

成人の急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究

研究分担者 亀井 聡 日本大学医学部 教授

神経細胞表面の受容体に対する抗体が関与した自己免疫性脳炎では早期の免疫療法の導入が推奨されており、適切な抗体診断に基づく迅速な患者の判別・治療介入により予後の向上が期待される。現在までに臨床応用可能な自己免疫性脳炎の診断と治療に対するバイオマーカーは確立されていない。自施設で患者血清・脳脊髄液に対してラット脳凍結組織を用いた免疫染色法（tissue based assay; TBA）により抗神経細胞表面抗体をスクリーニングする手法を確立した。TBAを用いて40例を超える脳炎患者の迅速抗体診断を実施した結果、本手法が自己免疫性脳炎の診断および治療効果判定に対するバイオマーカーとして利用可能と考えられた。

A．研究目的

神経細胞表面の受容体に対する抗体が関与した自己免疫性脳炎では早期の免疫療法の導入が推奨されており、適切な抗体スクリーニングに基づく迅速な患者の判別・治療介入により予後の向上が期待される。しかし、現在までに自己免疫性脳炎の診断と治療に対して臨床応用可能なバイオマーカーは確立されていない。自施設においてラット脳凍結組織を用いた免疫染色法（tissue based assay; TBA）により抗神経細胞表面抗体をスクリーニングする手法を確立し、本手法が自己免疫性脳炎の診断および治療効果判定に対するバイオマーカーとして利用可能であるかを検討した。

B．研究方法

自施設で脳炎（疑い患者、脳脊髄炎などの準じた病態を含む）と臨床診断され、本年度に同意の得られた全患者を迅速抗体スクリーニングの対象とした。患者から採取した髄液検体に対して、6 $\mu$ m厚のラット脳凍結組織切片を作製して、患者髄液中の自己抗体を一次抗体、ピオチン化抗ヒトIgG抗体を二次抗体として免疫染色を施行し、ABC法を用いて可視化した。免疫染色陽性例については、cell-based assay（CBA）法を用いて、特異抗原を特定し確定診断をした。さらに、陽性例に対しては、希釈倍率法を用いた抗体価定量法（immunoreactivity-oriented antibody titration）を用いて、抗体価の経時的追跡による治療効果判定が可能かを検討した。

（倫理面への配慮）

日本大学医学部附属板橋病院の臨床研究審査会（承認番号：RK-170711-04）動物実験審査会（承認番号：AP17M049）で承認を受けている。

C．研究結果

対象として集積した脳炎患者は41例であった。全例にTBAを施行した結果、陽性を12%（5/41例）に認めた。染色性はneuropil pattern 3例、cerebellar pattern 1例、astrocytic pattern

1例であり、CBAによりNMDA受容体抗体、GAD65抗体、AQP4抗体と各々確定診断を得た。スクリーニング結果判定までの中央値は3日（2-5日）であり、迅速な抗体診断が可能であった。また、NMDA受容体抗体陽性であった2例に対して経時的にimmunoreactivity-oriented antibody titrationで抗体価を追跡した結果、免疫療法による臨床症状の改善に伴い、抗体力価の低下を確認した。

D．考察

2007年Dalmauらにより、原因不明であった脳炎患者から新規の細胞抗原表面抗体である抗NMDA受容体抗体の関与する脳炎が報告された。現在までにAMPA受容体、GABA受容体を含む10種類に及ぶ自己抗体の関与する脳炎が報告されている。自施設での脳炎患者に対して施行中である前向き研究の中間報告から、本手法は結果判定までの所用時間が約3日程度と早期診断が可能であり、またNMDA受容体抗体に加えて、GAD抗体、AQP4抗体など神経細胞内抗体の検出も可能であった。治療経過に対する抗体力価の変化についても、治療バイオマーカーとして応用できる可能性があり、今後、さらに症例数を増やして検討していく予定である。

E．結論

TBAを用いた新規細胞表面抗体の網羅的スクリーニング及び抗体価測定は自己免疫性脳炎の診断および治療バイオマーカーになりうる。

F．研究発表

1. 論文発表

1. Morita A, Ishihara M, Kamei S, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K, Morishima T. Nationwide survey of influenza-associated acute encephalopathy in Japanese adults. *J Neurol Sci.* 399:101-107, 2019.
2. Toi T, Nomura Y, Kishino A, Shigihara S, Oshima T, Ishikawa H, Kamei S, Miy

- azaki H. Repeated Attacks of Dizziness Caused by a Rare Mitochondrial Encephalomyopathy. *J Int Adv Otol.* 14:157-160, 2018.
3. 亀井聡:【脳炎・脳症・脊髄症の新たな展開】単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン2017. *神経内科* 89:282-289, 2018.
  4. 森田昭彦, 亀井聡:【認知症トータルケア】代表的な認知症疾患 神経梅毒. *日本医師会雑誌* 147:S125-S126, 2018.
  5. 亀井聡:神経疾患治療ノート 脳膿瘍. *Clinical Neuroscience* 36:1110-1111, 2018.
  6. 亀井聡:【痛み関連の神経内科疾患】脳炎・ペインクリニック 39:1145-1156, 2018.
  7. 亀井聡:【ヘルペスウイルス感染症の最近の知見】単純ヘルペスウイルス 単純ヘルペス脳炎. *臨床と研究* 95:345-352, 2018.
  8. 亀井聡:中枢神経系の細菌感染症. *Neuroinfection* 22: 77-82, 2018.
  9. 小長谷正明, 橋本修二, 田中千枝子, 久留聡, 藤木直人, 千田圭二, 亀井聡, 祖父江元, 小西哲郎, 坂井研一, 藤井直樹:薬害スモン患者の現状と課題、発症年齢による比較. *厚生の指標* 65:35-42, 2018.
2. 学会発表
    1. 秋本高義, 横田優樹, 見附和鷹, 塩原恵慈, 齋藤磨理, 二宮智子, 南紘子, 原誠, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 相澤芳裕, 齋藤佑記, 門野越, 亀井聡. 自覚的異常感覚を呈する脳梗塞についての検討. 第59回日本神経学会学術大会, 札幌, 2018,5.
    2. 溝口知孝, 秋本高義, 横田優樹, 見附和鷹, 塩原恵慈, 南紘子, 石原正樹, 亀井聡. 延髄外側梗塞から延髄半側梗塞に進展した60歳代男性例. 第225回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2018,6.
    3. 江橋桃子, 秋本高義, 原誠, 森田昭彦, 中嶋秀人, 辻村隆介, 本間琢, 亀井聡. 第119回関東臨床神経病理懇話会, 東京, 2018,7.
    4. 原誠, 中嶋秀人, 秋本高義, 横田優樹, 江橋桃子, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 小川克彦, 亀井聡. 脳炎患者に対する抗神経細胞表面抗体の迅速スクリーニング診断. 第30回神経免疫学会学術集会, 郡山, 2018,9.
    5. 横田優樹, 江橋桃子, 原誠, 石原正樹, 森田昭彦, 中嶋秀人, 楠准, 亀井聡. 多発脳脊髄神経麻痺を呈した抗Gal-C抗体陽性ニューロパチーの50歳代男性例. 第226回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2018,9.
    6. 中嶋秀人, 原誠, 溝口知孝, 秋本高義, 横田優樹, 江橋桃子, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 亀井聡. 抗NMDA受容体脳炎の長期転帰患者アンケート調査. 第30回神経免疫学会学術集会, 郡山, 2018,9.
    7. 亀井聡. 次世代につなぐ脳炎の研究(会長講演). 第23回日本神経感染症学会総会・学術大会, 東京, 2018,10.
    8. 石原正樹, 横田優樹, 原誠, 南紘子, 森田昭彦, 後藤雄一, 西野一三, 亀井聡. 第37回日本認知症学会学術集会, 札幌, 2018,10.
  9. 亀井聡. 成人脳炎・脳症における対応ーガイドラインを中心にー(企画セッション12 急性脳炎・脳症への対応). 第52回日本てんかん学会学術集会, 横浜, 2018, 10.
  10. 石原正樹, 齋藤磨理, 秋本高義, 原誠, 塩田宏嗣, 亀井聡. 複合的要因のもとで発症し、頭痛の性状が変化して判明したRCVSによるクモ膜下出血の一例. 第46回日本頭痛学会総会, 神戸, 2018,11.
  11. 森田昭彦, 石原正樹, 亀井聡. 脳炎・脳症・脊髄炎の動向-シンポジウム4 インフルエンザ脳症成人例の解析. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018,11.
  12. 二宮智子, 石川晴美, 秋本高義, 塩田宏嗣, 中嶋秀人, 亀井聡, 渡邊裕樹, 林伸一, 神宝知行, 本村正勝. 3,4-DAPが奏効し癌治療を継続しえたクリーゼを伴うLambert-Eaton筋無力症候群合併肺小細胞癌の1例. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018,11.
  13. 溝口知孝, 原誠, 森田昭彦, 中嶋秀人, 亀井聡, 渡邊美帆, 櫻井健一. 歩行失調を契機に乳癌の再発が診断されたZic4抗体陽性の80歳代女性例. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018,11.
  14. 秋本高義, 溝口知孝, 原誠, 畑中善成, 阿部雅紀, 斉藤友衣子, 内山真, 亀井聡. 支離滅裂な独語を呈し辺縁系脳炎と鑑別を要した甲状腺クリーゼの20歳台女性例. 第227回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2018,12
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし
  3. その他 なし