

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する自己免疫性脳炎の迅速診断法としてラット脳凍結組織を用いた免疫染色法（tissue based assay; TBA）を用いた抗神経細胞表面抗体スクリーニング法を開発した。本法は NMDA 受容体抗体以外の細胞表面抗体も検出することが可能であり、自己免疫性脳炎のスクリーニングと治療効果判定に極めて有用なバイオマーカーである。このほか、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成と、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のための 3 次元画像構築ソフトウェア（Ziostation）を用いた骨病変同定法を開発した。

#### A．研究目的

エンテロウイルス感染症に伴う髄膜炎や脳脊髄炎と鑑別を要する病態として、エンテロウイルス以外のウイルスや細菌、結核菌、真菌、急性散在性脳脊髄炎などの感染因子によるもの、他、全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群などの膠原病、橋本病などの自己免疫疾患、傍腫瘍性神経症候群、自己免疫介在性脳炎などが挙げられる。これらの疾患の診断は一般臨床家にとって決して容易なものではないが、一方で適切な治療介入が転帰の改善に貢献することから、診断のための指針の構築やバイオマーカーやデバイスなどのツールの開発が急務である。

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ため、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。

このほか、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成と、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のための3次元画像構築ソフトウェア（Ziostation）を用いた骨病変同定法を開発した。

#### 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、6μm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、ビオチン化抗ヒト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るため、さらに症例数を増やして検討していく予定である。

単純ヘルペス脳炎はウイルス感染による急性脳炎の中で最も多く無治療での死亡率がきわめて高いことから単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインを作成した。日本医療機能評価機構 EBM 普及推進事業 Minds のガイドラインの

作成基準に準拠し、Clinical Question とそれに対する回答という形式で作成した。日本神経感染症学会、日本神経学会、日本神経治療学会の利益相反 (COI) 運用規程に基づき、適切な COI マネージメントのもとに作成した。単純ヘルペス脳炎の疫学、転帰・後遺症、症状・症候、検査、単純ヘルペスウイルスの遺伝子診断、感受性遺伝子の検索、鑑別診断、治療に関して、24 のクリニカルクエスチョンを作成した。特に治療に関しては、エビデンスレベルに基づく推奨グレードを示した。単純ヘルペス脳炎と臨床診断された患者への初期対応 (フローチャート) を示した。単純ヘルペス脳炎の転帰不良の要因の一つとして「適切な抗ウイルス薬の投与の遅れ」が指摘されており、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの開発は、救急の現場で対応する第一線の一般医が臨床症状から脳炎を疑った場合に単純ヘルペス脳炎を早期に疑うことの重要性を啓蒙周知することに役立つと考える。このガイドラインが示す単純ヘルペス脳炎と臨床診断された患者への初期対応 (フローチャート) は、臨床症状から脳炎が疑われる患者に対する治療の指針を示している。早期診断と早期治療 (急性脳炎と臨床診断したら速やかにアシクロビルを開始すること) が患者転帰不良割合の減少につながることから、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの普及が単純ヘルペス脳炎患者の転帰改善に貢献すると考える。

中耳炎に合併した細菌性髄膜炎では感染により骨破壊と硬膜を損傷し髄膜炎を発症するが、頭部単純レントゲンや CT などの非侵襲的手法では病変を検出できないことがしばしばみられる。Ziostation を用いた非侵襲的骨病変同定法は菌の侵入門戸となる欠損孔の同定を容易にし、欠損孔の閉鎖による細菌性髄膜炎の根治につながる。再発を根治的に抑制することが患者転帰の改善、医療費の軽減につながると考える。

## E . 結論

自己免疫介在性脳炎の診断と治療のためのバイオマーカーとして tissue based assay (TBA) を用いた神経細胞表面抗体の診断手法を開発した。同時に、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のためのデバイスの開発を行った。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

1. Akimoto T, Morita A, Shiobara K, Hara M, Minami M, Shijo K, Nomura Y, Shigihara S, Haradome H, Abe O, Kamei S. A case of surgically cured, relapsed pneumococcal meningitis due to bone defects, non-invasively identified by three-dimensional multi-detector computed

- tomography. Intern Med 2016; 55: 3665-3669.
2. Takahashi K, Ogawa K, Ishikawa H, Morita A, Hara M, Minami M, Shiota H, Suzuki Y, Teramoto H, Ebashi M, Saito M, Ninomiya S, Akimoto T, Shiobara K, Mitsuke K, Kamei S. Hospital-based study of the distribution of pathogens in adult bacterial meningitis with underlying disease in Tokyo, Japan. Neurology and Clinical Neuroscience 2017; 5:8-17.
3. Takahashi T, Tamura M, Takasu T, Kamei S. Clinical and quantitative analysis of patients with crowned dens syndrome. J Neurol Sci. 2017; 376: 52-59.
4. Toi T, Nomura Y, Kishino A, Shigihara S, Oshima T, Ishikawa H, Kamei S, Miyazaki H. Repeated Attacks of Dizziness Caused by a Rare Mitochondrial Encephalomyopathy. J Int Adv Otol. 14:157-160, 2018.
5. 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.
6. 亀井聡:細菌性髄膜炎および脳炎における認知機能障害. Brain and Nerve 68:317-328, 2016.
7. 亀井聡:[感染症ガイドラインのすべて] 日本神経感染症学会 細菌性髄膜炎診療ガイドライン. 化学療法の領域 32:762-769, 2016
8. 亀井聡:細菌性髄膜炎の診断と治療 ガイドラインから 神経治療学 33:135-140, 2016. 亀井聡:[脳神経領域で必須のくすり ナース版トリエツ] (第2章)症状に対するくすり 抗菌薬. Brain Nursing 2016 夏季増刊:129-138, 2016.
9. 石原正樹, 亀井聡:[多彩なヘルペスウイルス感染症-その診断と治療 up to date として-] ヘルペスウイルス感染症の診断と治療 内科領域のヘルペスウイルス感染症. Modern Physician 36:1265 - 1269, 2016
10. 亀井聡:[実践!神経救急(neurocritical care)] 知っておきたい神経救急疾患 神経感染症の診断と治療. 診断と治療 105:57-63, 2017
11. 亀井聡:診療ガイドライン at a glance 細菌性髄膜炎診療ガイドライン 2014. 日本内科学会雑誌 106:986-993, 2017.
12. 「単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン」作成委員会編(委員長 亀井聡)日本神経感染症学会・日本神経学会・日本神経治療学会監修:単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン 2017. 南江堂, 東京, 2017.
13. 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.
14. 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.
15. 亀井聡:神経疾患治療ノート 脳膿瘍. Clinical Neuroscience 36:1110-1111, 2018.
16. 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.
17. 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. 臨牀と研究 95:345-352, 2018.
18. 亀井聡:中枢神経系の細菌感染症. Neuroinfection 22: 77-82, 2018.

### 2. 学会発表

1. 塩原恵慈, 石原正樹, 森田昭彦, 見附和鷹, 寺本紘子, 塩田宏嗣, 亀井聡, 田井道愛: 反回神経麻痺を呈したRamsay Hunt syndromeの58歳女性例 第216回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2016.3.東京
2. 蓮見禎行, 赤羽目翔悟, 大橋明, 高野友喜, 亀井聡, 相馬正義, 鈴木裕, 小川克彦: Tolosa-Hunt症候群様の症状で発症した悪性リンパ腫の1例 日本内科学会第626回関東地方会, 2016.9.東京
3. 二宮智子, 石川晴美, 市ノ川桜子, 堀祥子, 横田優樹, 見附和鷹, 津田浩昌, 神宝知行, 亀井聡 大脳白質病変の可逆性変化を呈した神経梅毒の一例 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
4. 大野あゆみ, 石川晴美, 榎田幸, 上浦大輝, 友松裕貴, 関根大喜, 横田優樹, 見附和鷹, 二宮智子, 津田浩昌, 塩田宏嗣, 神宝知行, 亀井聡: 舌咽・迷走神経麻痺を呈し髄膜炎症状を認めなかった水痘・带状疱疹ウイルス髄膜炎の一例 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
5. 秋本高義, 森田昭彦, 塩原恵慈, 齋藤磨理, 高橋恵子, 原誠, 亀井聡: イソニアジド髄注とステロイドパルス療法によって良好な転帰を得た結核性髄膜炎の1例 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
6. 二宮智子, 横田優樹, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 川名博徳, 本間琢, 亀井聡: インフルエンザAを契機に脳症を呈し皮膚にユビキチン陽性核内封入体を認めた67歳女性例 第221回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2017.6
7. 南紘子, 横田優樹, 原誠, 石原正樹, 森田昭彦, 山上聡, 櫻井裕幸, 亀井聡: 胸腺腫の再発に伴い重症筋無力症の増悪と視神経炎を呈した43歳女性例 第222回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2017.9
8. 塩原恵慈, 南紘子, 原誠, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 矢内充, 相馬正義, 木下浩作, 亀井聡: Lemierre症候群に細菌性髄膜炎を合併した75歳男性例 第22回日本神経感染症学会学術集会, 北九州, 2017.10
9. 齋藤磨理, 原誠, 秋本高義, 石原正樹, 森田昭彦, 塩田宏嗣, 金子仁彦, 高橋利幸, 亀井聡: M OG抗体陽性脊髄炎の加療中に可逆性脳血管攣縮症候群を呈した30代女性例 第223回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2017.12
10. 小川克彦, 鈴木裕, 須崎愛, 相馬正義, 亀井聡, 吉野篤緒: Streptococcus milleri感染による髄膜炎・硬膜下膿瘍の50歳女性例 第547回 日大医学会例会, 東京, 2017.12
11. 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.
12. 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.
13. 横田優樹, 江橋桃子, 原誠, 石原正樹, 森田昭彦, 中嶋秀人, 楠進, 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.
14. 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.
15. 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.
16. 亀井聡. 成人脳炎・脳症における対応—ガイドラインを中心に—(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.
17. 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.
18. 二宮智子, 石川晴美, 秋本高義, 塩田宏嗣, 中嶋秀人, 亀井聡, 渡辺裕樹, 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.
19. 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.
20. 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

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

#### 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