

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

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

平成25年度 総括・分担研究報告書

(1 / 2 冊)

研究代表者 高橋幸利

平成23 (2014) 年 3月

目 次（1 / 2 冊）

I. 総括研究報告

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 高橋 幸利	-----3
(参照1) 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 総合研究報告書（2008-2010）	-----3？
(参照2) 厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）	
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 平成24年度 総括研究報告書	-----3？
(参照3) 「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	-----3？

II. 分担研究報告

1. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者にみられる既往歴の検討ー傍腫瘍性辺縁系脳 炎ー 西田 拓司	-----30？
2. てんかん精神病と抗グルタミン酸受容体抗体の関連の検討 西田 拓司	-----30？
3. 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 症状期血液検査値の検討 高橋 幸利	-----30？
4. 非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態解明：GluN2B-NT2 抗体 IgG サブ クラスの検討 高橋 幸利	-----30？
5. 抗 NMDAR 複合体抗体の測定と GluR 基礎研究 森 寿	-----30？

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----140？
---------------------	-----------

目 次（2 / 2 冊）

IV. 研究成果の刊行物・別刷

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

主任研究者 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

【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、記憶障害は63.2%に残り、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。これらの障害を防ぐために、発病の数年前の前駆期、発病直前の先行症状期に着目し、その病態を明らかにすることで、早期診断治療、発病予防につなげたい。

【前駆期-既往歴研究】卵巣奇形腫を主体とした傍腫瘍性NHALE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%)みられた。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。

【前駆期-正常対照の抗体値研究】0-20歳の非炎症性の病因のてんかん症例(55例)と、静岡てんかん・神経医療センター職員(74例)の血清を用いて、正常対照のグルタミン酸受容体（GluR）抗体(抗原：GluN2B-NT2, GluN1-NT, GluR2-NT)を検討した。20-40歳の女性の中に、回帰曲線からかなり外れた高い値をとる群が存在し、NMDA型GluR抗体が高い前駆期症例の存在を示唆した。

【前駆期-passive transfer研究】ウサギGluN2B-NT2抗体をマウス海馬に投与し、Irwin法で行動観察を行ったところ、生理食塩液投与群と正常ウサギ血清protein A 吸着fraction投与群と比較して、有意な行動変化を見だし、現在検討中である。

【前駆期-てんかん精神病研究】てんかん精神病患者23名中3名(13%)が血清GluR抗体高値を示したが、3名は発作間欠期精神病の病像を有し、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が、NHALEの前駆期症状を示している可能性がある。

【先行症状期-一般検査値研究】非傍腫瘍性NHALE42例、てんかん患者で感染症状を呈した年齢・性を合わせた感染症対照42例、年齢・性を合わせた感染のないてんかん小児と健康成人対照42例について、一般臨床検査値を比較検討した。非傍腫瘍性NHALEの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。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。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。

【発病期-患者髄液in vitro研究】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濃度の変化を見た。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を示さなかった。

【発病期-髄液NMDA型GluR抗体IgGサブクラス研究】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高値であった。脳炎発病後の経過で見ると、発病から10-1

5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・てんかん発作予後・認知機能予後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・てんかん発作予後・認知機能予後・運動機能予後と直線的回帰が認められ、相関した。サブクラスと関係する補体が予後を規定している可能性がある。

【その他-新規抗体測定系開発研究】浮遊性293F細胞株を用いたデルタ型GluRの安定発現細胞株を得た。今後、cell-based assayによるGluR δ 2抗体の測定系を開発する。

【まとめ】NHALE患者には、発病のかなり前からNMDA型GluR抗体が存在し、前駆期として軽度の精神神経症状を呈する例がある。先行症状期にはリンパ球・血小板が減少することが明らかとなり、リンパ球・血小板に発現するNMDA型GluRが抗原として抗体をブースターし、発病に至る可能性がある。NHALE発病期の病態はNMDA型GluR抗体のみでは説明できず、granzymeB、補体などの複数の因子が関与していると考ええる。

これらの研究結果は、学問的に検討過程にあり即臨床応用できる段階ではないことに、ご注意願いたい。

分担研究者：

- 森 寿、富山大学大学院医学系研究科分子神経科学、教授。
- 西田拓司、静岡てんかん・神経医療センター、精神科医長。

研究協力者：

- 宮 一志、富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座、助教。
- 田村賢太郎、富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座、医員。
- 千葉悠平、横浜市立大学、精神科。
- 西村成子、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 高尾恵美子、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 笠井理沙、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 平松宏実、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 井上有史、国立病院機構 静岡てんか

- ん・神経医療センター、臨床研究部。
- 東本和紀、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 吉富晋作、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 渡辺陽和、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 植田佑樹、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 山口解冬、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 那須裕郷、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 大谷英之、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 池田浩子、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 今井克美、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。
- 重松秀夫、国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター、臨床研究部。

A. 研究目的

1. 2011年度までの研究のまとめ

2005-2007年度の厚生労働科学研究（こころの健康科学研究事業）「急性脳炎のグルタミン酸受容体自己免疫病態の解明から新たな治療法確立に向けた研究」（主任研究者、高橋幸利）、それに続く2008-10年度の「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」（主任研究者、高橋幸利）において、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（NHALE）を中心に病態解明を行い（参照1：2008-2010研究班総合報告書）、「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-20101017-にまとめた。

2. 後遺障害の頻度

我々のこれまでの研究で、成人発病の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35.1%に、精神症状は26.3%に、知的障害は38.6%に、運動障害が29.8%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。

免疫介在性脳炎であるNHALEは、病態解明、早期診断、治療法改良により予後を改善できる可能性があり、この研究班では病態解明に取り組んできている。

3. 2012年度からの研究仮説

NHALE 100例の既往歴を調査すると、脳炎発病の数年前（前駆期と呼ぶ）から、うつ症状（6例）、薬物等依存（5例）、発達障害（5例）等が見いだされ、前駆期からすでに18例で何らかの中樞神経症状が始まっている可能性が示唆された。またNHALEには、急性期に言動異常が1-2日あるのみで発熱や痙攣や意識障害がなく収束し、その後記憶障害が明らかとなる軽症例も見られる。また、脳炎症状が再発性の経過をとる症例も存在する。これらの事実は、NHALEの発病前の前駆期からNMDA型GluR抗体が存在し、軽度の一過性中枢神経系症状を発現する可能性を示唆する（図1、2）。視神経脊髄炎（NMO）では発症の10年前からAQP4抗体が認められた

症例が東北大学より報告されており（Nishiyama, et al., Neurol）、抗体が血清中に存在する前駆期が、かなり長く存在することが分かっている。

これまでの研究で、NMDA型GluR抗体のエピトープはGluRの細胞外ドメインから細胞内ドメインまで幅広いことが分かり、NMDA型GluR抗体は感染交差免疫ではなくNMDA型GluR自身が抗原となって産生されていることを推測している。末梢血T細胞、血小板などにNMDA型GluRが発現し、PHA刺激で発現増加することが知られており（Migilio, et al. BBRC 2005）、感染によるリンパ球の活性化→NMDA型GluR発現→リンパ球アポトーシス→NMDA型GluR断片化→NMDA型GluR抗体産生という仮説を立てている（図2）。脳炎発病数年前（前駆期）からこのプロセスが徐々に始まり、一部の症例では軽度の中樞神経症状が観察され、その後先行感染症に伴ってNHALEが発病するという病態仮説のもとに、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し、先行症状出現時点でのNHALE発病リスク診断、NHALE発病抑止対策、早期治療を、今回の研究では可能にする。

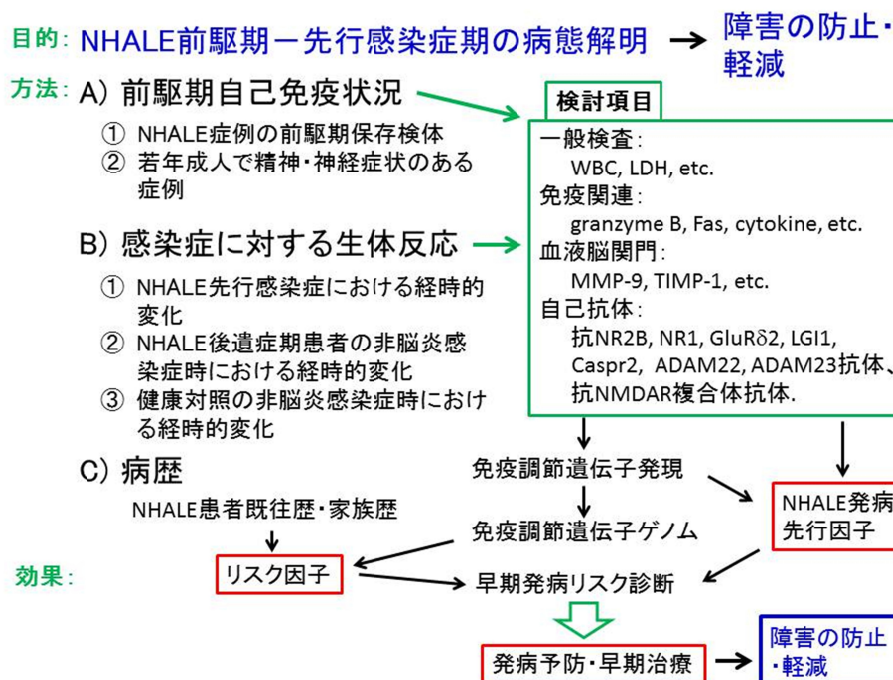


図1. 研究の目的、方法及び期待される効果（流れ図）

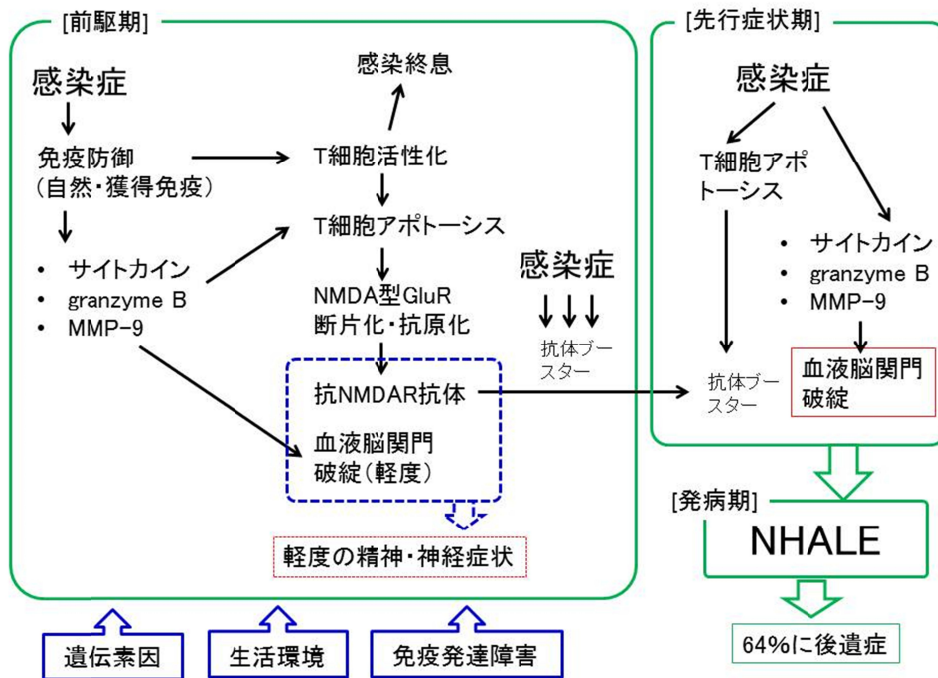


図2. 研究仮説

4. 2012年度研究結果（参照2）

非傍腫瘍性NHALE患者217名の検討では、精神障害関連既往症が21名(10%)に、自己免疫性疾患関連が9名(4%)に、婦人科関連疾患が8名(4%)にみられた。精神障害関連既往症の内訳は、気分障害8名、依存症8名、発達障害5名であった。

非傍腫瘍性NHALE患者207例中162例（78%）に先行症状を認め、162例中23例（14%）で感染病原体が確定された。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。

NHALE発病から20病日以内の髄液granzyme B濃度は、疾病対照に比べ有意に高値で（ $p<0.009$ ）、髄液細胞数との間に正の相関があった（ $p<0.005$ ）。髄液granzyme Bが疾病対照の平均+2SD以上の群ではそれ以下の群と比べて、NMDA型GluR抗体が有意に高値であった。

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、培養上清のLDH濃度、培養細胞の総cA

MP-Responsive-Element-Binding protein（tCREB）濃度およびリン酸化CREB（pCREB）濃度を測定し、同時測定対照との比を求めて評価した。NHALE髄液IgGを加えた系では、髄液を加えた系に比べて有意にLDH濃度比が低値であった。NHALE髄液を加えた系の7DIVのpCREB濃度比は、疾病対照髄液を加えた系と有意差がなかったが、10DIVのNHALE髄液によるpCREB濃度比に比べて有意に高値であった。7DIVでのNHALE髄液によるpCREB濃度比は、NHALE髄液IgGを加えた系のpCREB濃度比に比べて有意に高値であった。NHALE髄液IgGを加えた系では、7DIVでのpCREB比が平均1.47(>1.00)であり、CREBリン酸化は障害されることなく軽度亢進していた。

これらの知見から、NHALE患者ではNMDA型GluR抗体がかなり以前(前駆期)から存在し、軽度の精神神経症状を呈しうるとすると理解しやすい。NHALE発病期の病態はNMDA型GluR抗体のみでは説明できず、granzymeBなどの複数の因子が関与している。

5. 2013年度研究目標

2013年度は表1に示す研究を計画し、前駆期、先行症状期などの病態解析を行うことにした。

表1. 2013年度研究計画内容

「前駆期関連」

1. NHALE 症例の前駆期保存検体を用いた前駆期自己免疫状況の検討

髄液抗体陽性の207例を抽出し、前駆期保存検体の有無、成人例献血（保存検体）の有無をアンケート調査し、協力が得られる症例の血清で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（NR2B, NR1, GluRδ2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体抗体）等を測定する。現在9名のNHALE等の脳炎患者さんの献血保存血研究使用同意を得ており、厚労省の使用許可をまって、前駆期の免疫病態を検討する。（目標20例）

2. Passive transfer マウスモデルを用いた前駆期自己免疫状況の検討

NR2Bペプチドに対するウサギ抗体を作成し、マウスにpassive transferを行い、動物モデルで前駆期の免疫病態を検討する。

3. 精神症状を有する症例の精神症状と免疫マーカーの関連を検討

NHALE前駆期の可能性がある精神症状を持つ若年者で、血液・髄液免疫マーカーと精神症状の関連を検討する。（目標20例）

「先行症状期関連」

4. NHALE 先行症状期における一般血液検査値の経時的変化の検討

先行症状期のリンパ球アポトーシス指標としてWBC, LDH、等の値を、感染対照、健康対照と比較する。（目標50例）

5. NHALE 先行症状期における免疫マーカーの経時的変化の検討

先行症状期の血清を集め、MMP-9、サイトカイン（BioPlex）、granzyme B、自己抗体（NR2B, NR1, GluRδ2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDAR複合体抗体）等の免疫マーカーを、経時的に測定する。（目標50例）

6. NHALE 先行症状期に無菌性髄膜炎を呈した症例の髄液所見の検討

無菌性髄膜炎からNHALEに至った症例（18例確保）と、通常は無菌性髄膜炎のみを呈した症例で髄液所見を比較する。

7. Passive transfer マウスモデルを用いた先行症状期自己免疫状況の検討

NR2Bペプチドに対するウサギ抗体を作成し、マウスにpassive transferを行い、動物モデルで先行症状期の免疫病態を検討する。

「その他」

8. 免疫調節遺伝子（Foxp3, CTLA-4, PDCD-1, T-bet）の発現解析、ゲノム解析

NHALE発病期の血液中RNAを用いて、免疫調節遺伝子の発現を検討し、免疫寛容の状況を調べ、自己抗体形成のメカニズムを検討する。さらに、ゲノムの変異の有無を検討する。

9. 抗神経抗体の測定法開発

抗NMDA型GluR抗体を含む抗神経抗体測定法の改良、開発を行う。

B. 研究方法

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

研究班で作成した多施設共同研究のための症例登録基準(参照3の中の資料1-4)に合わせて、前方視的に幅広く急性辺縁系脳炎・脳症の症例を集積し、自己免疫病態を検討した。

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

この診断スキームは先行研究班で作成開始し、自己免疫介在性脳炎・脳症の正確な診断法、より良い治療法を情報提供するために、現時点で必要かつ可能と思われる検査について記載し、これまでの知見・文献などを整理し、広く臨床に役立ててもらうことを目的としている。これまでに明らかになった知見を追加する(高橋、森、西田)。

3. NHALE患者にみられる既往歴の検討

2012年度の非傍腫瘍性NHALEの検討に引き続き、2013年度はNHALE患者のうち傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名で、既往歴について後方視的に資料を検討した(西田)。

4. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

2012年度研究で、髄液データのあるNHALE217例で前駆期ありと思われる47例を検討したが、紹介元病院で前駆期の血清などの保存は必ずしも行われていない現状が判明した。2013年度は207例全例にアンケート調査を送付し、前駆期の保存検体を調査する。

NHALE発病前に献血のある症例で、献血保存検体を使用する研究を行うこととし、2012年度に院内の倫理委員会で「自己免疫介在性脳炎・脳症に関する前駆期研究」を審議いただき、承認を得た。その後、2013年1月に日赤血液センターの公募研究に応募した。

紹介元での保存検体の取得、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. NHALE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

対象は、静岡てんかん・神経医療センターに

入院中の患者で、Structured Clinical Interview for DAM-IV Axis I Disorders

(SCID-I)で、調査時あるいは過去の精神病的症状が確認できたてんかん患者23名である。患者血清中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体をELISAにより測定し、臨床症状と比較検討した(西田、高橋)。

6. NHALE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症例において、NMDA型GluR抗体の有無と精神症状の内容の違いを検討した(千葉、高橋)。

7. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布と推移

倫理委員会承認の方法で同意を得られた0-19歳の非炎症性の病因のてんかん症例(55例)と、静岡てんかん・神経医療センター職員(74例)の血清を用いて、自己抗体(GluN2B, GluN1, GluD2, LGI1, Caspr2, ADAM22, ADAM23, NMDA型GluR複合体)等を測定する。自己抗体の値と一般臨床検査値との比較を行う(高橋)。

8. 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、ポリクローナルIgG抗体(ウサギGluN2B-NT2抗体)を得た。ウサギGluN2B-NT2抗体がGluN2B, GluN1を発現するHEK細胞と反応することを確認したのち、マウス脳室内に1週おきに4回投与し、マウスの行動観察(Irwin法)を盲検下にて実施し、中枢神経系への影響を検討した。さらに開始後22日に脳を摘出し、病理組織学的検査を実施した。対照として、生理食塩液、正常ウサギ血清protein A 吸着fraction(以下、正常ウサギ血清)も脳室内に投与する群を作った(高橋)。

9. NHALE患者にみられる先行症状期の一般マーカーの検討

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、2012年度に髄液NMDAR抗体陽性非傍腫瘍性NHALE217例の先行症状期の臨床症状、病原体検索結果を検討した。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・ダイアグノスティックス株式会社）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（GluRε2N/R-DsRed と GluRζ1N/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. NHLE急性期の抗体産生に関わるNMDA型GluR抗原の検討

NHLE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>GRLA1</i>
	GluA2	GLU _{A2} , GluR2, GluRB, GluR-B, GluR-K2, HBGR2	<i>GRLA2</i>
	GluA3	GLU _{A3} , GluR3, GluRC, GluR-C, GluR-K3	<i>GRLA3</i>
	GluA4	GLU _{A4} , GluR4, GluRD, GluR-D	<i>GRLA4</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 ϵ 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>
	GluN3B	GLU _{N3B} , NMDA-R3B	<i>GRIN3B</i>
Orphan	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	ラスム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11月-2013年10月の集積数は、NHALE (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(GluRε2)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. NHALE患者にみられる既往歴の検討

傍腫瘍性NHALE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%)みられた。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. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

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

NHALE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. NHALE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. NHALE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20-40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

赤血球数は、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。血小板数は感染症対照 ($p<0.05$) 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. 浮遊性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-CSF全体を加えた場合の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, $p=0.0393$)。総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-CSF

全体を加えた場合の7DIVのp-Akt濃度比 (検体/同時測定対照) は、7DIVのNHALE-CSF-IgG分画を加えた場合 ($p=0.0312$) 及び10DIVのNHALE-CSF全体を加えた場合 ($p<0.0001$) より有意に高値であった。p-Akt/total Akt比は、7DIVのNHALE-CSF全体を加えた場合が、7DIVのNHALE-CSF-IgG分画 ($p=0.0337$) 及び10DIVのNHALE-CSF全体 ($p<0.0001$) 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

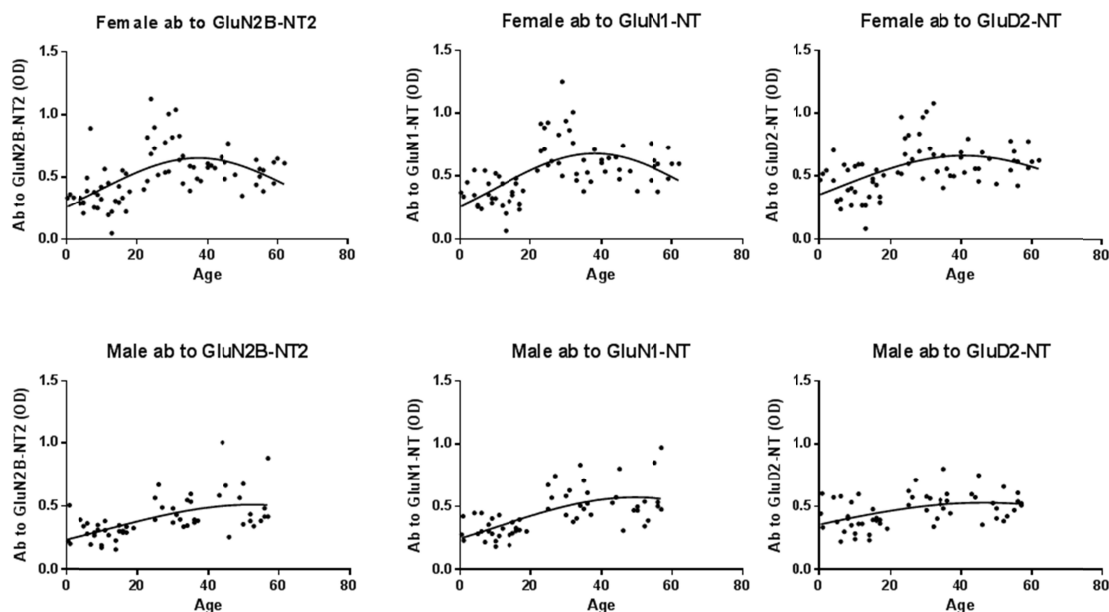


図3.対照血清の年齢・性別GluR抗体値

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、分子生化学的变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抗体が発病以前から存在し、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、致死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NHALE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、NHALE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、NHALE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、NHALE207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NHALE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NHALEの先行症状期に至り、その後NHALE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抗原放出を示唆し、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NHALE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、NHALE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、NHALEの中樞神経傷害をもたらしており、対策が必要である。NHALE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て、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こすが、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こすが、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こさない（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、非傍腫瘍性NHALE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±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、GluN2B-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、NHAE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抗体のブ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

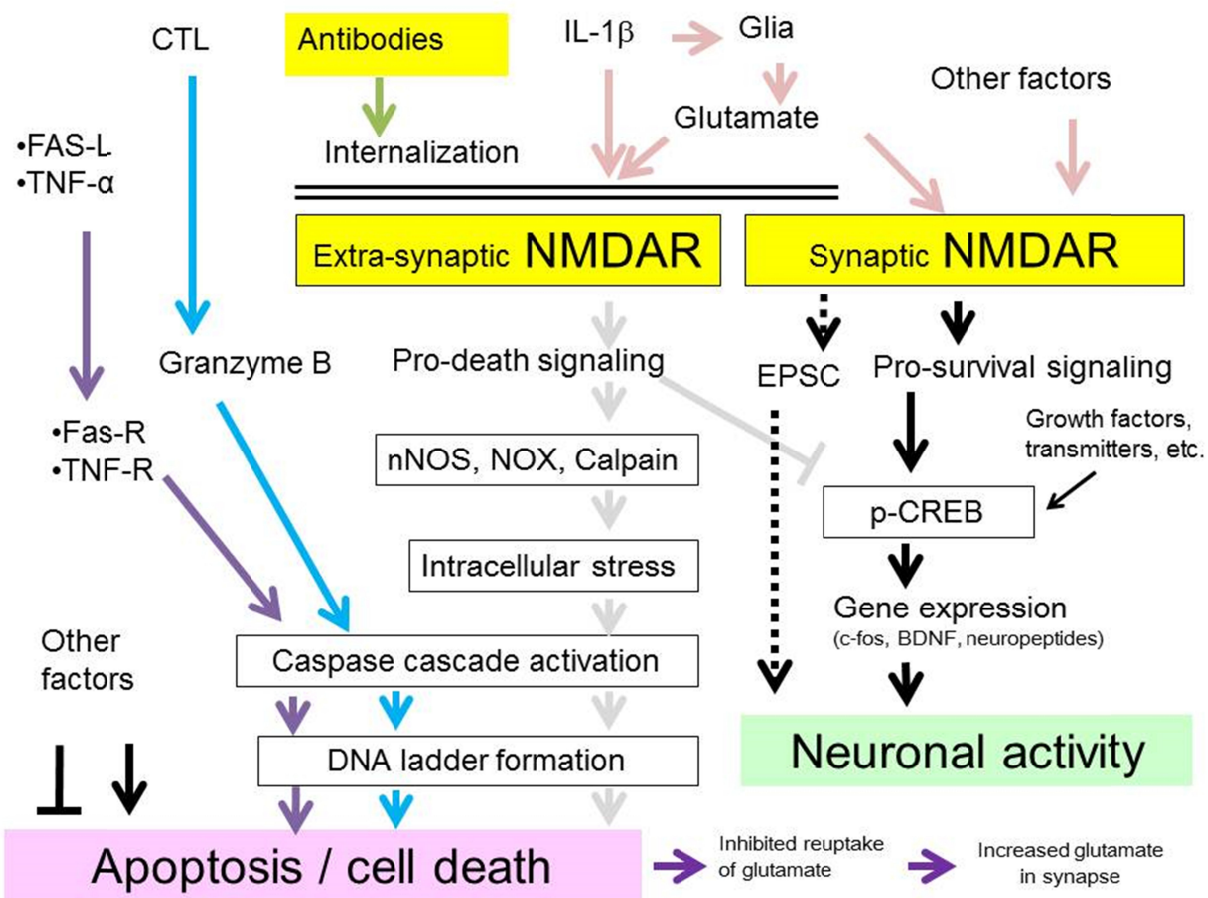


図4. NHALEの病態仮説

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者にみられる既往歴の検討 —傍腫瘍性辺縁系脳炎—

分担研究者 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NHALE）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出現することが多く、うつ病や統合失調症などの内因性精神疾患と鑑別が困難なことがある。一方、NHALE患者には、脳炎発病以前より既に何らかの精神障害の既往がみられることがある。昨年度、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名で既往歴を検討した結果、精神障害関連既往症が21名（10%）でみられた。このことは、NHALE発病前から、NMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体がグルタミン酸系機能に影響を及ぼし、その結果一部の患者で精神症状を示している可能性を示唆する。本研究の目的は、NHALE患者の既往歴を調査し、脳炎発病以前からみられた精神症状を明らかにすることで、NMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体が脳炎の発病以前から中枢神経系機能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。今回、NHALE患者のうち傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名で、既往歴について後方視的に資料を検討した。結果、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%）みられた。傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名（11%）で、脳炎発病以前に精神・神経障害の既往がみられた。精神障害関連は5%と非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者の場合の10%と比べると少なかったが、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者ではみられなかった脳炎・髄膜炎、てんかんの既往がみられた。これは、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者では非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者より重度の神経障害の既往を生じやすい免疫学的機序の存在が示唆される。

A. 研究目的

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（以下NHALE）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出現することが多く、うつ病や統合失調症などの内因性精神疾患と鑑別が困難なことがある。NHALEでは、末梢で生産されたNMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体が血液脳関門障害により中枢神経系へ移行するものと考えられている。中枢神経系へ移行した抗体は、NMDA型グルタミン酸受容体をシナプス表面から細胞内に内在化し、その結果グルタミン酸系機能の低下をもたらすことで、辺縁系症状としての

種々の精神症状が顕在化することが想定されている。一方、NHALE患者には、脳炎発病以前より既に何らかの精神障害の既往がみられることがある。昨年度、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名で既往歴を検討した結果、精神障害関連既往症が21名（10%）、自己免疫性関連が9名（4%）、産婦人科関連が8名（4%）みられた。このことは、NHALE発病前から、NMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体がグルタミン酸系機能に影響を及ぼし、その結果精神症状を示している可能性を示唆する。本研究の目的は、NHALE患者の既往歴を調査し、脳炎発病以前からみられた精神症状を明ら

かにすることで、NMDA型グルタミン酸受容体に対する抗体が脳炎の発病以前から中枢神経系機能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

NHALE患者のうち傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名で、既往歴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

対象患者のうち、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%)みられた。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。

D. 考察

Dalmauらの提唱する抗NMDA受容体自己抗体陽性脳炎では、100例中77例で不安、焦燥、奇異な行動、妄想、幻視、幻聴などの精神症状を呈した。また、3週間の経過のうちに88例が意識障害を呈し、緊張病様状態に進展した。一方、NHALEでも統合失調症様の精神症状で発病することが多く、抗NMDA受容体自己抗体陽性脳炎と共通の病態基盤がある可能性が考えられている。NMDA受容体阻害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受容体と各種精神症状の関連が

示唆されている。

本研究の結果では、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名(11%)で、脳炎発病以前に精神・神経障害の既往がみられた。精神障害関連は5%と非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者の場合の10%と比べると少なかったが、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者ではみられなかった脳炎・髄膜炎、てんかんの既往がそれぞれ4名(4%)と3名(3%)でみられた。これは、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者では非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者より重度の神経障害の既往を生じやすい免疫学的機序の存在が示唆される。

いずれにしてNHALE発病以前からみられるこれらの精神・神経障害の既往に、NMDA型抗グルタミン酸受容体に対する自己抗体が何らかの影響を及ぼしている可能性と矛盾しないと考える。

E. 結論

NHALEを呈した患者の精神障害の既往を明らかにすることで、NHALE発病の早期発見、早期介入の可能性の糸口を得ることができると考える。

F. 健康危険情報

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関連の検討

分担研究者 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。一方、近年、非ヘルペス性辺縁系脳炎においてグルタミン酸受容体に対する自己抗体が見いだされ、その精神症状発現に抗グルタミン酸受容体抗体の関与が推定されている。本研究の目的は、てんかんでみられる精神症状にグルタミン酸受容体自己免疫学的機序が関与する可能性を明らかにすることである。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23名の血清中のGluN2B-NT2 (GluR ϵ 2-NT2) 抗体、GluN2B-CT (GluR ϵ 2-CT) 抗体、GluN1-NT (GluR ζ 1-NT) 抗体、GluD2-NT (GluR δ 2-NT) 抗体をELISAにより測定し、臨床症状と比較検討した。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 (GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体) のいずれかが、対照血清抗体価の平均+2SD以上の高値を示した。抗体価の高かった患者で脳炎の既往はみられなかった。てんかん精神病的タイプのタイプは発作間欠期精神病で、発作後精神病はみられなかった。発病から検査までの期間が1年以内と短かった。てんかん精神病患者の一部では、急性期から亜急性期において、抗グルタミン酸受容体抗体がその病態に関与している可能性が考えられた。

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。一方、辺縁系脳炎では発病時および経過中に精神病症状がみられることが多い。近年、非ヘルペス性辺縁系脳炎においてグルタミン酸受容体に対する自己抗体が見いだされ、精神症状発現にグルタミン酸受容体自己免疫学的機序の関与が推定されている。本研究の目的は、てんかんでみられる精神症状にグルタミン酸受容体自己免疫学的機序が関与する可能性を明らかにすることである。

B. 研究方法

対象は、静岡てんかん・神経医療センター

に入院中、Structured Clinical Interview for DAM-IV Axis I Disorders (SCID-I) で、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23名である。対象患者の血清中のGluN2B-NT2 (GluR ϵ 2-NT2) 抗体、GluN2B-CT (GluR ϵ 2-CT) 抗体、GluN1-NT (GluR ζ 1-NT) 抗体、GluD2-NT (GluR δ 2-NT) 抗体をELISAにより測定し (高橋, 2013)、臨床症状と比較検討した。

(倫理面への配慮)

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

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（てんかん、あるいは不随意運動をもつ患者）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。対象患者23名のうち、高抗体価群3名と残りの20名（正常抗体価群）の臨床特徴を比較すると、高抗体価群は男性2名、女性1名、平均年齢38歳に対し、正常抗体価群は男性10名、女性10名、平均年齢40歳だった。てんかん症候群分類は、高抗体価群は症候性部分てんかん2名と特発性全般てんかん1名に対し、正常抗体価群は症候性部分てんかん19名と特発性全般てんかん1名だった。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か月～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。高抗体価群の女性1名では骨盤MRIを施行したが卵巣病変はみられなかった。

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い。

本研究では、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（GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体）のいずれかが、対照血清抗体価の平均+2SD以上の高値を示した。いずれの患者も脳炎の既往はみられなかった。てんかん精神病のタイプは発作間欠期精神病で、発作後精神病はみられなかった。また、抗体価の高かった患者は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、抗グルタミン酸受容体抗体がその病態に関与している可能性が考えられた。

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。

F. 健康危険情報

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

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
：先行症状期血液検査値の検討

主任研究者 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】髄液NMDA型GluR抗体陽性非傍腫瘍性NHALE42例の先行症状期の臨床検査値を、性年齢を合わせた感染症対照42例、対照42例と比較検討した。

【結果】赤血球数は、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。

【結論】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。リンパ球、血小板からのNMDA型GluRが抗原となつてNMDA型GluR抗体のブースターをもたらしている可能性が強く、今後の治療戦略に生かしたい。

研究協力者：東本和紀¹⁾、吉富晋作¹⁾、渡辺陽和¹⁾、植田佑樹¹⁾、山口解冬¹⁾、那須裕郷¹⁾、大谷英之¹⁾、池田浩子¹⁾、今井克美¹⁾、重松秀夫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、運動障害が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枢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。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ことが示唆される。NHALEでも抗NMDAR抗体が存在し軽度のCNS症状を表出している前駆期が存在する可能性がある。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、NHALE発病予防、早期診断治療を可能にしたい (図1)。

2012年度研究では、NHALE207例中162例 (78%) に先行症状を認め、162例中23例 (14%) で感染病原体が確定された。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の先行症状期の臨床検査値を検討し、発病メカニズムを明らかにし、早期診断を可能にしたい。

B. 研究方法

【対象】抗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、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単純ヘルペスウィルス感染の否定ができ、④NMDA型グルタミン酸受容体の内の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) 42例を対象とした (図2)。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。

【方法】非傍腫瘍性NHALE症例の先行症状期、感染症対照、対照の臨床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患者を対象とした。

C. 研究結果

症例の特徴：非傍腫瘍性NHALEの42例 (男17、女25例) は4-66歳に分布、20-49歳では女性60%以上を占め、脳炎症状出現前 (平均 $\pm$ SD) -3.1 ± 2.5 (-10から0) 日のデータを用いた。

非傍腫瘍性NHALEの赤血球数は、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。非傍腫瘍性NHALEのHb濃度は有意差がなかった (図3)。

非傍腫瘍性NHALEの白血球数は、対照 ($p < 0.04$) に比べて有意に高値であったが感染症対照と有意差がなく、発病日に向けて増加する傾向を認めた。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。好中球数は、対照 ($p < 0.01$) に比べて有意に高値であったが感染症対照と有意差がなく、発病日に向けて増加する傾向を認めた。血小板数は感染症対照 ($p < 0.05$) や対照 ($p < 0.01$) より有意に低値であった。

非傍腫瘍性NHALEのAST、ALT、LDHは感染症対照や対照と有意差はなかった。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 (図4)。

非傍腫瘍性NHALEの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 (図5)。IgGは感染症対照と比べて有意差がなかったが、対照 ($p < 0.02$) より有意に高値であった。発病日との明らかな関係は認めなかった。IgMは感染症対照と比べて有意差がなかったが、対照 (p

<0.01) より有意に高値であった。発病日との明らかな関係は認めなかった。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。

D. 考察

今回の42例の非傍腫瘍性NHALEの検討では、赤血球は、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ず、Hb濃度は有意差がなかったことから、病態と関係する意味のある変化ではないと推測した。

白血球数全体では発病に向けて増加していく傾向があり、対照より有意に増加していたが、感染症対照とは有意差がなかった。一方、リンパ球数は感染症対照、対照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、好中球数は対照との間に有意差があったが感染症対照とは有意差がなかった。以上より白血球の中のリンパ球がより強く減少することが非傍腫瘍性NHALEの先行症状期の特徴と考えられた。リンパ球の減少はリンパ球の細胞死によると思われる、リンパ球に発現するNMDA型GluRの破碎、抗原提示となっている可能性がある。その結果として、NMDA型GluR抗体にブースターがかかる可能性がある (図1)。血小板数も感染対照や対照より有意に低値であり、リンパ球と同じく、より強く減少することが非傍腫瘍性NHALEの先行症状期の特徴と考えられた。血小板の減少は、血小板に発現するNMDA型GluRの破碎、抗原提示となっている可能性がある。その結果として、リンパ球と同じくNMDA型GluR抗体にブースターがかかる可能性がある (図1)。

アルブミン濃度は、感染症対照とは有意差がなかったが、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、アルブミン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かもしれない。我々の2012年度研究で、NHALEの30-70%は局所の感染症

が先行しない無菌性髄膜炎で発病していると推定されていて、この無菌性髄膜炎の時期にアルブミンが低下し始めているかもしれない。今後の検討が必要である。

非傍腫瘍性NHALEのCRPは、対照より有意に高値で、発病日に向けて増加する傾向を認めたが、感染症対照より有意に低く、CRPが産生されにくい特徴を有する可能性がある。IL-1 β 、IL-6、TNF- α などの関与が先行症状期に乏しいことを示唆する可能性がある。

非傍腫瘍性NHALEのIgG、IgM、IgAは対照より有意に高値であったが、感染対照と有意差があったのはIgAのみであった。通常の感染症に比べてIgAの反応が強いことが、先行症状期の特徴と思われる。IL-5やTGF- β の関与が強い可能性がある。

E. 結論

NMDA型GluR抗体陽性の非傍腫瘍性NHALE患者の先行症状期には、リンパ球、血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的低値が特徴として見られた。これらのマーカーが早期診断に繋がる可能性がある。そのような場合には髄液検査、MRI検査を検討する必要がある。リンパ球、血小板からのNMDA型GluRが抗原となつてNMDA型GluR抗体のブースターをもたらしている可能性が強く、今後の治療戦略に生かしたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ryuta Kinno, Yukitoshi Takahashi, et al., Cerebellar symptoms in a case of acute limbic encephalitis associated with autoantibodies to glutamate receptors $\epsilon 2$ and $\delta 2$. Clinical Neurology and Neurosurgery 2013; 115(4): 481-3.
2. Daisuke Usui, Yukitoshi Takahashi, et al., Interstitial Duplication of 2q32.1-q33.3 in a Patient With Epilepsy, Developmental Delay, and Autistic Behavior, Am J Med Genet Part A 161A:1078-1084.
3. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Risk factors for hyperammonemia in pediatric epilepsy patients, Epilepsia 2013; 54(6): 983-989.

4. Yukitoshi Takahashi, et al., Immunomodulatory therapy versus surgery for Rasmussen syndrome in early childhood, *Brain & Development*, 2013; 35: 778-785.
5. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Influence of CYP2C19 polymorphism and concomitant antiepileptic drugs on serum clobazam and N-desmethyl-clobazam concentrations in patients with epilepsy, *Therapeutic Drug Monitoring*, 2013; 35(3): 305-312..
6. Taiki Kambe, Yukitoshi Takahashi, et al., A mild form of adult-onset opsoclonus-myoclonus syndrome associated with anti-glutamate receptor antibodies, *JAMA Neurology*, 2013; 70(5): 654-5.
7. Naoto Kohno, Yukitoshi Takahashi, et al., A discrepancy between the clinical course and magnetic resonance imaging in a case of non-herpetic acute limbic encephalitis, *Neurology International*, 2013; 5(2): 23-7. doi: 10.4081/ni.2013.e8. Print 2013 Jun 25.
8. Norimichi Higurashi, Yukitoshi Takahashi, et al., PCDH19-related Female-Limited Epilepsy-Independent Clinical Entity and Differences from Dravet Syndrome, *Epilepsy Research*, 2013; 106: 191-199.
9. Ichiro Kuki, Yukitoshi Takahashi, et al., Case report on vitamin B6 responsive epilepsy due to inherited GPI deficiency, *Neurology* 2013; 81: 1497-1469.
10. Yukitoshi Takahashi, et al., Genetic variations of immunoregulatory genes associated with Rasmussen syndrome. *Epilepsy Research*, 2013; 107: 238-243.
11. Emi Tabata, Yukitoshi Takahashi, et al., Immunopathological significance of ovarian teratoma in patients with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis, *Eur Neurol*, 2013; 71(1-2): 42-48.
12. Chihiro Yonee, Yukitoshi Takahashi, et al., Association of acute cerebellar ataxia and human papilloma virus vaccination: a case report" in its current form for publication, *Neuropediatrics*, in press. 2013 Feb 1.
13. Armangue T, Takahashi Y, et al., A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma. *Ann Neurol*. In press.
14. 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,
15. Hiromasa Uchizono, Yukitoshi Takahashi, et al., Acute Cerebellitis Following Hemolytic Streptococcal Infection, *Pediatr Neurol* in press.
16. Nahoko Kaniwa, Yukitoshi Takahashi, et al., Specific HLA types are associated with anti-epileptic drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the Japanese, *Future medicine* in press.
17. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Increased interleukin-17 in the cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study of rapidly progressive dementia, *Journal: Journal of Neuroinflammation*, in press.
18. Kazushi Miya, Yukitoshi Takahashi, et al., Anti-NMDAR autoimmune encephalitis, *Brain & Development*, in press.
19. Rumiko Takayama, Yukitoshi Takahashi, et al., Long-term course of Dravet syndrome: a study from an epilepsy center in Japan, *Epilepsia*, in press.
20. Aya Narita, Yukitoshi Takahashi, et al., Abnormal Pupillary Light Reflex with Chromatic Pupillometry in Gaucher disease, *Annals of Clinical and Translational Neurology*, in press.
21. 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*, in press.
22. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Neuronal Antibodies in Creutzfeldt-Jakob Disease, *JAMA Neurology*, in press.
23. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかん診療マニュアル、I章 疾患概念と診断基準、Rasmussen 症候群、診断と治療社、p54-56、2013 年。
24. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかんマニュアル、II章 診断マニュアル、免疫介在性てんかん診断マニュアル、診断と治療社、p126-131、2013 年。
25. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかん診療マニュアル、III章 治療マニュアル、その他の内科的治療マニュアル、診断と治療社、p146-150、2013 年。
26. 高橋幸利、脳炎によるてんかん重積、てんかん学会編、てんかん専門医ガイドブック、診断と治療社、pp 2013 年。
27. 高橋幸利、その他の急性病態、てんかん学会編、てんかん専門医ガイドブック、診断と治療社、pp 2013 年。
28. 高橋幸利、他、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 、2013 年、印刷中。

29. 高橋幸利、他、Antibody Update グルタミン酸受容体自己抗体、Brain and Nerve、2013 ; 65 (4) : 345-353.
 30. 木村暢佑、高橋幸利、他、小児てんかん外科 早期手術患者の発見と利点 - 発達
の観点から -、脳と発達、2013 ; 45 :
199-205.
 31. 村上秀友、高橋幸利、他、伝染性単核球症
に続発し髄液に抗グルタミン酸受容体 $\delta 2$
抗体を認めた急性小脳失調症、臨床神経学
、2013 ; 53 (7) : 555-558.
 32. 池上真理子、高橋幸利、他、難治 epileptic
spasm を有する症例における ACTH 療法反復
施行の検討、脳と発達、2013 ; 45 : 281-287.
 33. 高橋幸利、他、GluR $\square 2$ 抗体 (NR2B 抗体)
- 神経疾患における意義、神経内科、2013
 ; 79 (3) : 354-362.
 34. 藤井裕樹、高橋幸利、他、卵巣奇形腫を合
併し抗 NMDA 受容体抗体陽性の
glioblastoma の 1 例、臨床神経学、2013 ;
53(9) : 712-715.
 35. 尾上亮、荒木勇人、高橋幸利、島筒和史、
中原章徳、左半身の部分痙攣にて発症した
抗 N-methyl-D-aspartate(NMDA) 受容体脳
炎の 1 例、広島医学、2014 ; 67 : 51-54.
 36. 高橋幸利、他、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、印
刷中.
 37. 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、印刷中.
 38. 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
クローム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、印刷
中.
2. 学会発表
 1. Yukitoshi Takahashi, Immunomodulatory
therapy in Rasmussen syndrome, KES-JES
Joint symposium, The 47th Congress of
the Japan Epilepsy Society , Oct,
11-12th 2013, Kitakyushu.
 2. Mariko Ikegami, Yukitoshi Takahashi,
Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hideyuki
Otani, Yuko Kubota, Hideo Shigematsu,
Rumiko Takayama, Yukiko Mogami,
Efficacy of Repeated
Adrenocorticotrophic Hormone Therapy in
Patients with Intractable Epileptic
Spasms, 30th International Epilepsy
Congress, June 23rd-27th, 2013,
Monteal.
 3. Yuhei Chiba, Omi Katsuse, Yukitoshi
Takahashi, Makoto Yoneda, Takahiro
Ikura, Misako Kunii, Atsushi Ihata,
Atsuhisa Ueda, Mitsuhiro Takeno,
Takashi Togo, Yoshio Hirayasu,
Anti-glutamate receptor epsilon 2
antibodies in psychiatric patients with
anti-thyroid autoantibodies - a
prevalence study in Japan, 11th World
Congress of Biological Psychiatry, 2013
June 25 Kyoto.
 4. Takako Fujita, Yukiko Ihara, Yuko
Tomonoh, Hiroshi Ideguchi, Takahito
Inoue, Yukitoshi Takahashi, Sawa
Yasumoto, Shinichi Hirose, An Effective
Treatment for Intractable Epilepsy
associated with anti-GluR antibodies:
Steroid Pulse Therapy combined with
Levetiracetam, 12th Asian Oceanian
Congress on Child Neurology - 14-18
September 2013, Riyadh, Saudi Arabia.
 5. Hiroyuki Fujita, Miwa Kanaoka, Midori
Matsuura, Amiko Hakuta, Yukitoshi
Takahashi, Michiko Aihara, Prolonged
toxic epidermal necrolysis after B cell
depletion therapy, 8th International
Congress on Cutaneous Adverse Drug
Reactions Pre-iSCAR meeting (World SCAR
joint meeting), Dec. 15th 2013, Taipei.
 6. 高橋幸利、Rasmussen 症候群の病態解明か
ら治療へ、第 3 回トランスレーショナルて
んかん研究会、2013 年 5 月 17 日、新潟.
 7. 高橋幸利、山口解冬、シンポジウム「難治
性てんかんの病態を探る：分子遺伝学、病
理、免疫、代謝異常、画像、電気生理」、
第 55 回日本小児神経学会、2012 年 5 月 29-6
月 1 日、大分.
 8. 高橋 幸利、グルタミン酸受容体に対する
自己免疫が介在する神経疾患の研究、静岡
県立大学薬学部大学院第 229 回例会薬学セ
ミナー、2013 年 7 月 30 日、静岡.
 9. 高橋 幸利、抗グルタミン酸受容体抗体関
連神経疾患の臨床と病態、東部神経フォー
ラム (研究会)、2013 年 9 月 20 日、東京.
 10. 高橋幸利、非ヘルペス性辺縁系脳炎の最新
知識、第 18 回日本神経感染症学会ラン
チオンセミナー、2013 年 10 月 12 日、宮崎.
 11. 高橋 幸利、難治てんかんの病態研究と新
規治療、第 47 回埼玉てんかん懇話会、2013
年 10 月 24 日、大宮.
 12. 高橋 幸利、免疫介在性神経疾患、第 45 回
日本小児感染症学会総会・学術集会、2013
年 10 月 26-27 日、札幌.
 13. 高橋幸利、グルタミン酸受容体に対する免
疫反応の関与する脳炎・てんかん、第 39
回 東京てんかんフォーラム、2013 年 11
月 12 日、東京.
 14. 高橋幸利、ビデオ講習：NMDAR 抗体脳炎、
第 25 回 日本神経免疫学会学術集会、2013
年 11 月 27 日-29 日、下関市.
 15. 平本恵子、山中正美、六車一樹、西野繁樹、
山田那々恵、高野真紀、藤本純子、高橋幸
利、田中恒夫、くも膜下出血および二次性
正常圧水頭症治療後に発症したラスムッ
セン脳炎の一例、第 75 回日本脳神経外科
学会中国四国支部会、2013 年 4 月 6-7 日、
下関.
 16. 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、大谷英之、池
田浩子、今井克美、重松秀夫、NMDAR 抗体

- 陽性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の早期診断：先行症状の検討、第116回日本小児科学会学術集会、2013年4月19-21日、広島。
17. 植田佑樹、高橋幸利、保立麻美子、山口解冬、那須裕郷、高山留美子、大谷英之、池田浩子、今井克美、重松秀夫、ステロイドパルス療法が奏功した、傍感染性基底核脳炎の一例、第116回日本小児科学会学術集会、2013年4月19-21日、広島。
 18. 柴田晶美、増田俊樹、森麻美、吉岡誠一郎、高橋幸利、サイトメガロウイルス（CMV）感染を契機に発症した抗グルタミン酸受容体 $\delta 2$ および $\varepsilon 2$ 抗体陽性の急性小脳失調症の1例、第116回日本小児科学会学術集会、2013年4月19-21日、広島。
 19. 辻健史、谷口顕信、渡邊由香利、松沢麻衣子、林誠司、加藤徹、近藤勝、長井典子、早川文雄、高橋幸利、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性の慢性小脳炎の1例、第116回日本小児科学会学術集会、2013年4月19-21日、広島。
 20. 寺師英子、二宮崇仁、芳野三和、井浦広貴、岡本友樹、城尾正彦、高橋保彦、高橋幸利、Guillain-Barre 症候群を契機に発症した辺縁系脳炎の一例、第116回日本小児科学会学術集会、2013年4月19-21日、広島。
 21. 三月田 葉子、中村 雅之、高取 由紀子、鮫島 稔弥、中山 龍次郎、坂口 夏海、鮫島 三恵子、倉野 裕、春日井 基文、川池 陽一、渡邊 修、高嶋 博、堂地 勉、高橋 幸利、田中 恵子、佐野 輝、精神症状が前景に立った疑診例を含む自己抗体介在性辺縁系脳炎6症例、第109回日本精神神経学会、2013年5月23日-25日、福岡。
 22. 美根 潤、横山桃子、南 憲明、堀江昭好、岸 和子、山口清次、高橋幸利、島根大学小児科で経験した小児非ヘルペス性辺縁系脳炎3例の臨床的特徴、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 23. 榊原崇文、大塚敬太、河野安宣、高橋幸利、田中恵子、嶋緑倫、Levetiracetamの併用が有効であった抗NMDAR抗体陽性難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)の1例、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 24. 宮一志、原井朋美、宮脇利男、高橋幸利、森寿、培養細胞を用いたNMDA型グルタミン酸受容体に対する自己抗体測定の検討、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 25. 井原由紀子、友納優子、藤田貴子、井手口博、井上貴仁、安元佐和、高橋幸利、廣瀬伸一、タクロリムスが有効だった抗GluR抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎反復症例、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 26. 西里ちづる、高橋幸利、ステロイドパルス治療により脱力発作が消失したミオクロニー失立てんかんの一例、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 27. 藤田貴子、井原由紀子、二之宮信也、友納優子、井手口博、井上貴仁、高橋幸利、廣瀬伸一、安元佐和、当院で経験した脳炎・脳症における抗グルタミン酸レセプター抗体の検討、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 28. 宮内彰彦、山形崇倫、中山佐与、門田行史1、森雅人、福田冬季子、杉江秀夫、高橋幸利、桃井真里子、シクロホスファミド、リツキシマブ併用療法が有効であった抗NMDA受容体脳炎小児例、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 29. 谷口祐子、山形崇倫、森 雅人、門田行史、池田尚広、宮内彰彦、高橋幸利、桃井真里子、抗NMDA受容体脳炎7例の臨床的検討、第55回日本小児神経学会、2013年5月30-6月1日、大分。
 30. 中西 俊人、菅 智宏、池田 徳典、田山 親吾、山下 賢、山下 太郎、前田 寧、高橋 幸利、田中 恵子、片渕 秀隆、安東 由喜雄、抗NMDA受容体脳炎症例と非脳炎症例の卵巣奇形腫とでは、MHC class Iの発現状況が異なる、第54回日本神経学会学術大会、2013年5月30-6月1日、東京。
 31. 藤田浩司、松井尚子、高橋幸利、岩崎靖、吉田眞理、湯浅龍彦、和泉唯信、梶龍児、孤発性Creutzfeldt-Jakob病における髄液IL-17上昇、第54回日本神経学会学術大会、2013年5月30-6月1日、東京。
 32. 河村吉紀、井平 勝、高橋幸利、松田一己、吉川哲史、内側側頭葉てんかんにおけるHHV-6B関与の検討、第28回ヘルペスウイルス研究会 平成25年5月30日
 33. 並木薫、山田隆司、中武大志、徳永拓也、宇城敏秀、松田裕、河野次郎、高橋幸利、雨田立憲、橋口浩志、抗NMDA受容体抗体脳炎と診断した若年女性の一例、第69回宮崎県精神科医会懇話会、2013年6月1日、宮崎。
 34. 池田智香子、横田修、森本展年、本田肇、流王雄太、大島悦子、岸本由紀、長尾茂人、高木学、寺田整司、山下徹、渡辺修、高橋幸利、阿部康二、内富庸介、記憶障害と痙攣で発症した抗VGKC抗体陽性辺縁系脳炎の一例、第28回日本老年精神医学会、2013年6月4-6日、大阪。
 35. 竹田津原野、坂倉真実、坂田宏、高橋幸利、観察者により変化する歩行障害、行動異常から転換性障害と診断されていた、非ヘルペス性辺縁系脳炎の6歳男児例、日本小児救急医学会学術集会、2013年6月14日～15日、沖縄。
 36. 池田尚広、門田行史、英雅世、宮内彰彦、森雅人、杉江秀夫、高橋幸利、渡辺英寿、山形崇倫、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎後に脱力発作を来した1例、第7回日本てんかん学会関東甲信越地方会、2013年6月15日。
 37. 山岡祐衣、村上智美、奥村良法、渡邊誠司、愛波秀男、高橋幸利、小脳失調以外の所見

- が乏しく診断に苦慮した、オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群の1例、第59回静岡小児神経研究会、2013年6月22日、浜松。
38. 松島一士、高橋幸利、ADEM 類似の MRI 像を呈した抗 NMDA 受容体抗体陽性辺縁系脳炎の1例、日本神経学会近畿地方会、2013年6月22日
 39. 西口亮、藤本武士、野中俊章、福田安雄、江口勝美、高橋幸利、両耳介軟骨炎に抗グルタミン酸受容体抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎を合併した一例、日本神経学会九州地方会、2013年6月29日。
 40. 中嶋安曜、森田ゆかり、大崎康史、奥谷文乃、高橋幸利、嗅覚検査で異常を呈した抗 GluR 陽性の再発性非ヘルペス性辺縁系脳炎の一例、日本神経学会中国・四国地方会、2013年6月29日。
 41. 中嶋章浩、柳澤嘉伸、前林憲誠、湖海正尋、松永寿人、笠間周平、芳川浩男、橋本脳症と診断された一例、近畿精神学会、2013年7月27日、大阪。
 42. 福村忍、高山留美子、渡邊年秀、皆川公夫、高橋幸利、てんかんと鑑別を要した軽症自己免疫介在性脳炎の一男児例、日本てんかん学会北海道地方会 2013年9月7日。
 43. 矢野珠巨、沢石由記夫、久保田弘樹、高橋勉、高橋幸利、タクロリムス治療中の Rasmussen 脳炎の女児、第47回日本てんかん学会、2013年10月11-12日、北九州。
 44. 松浦隆樹、浜野晋一郎、菊池健二郎、田中学、南谷幹之、高橋幸利、井田博幸、小脳失調と同様に自己免疫学的機序が発症に関与したと考えられたミオクロニー失立発作を持つてんかんの1例、2013年10月11-12日、北九州。
 45. 井上裕文、梶本まどか、松重武志、百中宏、片野晴隆、高橋幸利、長谷川俊史、抗 GluR 抗体陽性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎におけるサイトカインの経時的変化、第18回日本神経感染症学会、2013年10月11-12日、宮崎。
 46. 河村吉紀、三浦浩樹、井平 勝、高橋幸利、松田一己、吉川哲史、内側側頭葉てんかん発症における HHV-6B の役割、第18回日本神経感染症学会、2013年10月11-12日、宮崎。
 47. 佐々木倫子、佐川洋平、石川勇仁、筒井幸、神林崇、清水徹男、高橋幸利、多彩な身体症状を呈し治療に難渋した抗 GluR 抗体陽性の辺縁系脳炎の一例、第67回東北精神神経学会、2013年10月13日、仙台。
 48. 西村 聡、松村 雄、高田 数馬、里見 瑠璃、宮本 智史、寺内 真理子、榎本 啓典、高橋 幸利、菅原 祐之、太田 正康、治療に苦慮している分類不能型の急性脳炎の1例、第104回茨城小児科学会、2013年11月10日、日立。
 49. 北原望、金光将史、石井とも、山口禎夫、杉森光子、高橋幸行、石井徹、劇的な経過をたどった急性辺縁系脳炎の2症例、日本小児科学会栃木県地方会、2013年11月17日。
 50. 高橋幸利、平松宏実、高尾恵美子、笠井理沙、西村成子、最上友紀子、美根潤、今井克美、小出泰道、松田一己、井上有史、赤坂紀幸、小西高志、今村淳、Rasmussen 症候群における免疫調節遺伝子のゲノム解析：T-bet (TBX21)、日本人類遺伝学会 第58回大会、2013年11月20-23日、仙台。
 51. 遠藤仁、山形宗久、桂永行、小泉文人、大沼禎史、酒井明夫、高橋幸利、田中恵子、神林崇、ステロイドパルス療法にて寛解後に再発した腫瘍非合併抗 NMDA 受容体抗体脳炎の一例、総合病院精神医学会総会、2013年11月末
 52. 福村忍、高山留美子、渡邊年秀、皆川公夫、高橋幸利、てんかんと鑑別を要した軽症自己免疫介在性脳炎の一男児例、第12回日本てんかん学会北海道地方会、札幌。
 53. 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、非傍腫瘍性抗 NMDAR 脳炎の病態解明：抗体 IgG サブクラスの検討、第25回日本神経免疫学会学術集会、2013年11月27日-29日、下関市。
 54. 藤田浩司、湯浅龍彦、高橋幸利、田中恵子、渡邊修、松井尚子、和泉唯信、梶龍児、抗神経抗体陽性の Creutzfeldt-Jakob 病と免疫関連脳炎の鑑別、第25回日本神経免疫学会学術集会、2013年11月27日-29日、下関市。
 55. 中野仁、皆川栄子、木下真幸子、高橋幸利、小西哲郎、再発性の脳幹・小脳炎を呈し抗 GA1 抗体および GluR 抗体が陽性であった一例、第25回日本神経免疫学会学術集会、2013年11月27日-29日、下関市。
 56. 早田有希、濱田健介、杉本泉、櫻井靖久、萬年徹、高橋幸利、失語で発症し、前頭葉穹隆部に広汎な血流低下を認めた抗グルタミン酸受容体抗体陽性非ヘルペス性急性脳炎、第207回神経学会関東・甲信越地方会、2013年11月30日。
 57. 加藤雅之、周藤豊、福岡一樹、山脇美香、中安弘幸、高橋幸利、平温療法が有効であった抗 NMDA 型 GluR 抗体陽性脳炎の1例、第95回日本神経学会中国・四国地方会、平成25年11月30日、米子。
 58. 日比新、丸浜伸一郎、山田真弓、濱谷美緒、江原祥子、木下智晴、猪野正志、高橋幸利、髄液 ADA 高値を示す無菌性髄膜炎が先行した卵巣奇形腫に伴うグルタミン酸受容体抗体陽性辺縁系脳炎の一例、第99回日本神経学会近畿地方会、平成25年11月30日、京都。
 59. 名和 智裕、末岡 秀文、三木 芳織、國崎 純、加藤 辰輔、寺田 光次郎、大門 祐介、我妻 嘉孝、小原 敏生、二階堂 弘輝、高橋幸利、急性辺縁系脳炎の1例、北海道小児科地方会、2013年12月。
 60. 久保田 真理、高橋 昭良、富本 亜由美、近藤 梨恵子、谷口 多嘉子、七條 光市、渡邊 力、中津 忠則、高橋 幸利、EB ウイルス初感染で伝染性単核球症症状なく辺

- 縁系脳炎を呈した一例、日本小児科学会徳島地方会、2013年12月、徳島。
61. 寺田 真、中馬越 清隆、高橋 幸利、玉岡 晃、持続する頭痛、悪心を呈し、抗グルタミン酸受容体抗体を伴う辺縁系脳炎の45歳女性例、第603回関東地方会、2014年2月8日、
 62. 許 全利、西田圭一郎、北浦祐一、三井 浩、嶽北佳輝、片上哲也、加藤正樹、高瀬勝教、高橋幸利、木下利彦、高齢男性に発症した抗NMDA受容体脳炎の診断、治療に苦慮した一例、第114回近畿精神神経学会、2014年2月15日
 63. 五味優子、上田薫、金井友哉、堀内洋志、中野真範、鳥巢勇一、森田昌代、高橋幸利、非腫瘍合併抗NMDA受容体脳炎の48歳男性例、日本内科学会東海地方会、2014年2月23日。
 64. 橋口俊太、川本裕子、城村裕司、岡田雅仁、田中恵子、高橋幸利、卵巣奇形腫を合併した抗NMDAR抗体陰性、抗GluR抗体陽性、第208回日本神経学会関東地方会、2014年3月1日、東京。
 65. 西田拓司、高橋幸利、てんかんでみられる精神症状のグルタミン酸受容体自己免疫学的機序に関する研究、てんかん治療振興財団研究発表会、2014年3月7日、千里。
 66. 金子知香子、Noshalea Shakespear、土屋真理夫、久保仁、山本悌司、片山宗一、高橋幸利、GluR ϵ 2抗体陽性脳炎5例の臨床像と抗体量の検討、日本神経内科学会東北地方会、2014年3月8日
 67. 永田恵蔵、仲地耕、神里尚美、高橋幸利、抗NMDA型グルタミン δ 2受容体抗体陽性小脳炎の二例、日本神経内科学会九州地方会、2014年3月8日、福岡。
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
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

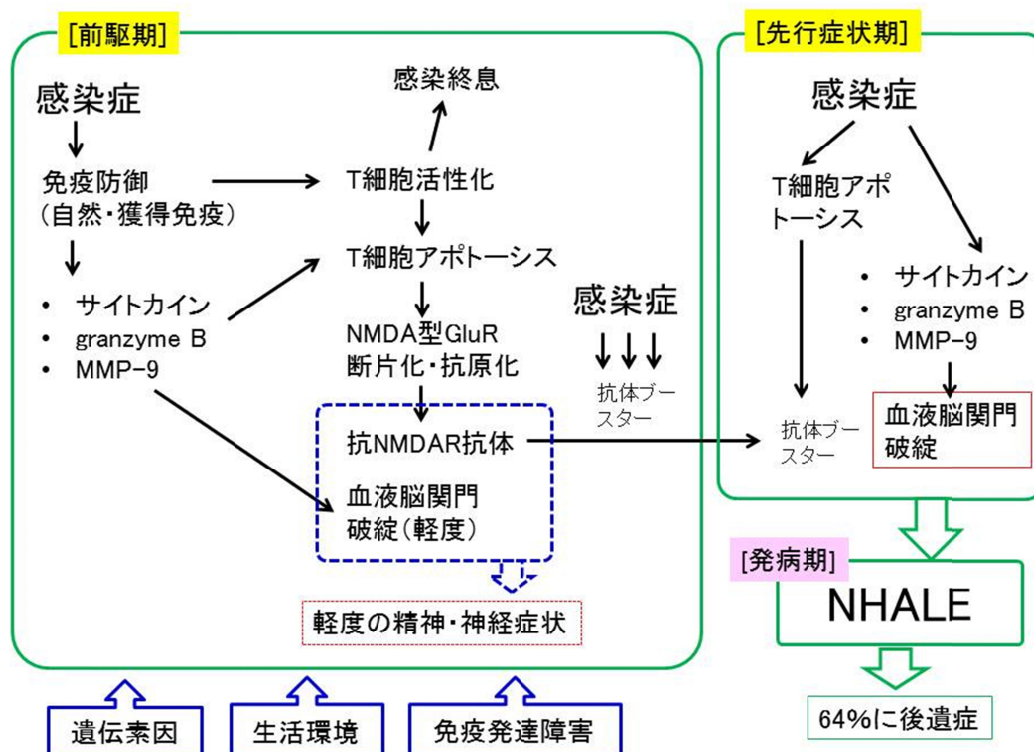


図1. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHALE) の発病までの病態仮説.

①明らかな意識障害出現前の急性期初期に

辺縁系症状

(1-4のいずれかひとつ)

1. 精神症状等
2. 記憶障害
3. 見当識障害
4. 感情障害

行動異常、思考減裂、興奮状態、幻聴、幻臭、精神運動興奮状態、統合失調症状、せん妄、性欲亢進、など

②急性に意識障害を含む脳炎症状が出現・経過: 除外5例

③ウイルス感染の否定: 除外1例

1. 髄液PCRによるウイルスDNA検出 (-)
2. 髄液抗体の有意な変動 (-)
3. 髄腔内抗体産生所見 (-)

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎 (NHALE)

- ・ 血清/髄液抗体比 > 20 または
- ・ 抗体価指数 = 髄液抗体 / 血清抗体 ÷ 髄液アルブミン / 血清アルブミン < 2

髄液NMDA型GluR (GluN2B-NT2)抗体 (ELISA)陽性: 217例

先行症状期の採血データがある

42例 (NHALE)

健康対照 (小児てんかん+職員) 129例 → 年齢・性一致健康対照 → 42例 (Controls)

感染症対照 (てんかん) 125例 → 年齢・性一致感染対照 → 42例 (Epilepsy infected)

図2. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の診断フローチャート、健康対照、感染症対照.

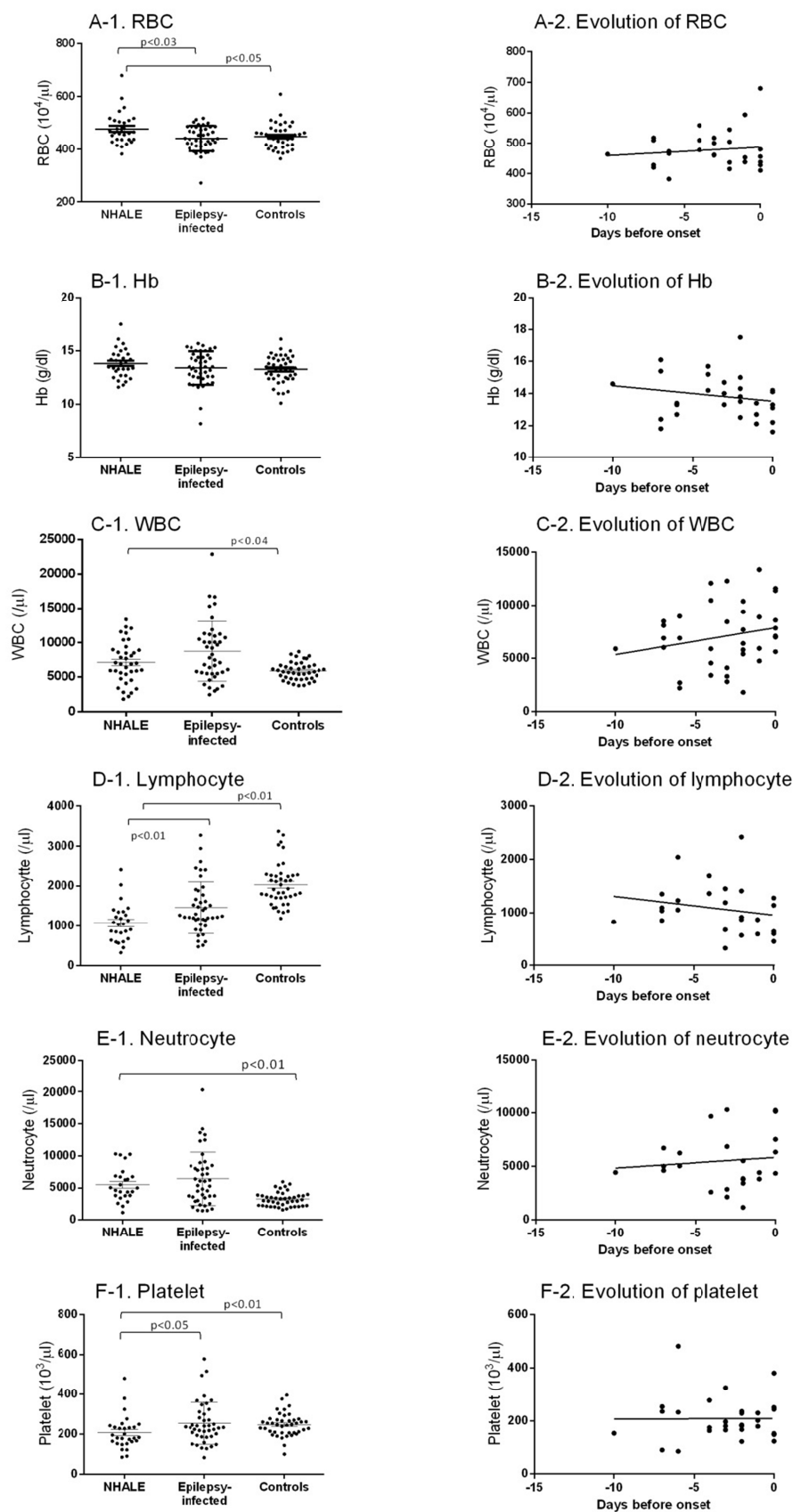


図3. 先行症状期の血球検査.

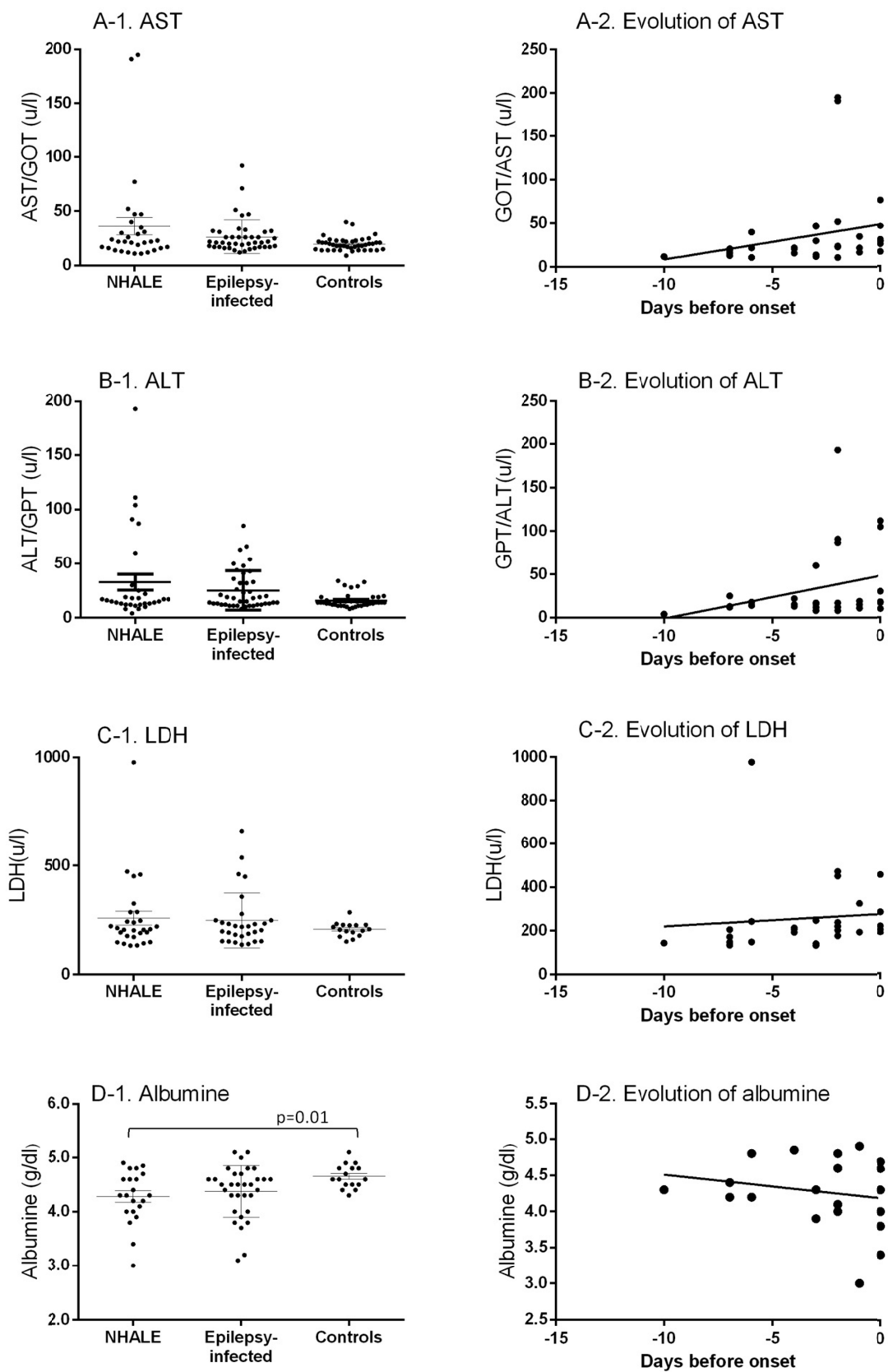


図4. 先行症状期の肝機能検査値.

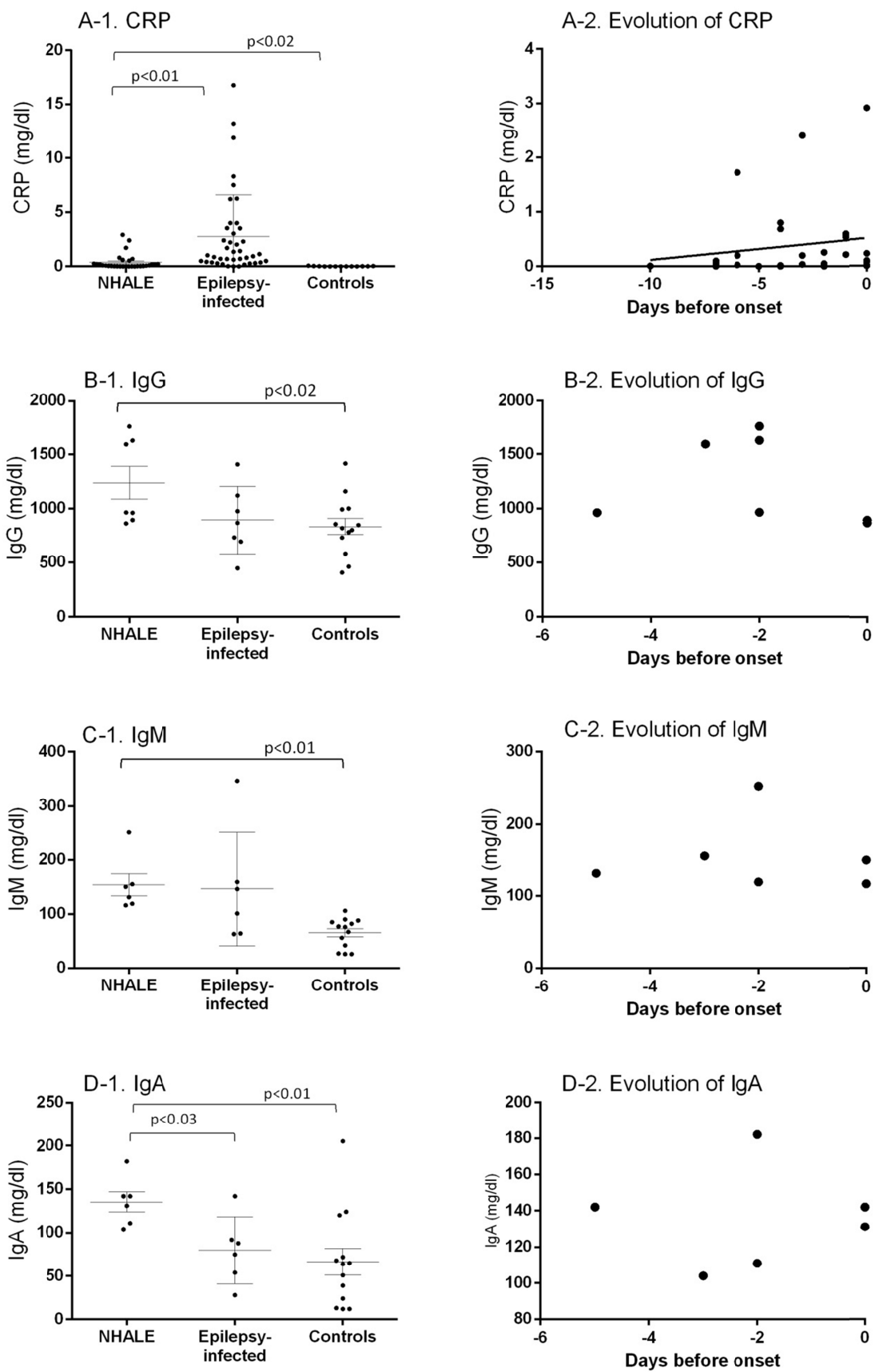


図5. 先行症状期の免疫検査値.

非傍腫瘍性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態解明
：GluN2B-NT2抗体 IgGサブクラスの検討

主任研究者 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GluN2B-NT2抗体のIgGサブクラス変動、役割を明らかにする。

【方法】我々は、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。

【結果】非傍腫瘍性NHALE症例22例の検査時年齢は 33.3 ± 9.5 歳（平均 $\pm$ SD）（19–52歳）、男性6例、女性16例、検体採取日は脳炎発病から 8.4 ± 7.7 日（平均 $\pm$ SD）（0–33日）であった。非傍腫瘍性NHALE髄液では、IgG1サブクラスは 8.1 ± 4.2 （平均 $\pm$ SD）（ng/ml）、IgG2サブクラスは 4.9 ± 2.9 （ng/ml）、IgG3サブクラスは 2.5 ± 1.7 （ng/ml）、IgG4サブクラスは 2.6 ± 1.9 （ng/ml）で、IgG1–4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。

【結論】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。

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（nonherpetic acute limbic encephalitis, 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、運動障害が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、我々はN-methyl-D-aspartate (NMDA)-type GluRs (NMDARs)のサブユニットの一つであるGluR2（現在は命名法が変わりGluN2B）に対する抗体を、イムノブロット法により脳炎患者等の髄液中に見出し（高橋幸利、日児誌）、2007年、Dalmauらは卵巣奇形

腫合併脳炎症例でcell-based assayによるNMDAR抗体を報告 (Dalmau, Ann Neurol)、NMDA型GluRに対する抗体による脳炎が注目されるようになった。2008年、我々はELISAでGluN2Bの細胞外ドメインであるN末に対する抗体 (GluN2B-NT2抗体) の測定法を開発し、NMDA型GluR抗体の半定量を可能にし、NMDA型GluR抗体の関与する脳炎の特徴が明らかになりつつある。

DalmauやIraniらは、cell-based assayによるNMDAR抗体はIgG1サブクラス主体であるとしているが、IgG1が補体結合反応-神経細胞死を起こす可能性が高いにもかかわらず、補体の中枢神経系への沈着がない (Tüzün, 2009) こと、本症の予後が比較的良いことに、矛盾があると思われる。今回我々は、ELISA法でGluN2B-NT2抗体のIgGサブクラスを測定する系を確立し、非傍腫瘍性NHALEの髄液で検討し、興味ある知見を得たので報告する。

B. 研究方法

【対象】抗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、髄液ウィルスPCR陰性で、髄液cell-based assay-NMDAR抗体またはELISAによる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例の髄液を用いた。疾病対照は非炎症性の原因が推定されるてんかん症例など17例の髄液とした。

【IgGサブクラス測定方法】

1. Maxisorb plate (Nalge Nunc International, 468667) にGluN2B-NT2 peptide をコーティングし、standard wellは、IgG 1-4 (フナコシ, ABD 5219-3004, 5225-3004, 5248-3004, 5254-3004 : 1mg/ml) で希釈系列を作りコーティングする。
2. 0.5% BSA in PBST (250 μ l) でblockingした後、血清 (10% BSA in PBSTで10倍希釈、100 μ l) または髄液 (100 μ l) を加え、37°C、2時間インキュベートする。

3. HRP conjugated anti-human IgG subclass antibodies (Human IgG Subclass Screening Kit, フナコシ, CYGNUS TECHNOLOGIES #IM50) (1:100) の希釈液 (PBSTで100倍希釈) を100 μ l/well入れ、2時間室温に置く。

4. TMB (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine), H2O2 を当量混和し (各6ml/枚) 100 μ l/well 添加した後、15分後1M H3PO4 100 μ l加え反応停止。

5. 450nmで吸光度測定。

【統計】平均値の有意差はMann Whitney testを用い、直線回帰はGraphPad Prismを用いて検討した。予後の指標として、急性期入院日数、Barthel score、てんかん発作予後 (0-4段階)、精神症状予後 (0-2段階)、認知機能予後 (0-5段階)、記憶予後 (0-2段階)、運動機能予後 (0-3段階) を用いた (高橋幸利、他、Neuroinfection, 2009)。

(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. 対象症例の臨床特徴

非傍腫瘍性NHALE症例22例の検査時年齢は 3.3 ± 9.5 歳 (平均 $\pm$ SD) (19-52歳)、男性6例、女性16例、検体採取日は脳炎発病から 8.4 ± 7.7 日 (平均 $\pm$ SD) (0-33日)であった。

疾病対照17例は、非炎症性の病因为推定される局在関連性てんかん13例、未決定てんかん2例、低酸素性脳障害1例、症候性全般てんかん1例からなり、検査時年齢は 19.3 ± 24.0 歳 (1-72歳)、男性9例、女性8例であった。

2. GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値

非傍腫瘍性NHALE髄液では、IgG1サブクラスは 8.1 ± 4.2 (平均 $\pm$ SD) (ng/ml)、IgG2サブクラスは 4.9 ± 2.9 (ng/ml)、IgG3サブクラスは 2.5 ± 1.7 (ng/ml)、IgG4サブクラスは2.

6±1.9 (ng/ml)で、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 (図1)。

症例ごとに比較すると、IgG1サブクラスとIgG3サブクラスが高い症例、IgG1サブクラスとIgG2サブクラスが高い症例、IgG2サブクラスが高い症例など様々であった。

3. GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス比

各IgGサブクラスの全体に占める割合では、IgG2、IgG4サブクラスが疾病対照髄液に比べて有意に増加し、IgG1サブクラスが有意に低下していた (図1)。

4. GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値と経過

脳炎発病後の経過で見ると、発病時よりも10-15病日に向けて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。IgG2とIgG4サブクラスは1病日から平均+2SDを超える検体が多く、IgG1サブクラスは2病日まででは全例平均+2SD 以下で、10病日以降後3/8例で平均+2SDを超えた。IgG3サブクラスも5病日以降に高値をとる検体が多かった (図2)。

5. GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値と急性期入院日数

GluN2B-NT2抗体IgG1サブクラスは急性期入院日数と直線的回帰が認められ ($p=0.03$)、IgG3サブクラスは急性期入院日数と直線的回帰の傾向が認められたが有意ではなかった ($p=0.05$) (図3)。

5. GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値と予後

GluN2B-NT2抗体IgG1サブクラスは、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。GluN2B-NT2抗体IgG2サブクラスは、相関関係がある予後指標は認められなかった。GluN2B-NT2抗体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 (図4)。GluN2B-NT2抗体IgG4サブ

クラスは、相関関係がある予後指標は認められなかった。

D. 考察

今回我々は、ELISA法でGluN2B-NT2抗体のIgGサブクラスを測定する系を確立し、非傍腫瘍性NHLEの髄液で検討した。

髄液GluN2B-NT2抗体 (ELISA)陽性の非傍腫瘍性NHLEでは、対照髄液に比べてGluN2B-NT2抗体のすべてのIgGサブクラスが増加し、22例の平均値ではIgG 1 > IgG2 > とIgG4 > IgG3サブクラスの順であった。疾病対照の平均+2SD以上を陽性とする、8/22例でIgG1、18/22例でIgG2、12/22例でIgG3、12/22例でIgG4サブクラスが陽性であった。Tüzünらはcell-based assayにより定性的に検討し、12/13例でIgG1、2/13例でIgG2、3/13例でIgG3サブクラスを認めたとしている。Iraniらはcell-based assayにより判定量的に検討し、9/11例でIgG1、2/11例でIgG2、3/11例でIgG3サブクラスを認めたとしている。我々のデータもTüzünやIraniのデータもIgG1サブクラスが主体であることは一致しているが、IgG2サブクラスの関与に違いがある。IgG2サブクラスは発病初期に高値であり、我々の検体が免疫治療前の早い時期の検体であることが、TüzünやIraniのデータとの違いを生んでいるかもしれない。

我々のデータでは、発病から10-15病日にかけて、臨床経過に沿ってIgG1-3のサブクラスが増加する経過が推定されたが、IgG4サブクラスは徐々に低下する経過が推測された。発病初期には、補体活性化に関与しないIgG2、IgG4サブクラスが増加、発病後10-20日で補体活性化に関与するIgG1とIgG3サブクラスが増加する症例があった。Iraniらは発病初期には血清中のNMDAR抗体が中枢神経系に移行し、後期には2次的な免疫の拡がりでもオリゴクローナルIgGが産生すると考えている。IgG1やIgG3サブクラスは遅れて中枢神経系で産生され、補体を活性化する可能性がある。

GluN2B-NT2抗体IgG1サブクラスは急性期入

院日数（重症度）、てんかん発作予後、認知機能予後と相関し、IgG3サブクラスは、Barthel score、てんかん発作予後、認知機能予後、運動機能予後と相関したことから、IgG1、IgG3サブクラスの補体介在性の神経障害がNHALEの重症度を規定している可能性が示唆された。

NMDA型GluR抗体の役割として、2010年Hughesは患者髄液によるNMDA型GluRの内在化を報告した（J Neurosci）。2011年、培養神経細胞のアポトーシスを抗NR抗体陽性脳炎髄液は促進するが、髄液IgG分画はシナプス外NRを内在化しアポトーシスを抑制することを、我々は報告した。内在化を起こすIgGサブクラスは特定できていない。

E. 結論

髄液NMDA型GluR抗体陽性の非傍腫瘍性NHALEでは、髄液GluN2B-NT2抗体はすべてのIgGサブクラスが増加し、濃度ではIgG1 > IgG2 > IgG4 > IgG3サブクラスの順であった。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、非傍腫瘍性NHALEの重症度、予後を規定している可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ryuta Kinno, Yukitoshi Takahashi, et al., Cerebellar symptoms in a case of acute limbic encephalitis associated with autoantibodies to glutamate receptors $\epsilon 2$ and $\delta 2$. Clinical Neurology and Neurosurgery 2013; 115(4): 481-483.
2. Daisuke Usui, Yukitoshi Takahashi, et al., Interstitial Duplication of 2q32.1-q33.3 in a Patient With Epilepsy, Developmental Delay, and Autistic Behavior, Am J Med Genet Part A 161A:1078-1084.
3. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Risk factors for hyperammonemia in pediatric epilepsy patients, Epilepsia 2013; 54(6): 983-989.
4. Yukitoshi Takahashi, et al., Immunomodulatory therapy versus surgery for Rasmussen syndrome in early childhood, Brain & Development, 2013; 35: 778-785.

5. Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, et al., Influence of CYP2C19 polymorphism and concomitant antiepileptic drugs on serum clobazam and N-desmethyl-clobazam concentrations in patients with epilepsy, Therapeutic Drug Monitoring, 2013; 35(3): 305-312.
6. Taiki Kambe, Yukitoshi Takahashi, et al., A mild form of adult-onset opsoclonus-myoclonus syndrome associated with anti-glutamate receptor antibodies, JAMA Neurology, 2013; 70(5): 654-655.
7. Naoto Kohno, Yukitoshi Takahashi, et al., A discrepancy between the clinical course and magnetic resonance imaging in a case of non-herpetic acute limbic encephalitis, Neurology International, 2013; 5(2): 23-27.
8. Norimichi Higurashi, Yukitoshi Takahashi, et al., PCDH19-related Female-Limited Epilepsy-Independent Clinical Entity and Differences from Dravet Syndrome, Epilepsy Research, 2013; 106: 191-199.
9. Ichiro Kuki, Yukitoshi Takahashi, et al., Case report on vitamin B6 responsive epilepsy due to inherited GPI deficiency, Neurology 2013; 81: 1497-1499.
10. Yukitoshi Takahashi, et al., Genetic variations of immunoregulatory genes associated with Rasmussen syndrome. Epilepsy Research, 2013; 107: 238-243.
11. Emi Tabata, Yukitoshi Takahashi, et al., Immunopathological significance of ovarian teratoma in patients with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis, Eur Neurol, 2013; 71(1-2): 42-48.
12. Chihiro Yonee, Yukitoshi Takahashi, et al., Association of acute cerebellar ataxia and human papilloma virus vaccination: a case report" in its current form for publication, Neuropediatrics, in press. 2013 Feb 1.
13. Armangue T, Takahashi Y, et al., A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma. Ann Neurol. in press.
14. 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.
15. Hiromasa Uchizono, Yukitoshi Takahashi, et al., Acute Cerebellitis Following Hemolytic Streptococcal Infection, Pediatr Neurol in press.
16. Nahoko Kaniwa, Yukitoshi Takahashi, et al., Specific HLA types are associated with anti-epileptic drug-induced

- Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the Japanese, *Future medicine* in press.
17. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Increased interleukin-17 in the cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study of rapidly progressive dementia, *Journal of Neuroinflammation*, in press.
 18. Kazushi Miya, Yukitoshi Takahashi, et al., Anti-NMDAR autoimmune encephalitis, *Brain & Development*, in press.
 19. Rumiko Takayama, Yukitoshi Takahashi, et al., Long-term course of Dravet syndrome: a study from an epilepsy center in Japan, *Epilepsia*, in press.
 20. Aya Narita, Yukitoshi Takahashi, et al., Abnormal Pupillary Light Reflex with Chromatic Pupillometry in Gaucher disease, *Annals of Clinical and Translational Neurology*, in press.
 21. 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*, in press.
 22. Koji Fujita, Yukitoshi Takahashi, et al., Neuronal Antibodies in Creutzfeldt-Jakob Disease, *JAMA Neurology*, in press.
 23. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかん診療マニュアル、I章 疾患概念と診断基準、Rasmussen 症候群、診断と治療社、p54-56、2013 年。
 24. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかんマニュアル、II章 診断マニュアル、免疫介在性てんかん診断マニュアル、診断と治療社、p126-131、2013 年。
 25. 高橋幸利、他、編集、大槻泰介、他、稀少難治性てんかん診療マニュアル、III章 治療マニュアル、その他の内科的治療マニュアル、診断と治療社、p146-150、2013 年。
 26. 高橋幸利、脳炎によるてんかん重積、てんかん学会編、てんかん専門医ガイドブック、診断と治療社、印刷中。
 27. 高橋幸利、その他の急性病態、てんかん学会編、てんかん専門医ガイドブック、診断と治療社、印刷中。
 28. 高橋幸利、他、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、印刷中。
 29. 高橋幸利、他、Antibody Update グルタミン酸受容体自己抗体、*Brain and Nerve*、2013 ; 65 (4) : 345-353.
 30. 木村暢佑、高橋幸利、他、小児てんかん外科 早期手術患者の発見と利点 ―発達の観点から―、*脳と発達*、2013 ; 45 : 199-205.
 31. 村上秀友、高橋幸利、他、伝染性単核球症に続発し髄液に抗グルタミン酸受容体 82 抗体を認めた急性小脳失調症、*臨床神経学*、2013 ; 53 (7) : 555-558.
 32. 池上真理子、高橋幸利、他、難治 epileptic spasm を有する症例における ACTH 療法反復施行の検討、*脳と発達*、2013 ; 45 : 281-287.
 33. 高橋幸利、他、GluR α 2 抗体 (NR2B 抗体) -神経疾患における意義、*神経内科*、2013 ; 79 (3) : 354-362.
 34. 藤井裕樹、高橋幸利、他、卵巣奇形腫を合併し抗 NMDA 受容体抗体陽性の glioblastoma の 1 例、*臨床神経学*、2013 ; 53(9): 712-715.
 35. 尾上亮、荒木勇人、高橋幸利、島筒和史、中原章徳、左半身の部分痙攣にて発症した抗 N-methyl-D-aspartate(NMDA)受容体脳炎の 1 例、*広島医学*、2014 ; 67 : 51-54.
 36. 高橋幸利、他、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*、印刷中。
 37. 高橋幸利、他、てんかんー基礎・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*、印刷中。
 38. 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*、印刷中。
- ## 2. 学会発表
1. Yukitoshi Takahashi, Immunomodulatory therapy in Rasmussen syndrome, KES-JES Joint symposium, The 47th Congress of the Japan Epilepsy Society , Oct, 11-12th 2013, Kitakyushu.
 2. Mariko Ikegami, Yukitoshi Takahashi, Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hideyuki Otani, Yuko Kubota, Hideo Shigematsu, Rumiko Takayama, Yukiko Mogami, Efficacy of Repeated Adrenocorticotrophic Hormone Therapy in Patients with Intractable Epileptic Spasms, 30th International Epilepsy Congress, June 23rd-27th, 2013, Montreal.
 3. Yuhei Chiba, Omi Katsuse, Yukitoshi Takahashi, Makoto Yoneda, Takahiro Ikura, Misako Kunii, Atsushi Ihata, Atsuhisa Ueda, Mitsuhiro Takeno, Takashi Togo, Yoshio Hirayasu, Anti-glutamate receptor epsilon 2 antibodies in psychiatric patients with anti-thyroid autoantibodies – a prevalence study in Japan, 11th World Congress of Biological Psychiatry, 2013 June 25 Kyoto.
 4. Takako Fujita, Yukiko Ihara, Yuko Tomonoh, Hiroshi Ideguchi, Takahito Inoue, Yukitoshi Takahashi, Sawa Yasumoto, Shinichi Hirose, An Effective Treatment for Intractable Epilepsy associated with anti-GluR antibodies: Steroid Pulse Therapy combined with Levetiracetam, 12th Asian Oceanian Congress on Child Neurology – 14-18 September 2013, Riyadh, Saudi Arabia.

5. Hiroyuki Fujita, Miwa Kanaoka, Midori Matsuura, Amiko Hakuta, Yukitoshi Takahashi, Michiko Aihara, Prolonged toxic epidermal necrolysis after B cell depletion therapy, 8th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions Pre-iSCAR meeting (World SCAR joint meeting), Dec. 15th 2013, Taipei.
6. 高橋幸利、Rasmussen 症候群の病態解明から治療へ、第 3 回トランスレーショナルてんかん研究会、2013 年 5 月 17 日、新潟.
7. 高橋幸利、山口解冬、シンポジウム「難治性てんかんの病態を探る：分子遺伝学、病理、免疫、代謝異常、画像、電気生理」、第 55 回日本小児神経学会、2012 年 5 月 29-6 月 1 日、大分.
8. 高橋幸利、グルタミン酸受容体に対する自己免疫が介在する神経疾患の研究、静岡県立大学薬学部大学院第 229 回例会薬学セミナー、2013 年 7 月 30 日、静岡.
9. 高橋 幸利、抗グルタミン酸受容体抗体関連神経疾患の臨床と病態、東部神経フォーラム（研究会）、2013 年 9 月 20 日、東京.
10. 高橋幸利、非ヘルペス性辺縁系脳炎の最新知識、第 18 回日本神経感染症学会ランチョンセミナー、2013 年 10 月 12 日、宮崎.
11. 高橋幸利、難治てんかんの病態研究と新規治療、第 47 回埼玉てんかん懇話会、2013 年 10 月 24 日、大宮.
12. 高橋幸利、免疫介在性神経疾患、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会、2013 年 10 月 26-27 日、札幌.
13. 高橋幸利、グルタミン酸受容体に対する免疫反応の関与する脳炎・てんかん、第 39 回 東京てんかんフォーラム、2013 年 11 月 12 日、東京.
14. 高橋幸利、ビデオ講習：NMDAR 抗体脳炎、第 25 回 日本神経免疫学会学術集会、2013 年 11 月 27-29 日、下関.
15. 平本恵子、山中正美、六車一樹、西野繁樹、山田那々恵、高野真紀、藤本純子、高橋幸利、田中恒夫、くも膜下出血および二次性正常圧水頭症治療後に発症したラズムッセン脳炎の一例、第 75 回日本脳神経外科学会中国四国支部会、2013 年 4 月 6-7 日、下関.
16. 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、大谷英之、池田浩子、今井克美、重松秀夫、NMDAR 抗体陽性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の早期診断：先行症状の検討、第 116 回日本小児科学会学術集会、2013 年 4 月 19-21 日、広島.
17. 植田佑樹、高橋幸利、保立麻美子、山口解冬、那須裕郷、高山留美子、大谷英之、池田浩子、今井克美、重松秀夫、ステロイドパルス療法が奏功した、傍感染性基底核脳炎の一例、第 116 回日本小児科学会学術集会、2013 年 4 月 19-21 日、広島.
18. 柴田晶美、増田俊樹、森麻美、吉岡誠一郎、高橋幸利、サイトメガロウイルス (CMV) 感染を契機に発症した抗グルタミン酸受容体 82 および 82 抗体陽性の急性小脳失調症の 1 例、第 116 回日本小児科学会学術集会、2013 年 4 月 19-21 日、広島.
19. 辻健史、谷口顕信、渡邊由香利、松沢麻衣子、林誠司、加藤徹、近藤勝、長井典子、早川文雄、高橋幸利、抗グルタミン酸受容体抗体が陽性の慢性小脳炎の 1 例、第 116 回日本小児科学会学術集会、2013 年 4 月 19-21 日、広島.
20. 寺師英子、二宮崇仁、芳野三和、井浦広貴、岡本友樹、城尾正彦、高橋保彦、高橋幸利、Guillain-Barre 症候群を契機に発症した辺縁系脳炎の一例、第 116 回日本小児科学会学術集会、2013 年 4 月 19-21 日、広島.
21. 三月田葉子、中村雅之、高取由紀子、鮫島稔弥、中山龍次郎、坂口夏海、鮫島三恵子、倉野裕、春日井基文、川池陽一、渡邊修、高嶋博、堂地 勉、高橋幸利、田中恵子、佐野輝、精神症状が前景に立った疑診例を含む自己抗体介在性辺縁系脳炎 6 症例、第 109 回日本精神神経学会、2013 年 5 月 23-25 日、福岡.
22. 美根 潤、横山桃子、南 憲明、堀江昭好、岸 和子、山口清次、高橋幸利、島根大学小児科で経験した小児非ヘルペス性辺縁系脳炎 3 例の臨床的特徴、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
23. 榊原崇文、大塚敬太、河野安宣、高橋幸利、田中恵子、嶋緑倫、Levetiracetam の併用が有効であった抗 NMDAR 抗体陽性難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)の 1 例、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
24. 宮一志、原井朋美、宮脇利男、高橋幸利、森寿、培養細胞を用いた NMDA 型グルタミン酸受容体に対する自己抗体測定の検討、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
25. 井原由紀子、友納優子、藤田貴子、井手口博、井上貴仁、安元佐和、高橋幸利、廣瀬伸一、タクロリムスが有効だった抗 GluR 抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎反復症例、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
26. 西里ちづる、高橋幸利、ステロイドパルス治療により脱力発作が消失したミオクロニー失てんかんの一例、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
27. 藤田貴子、井原由紀子、二之宮信也、友納優子、井手口博、井上貴仁、高橋幸利、廣瀬伸一、安元佐和、当院で経験した脳炎・脳症における抗グルタミン酸レセプター抗体の検討、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.
28. 宮内彰彦、山形崇倫、中山佐与、門田行史、森雅人、福田冬季子、杉江秀夫、高橋幸利、桃井真里子、シクロホスファミド、リツキシマブ併用療法が有効であった抗 NMDA 受容体脳炎小児例、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分.

29. 谷口祐子、山形崇倫、森 雅人、門田行史、池田尚広、宮内彰彦、高橋幸利、桃井真里子、抗 NMDA 受容体脳炎 7 例の臨床的検討、第 55 回日本小児神経学会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、大分。
30. 中西 俊人、菅 智宏、池田 徳典、田山 親吾、山下 賢、山下 太郎、前田 寧、高橋 幸利、田中 恵子、片渕 秀隆、安東 由喜雄、抗 NMDA 受容体脳炎症例と非脳炎症例の卵巣奇形腫とでは、MHC class I の発現状況が異なる、第 54 回日本神経学会学術大会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、東京。
31. 藤田浩司、松井尚子、高橋幸利、岩崎靖、吉田眞理、湯浅龍彦、和泉唯信、梶龍兒、孤発性 Creutzfeldt-Jakob 病における髄液 IL-17 上昇、第 54 回日本神経学会学術大会、2013 年 5 月 30-6 月 1 日、東京。
32. 河村吉紀、井平 勝、高橋幸利、松田一己、吉川哲史、内側側頭葉てんかんにおける HHV-6B 関与の検討、第 28 回ヘルペスウイルス研究会 2013 年 5 月 30-6 月 1 日、淡路。
33. 並木薫、山田隆司、中武大志、徳永拓也、宇城敏秀、松田裕、河野次郎、高橋幸利、雨田立憲、橋口浩志、抗 NMDA 受容体抗体脳炎と診断した若年女性の一例、第 69 回宮崎県精神科医会懇話会、2013 年 6 月 1 日、宮崎。
34. 池田智香子、横田修、森本展年、本田肇、流王雄太、大島悦子、岸本由紀、長尾茂人、高木学、寺田整司、山下徹、渡辺修、高橋幸利、阿部康二、内富庸介、記憶障害と痙攣で発症した抗 VGKC 抗体陽性辺縁系脳炎の一例、第 28 回日本老年精神医学会、2013 年 6 月 4-6 日、大阪。
35. 竹田津原野、坂倉真実、坂田宏、高橋幸利、観察者により変化する歩行障害、行動異常から転換性障害と診断されていた、非ヘルペス性辺縁系脳炎の 6 歳男児例、日本小児救急医学会学術集会、2013 年 6 月 14 日～15 日、沖縄。
36. 池田尚広、門田行史、英雅世、宮内彰彦、森雅人、杉江秀夫、高橋幸利、渡辺英寿、山形崇倫、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎後に脱力発作を来した 1 例、第 7 回日本てんかん学会関東甲信越地方会、2013 年 6 月 15 日、東京。
37. 山岡祐衣、村上智美、奥村良法、渡邊誠司、愛波秀男、高橋幸利、小脳失調以外の所見が乏しく診断に苦慮した、オプソクロノス・ミオクロノス症候群の 1 例、第 59 回静岡小児神経研究会、2013 年 6 月 22 日、浜松。
38. 松島一士、高橋幸利、ADEM 類似の MRI 像を呈した抗 NMDA 受容体抗体陽性辺縁系脳炎の 1 例、日本神経学会近畿地方会、2013 年 6 月 22 日、奈良。
39. 西口亮、藤本武士、野中俊章、福田安雄、江口勝美、高橋幸利、両耳介軟骨炎に抗グルタミン酸受容体抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎を合併した一例、日本神経学会九州地方会、2013 年 6 月 29 日、佐賀。
40. 中嶋安曜、森田ゆかり、大崎康史、奥谷文乃、高橋幸利、嗅覚検査で異常を呈した抗 GluR 陽性の再発性非ヘルペス性辺縁系脳炎の一例、日本神経学会中国・四国地方会、2013 年 6 月 29 日、松山。
41. 中嶋章浩、柳澤嘉伸、前林憲誠、湖海正尋、松永寿人、笠間周平、芳川浩男、橋本脳症と診断された一例、近畿精神学会、2013 年 7 月 27 日、大阪。
42. 福村忍、高山留美子、渡邊年秀、皆川公夫、高橋幸利、てんかんと鑑別を要した軽症自己免疫介在性脳炎の一男児例、日本てんかん学会北海道地方会 2013 年 9 月 7 日、札幌。
43. 矢野珠巨、沢石由記夫、久保田弘樹、高橋勉、高橋幸利、タクロリムス治療中の Rasmussen 脳炎の女児、第 47 回日本てんかん学会、2013 年 10 月 11-12 日、北九州。
44. 松浦隆樹、浜野晋一郎、菊池健二郎、田中学、南谷幹之、高橋幸利、井田博幸、小脳失調と同様に自己免疫学的機序が発症に関与したと考えられたミオクロニー失立発作を持つてんかんの 1 例、2013 年 10 月 11-12 日、北九州。
45. 井上裕文、梶本まどか、松重武志、百中宏、片野晴隆、高橋幸利、長谷川俊史、抗 GluR 抗体陽性非ヘルペス性急性辺縁系脳炎におけるサイトカインの経時的変化、第 18 回日本神経感染症学会、2013 年 10 月 11-12 日、宮崎。
46. 河村吉紀、三浦浩樹、井平 勝、高橋幸利、松田一己、吉川哲史、内側側頭葉てんかん発症における HHV-6B の役割、第 18 回日本神経感染症学会、2013 年 10 月 11-12 日、宮崎。
47. 佐々木倫子、佐川洋平、石川勇仁、筒井幸、神林崇、清水徹男、高橋幸利、多彩な身体症状を呈し治療に難渋した抗 GluR 抗体陽性の辺縁系脳炎の一例、第 67 回東北精神神経学会、2013 年 10 月 13 日、仙台。
48. 西村聡、松村雄、高田数馬、里見瑠璃、宮本智史、寺内真理子、榎本啓典、高橋幸利、菅原祐之、太田正康、治療に苦慮している分類不能型の急性脳炎の 1 例、第 104 回茨城小児科学会、2013 年 11 月 10 日、日立。
49. 北原望、金光将史、石井とも、山口禎夫、杉森光子、高橋幸行、石井徹、劇的な経過をたどった急性辺縁系脳炎の 2 症例、日本小児科学会栃木県地方会、2013 年 11 月 17 日。
50. 高橋幸利、平松宏実、高尾恵美子、笠井理沙、西村成子、最上友紀子、美根潤、今井克美、小出泰道、松田一己、井上有史、赤坂紀幸、小西高志、今村淳、Rasmussen 症候群における免疫調節遺伝子のゲノム解析：T-bet (TBX21)、日本人類遺伝学会 第 58 回大会、2013 年 11 月 20-23 日、仙台。
51. 遠藤仁、山形宗久、桂永行、小泉文人、大沼禎史、酒井明夫、高橋幸利、田中恵子、神林崇、ステロイドパルス療法にて寛解後

- に再発した腫瘍非合併抗 NMDA 受容体抗体脳炎の一例、第 26 回日本総合病院精神医学会総会、2013 年 11 月 29-30 日、京都。
52. 福村忍、高山留美子、渡邊年秀、皆川公夫、高橋幸利、てんかんと鑑別を要した軽症自己免疫介在性脳炎の一男児例、第 12 回日本てんかん学会北海道地方会、2013 年 9 月 7 日、札幌。
 53. 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、非腫瘍性抗 NMDAR 脳炎の病態解明：抗体 IgG サブクラスの検討、第 25 回 日本神経免疫学会学術集会、2013 年 11 月 27 日-29 日、下関。
 54. 藤田浩司、湯浅龍彦、高橋幸利、田中恵子、渡邊修、松井尚子、和泉唯信、梶龍児、抗神経抗体陽性の Creutzfeldt-Jakob 病と免疫関連脳炎の鑑別、第 25 回 日本神経免疫学会学術集会、2013 年 11 月 27 日-29 日、下関。
 55. 中野仁、皆川栄子、木下真幸子、高橋幸利、小西哲郎、再発性の脳幹・小脳炎を呈し抗 GA1 抗体および GluR 抗体が陽性であった一例、第 25 回 日本神経免疫学会学術集会、2013 年 11 月 27 日-29 日、下関。
 56. 早田有希、濱田健介、杉本泉、櫻井靖久、萬年徹、高橋幸利、失語で発症し、前頭葉穹隆部に広汎な血流低下を認めた抗グルタミン酸受容体抗体陽性非ヘルペス性急性脳炎、第 207 回日本神経学会関東・甲信越地方会、2013 年 11 月 30 日、東京。
 57. 加藤雅之、周藤豊、福岡一樹、山脇美香、中安弘幸、高橋幸利、平温療法が有効であった抗 NMDA 型 GluR 抗体陽性脳炎の 1 例、第 95 回日本神経学会中国・四国地方会、2013 年 11 月 30 日、米子。
 58. 日比新、丸浜伸一郎、山田真弓、濱谷美緒、江原祥子、木下智晴、猪野正志、高橋幸利、髄液 ADA 高値を示す無菌性髄膜炎が先行した卵巣奇形腫に伴うグルタミン酸受容体抗体陽性辺縁系脳炎の一例、第 99 回日本神経学会近畿地方会、2013 年 11 月 30 日、京都。
 59. 名和 智裕、末岡 秀文、三木 芳織、國崎 純、加藤 辰輔、寺田 光次郎、大門 祐介、我妻 嘉孝、小原 敏生、二階堂 弘輝、高橋幸利、急性辺縁系脳炎の 1 例、北海道小児科地方会、2013 年 12 月 2 日、札幌。
 60. 久保田 真理、高橋 昭良、富本 亜由美、近藤 梨恵子、谷口 多嘉子、七條 光市、渡邊 力、中津 忠則、高橋 幸利、EB ウイルス初感染で伝染性単核球症症状なく辺縁系脳炎を呈した一例、日本小児科学会徳島地方会、2013 年 12 月 15 日、徳島。
 61. 寺田 真、中馬越 清隆、高橋 幸利、玉岡 晃、持続する頭痛、悪心を呈し、抗グルタミン酸受容体抗体を伴う辺縁系脳炎の 45 歳女性例、第 603 回日本内科学会関東地方会、2014 年 2 月 8 日、東京。
 62. 許全利、西田圭一郎、北浦祐一、三井浩、嶽北佳輝、片上哲也、加藤正樹、高瀬勝教、高橋幸利、木下利彦、高齢男性に発症した抗 NMDA 受容体脳炎の診断、治療に苦慮した一例、第 114 回近畿精神神経学会、2014 年 2 月 15 日、神戸。
 63. 五味優子、上田薫、金井友哉、堀内洋志、中野真範、鳥巢勇一、森田昌代、高橋幸利、非腫瘍合併抗 NMDA 受容体脳炎の 48 歳男性例、日本内科学会東海地方会、2014 年 2 月 23 日、名古屋。
 64. 橋口俊太、川本裕子、城村裕司、岡田雅仁、田中恵子、高橋幸利、卵巣奇形腫を合併した抗 NMDAR 抗体陰性、抗 GluR 抗体陽性、第 208 回日本神経学会関東地方会、2014 年 3 月 1 日、東京。
 65. 西田拓司、高橋幸利、てんかんでみられる精神症状のグルタミン酸受容体自己免疫学的機序に関する研究、てんかん治療振興財団研究発表会、2014 年 3 月 7 日、千里。
 66. 金子知香子、Noshaleena Shakespear、土屋真理夫、久保仁、山本悌司、片山宗一、高橋幸利、GluR2 抗体陽性脳炎 5 例の臨床像と抗体量の検討、日本神経内科学会東北地方会、2014 年 3 月 8 日、仙台。
 67. 永田恵蔵、仲地耕、神里尚美、高橋幸利、抗 NMDA 型グルタミン 82 受容体抗体陽性小脳炎の二例、日本神経内科学会九州地方会、2014 年 3 月 8 日、福岡。
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
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

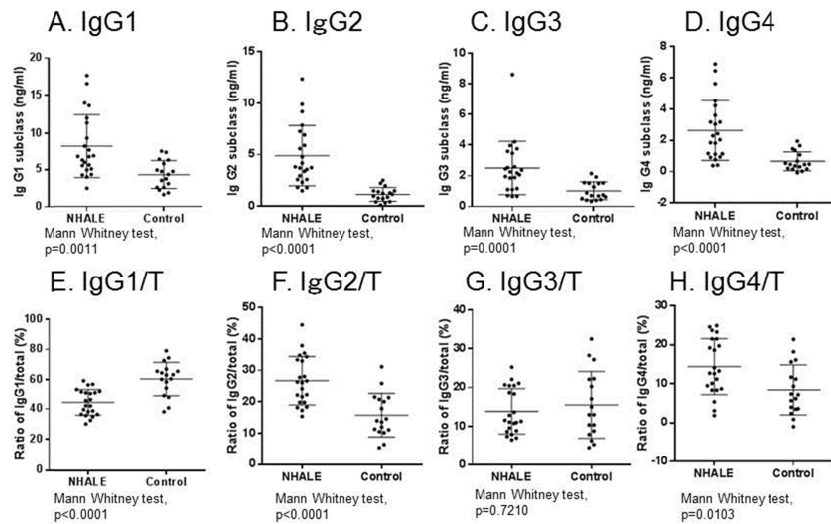


図1. 非傍腫瘍性NHLE症例の髄液GluN2B-NT2抗体IgG サブクラス値と比率

図の中のバーは平均 $\pm$ SEを示す。A-DはGluN2B-NT2抗体IgG subclass 定量値、E-HはGluN2B-NT2抗体IgG subclass の全体に占める比率を示す。NHLE, nonherpetic acute limbic encephalitis; control, disease control.

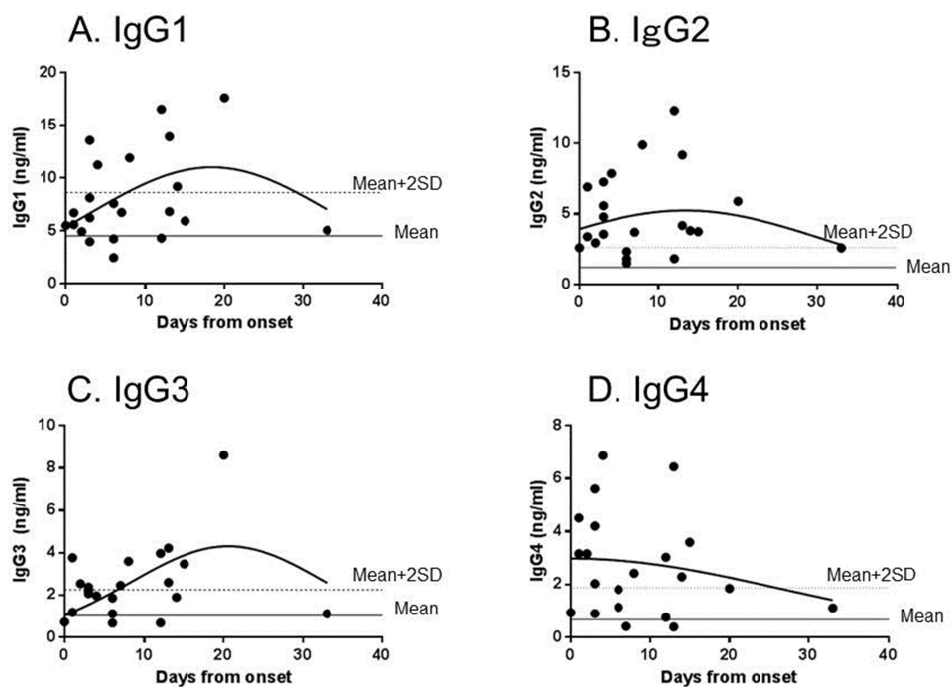


図2. 非傍腫瘍性NHLE症例の臨床経過と髄液GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス値
平均とSDは疾病対照のものを示す。

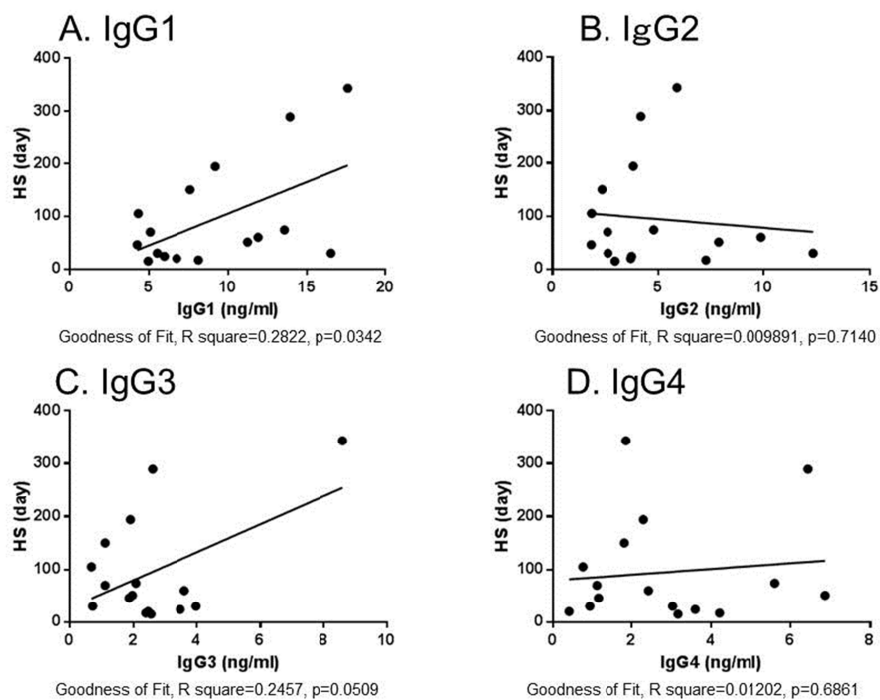


図3. 髄液GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値と急性期入院日数

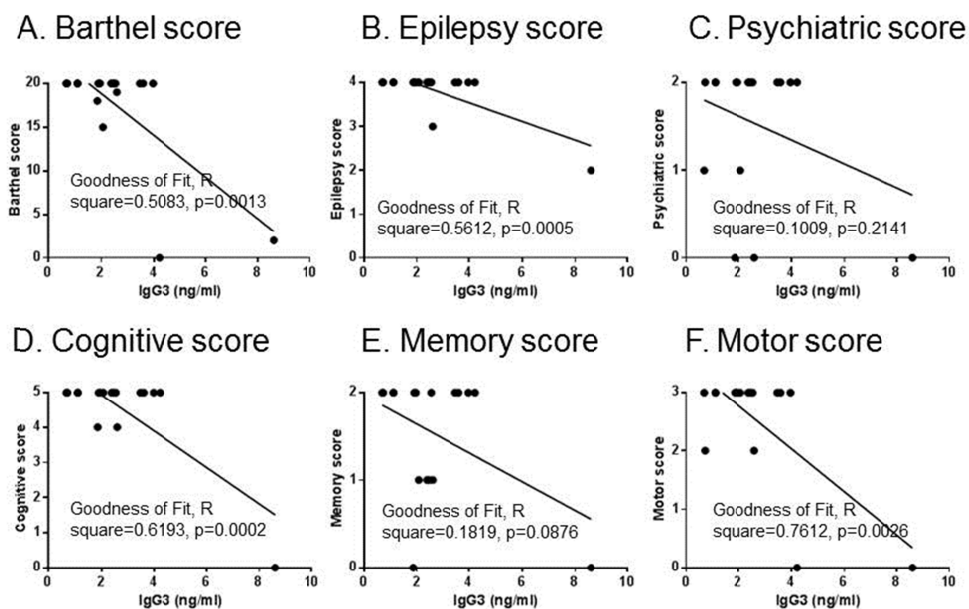


図4. 髄液GluN2B-NT2抗体IgGサブクラス定量値と予後

抗NMDAR複合体抗体の測定とGluR基礎研究

分担研究者 森 寿¹

富山大学大学院医学薬学研究部分子神経科学講座 教授

研究要旨

変異型NMDA受容体安定発現細胞を用いて、急性脳炎・脳症患者血清中に存在する抗NMDA受容体自己抗体の定量解析を実施した。更に、より簡便で定量的な自己抗体スクリーニング系の開発を目指し、浮遊性培養細胞での変異型NMDA受容体、デルタ型グルタミン酸受容体の発現を試みた。

研究協力者：宮 一志²、田村 賢太郎³、（1 富山大学大学院医学薬学研究部分子神経科学講座、2 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座・助教、3 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講座・医員）

A. 研究目的

急性辺縁系脳炎の病態に関わると考えられる抗NMDA受容体（NMDAR）自己抗体を、既に確立した培養細胞アッセイ系を用いて定量解析する。また、病態機構解明のために、NMDARならびにデルタ型グルタミン酸受容体（GluR）発現浮遊培養細胞を用いたスクリーニング系を確立して、より簡便な抗体測定系を構築することを目的に研究を行った。

B. 研究方法

既に報告した、変異型NMDAR（GluR ϵ 2N/R-DsRed と GluR ζ 1N/R-EGFP）を安定的に発現するHEK293細胞株を用いた免疫細胞化学法ならびにOn-cell Western法にて、本邦の症例、大分大学と共同したアジア地域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、さらに、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。また、浮遊

系293F細胞にNMDARならびにデルタ型GluRの遺伝子発現ベクターを導入して、細胞株樹立を試みた。

（倫理面への配慮）

本研究には遺伝子組換え実験が含まれるので、本学の組換えDNA実験安全委員会に研究申請を行い、第二種使用等拡散防止措置の確認を受けて構築した発現ベクターを用いて研究を実施した。

また、使用した患者血清は、本学倫理委員会ならびに、国立静岡てんかん・神経医療センター等における倫理委員会で承認を受けたものを使用した。

C. 研究結果

培養細胞株を用いた自己抗体測定系で、本邦のいくつかの症例で抗NMDAR自己抗体を検出した。また、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。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。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。

D. 考察

アジア地域での原因不明脳炎では、抗NMDAR自己抗体がほとんど検出されなかったことから、今後は、患者の臨床情報を十分に吟味する必要が示唆された。一方、統合失調症の一部には抗NMDAR抗体が関与する可能性が示された。この抗体の作用を明らかにすることで、脳炎と統合失調症で観察される精神症状機構の理解につながる可能性がある。また、デルタ型GluRの安定発現細胞株を用いて自己抗体を計測し、抗体の作用機構をあきらかにすることで、小脳が関わる運動障害の病態過程の診断と発症機構の解明に資すると考えられる。

E. 結論

培養細胞による自己抗体定量測定系は、非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の病態診断さらには、一部の統合失調症の発症機構の解明に資する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Perera HK, Matsumoto T, Dassanayake M, Mitui MT, Mori H, Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K. Human bocavirus in patients with encephalitis, Sri Lanka, 2009-2010. *Emerg Infect Dis*. 2013 Nov;19(11):1859-62.
2. Horio M, Ishima T, Fujita Y, Inoue R, Mori H, Hashimoto K. Decreased levels of free D-aspartic acid in the forebrain of serine racemase (Srr) knock-out mice. *Neurochem Int*. 2013 May;62(6):843-7.
3. Horio M, Mori H, Hashimoto K. Is D-cycloserine a prodrug for D-serine in the brain? *Biol Psychiatry*. 2013 Jun 15;73(12):e33-4.
4. Hata Y, Mori H, Tanaka A., Fujita Y., Shimomura T., Tabata T., Kinoshita K., Yamaguchi Y., Ichida F., Kominato Y., Ikeda N., Nishida, N. Identification and characterization of a novel genetic mutation with prolonged QT syndrome in an unexplained postoperative death. *Int. J. Legal Med*. 128: 105-115, 2014.
5. Inoue, R., Yoshihisa, Y., Tojo, Y., Okamura, C., Yoshida, Y., Kishimoto, J., Luan, X., Watanabe, M., Mizuguchi, M., Nabeshima, Y., Hamase, K., Matsunaga, K., Shimizu, T.,

Mori, H. Localization of serine racemase and its role in the skin. *Journal of Investigative Dermatology* In press.

8. Miya, K., Takahashi, Y., Mori, H. Anti-NMDAR autoimmune encephalitis. *Brain & Development. Review*. in press.

2. 学会発表

1. Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Matsumoto T, Mitui MT, Mori H, Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K. Bocavirus encephalitis in Sri Lankan children and adults: The 28th International Congress of Chemotherapy and Infection; 2013 Jun 5-8, Yokohama
2. 宮一志, 田中朋美, 宮脇利男, 高橋幸利, 森寿. 培養細胞を用いた NMDA 型グルタミン酸受容体に対する自己抗体測定の検討; 第 55 回日本小児神経学会学術集会; 2013 May 31; 大分.
3. 田端彩子, 森寿, 井上蘭. セリンラセマーゼノックアウトマウスでの炎症性疼痛感受性の上昇; Neuro2013; 2013 Jun 21; 京都
4. 堀尾茉央, 石間環, 藤田有子, 井上蘭, 森寿, 橋本謙二. セリンラセマーゼ遺伝子欠損マウス脳における D-アスパラギン酸濃度の低下; 第9回D-アミノ酸研究会学術講演会; 2013 Sep 5; 大阪.
5. 井上蘭, 吉久陽子, 東條洋介, 岡村智恵子, 吉田雄三, 岸本治朗, Luan Xinghua, 渡辺雅彦, 水口峰之, 鍋島裕子, 浜瀬健司, 松永憲治, 清水忠道, 森寿. 皮膚におけるセリンラセマーゼの発現および機能解析; 第9回D-アミノ酸研究会学術講演会; 2013 Sep 5; 大阪.

3. 書籍の刊行

1. 井上蘭, 森寿. *Clinical Neuroscience*. Vol.31; 中外医学社; 2013. 海馬におけるD-セリンの役割: p1409-10.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得、出願

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研究報告書

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

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
高橋幸利 山口解冬	I 章 疾患概念と診断基準、Rasmussen症候群	編集： 大槻泰介 他	稀少難治性てんかん診療マニュアル	診断と治療社	東京	2013	54-56
高橋幸利 保立麻美子	II 章 診断マニュアル、免疫介在性てんかん診断マニュアル	編集： 大槻泰介 他	稀少難治性てんかん診療マニュアル	診断と治療社	東京	2013	126-131
高橋幸利 植田佑樹	III 章 治療マニュアル、その他の内科的治療マニュアル	編集： 大槻泰介 他	稀少難治性てんかん診療マニュアル	診断と治療社	東京	2013	146-150
西田拓司 荒木剛	てんかん	監修： 藤永保	最新心理学事典	平凡社	東京	2013	543-544
西田拓司	脳波検査	監修： 大熊輝雄	現代臨床精神医学改訂第12版	金原出版	東京	2013	136-142
西田拓司	てんかん	監修： 大熊輝雄	現代臨床精神医学改訂第12版	金原出版	東京	2013	214-239
西田拓司 笠井清登 訳	うつ病および不安障害の薬物治療	監訳： 高折修二 橋本敬太郎 赤池昭、 石井邦雄	グッドマン・ギルマン薬理書：薬物治療の基礎と臨床 第12版	廣川書店	東京	2013	495-517
高橋幸利	脳炎によるてんかん重積	編集： 日本てんかん学会	てんかん専門医ガイドブック	診断と治療社	東京	2013	印刷中
高橋幸利	その他の急性病態	編集： 日本てんかん学会	てんかん専門医ガイドブック	診断と治療社	東京	2013	印刷中
高橋幸利 東本和紀 吉富晋作 渡辺陽和 山口解冬	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	京都	2013	印刷中

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ryuta Kinno, Takahiro Yamazaki, Masahiro Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Toshiya Fukui, Eriko Kinugasa	Cerebellar symptoms in a case of acute limbic encephalitis associated with autoantibodies to glutamate receptors $\delta 2$ and $\epsilon 2$.	Clinical Neurology and Neurosurgery	115(4)	481-483	2013
Daisuke Usui, Shino Shimada, Keiko Shimojima, Midori Sugawara, Hajime Kawasaki, Hideo Shigematu, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yushi Inoue, Katsumi Imai, Toshiyuki Yamamoto	Interstitial Duplication of 2q32.1-q33.3 in a Patient With Epilepsy, Developmental Delay, and Autistic Behavior.	American Journal of Medical Genetics Part A	161A	1078-1084	2013
Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Nobuyuki Mishima, Rei Yazawa, Kazuyuki Inoue, Kunihiko Itoh, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue	Risk factors for hyperammonemia in pediatric patients with epilepsy.	Epilepsia	54(6)	983-989	2013
<u>Yukitoshi Takahashi</u> , Etsuko Yamasaki, Jun Mine, Yuko Kubota, Katsumi Imai, Yukiko Mogami, Koichi Baba, Kazumi Matsuda, Hirokazu Oguni, Kenji Sugai, Yoko Ohtsuka, Tateki Fujiwara, Yushi Inoue	Immunomodulatory therapy versus surgery for Rasmussen syndrome in early childhood.	Brain & Development	35	778-785	2013
Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Kou Miyakawa, Shigeko Nishimura, Risa Kasai, Hiroko Ikeda, Rumiko Takayama, Yukiko Mogami, Tokito Yamaguchi, Kiyohito Terada, Kazumi Matsuda, Yushi Inoue, Yoshiyuki Kagawa	Influence of CYP2C19 polymorphism and concomitant antiepileptic drugs on serum clobazam and N-desmethyl-clobazam concentrations in patients with epilepsy.	Therapeutic Drug Monitoring.	35(3)	305-312	2013
Taiki Kambe, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yoshiaki Furukawa	A mild form of adult-onset opsoclonus-myoclonus syndrome associated with antiglutamate receptor antibodies.	JAMA Neurology.	70(5)	654-655	2013

Naoto Kohno, Yuko Kawakami, Chizuko Hamada, Genya Toyoda, Hirokazu Bokura, Shuhei Yamaguchi, <u>Yukitoshi Takahashi</u>	A discrepancy between clinical course and magnetic resonance imaging in a case of non-herpetic acute limbic encephalitis.	Neurology International.	5 (2)	23-27	2013
Norimichi Higurashi, Mai Nakamura, Masaharu Ohfu, Masako Sakauchi, Yuji Sugawara, Mitsuhiro Kato, Daisuke Usui, Yukiko Mogami, Yumi Fujiwara, Tomoshiro Ito, Hiroko Ikeda, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Megumi Nukui, Tomoko Kirino, Yuko Tomonoh, Takahito Inoue, Kyoko Takano, Takeshi Inoue, Syuichi Shimakawa, Shinichi Hirose	PCDH19-related Female-Limited Epilepsy—Independent Clinical Entity and Differences from Dravet Syndrome.	Epilepsy Research	106	191-199	2013
<u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yukiko Mogami, June Mine, Katsumi Imai, Yasumichi Koide, Kazumi Matsuda, Noriyuki Akasaka, Takashi Konishi, Atsushi Imamura, Yushi Inoue	Genetic variations of immunoregulatory genes associated with Rasmussen syndrome.	Epilepsy Research.	107	238-243	2013
Ichiro Kuki, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Shin Okazaki, Hisashi Kawawaki, Eiji Ehara, Norimitsu Inoue, Taroh Kinoshita, Yoshiko Murakami	Case report on vitamin B6-responsive epilepsy due to inherited GPI deficiency.	Neurology	81	1467-1469	2013
Emi Tabata, Masanori Masuda, Makoto Eriguchi, Masatoshi Yokoyama, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Keiko Tanaka, Motohiro Yukitake, Etuo Horikawa, Hideo Hara.	Immunopathological significance of ovarian teratoma in patients with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis.	Eur Neurol.	71(1-2)	42-48	2014
Ishikawa Y, Ikeda K, Murata K, Hirayama T, Takazawa T, Yanahihashi M, Kano O, Kawabe K, <u>Takahashi Y</u> , Iwasaki Y	Ophthalmoplegia and Flaccid Paraplegia in a Patient with Anti-NMDA Receptor Encephalitis : A Case Report and Literature Review.	Intern Med.	52(24)	2811-2815	2013

Chihiro Yonee, Mitsuo Toyoshima, Yoshihiro Maegaki, Shou Hashiguchi, Yuichi Kodama, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Susumu Kusunoki, Yoshifumi Kawano	Association of acute cerebellar ataxia and human papilloma virus vaccination: a case report" in its current form for publication.	Neuropediatrics	44(5)	265-267	2013
Hiromasa Uchizono, Tadashi Iwasa, Hidemi Toyoda, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yoshihiro Komada	Acute Cerebellitis Following Hemolytic Streptococcal Infection.	Pediatric Neurology	49(6)	497-500	2013
Aya Narita, Kentarou Shirai, Norika Kubota, Rumiko Takayama, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Takanori Onuki, Chikahiko Numakura, Mitsuhiro Kato, Yusuke Hamada, Norio Sakai, Atsuko Ohno, Maya Asami, Shoko Matsushita, Anri Hayashi, Tomohiro Kumada, Tatsuya Fujii, Asako Horino, Takeshi Inoue, Ichiro Kuki, Ken Asakawa, Hitoshi Ishikawa, Koyo Ohno, Yoko Nishimura, Akiko Tamasaki, Yoshihiro Maegaki, Kousaku Ohno	Abnormal Pupillary Light Reflex with Chromatic Pupillometry in Gaucher disease.	Annals of Clinical and Translational Neurology	1(2)	135-140	2014
Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Perera H K, Matsumoto T, Dassanayake M, Mitui MT, <u>Mori H</u> , Nishizono A, Söderlund-Venermo M, Ahmed K.	Human bocavirus in patients with encephalitis, Sri Lanka, 2009-2010.	Emerg Infect Dis.	Nov;19 (11)	1859-1862	2013
Horio M, Ishima T, Fujita Y, Inoue R, <u>Mori H</u> , Hashimoto K.	Decreased levels of free D-aspartic acid in the forebrain of serine racemase (Srr) knock-out mice.	Neurochem Int.	May; 62(6)	843-847	2013
Horio M, <u>Mori H</u> , Hashimoto K.	Is D-cycloserine a prodrug for D-serine in the brain?	Biol Psychiatry.	Jun15; 73(12)	e33-34.	2013
Hata Y, <u>Mori H</u> , Tanaka A, Fujita Y, Shimomura T, Tabata T, Kinoshita K, Yamaguchi Y, Ichida F, Kominato Y, Ikeda N, Nishida N.	Identification and characterization of a novel genetic mutation with prolonged QT syndrome in an unexplained postoperative death.	Int. J. Legal Med.	128	105-115	2014

Koji Fujita, Naoko Matsui, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Yasushi Iwasaki, Mari Yoshida, Tatsuhiko Yuasa, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji	Increased interleukin-17 in the cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study of rapidly progressive dementia.	Journal of Neuroinflammation.	10	135	2013
Chiba Yuhei, Katsuse Omi, Fujishiro Hiroshige, Kamada Ayuko, Saito Tomoyuki, Ikura Takahiro, <u>Takahashi Yukitoshi</u> , Kunii Misako, Takeno Mitsuhiro Hirayasu Yoshio	Lymphopenia Helps Early Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus for Patients with Psychosis as an Initial Symptom.	Psychosomatics			in press
Armangue T, Titulaer MJ, Sabater L, Pardo-Moreno J, Gresa-Arribas N, Barbero-Bordallo N, Kelley GR, Kyung-Ha N, Takeda A, Nagao T, <u>Takahashi Y</u> , Lizcano A, Carr AS, Graus F, Dalmau J	A novel treatment-responsive encephalitis with frequent opsoclonus and teratoma.	Annals of Neurology		Apr 24	in press
Nahoko Kaniwa, Emiko Sugiyama, Yoshiro Saito, Kouichi Kurose, Keiko Maekawa, Ryuichi Hasegawa, Hirokazu Furuya, Hiroko Ikeda, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Masaaki Muramatsu, Masahiro Tohkin, Takeshi Ozeki, Taisei Mushiroda, Michiaki Kubo, Naoyuki Kamatani, Masamichi Abe, Akiko Yagami, Mayumi Ueta, Chie Sotozono, Shigeru Kinoshita, Zenro Ikezawa, Kayoko Matsunaga, Michiko Aihara	Specific HLA types are associated with anti-epileptic drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in the Japanese.	Future medicine			in press
Kazushi Miya, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , <u>Hisashi Mori</u>	Anti-NMDAR autoimmune encephalitis.	Brain & Development			in press

Rumiko Takayama, Tateki Fujiwara, Hideo Shigematsu, Katsumi Imai, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Kazuhiro Yamakawa, Yushi Inoue	Long-term course of Dravet syndrome: a study from an epilepsy center in Japan.	Epilepsia			in press
Kazuyuki Inoue, Suzuki Eri, Yazawa Rei, Yamamoto Yoshiaki, Takahashi Toshiki, <u>Takahashi Yukitoshi</u> , Imai Katsumi, Koyama Seiichi, Inoue Yushi, Tsuji Daiki, Hayashi Hideki, Itoh Kunihiro	Influence of Uridine Diphosphat Glucuronosyltransferase 2B7 – 161C>T Polymorphism on the Concentration of Valproic Acid in Pediatric Epilepsy Patients.	Therapeutic Drug Monitoring			in press
Koji Fujita, Keiko Tanaka, <u>Yukitoshi Takahashi</u>	Neuronal Antibodies in Creutzfeldt–Jakob Disease.	JAMA Neurology			in press
Inoue R, Yoshihisa Y, Tojo Y, Okamura C, Yoshida Y, Kishimoto J, Luan X, Watanabe M, Mizuguchi M, Nabeshima Y, Hamase K, Matsunaga K, Shimizu T, <u>Mori, H.</u>	Localization of serine racemase and its role in the skin.	Journal of Investigative Dermatology			in press
村上秀友、飯島昭二、河村 満、 <u>高橋幸利</u> 、市川博雄	伝染性単核球症に続発し脳脊髄液に抗グルタミン酸受容体δ2抗体をみとめた急性小脳失調症.	臨床神経学	53(7)	555-558	2013
池上真理子、 <u>高橋幸利</u> 、池田浩子、今井克美、大谷英之、久保田裕子、重松秀夫、高山留美子、最上友紀子	難治epileptic spasmを有する症例におけるACTH療法反復施行の検討.	脳と発達	45	281-287	2013
<u>高橋幸利</u> 、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、平松宏実	GluRε2 抗体 (NR2B 抗体) -神経疾患における意義.	神経内科	79(3)	354-362	2013
藤井裕樹、竹田育子、久保智司、柚木太淳、佐藤恒太、高松和弘、田中恵子、 <u>高橋幸利</u> 、栗山勝	卵巣奇形腫を合併し抗NMDA受容体抗体陽性のglioblastomaの1例.	臨床神経学	53(9)	712-715	2013
尾上亮、荒木勇人、 <u>高橋幸利</u> 、島筒和史、中原章徳	左半身の部分痙攣にて発症した抗N-methyl-D-aspartate(NMDA)受容体脳炎の1例.	広島医学	67	51-54	2014
井上蘭、 <u>森寿</u>	海馬におけるD-セリンの役割.	Clinical Neuroscience	31(12)	1409-1410	2013
Thorbecke R、井上有史、久保田英幹、 <u>西田拓司</u>	Rupprecht Thorbecke先生インタビュー：てんかん教育プログラムMOSESについて.	Epilepsy	7 (2)	53-60	2013
<u>西田拓司</u>	第1回国際MOSESトレーナー研修報告記.	Epilepsy	7 (2)	61-65	2013

中野友義、 <u>西田拓司</u> 、 井上有史	成人てんかんの治療ガイドライン.	日精協誌	32	32-36	2013
高橋幸利、渡辺陽和、 吉富晋作、束本和紀、 山口解冬	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			印刷中
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			印刷中
戸島麻耶、 <u>高橋幸利</u> 、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			印刷中