015, San Antonio.
 14. Yuhei Chiba, Yukitoshi Takahashi, et al., Four cases of probable dementia with Lewy bodies with anti N-methyl-D-aspartic acid type receptor antibodies, International Dementia with Lewy Bodies Conference 2015, December 1-4, 2015, Florida.
 15. Rima Nabbout, Yukotoshi Takahashi, et al., TOSCA – TuberOus SCLerosis registry to increase disease Awareness: Second Interim analysis results with a focus on epilepsy, 69th annual meeting of AES, Dec 4-8, 2015, Philadelphia.
 16. 高橋幸利、荒谷菜海、森達夫、東本和紀、吉富晋作、渡辺陽和、宮一志、今村淳、木村暢佑、美根潤、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、第118回日本小児科学会学術集会、2015年4月17日-4月19日、大阪。
 17. Yukitoshi Takahashi, Takashi Matsudaira, Hitoshi Nakano, Hirosato Nasu a, Hitoshi Ikeda, Kentaro Nakaoka, Yushi Inoue, Rumiko Takayama, Masayasu Oota, Immunological studies of blood from patients with CNS-symptom after human papillomavirus vaccination, 第57回日本小児神経学会、2015年5月28-30日、大阪。
 18. 高橋幸利、山口解冬、伊藤智城、九鬼一郎、白井大介、木村暢佑、保立麻美子、池上真理子、大谷早苗、向田壮一、那須裕郷、山崎悦子、秋山倫之、高山留美子、最上友紀子、大谷英之、池田浩子、久保田裕子、重松秀夫、今井克美、井上有史、難治性 West 症候群での新規抗てんかん薬治療効果：TPM&LEV、第8回日本てんかん学会東海北陸地方会、2015年7月11日、富山。
 19. 高橋幸利、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、平松宏実、井上有史、ウサギ抗ヒトNMDA型GluR抗体のマウス passive transfer 研究：記憶等の行動解析、第27回日本神経免疫学会学術集会、2015年9月15-16日、岐阜。
 20. 高橋幸利、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、平松宏実、井上有史、ウサギ抗ヒトNMDA型GluR抗体のマウス海馬遺伝子発現変化に及ぼす影響の解析、日本人類遺伝学会第60回大会、2015年10月14-17日、東京。
 21. 高橋幸利、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、平松宏実、井上有史、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎157例の検討：急性期治療と予後、第20回日本神経感染症学会、2015年10月22-23日、長野。
 22. 高橋幸利、太田晶子、井上有史、遠山潤、藤田浩史、西里ちづる、田中茂樹、長尾雅悦、白神浩史、金子英雄、澤井康子、West 症候群 NHO-Japan 342 ACTH cases study：初回 ACTH 短期・長期発作抑制効果、第49回日本てんかん学会、2015年10月29-11月1日、長崎。
 23. 小池敬義、高橋幸利、堀野朝子、小関直子、山口解冬、大星大観、木水友一、吉富晋作、大谷英之、池田浩子、今井克美、重松秀夫、鈴木保宏、村上良子、井上有史、PIGL 遺伝子異常による先天性 GPI 欠損症の1例、第64回静岡小児神経研究会、2015年11月14日、静岡。
 24. 高橋幸利、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、榎田かおる、井上有史、Rasmussen 症候群の早期診断・効果的免疫調節治療選択に向けた研究、てんかん治療研究振興財団第27回研究報告会、2016年3月5日、千里。
3. 書籍の刊行
該当なし。
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 - 2015年8月28日、NMDA型グルタミン酸受容体抗体による記憶障害モデルマウスの開発、発明者：高橋幸利⇒特願2015-168646、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
該当なし
 3. その他
該当なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Inoue, N., Kinoshita, T.	Pathogenesis of Clonal Dominance in PNH; Growth Advantage in PNH.	Kanakura, Y., Kinoshita, T., Nishimura, J.	Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria-From bench to bedside	Springer-Verlag	Tokyo	2016	In press
井上徳光	PNH型細胞のクローン性拡大の機序	金倉譲、西村純一	発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) ~遺伝子異常の解析から新規治療の臨床・開発まで~	医薬ジャーナル社	大阪	2016	69-82
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	アクチュアル脳・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	東京	2016	270-279
高橋幸利	診断 (免疫・その他の診断)		「てんかん白書」~てんかん医療・研究のアクションプラン				印刷中
高橋幸利	臨床研究 (小児期)		「てんかん白書」~てんかん医療・研究のアクションプラン				印刷中

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kanno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita T, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y.	Mutations in PIGL in a patient with Mabry syndrome.	Am J Med Genet A.	167A(4)	777-85	2015
Hirata T, Fujita M, Nakamura S, Gotoh K, Motooka D, Murakami Y, Maeda Y, Kinoshita T.	Post-Golgi anterograde transport requires GARP-dependent endosome-to-TGN retrograde transport.	Mol Biol Cell.	26(17)	3071-84	2015

Ilkovski B, Pagnamenta AT, O'Grady GL, Kinoshita T, Howard MF, Lek M, Thomas B, Turner A, Christodoulou J, Sillence D, Knight SJ, Popitsch N, Keays DA, Anzilotti C, Goriely A, Waddell LB, Brilot F, North KN, Kanzawa N, Macarthur DG, Taylor JC, Kini U, <u>Murakami Y</u> , Clarke NF.	Mutations in PIGY: expanding the phenotype of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiencies.	Hum Mol Genet.	24(21)	6146-59	2015
Bosch DG, Boonstra FN, Kinoshita T, Jhangiani S, de Ligt J, Cremers FP, Lupski JR, <u>Murakami Y</u> , de Vries BB.	Cerebral visual impairment and intellectual disability caused by PGAP1 variants.	Eur J Hum Genet.	23(12)	1689-93	2015
Nakagawa T, Taniguchi-Ikeda M ¹ , <u>Murakami Y</u> ¹ , Nakamura S, Motooka D, Emoto T, Satake W, Nishiyama M, Toyoshima D, Morisada N, Takada S, Tairaku S, Okamoto N, Morioka I, Kurahashi H, Toda T, Kinoshita T, Iijima K. (¹ Correspondence)	A novel <i>PIGN</i> mutation and prenatal diagnosis of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency.	Am J Med Genet A	170(1)	183-8	2016
Makrythanasis P, Kato M, Zaki MS, Saitsu H, Nakamura K, Santoni FA, Miyatake S, Nakashima M, Issa MY, Guipponi M, Letourneau A, Logan CV, Roberts N, Parry DA, Johnson CA, Matsumoto N, Hamamy H, Sheridan E, Kinoshita T, Antonarakis SE, <u>Murakami Y</u> .	Pathogenic Variants in PIGG Cause Intellectual Disability with Seizures and Hypotonia.	Am J Hum Genet.	98(4)	615-26	2016
Roy, N., Ohtani, K., Matsuda, Y., Mori, K., Hwang, I., Suzuki, Y., <u>Inoue, N.</u> , Wakamiya, N.	Collectin CL-P1 utilizes C-reactive protein for complement activation.	<i>Biochim Biophys Acta</i>	1860	1118-1128	2016
Nakanishi, K., Kukita, Y., Segawa, H., <u>Inoue, N.</u> , Ohue, M., and Kato, K.	Characterization of the T cell receptor beta chain repertoire in tumor infiltrating lymphocytes	<i>Cancer Medicine</i>			In press

Norimichi Higurashi, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Ayako Kashimada, Yuji Sugawara, Hiroshi Sakuma, Yuko Tomono, Takahito Inoue, Megumi Hoshina, Ruri Satomi, Masaharu Ohfu, Kazuya Itomi, Kyoko Takano, Tomoko Kirino, Shinichi Hirose	Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy.	Seizure	27	1-5	2015
Tetsuhiro Fukuyama, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yuko Kubota, Yukiko Mogami, Katsumi Imai, Yoshiyuki Kondo, Hiroshi Sakuma, Koji Tominaga, Hirokazu Oguni, Shigeo Nishimura	Semi-quantitative analyses of antibodies to N-methyl-D-aspartate type glutamate receptor subunits (GluN2B & GluN1) in the clinical course of Rasmussen syndrome.	Epilepsy Research	113	34-43	2015
Shinsaku Yoshitomi, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Mamiko Hotate Ishizuka, Tokito Yamaguchi, Akito Watanabe, Hirosato Nasu, Yuki Ueda, Hideyuki Ohtani, Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hideo Shigematsu, Yushi Inoue, Yoshihiro Tanahashi, Kaori Aiba, Hodaka Ohta, Shino Shimada, Toshiyuki Yamamoto	Three patients manifesting early infantile epileptic spasms associated with 2q24.3 microduplications.	Brain & Development	37(9)	874-879	2015
Mori T, Imai K, Oboshi T, Fujiwara Y, Takeshita S, Saitsu H, Matsumoto N, <u>Takahashi Y</u> , Inoue Y.	Usefulness of ketogenic diet in a girl with migrating partial seizures in infancy.	Brain & Development	Jan 11		2016
Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hitoshi Ikeda, Hideo Shigematsu, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yushi Inoue, Norimichi Higurashi, Shinichi Hirose	Characteristic phasic evolution of convulsive seizure in PCDH19-related epilepsy.	Epileptic Disord.	18	26-33	2016
<u>高橋幸利</u>	特別企画シリーズ：てんかんを分かり易く理解するための神経科学、6：免疫	てんかん研究	33	683-687	2016