

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

(障害者対策総合研究開発事業)

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～26年度 総合研究報告書

(1 / 2 冊)

研究代表者 高橋幸利

平成27(2015)年 3月

目 次 (1 / 2 冊)

I . 総合研究報告

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) 「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 ?
(参照3) 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・分担研究報告書	-----3 ?
(参照4) 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	-----3 ?
(参照5) 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26年度 総括・分担研究報告書	-----3 ?
抗NMDAR複合体抗体の測定とGluR基礎研究 森 寿	-----3
非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者および抗グルタミン酸受容体抗体陽性の 精神神経疾患患者の臨床的特徴の検討 西田 拓司	-----3
II . 研究成果の刊行に関する一覧表	-----140 ?

目 次 (2 / 2 冊)

III . 研究成果の刊行物・別刷

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

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の前駆期-先行感染症期の病態解明による
障害防止研究

研究代表者 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】我々の先行研究で、成人の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（NHALE）は年間220人が罹患し、記憶障害が63.2%に残り、1万人程度が記憶障害などの後遺障害を患っていると推定している。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】非傍腫瘍性のNHALE患者の約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といった精神障害関連疾患の既往歴が見られ、NMDA型GluR抗体がNHALE発病前から存在し、前駆期症状として精神障害をもたらしている可能性がある。卵巣奇形腫のある傍腫瘍性NHALE患者では約4%に脳炎・髄膜炎の既往がみられ、NMDA型GluR抗体が以前から存在し、自己免疫介在性の髄膜炎・脳炎を繰り返している可能性がある。

【前駆期-健常者のNMDA型GluR抗体】0-20歳の非炎症性のてんかん症例と、当院職員の血清を用いた健常者のGluN2B-NT2抗体等の検討で、NHALE好発年齢帯の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。

【前駆期-NMDA型GluR抗体陽性患者髄液in vitro研究】NMDA型GluR抗体陽性脳炎患者髄液は培養神経細胞のアポトーシスを促進するが、髄液IgG分画はシナプス外NMDA型GluRを内在化し、興奮毒性によるアポトーシスを抑制する。NHALE患者髄液中のIgG分画がAktリン酸化を抑制することを見出し、シナプスNMDA型GluRを内在化していると考えた。

【前駆期-合成NMDA型GluR抗体によるPassive transfer研究】ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体をマウス海馬に反復投与することで、拳尾反応（興奮性行動変化）が認められ、GluN2BのN末に対する抗体が行動変化を起こすことが分かった。マイクロアレイ解析で、海馬napa、sv2c、pam、fam 53bの発現低下が見られ、シナプス機能低下、GABA作動性抑制性シナプス伝達に障害をもたらし、興奮性行動につながる可能性があると考えている。

【先行症状期-症状・検査の検討】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小児主体で11%と少なく、発熱、頭痛といった不明熱的な症状が多い。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。一般血液検査では、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、早期診断に資する特徴の可能性がある。先行症状期の髄液一般データでは、髄液細胞数が非炎症性の疾病対照群に比べて有意に多く、脳炎発病に向けて低下すること、無菌性髄膜炎に比べて髄液蛋白濃度は有意に高値で、髄液糖濃度は有意に低値であった。無菌性髄膜炎で蛋白高値、糖比較的低値の場合は、NHALEへの進展に注意する。先行症状期髄液albumin濃度が対照に比べて高く、末梢血albumin濃度は、対照より有意に低値で、血液脳関門の破綻によるものと推測している。NHALE発病予防には血液脳関門の保護も重要であると思われる。

【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NMDA型GluR抗体測定系を開発している。

【まとめ】3年間の研究で、NHALEの10%程度の症例に前駆期症状と推定できる精神障害関連疾患の既往歴があり、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抗体をマウスにpassive transferすると、マウスに興奮性の行動変化が観察された。これらのことから、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症例があると推測した。先行症状期にはリンパ球減少等からNMDA型GluR抗体産生、血液脳関門破綻などが加わり、脳炎発病に至る可能性を推測した。

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。

研究分担者：

- 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.
- 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.
- 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.
- 今村淳、岐阜県総合医療センター小児科

- 保立麻美子、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.
- 束本和紀、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.
- 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.
- 高山留美子、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.
- 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.
- 木村暢佑、大津赤十字病院小児科.
- 美根潤、島根大学小児科.

A . 研究目的

1. 2011年度までの先行研究のまとめ

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

我々の先行研究で、成人発病のNHALEは年間20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

可能性を明らかにした。

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、我々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

先行研究では、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例で何らかの中枢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抗体が血清中に認められた症例が東北大学より報告されており（Nishiyama, et al., Neur

ol）、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產生されていると推測している。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（Miglioli, 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枢神経症状が観察され、その後先行症状期を経て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、今回の研究で可能にしたい。

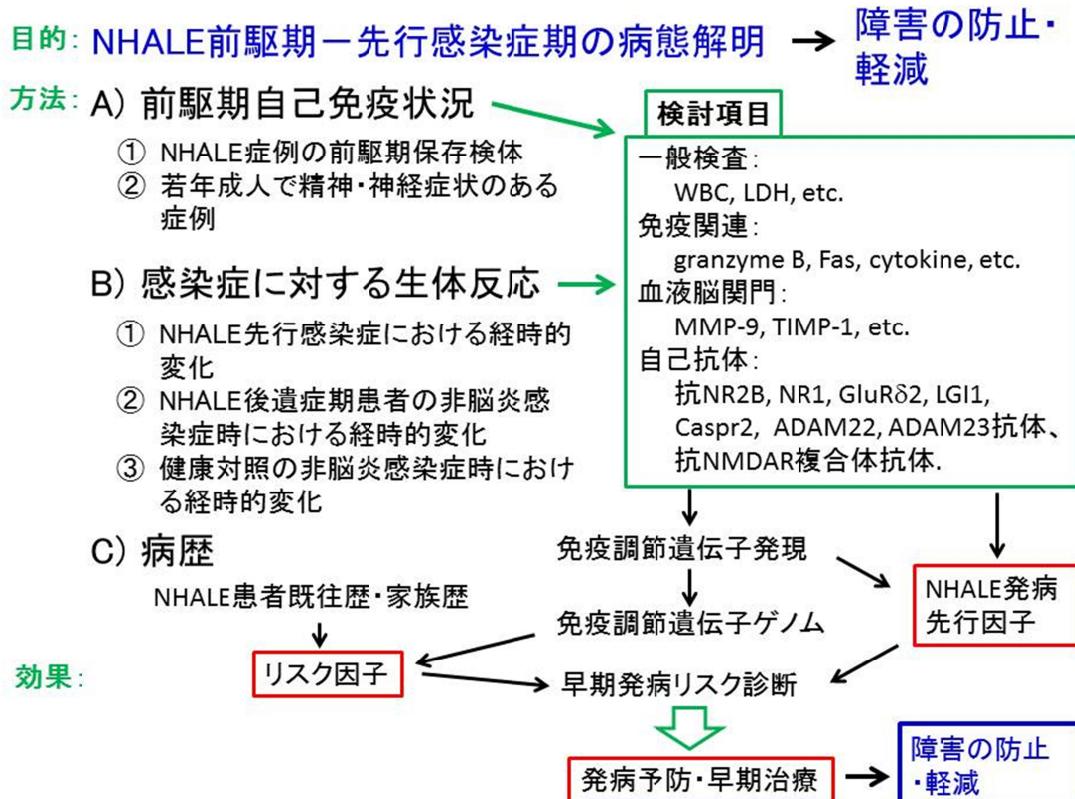


図1. 研究の目的、方法及び期待される効果（流れ図）

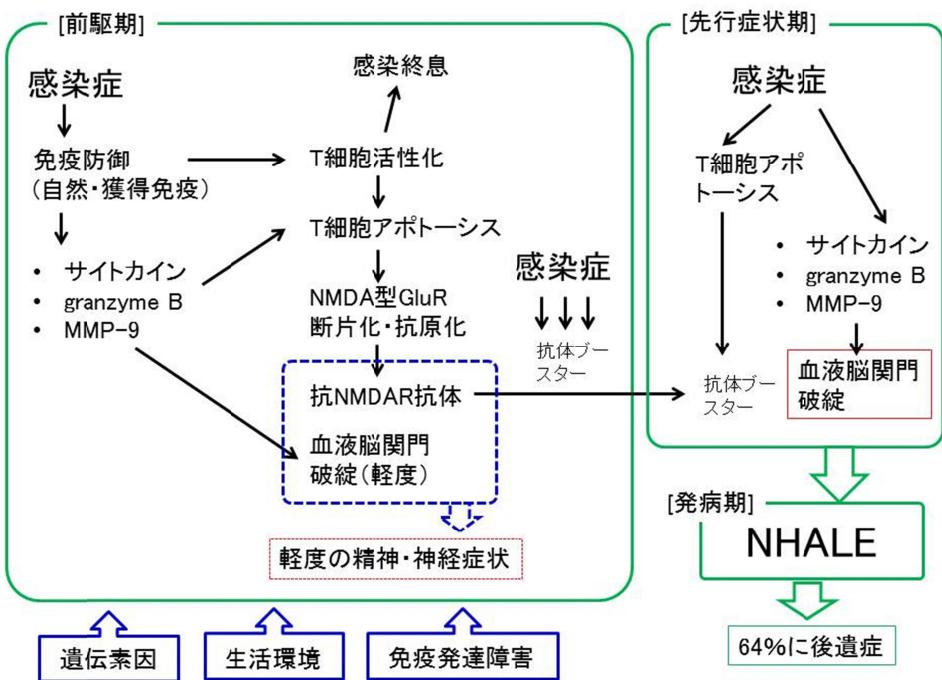


図2. 研究仮説

表1. イオンチャネル型GluRサブユニット等の命名法

	NC-IUPHAR subunit nomenclature	Previous nomenclatures	Human gene name
AMPA	GluA1	GLUA ₁ , GluR1, GluRA, GluR-A, GluR-K1, HBGR1	<i>GRL41</i>
	GluA2	GLUA ₂ , GluR2, GluRB, GluR-B, GluR-K2, HBGR2	<i>GRL42</i>
	GluA3	GLUA ₃ , GluR3, GluRC, GluR-C, GluR-K3	<i>GRL43</i>
	GluA4	GLUA ₄ , GluR4, GluRD, GluR-D	<i>GRL44</i>
Kainate	GluK1	GLUK ₅ , GluR5, GluR-5, EAA3	<i>GRIK1</i>
	GluK2	GLUK ₆ , GluR6, GluR-6, EAA4	<i>GRIK2</i>
	GluK3	GLUK ₇ , GluR7, GluR-7, EAA5	<i>GRIK3</i>
	GluK4	GLUK ₁ , KA1, KA-1, EAA1	<i>GRIK4</i>
	GluK5	GLUK ₂ , KA2, KA-2, EAA2	<i>GRIK5</i>
NMDA	GluN1	GLUN ₁ , NMDA-R1, NR1, GluR ζ 1	<i>GRIN1</i>
	GluN2A	GLUN _{2A} , NMDA-R2A, NR2A, GluRe1	<i>GRIN2A</i>
	GluN2B	GLUN _{2B} , NMDA-R2B, NR2B, hNR3, GluRe2	<i>GRIN2B</i>
	GluN2C	GLUN _{2C} , NMDA-R2C, NR2C, GluRe3	<i>GRIN2C</i>
	GluN2D	GLUN _{2D} , NMDA-R2D, NR2D, GluRe4	<i>GRIN2D</i>
	GluN3A	GLUN _{3A} , NMDA-R3A, NMDAR-L, chi-1	<i>GRIN3A</i>
Orphan	GluN3B	GLUN _{3B} , NMDA-R3B	<i>GRIN3B</i>
	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.

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2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。NMDA型GluRの命名法はIUPHAR(Neuropharmacology. 2009; 56(1): 2-5)に従った(表1)。

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、現時点でき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。明らかになった知見を追加し、アップデートを継続していく(高橋、森、西田)。

3. NHALE既往歴

NHALE患者の既往歴を調査し、脳炎発病以前の精神神経症状を明らかにすることで、NMDA型GluR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か?明らかにする。

2012年度はNHALE患者のうち非傍腫瘍性患者217名を対象として、既往歴について後方視的に検討した。

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検討した。

2014年度は髄液中のGluN2B-NT2抗体が疾病対照髄液の平均+2SD以上の高値を示した精神疾患患者8名について、NHALE症例と既往歴を比較した(西田)。

4. GluN2B-NT2抗体陽性患者の精神症状

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

5. 精神病状例のNMDA型GluR抗体の推移

対象は、Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders(SCID-I)で、調

査時あるいは過去の精神病症状が確認できたてんかん患者で、複数回血清・髄液中のNMDA型GluR抗体などを測定できた8名である。血清中あるいは髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体をELISAにより測定し、経時的变化を検討した。患者の抗体価が疾病対照の血清あるいは髄液と比較して平均+2SD以上を示す場合を高値とした(西田、高橋)。

イスラエル、ヘブライ大学との共同研究で、NMDA型GluR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)。

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)。

6. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

NHALE発病前に献血の経験がある症例で、献血保存血清検体を使用する研究を行うことし、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。2014年度は患者同意書をもって、日本赤十字社に個別研究として献血11年後に廃棄される保管検体の利用をお願いした。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)。

7. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布

倫理委員会承認の方法で同意を得られた静岡てんかん・神経医療センター職員の血清を用いて、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関連を検討する(高橋)。

8. NMDA型GluR抗体陽性患者髄液の作用の検討 in vitro

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GluN2B-NT2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

cAMP-Responsive-Element-Binding protein (tCREB)濃度およびリン酸化CREB(pCREB)濃度、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の神経細胞への影響を評価した(高橋)。

9. 合成NMDA型GluR抗体によるPassive transfer研究 in vivo

ウサギにヒトGluN2B-NT2ペプチドを用いて免疫し、ポリクローナルIgG抗体(ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体)を得た。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、マウス海馬に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。さらには開始後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吸着分画(以下、正常ウサギ血清)も投与する群を作った。

次に、抗体をマウス海馬に投与開始22日後に凍結保存した脳組織からmiRNeasy mini Kit(QIAGEN)を用いてtotal RNAを精製し、Low Input Quick Amp Labeling Kit(Agilent Technologies)を用いてcDNAの合成とcRNAのラベルと増幅を行い、RNeasy mini spin columns(QIAGEN)によりラベル化cRNAを精製した。SurePrint G3 Mouse GE 8x60K 1color解析(Agilent Technologies)でハイブリダイゼーションを行い、洗浄、スキャン、データ解析を行った。発現遺伝子を生理食塩水投与群、正常ウサギ血清Protein A分画投与群と比較した(高橋)。

10. NHALE患者先行症状期の症状検査値の検討

2012年度、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GluN2B-NT2抗体陽性非傍腫瘍性NHALE 217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、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NHALE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。

2014年度は、非傍腫瘍性NHALE217例の中で脳炎症状出現前の先行症状期の髄液データがある17例(NHALE群)、非炎症性のてんかん等で髄液検査を行った症例中NHALE群で年齢を可能な範囲でマッチさせた86例(疾病対照群)、無菌性髄膜炎で脳炎に移行しなかった症例中NHALE群と年齢を可能な範囲でマッチさせた78例(感染対照群)の3群について、髄液一般検査値を比較した。有意差検定はMann Whitney testを用いた(高橋)。

11. 浮遊系293F細胞を用いた抗体測定系開発

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NMDA型GluR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. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体スクリーニングの検討

Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis Mosaic1のキットを用いて、抗NMDAR抗体、抗AMPAR抗体、抗GABA_AR抗体、抗LGI1抗体、抗CASPR2抗体の測定を簡便に行えるかどうかを検討した。このキットはcell-based assayを少し改変したもので、各受容体発現ベクターを導入したHEK細胞をプレパラートに固定し、発現受容体を抗原として、自己抗体をスクリーニングするものである。

対象はNHALE6例(血清6検体、髄液4検体)、卵巣奇形種合併脳炎2例(血清2検体、髄液2検体)、再発性脳炎2例(血清2検体、髄液2検体)、痙攣重積型脳症1例(血清1検体、髄液1検体)、橋本脳症2例(血清3検体)、脳炎後部分てんかん3例(血清3検体、髄液3検体)、傍腫瘍症候群4例(血清4検体、髄液3検体)、精神症状1例(血清1検体、髄液1検体)、抗VGKC抗体陽性脳炎2例(血清2検体、髄液2検体)、亜急性脳炎2例(血清2検体、髄液2検体)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

ELISA法でGluN2B-NT2抗体のIgGサブクラス

別の定量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、疾患対照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变化

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变化

健康対照あるいは疾患対照で、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、-actin遺伝子濃度との比で検討した(高橋)。

17. 免疫調節遺伝子の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. NHALE急性期の抗体産生に関するNMDA型GluR抗原の検討

NHALE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)。

19. NHALEの細胞傷害性T細胞の役割の検討

剖検で明らかになっているNHALEの海馬ニューロンの減少の原因を明らかにするため、NHALEの血清及び髄液のgranzyme BをELISAで測定し、髄液一般検査値、予後との関連を統計的に検討した(高橋)。

(倫理面への配慮)

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いるため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。

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。

各研究は、倫理委員会の承認の方法にて行っている(表2)。

動物実験はIACUC (Institutional Animal Care and Use Committee, 動物実験審査委員会)

によって承認された方法で行った（承認番号2
013-111）。

2012年度から2014年度の研究計画を示す（表

表2. 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
2011-11	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	2011年12月16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
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・脳症の病態解明ための精神症状例に関する研究	2012年10月1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
2014-1	自己免疫性脳炎および難治性てんかんにおける自己抗原の同定、および自己抗体の作用機構の解明（201312改訂）	2014年4月8日
2014-2	自己免疫介在神経疾患の免疫調節関連遺伝子の解析201402	2014年4月8日

表3 . 2012年度研究計画内容

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(H24-25 年度、高橋、森が担当) (図 1)

集積したNHALE症例400例に於いて、前駆期保存検体の有無、成人例献血(保存検体)の有無を調査し、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)等を測定する。(目標20例)

2. 精神・神経症状のある若年成人の検体を用いた前駆期自己免疫状況の検討(H24-26 年度、高橋、森が担当)

これまでに集積した20例を含め、前方視的に血清(髄液)でMMP-9、サイトカイン、 granzyme B 、自己抗体(前述)等を測定する。(目標50例)

3. NHALE先行感染症期における一般・免疫マーカーの経時的变化の検討(H24-26 年度、高橋、森が担当)

先行感染症期のリンパ球アポトーシス指標としてのWBC、 LDH 、等の一般検査値、 MMP-9 、サイトカイン、 granzyme B 、自己抗体(前述)等を、経時的に測定する。(目標50例)

4. 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变化(H24-26 年度、高橋、森が担当)

先行感染症時の一般・免疫マーカーの反応がNHALE特異的なのか? NHALE患者の素因に基づくものなのか? を明らかにするため、 NHALE回復後の患者さんで感染症時的一般・免疫マーカーの変動を検討する。(目標20例)

5. 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变化(H24-26 年度、高橋、森が担当)

先行感染症時の一般・免疫マーカーの反応がNHALE特異的なのか? NHALE患者の素因に基づくものなのか? を明らかにするため、健康対照で感染症時的一般・免疫マーカーの変動を検討する。(目標20例)

6. NHALE患者既往歴・家族歴の検討(H24-26 年度、高橋、西田が担当)

前駆期にみられる精神神経症状などの中枢神経症状を詳しく検討し、 NHALE発病時の辺縁系症状などと比較検討する。またNRはリンパ球のみならず正常卵巣にも発現していて(Tachibana, Takahashi, et al., 2010), NHALE症例では不妊治療や帝王切開が直前に見られることがある。リンパ球以外のNR抗原供給が発病に影響していないか? 病歴を調査する。家族歴における自己免疫疾患等の頻度を調査する。(目標300例)

7. 免疫調節遺伝子(Foxp3、 CTLA-4、 PDCD-1、 T-bet)の発現在検討(ELISA、 Real-Time PCR)

8. 免疫調節遺伝子(Foxp3、 CTLA-4、 PDCD-1、 T-bet)の SNP を検討

表4 . 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、GluR δ 2、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变化の検討

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变化の検討

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、GluR δ 2、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、通常の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。

表5. 2014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** (2012-14年度、高橋、森が担当)

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、保存義務期間終了、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** (2013-14年度、高橋、森が担当)

2012年度、ウサギGluN2B-NT2抗体を作成し、2013年度マウスにpassive transferし、不安行動変化を見出した。このマウスの海馬組織のマイクロアレイ解析で遺伝子発現の変化を解析し、変化のあった遺伝子について、遺伝子発現解析システムQuantigene Plexにより定量する。

3. **正常対照の年齢・性別血清GluN2B-NT2抗体の自然経過と抗体高値対照例の検討** (2014年度、高橋が担当)

2013年度に職員対照ボランティアの中に見出した若年女性成人の抗体高値例について、正常抗体例と臨床的、精神心理的、血液学的に差がないかを検討する。

4. **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** (2012-14年度、西田、高橋が担当)

NHALE前駆期の可能性がある精神症状を持つ若年者、自閉症などで、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)

5. **免疫調節遺伝子のゲノム解析** (2012-14年度、高橋が担当)

2013年度の48例に引き続き、Foxp3、CTLA-4、PDCD-1、T-betなどの免疫調節遺伝子のゲノム解析症例を増やす。(目標合計60例)

「先行症状期関連」

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** (2014年度、高橋が担当)

無菌性髄膜炎からNHALE至った症例(18例確保)と、通常の無菌性髄膜炎のみを呈した症例で髄液検査データを比較する。

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** (2014年度、高橋、森が担当)

Passive transferのGluN2B-NT2抗体量を2013年の量より增量し、前駆期から先行症状期への移行が可能か?検討する。

8. **NHALE先行症状期における免疫マーカーの経時的变化の検討** (2012-14年度、高橋、森が担当)

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20例)

「その他」

9. **免疫調節遺伝子(Foxp3、CTLA-4、PDCD-1、T-bet)の発現解析** (2012-14年度、高橋が担当)

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。

10. **抗神経抗体の測定法開発** (2012-14年度、高橋、森が担当)

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。

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

2011年11月-2014年10月の集積症例数は、NHALE(412例/3年)、卵巣奇形腫合併脳炎(52例/3年)、痙攣重積型脳炎(119例/3年)、その他の急性脳炎(203例/3年)、局在関連性てんかん(370例/3年)など、合計2158例/3年を集積、NMDA型GluR抗体などを測定した(表6)。

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(GluR2)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などの既往歴

非傍腫瘍性NHALE患者217名では、精神障害関連既往症を21名(10%)に、自己免疫性疾患関連を9名(4%)に、婦人科関連を8名(4%)に認めた。精神障害関連既往症の内訳は、うつなどの気分障害8名、アルコールや覚醒剤に対する依存症8名、発達障害5名だった。

卵巣奇形腫などの傍腫瘍性NHALE患者107名中、産婦人科関連既往症を9名(8%)に、精神障害関連を5名(5%)に、脳炎・髄膜炎を4名(4%)に、てんかんを3名(3%)に認めた。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。

髓液GluN2B-NT2抗体が高値の精神疾患患者8名の(抑うつ2名、幻覚妄想2名、躁1名、行動異常1名、不安1名、見当識障害1名)の既往歴では、アルコール依存あるいは大量飲酒を3名に、橋本病を1名に認めた(西田)。

4. 抗体陽性患者の精神症状の検討

髓液GluN2B-NT2抗体高値の精神疾患患者8名の主たる精神症状は、抑うつ2名、幻覚妄想2名、躁1名、行動異常1名、不安1名、見当識障害1名だった。精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名の主たる精神症状は、興奮、衝動行為、行動異常、幻聴と様々だった(西田)。

5. 精神病症状例のNMDA型GluR抗体の推移

精神病症状が確認できたてんかん患者8名中、血清あるいは髓液GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体のいずれかが高値を示したのは3名だった。3名中1名では精神症状寛解後も血清中の抗体価は高値を示し、1名では精神症状寛解後は血清中の抗体価は高値を示さなくなり、1名では精神症状寛解後も髓液中の抗体価は高値を示したが低下した。NMDA型GluR抗体と精神症状の経時的関連は更なる検討を要すると考えられ、NHALE前駆期の精神症状と抗体価の関係の検討に結び付けたい(西田、高橋)。

イスラエルの統合失調症患者の1名で、抗NMDAR抗体を検出した。この患者ではNMDA型GluRの機能を向上させるD-セリン投与が症状の改善に有効であった(森)。

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)。

6. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

今後、日赤から保存血清検体をいただければ、血液脳閂門攻撃因子(MMP-9)、サイトカイン(BioPlex)、細胞傷害性T細胞因子(granzymeB)、自己抗体(GluN2B、GluN1、GluD2、LGII、Caspr2、ADAM22、ADAM23、NMDA型GluR複合体)等を測定する(高橋)。

7. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布

2013年度には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(74例)の血清を用いた健常者の自己抗体(GluN2B、GluN1、GluD2)を検討した。女性では30-40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。

2014年度には静岡てんかん・神経医療センタ

一職員（179例）の血清を用いて、自己抗体を追加測定した。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抗体陽性患者髄液の作用の検討 *in vitro*

培養ラット胎児神経細胞のtCREB濃度比は、NHALE髄液を加えた系では疾病対照髄液を加えた系に比べて有意に高値であった。NHALE髄液IgGを加えた系のt CREB濃度比は、疾病対照髄液を加えた系に比べて有意に高かった。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。

NMDA型GluR抗体陽性NHALE患者の髄液あるいは髄液IgG分画を培養神経細胞に加えたが、tAkt濃度には、変化は見られなかった。pAkt濃度は、7DIVのNHALE-total CSFを加えた場合(1.06 ± 0.15 , n=16)が、7DIVのNHALE-CSF-IgGを加えた場合(0.97 ± 0.09 , n=14) (Mann Whitney test, p=0.0312) 及び10DIVのNHALE-total CSFを加えた場合(0.78 ± 0.15 , n=12) (Mann Whitney test, p<0.0001) より有意に高値であった。p-Akt/t Akt比は、7DIVのNHALE-total CSFを加えた場合(1.06 ± 0.15 , n=16)が、7DIVのNHALE-CSF-IgGを加えた場合(0.97 ± 0.10 , n=14) (Mann Whitney test, p=0.0337) 及び10DIVのNHALE-total CSFを加えた場合(0.75 ± 0.12 , n=12) (Mann Whitney test, p<0.0001) より有意に高値であった(高橋)。

9. 合成NMDA型GluR抗体によるPassive transfer研究 *in vivo*

ヒトGluN2B-NT2ペプチドで免疫したウサギの血清にはGluN2B-NT2ペプチド反応する抗体が含まれることをELISAで確認、GluN1とGluN2Bを発現するHEK細胞を用いたcell-based assayでもNMDA型GluRと反応する抗体の存在を確認し、ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体を得た。

ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体投与群マウス

では、生理食塩水投与群、正常ウサギ血清Protein A 分画投与群に比べて拳尾反応が高頻度に観察された。

免疫組織学的検討では、ウサギIgGは投与1時間では海馬神経細胞付近に見られたが、22日後では消失していた。ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体投与群などの3群で、組織の炎症性変化などの大きな違いは認めなかった。

脳組織マイクロアレイ解析では、ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体投与群では正常ウサギ血清 Protein A 分画投与群に比べて、*napa*, *sv2c*, *pam*, *fam53b*の発現低下、*trappc2*, *pde5a*, *cwc22*, *nphs2*, *morn2*, *naalad1/2*, *foxj1*, *gin1*, *ogn*, *gm6280*などの発現増加が認められた（高橋）。

10. NHALE患者にみられる先行症状期の検討

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つた139例について先行症状を検討すると、発熱(81%)>頭痛(53%)>恶心嘔吐(24%)>上気道炎症状(18%)>下痢(3%)の順で、上気道炎などの局所感染症状は比較的少なかつた（図4）。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。先行症状から脳炎発症までの期間は、インフルエンザ(平均4.3日)、上気道炎(平均5.4日)、下痢(平均5.5日)では、無菌性髄膜炎(平均8.7日)より有意に短かつた（高橋）。

NHALE症例の末梢血RBC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、発病前の日数との明らかな関係は認めなかつた（図5）。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。Albumin濃度は感染症対照と比べて有意差がなかつたが、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つた。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。

髄液一般検査では、NHALEの髄液細胞数は、疾病対照群に比べて有意に多く ($p<0.0001$) 、脳炎発病に向けて低下した ($p=0.03$) 。NHALE群の髄液蛋白濃度は、感染対照群、疾病対照群に比べて有意に高値であった ($p<0.0001$) (図6)。NHALE群の髄液糖濃度は、感染対照群、疾病対照群に比べて有意に低値であった ($p=0.0006$ 、 $p=0.0230$) 。髄液糖は発病年齢が高いほど高値をとる傾向を示した ($p=0.0168$) 。NHALE群の髄液IgG濃度は、疾病対照群に比べて有意に高値であった ($p<0.0001$) 。NHALE群の髄液albumin濃度は、疾病対照群に比べて有意に高値であった ($p<0.0001$) (高橋)。

11. 浮遊系293F細胞を用いた抗体測定系開発

浮遊性293F細胞株を用いた安定発現株の作製では、2013年度にデルタ型GluRの安定発現細胞株を得た。2014年度、Cell sorting法を繰り返したが、NMDA型GluRの安定発現細胞株は得られなかつた(森)。

12. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体スクリーニングの検討

Euroimmune社製のAutoimmune Encephalitis Mosaic1のキットを用いて測定したところ、髄液の抗NMDAR抗体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った。血清の抗NMDAR抗体はNHALEの1/4で±、脳炎後部分てんかんの1/3で±、傍腫瘍性症候群の3/4で±、亜急性脳炎の1/2で±、VGKC抗体陽性脳炎で陰性であった(表7)。

抗AMPAR 1 抗体はすべての髄液、血清検体で陰性であった。髄液抗AMPAR2抗体は再発性脳炎の1/2で±であった以外はすべて陰性であった。血清抗AMPAR2抗体はすべての検体で陰性であった。

髄液抗CASPR2抗体はすべての検体で陰性、血清抗体は痙攣重積型脳症、精神症状症例で±であった。

髄液抗LGI1抗体は脳炎後部分てんかん症例2/3で±、他は陰性で、血清抗体は痙攣重積型脳症1例、橋本脳症2/3例、脳炎後部分てんかん2/3例、精神症状1例で±であったが、抗VGKC

抗体陽性例では2例とも陰性であった。

髄液抗GABA_AR抗体は全例陰性で、血清抗体は痙攣重積型脳症1/1例、脳炎後てんかん1/3例、傍腫瘍症候群1/4例、精神症状例1/1例で±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し、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における一般・免疫マーカーの経時的变化

血液脳関門攻撃因子 (MMP-9) 、サイトカイン、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における一般・免疫マーカーの経時的变化

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、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. NHALE急性期の抗体產生に関わる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）。

19. NHALEの細胞傷害性T細胞の役割

髄液はNHALE45検体、疾病対照47検体を解析、血清はNHALE43検体、対照18検体のデータを解析した。

血清granzyme B濃度はNHALEと対照との間に有意差がなかった。発病から20病日以内の髄液granzyme Bは疾病対照に比べ有意に高値で（ $p<0.0009$ ）、髄液細胞数との間に正の相関があった（ $p<0.005$ ）。血清と髄液のgranzyme Bの値に相関関係はなかった。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、GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluN1-CT抗体が有意に高値であった。髄液granzyme Bは予後（急性期入院日数、Barthelスコア）との関連は認めなかった（高橋）。

表6. 多施設共同研究の症例収集状況 病態分類別症例数

	201111-201210	201211-201310	201311-201410	201111-201410 合計
非ヘルペス性急性辺縁系脳炎	141	148	123	412
卵巣奇形腫合併脳炎	14	18	21	53
痙攣重積型脳炎	37	38	44	119
脳幹脳炎	6	5	2	13
その他の急性脳炎	67	69	67	203
CNSループス	11	8	23	42
橋本脳症	13	9	20	42
ADEM	7	4	6	17
再発性脳炎	29	37	34	100
亜急性脳炎	46	54	84	184
傍腫瘍性脳炎	2	8	5	15
ALS	7	0	0	7
CJD	7	6	2	15
精神疾患	29	51	39	119
Rasmussen症候群	24	13	25	62
局在関連性てんかん	101	153	116	370
West症候群	6	9	4	19
症候性全般てんかん	9	11	3	23
小脳炎	31	27	38	96
不随意運動	8	3	6	17
HPVワクチン関連			45	45
その他	79	53	53	185
合計	674	724	760	2158

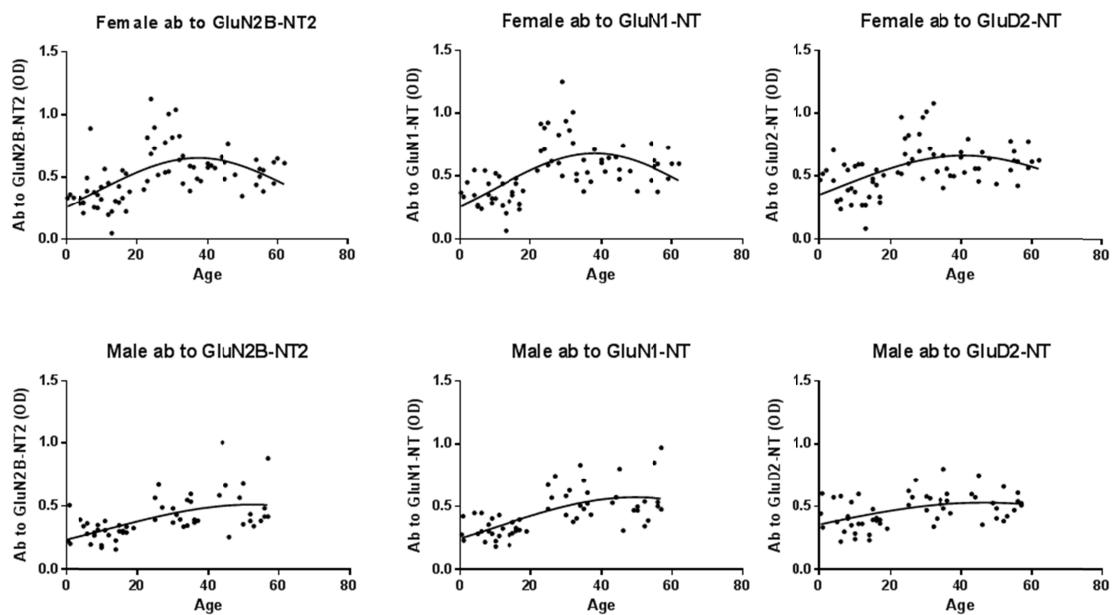


図 3. 対照血清の年齢・性別 GluR 抗体値

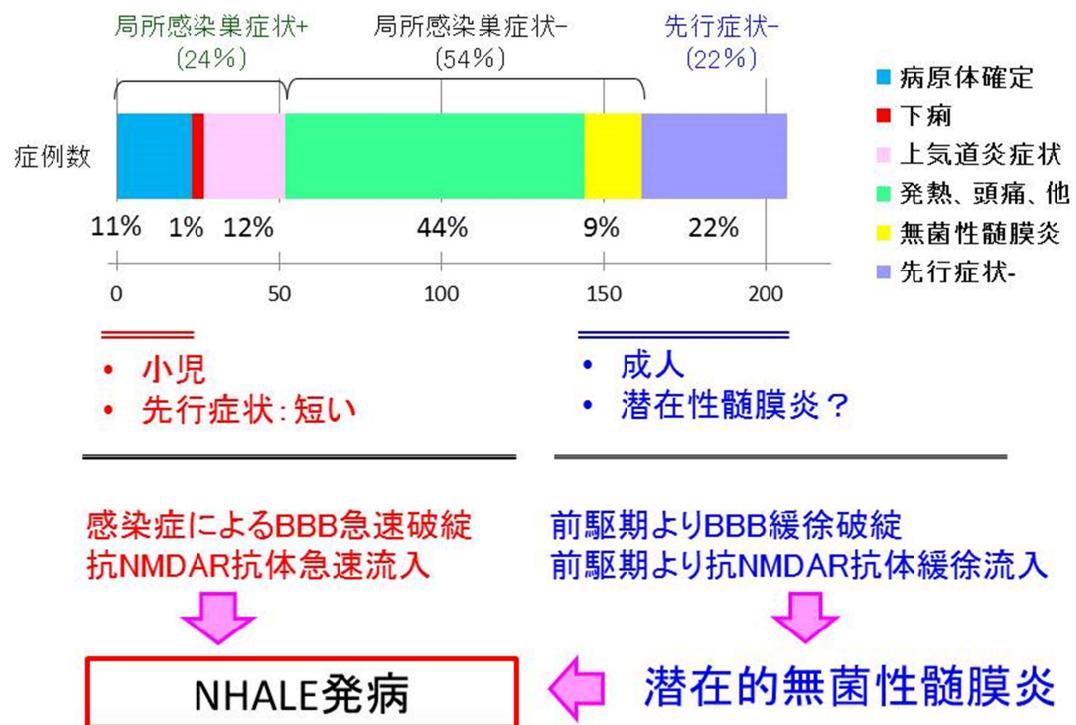


図 4. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の先行症状期の臨床症状

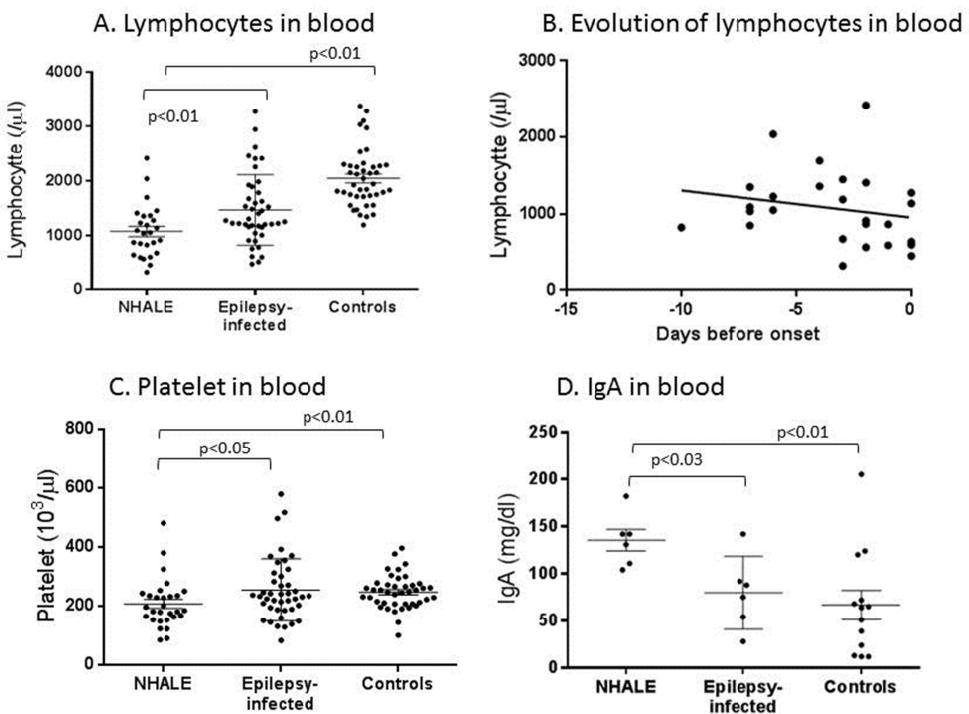


図 5. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の先行症状期の血液リンパ球、血小板、IgA

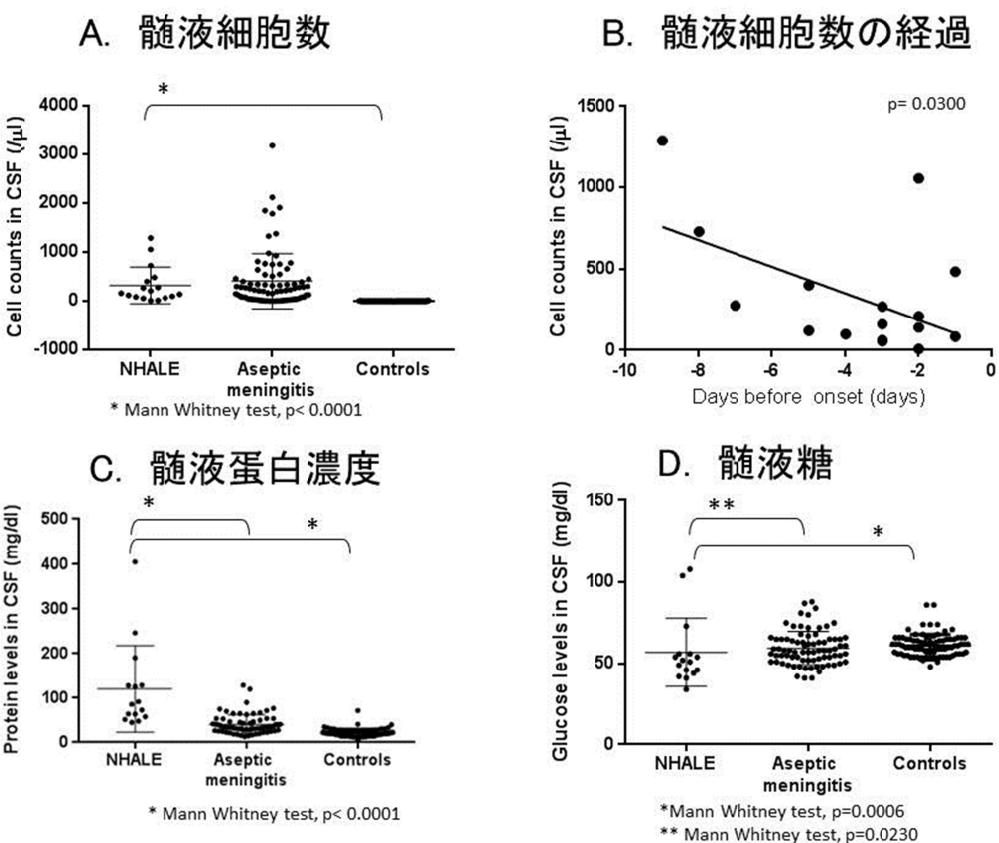


図 6. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎先行症状期の隹液細胞数、蛋白濃度、糖濃度.

表7. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットによる自己抗体判定結果

疾患		NMDAR	AMPAR1	AMPAR2	CASPR2	LGI1	GABARB1
NHALE	血清	± , 1 ; -, 3	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4
	髄液	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4
卵巣奇形腫 合併脳炎	血清	± , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1
	髄液	+ , 1 ; -, 1	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2
再発性脳炎	血清	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2
	髄液	- , 2	- , 2	± , 1 ; -, 1	- , 2	- , 2	- , 2
痙攣重積脳 症	血清	- , 1	- , 1	- , 1	± , 1	± , 1	± , 1
	髄液	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1
橋本脳症	血清	- , 3	- , 3	- , 3	- , 3	± , 2 ; -, 1	- , 3
脳炎後部分 てんかん	血清	± , 1 ; -, 2	- , 3	- , 3	- , 3	± , 2 ; -, 1	± , 1 ; -, 2
	髄液	- , 3	- , 3	- , 3	- , 3	± , 2 ; -, 1	- , 3
傍腫瘍症候 群	血清	± , 3 ; -, 1	- , 4	- , 4	- , 4	- , 4	± , 1 ; -, 3
	髄液	- , 3	- , 3	- , 3	- , 3	- , 3	- , 3
精神症状	血清	- , 1	- , 1	- , 1	± , 1	± , 1	± , 1
	髄液	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1	- , 1
抗VGKC抗体 脳炎	血清	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2
	髄液	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2
亜急性脳炎	血清	+ , 1 ; -, 1	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2
	髄液	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2	- , 2

NMDAR, N-methyl-D-aspartate-type glutamate receptors; AMPAR, alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid-type glutamate receptors; AMPAR1, GluR1; AMPAR2, GluR2; CASPR2, contactin-associated protein 2; LGI1, leucine-rich glioma-inactivated protein 1; GABARB1, γ -aminobutyric acid receptors B1; +, positive; ±, weak positive; -, negative; NHALE, nonherpetic acute limbic encephalitis; VGKC, voltage-gated potassium channel. +, 1 ; -, 1 は陽性1検体、陰性1検体を示す。

D. 考察

前駆期研究のまとめと今後の戦略

1. NHALE患者にみられる既往歴

非傍腫瘍性のNHALE患者の約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といった精神障害関連疾患の既往歴が見られる。また、髄液GluN2B-NT2抗体高値を示した精神疾患患者でも、アルコール依存あるいは大量飲酒が3名、橋本病が1名で既往歴としてみられ、共通点がある。NMDA型GluR抗体がNHALE発病前から存在し、前駆期症状として精神障害をもたらしている可能性がある。

卵巣奇形腫のある傍腫瘍性のNHALE患者では約4%に脳炎・髄膜炎の既往がみられ、NMDA型GluR抗体が以前から存在し、自己免疫介在性の髄膜炎・脳炎を繰り返している可能性がある（図7）。

2. 抗体と精神症状の検討

NHALE前駆期の可能性があるGluN2B-NT2抗体陽性精神疾患患者と、精神症状を伴う脳炎後てんかん患者の精神症状は多彩で、GluN2Bが発現している部位が中枢神経系の広範な場所であるために、GluN2B-NT2抗体による精神症状が多彩となると推測している。しかし、GluN1が発現するがGluN2Bの発現は少ないとされる小脳や脳幹の症状は顕著ではなかった。てんかん精神病患者の精神症状とNMDA型GluR抗体の推移を多数例でさらに検討し、NHALE前駆期の抗体値と症状の関係の理解につなげたい。

NHALE前駆期の可能性がある統合失調症の一部症例に、抗NMDAR抗体の存在が報告されるようになった。我々研究班の症例では、NMDA型GluRの機能を向上させるD-セリンの投与が有効であった事から、前駆期の治療に用いることができるかもしれない。同様の抗NMDAR抗体が関与する統合失調症症例でのD-セリンの効果を検証する必要がある。

3. NHALE患者の前駆期自己免疫状況の検討

NHALE患者の発病前献血保存血の入手は保存義務の11年を待つ必要があり、免疫マーカーの解析はすぐにはできない。今後の集積と解析を待ちたい。この検体で測定ができれば、患者での直接的な前駆期の証明、前駆期から先行症状期、発病期へのプロセスが分かる可能性がある。

4. 健常者の年齢・性別NMDA型GluR抗体分布

0-20歳の非炎症性の病因のてんかん症例と、当院職員の血清を用いた健常者のGluN2B-NT2抗体等の検討で、NHALE好発年齢帯の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（図3）。NMDA型GluR抗体が著しく高い前駆期に該当する健常者が存在することを示唆する。今後、20-40歳の女性での検討を増やし、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。

5. 患者髄液を用いたNMDA型GluR抗体の作用

の検討：in vitro

我々は、培養ラット胎児神経細胞を用いたin vitro研究で、NMDA型GluR抗体陽性脳炎髄液は培養神経細胞のアポトーシスを促進するが、髄液IgG分画はシナプス外NMDA型GluRを内在化し、興奮毒性によるアポトーシスを抑制することを報告した。このことからNMDA型GluR抗体はシナプス外NMDA型GluRを内在化して脳を護る作用を持つことが分かった。

CREBリン酸化のin vitro研究では、NHALE患者髄液IgGは、対照髄液IgG分画に比べてCREBリン酸化が低く、わずかにシナプスNMDA型GluRを内在化している可能性が示唆された。

Aktリン酸化のin vitro研究では、NHALE患者髄液中のIgG分画が、Aktリン酸化を抑制することを見出し、シナプスNMDA型GluRを内在化していると考えた。NMDA型GluR抗体によるシナプスNMDA型GluRの内在化は、シナプス結合蛋白にアンカーされているため、シナプス外NMDA型GluRの内在に比べて弱く、比較的早期に回復するのではないかと推測している。

6. 合成NMDA型GluR抗体によるPassive transfer研究 in vivo

ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体をマウス海馬に反復投与することで、拳尾反応（興奮性行動変化）が高率に認められ、反復投与でその頻度が増加した。NMDA型GluRの一つのサブユニットであるGluN2BのN末に対する抗体が行動変化を起こすことが分かった（図8）。また、ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体をマウス海馬に反復投与することで、napa、sv2c、pam、fam53bの発現低下が見られ、シナプス機能低下、GABA作動

性抑制性シナプス伝達に障害をもたらし、興奮性行動につながる可能性があると考えている。Pam (Protein associated with Myc)は、ヒトではTuberinのユビキチン化を行い、mTOR系を活性化する。Pamが低下するとmTOR系が低下し、タンパク合成が低下し、神経機能抑制につながる可能性がある。Pamはkcc2に作用しCIイオンを細胞外にくみ出す作用があるが、Pamが低下すると細胞内のCIイオンが増加し、GABAがGABA受容体に作用するとCIイオンが細胞外に流れ、発達初期と同じく興奮性の作用を示す可能性がある。

GluN2B-NT2抗体はNMDA型GluRを内在化し、NMDA型GluR拮抗作用をもたらすのみではなく、Napa、Sv2c、Pamなどのタンパクの低下をもたらし、NHALEにおける興奮性行動変化など種々の神経機能の変化をもたらしていると推測した。

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できた。現在行っているGluN2B-NT2抗体投与モデルでの行動解析を多方面からすすめ、前駆期病態をさらに詳しく検討する。今後はGluN1-NT抗体投与モデルマウスでも解析を行う。

先行症状期研究のまとめと今後の戦略

1. 先行症状期症状・検査の検討

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小児主体で11%と少なく、発熱、頭痛といった局所感染症状を伴わない非特異的な症状が多い(54%)ことが分かった。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(図4)。よって、NHALEの成人患者さんの多くが、先行症状期に無菌性髄膜炎を有するのかもしれない。

一般血液検査では、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、早期診断に繋がる特徴である可能性がある(図5)。

先行症状期の髄液データの検討では、髄液細胞数が非炎症性の疾病対照群に比べて有意に多く、脳炎発病に向けて低下すること、髄液蛋白濃度は無菌性髄膜炎に比べて有意に高値で、髄液糖濃度は無菌性髄膜炎に比べて有意に低

値であった。無菌性髄膜炎であっても蛋白がかなり高く、糖が比較的低い場合にはNHALEへの進展に注意する(図6)。

早期診断の流れとしては、発熱、頭痛といった非特異的な不明熱の症例で、末梢血でリンパ球、血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的低値がある場合には、積極的に髄液検査、髄液NMDA型GluR抗体測定を行い、無菌性髄膜炎で蛋白高値、糖比較的低値の場合は、NHALEへの進展を注意する。

2. 先行症状期の病態仮説

先行症状期における末梢血リンパ球・血小板の減少は、リンパ球・血小板からのNMDA型GluR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い。無菌性髄膜炎がある場合には、CNSでリンパ球が細胞死を起こし、リンパ球に発現するNMDA型GluRの破碎-抗原提示が起こり、CNS内でもNMDA型GluR抗体産生にブースターがかかるために辺縁系症状が出現し、NHALE発病につながる可能性が推定される。

NHALE群の先行症状期髄液albumin濃度が対照に比べて高いのは、血液脳関門の破綻によるものと推測している。末梢血albumin濃度は、対照より有意に低値で、発病日に向けて低下する傾向を認め、先行症状期から血液脳関門の破綻があり、albuminが血中から中枢神経系へシフトしていることを示唆している。また、血液脳関門の保護も重要で、これによりNHALEの発病予防が可能となる可能性がある(図9)。

発病期研究のまとめと今後の戦略

1. 患者髄液を用いた検討：in vitro

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、in vitroでNMDA型GluR抗体の機能を検討している。2011年我々は、NMDA型GluR抗体陽性脳炎髄液は培養神経細胞のアポトーシスを促進するが、髄液IgG分画はシナプス外NMDA型GluRを内在化し、興奮毒性によるアポトーシスを抑制することを報告した。このことからNMDA型GluR抗体以外の髄液中の因子が神経細胞死などの病態や、意識障害などの脳炎症状をもたらしていることが考えられる。

2. 合成NMDA型GluR抗体によるPassive transfer研究 in vivo

ウサギ抗ヒトGluN2B-NT2抗体をマウス海馬に反復投与することで、拳尾反応が高率に認められ、反復投与でその頻度が増加したが、明らかな意識障害は起らなかった。このことからもNMDA型GluR抗体以外の髄液中の因子が神経細胞死をもたらし、脳炎症状を表出していることが考えられる。

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9）。

3. NHALEの細胞傷害性T細胞の役割

NHALEでは、髄液granzyme B濃度が疾病対照に比べて有意に高く、髄液細胞数と相關したことから、CNSの細胞傷害性T細胞からの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。

髄液granzyme B濃度の高い群で髄液GluN2B-NT2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抗体が產生されている可能性が示唆された（図9）。

抗体検出系の研究

1. 浮遊系293F細胞を用いた抗体測定系開発

浮遊性293F細胞株を用いたNMDA型GluR抗体などのより簡便で定量性の高い検出系を確立するために、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ている。また、ビーズ法による抗体測定系確立の検討を行っていく。

2. Autoimmune Encephalitis Mosaic1キットの検討

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。抗VGKC抗体陽性例の血清では抗LG11抗体、抗CASPR2抗体ともに陰性であり、感度が低いかもしれない。抗AMPAR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、感度が低い可能性がある（表7）。

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。

3. 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サブクラス抗体が誘導する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。今後、活性化補体の検討を進め、予後の改善、治療法選択に活かしたい。

4. GluN2B-NT2抗体（ELISA）の意義の考察

我々がGluN2B-NT2抗体のELISA測定に用いているペプタイドで作成した抗体が、passive transferで行動変化並びに遺伝子発現変化を起こすことを証明できた。よって、このペプタイドで測定するELISA抗体は臨床的に意義があると推測できる。

自己免疫病態の研究

自己抗体などが產生されるメカニズムを明らかにするために免疫調節遺伝子（*forkhead box P3*、*Foxp3*； *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*、*CTLA-4*； *programmed cell death-1*、*PD-1*； *T-bet*）の発現を検討している。またそれらの遺伝子発現量に影響する可能性のあるSNPを、両鎖ダイレクトシーケンスを行い、データ蓄積中である。

また、NMDA型GluR抗体を產生させる抗原量の変化を検討する目的で、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。

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。

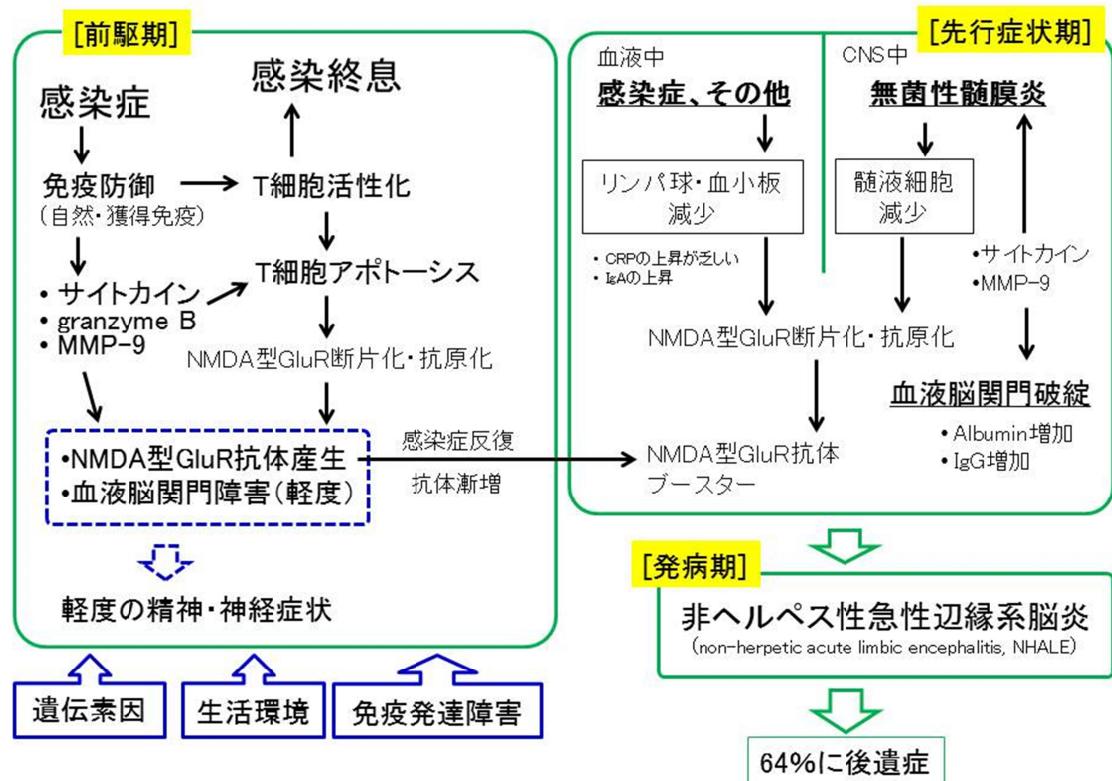


図7. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の前駆期、先行症状期、発病期病態仮説

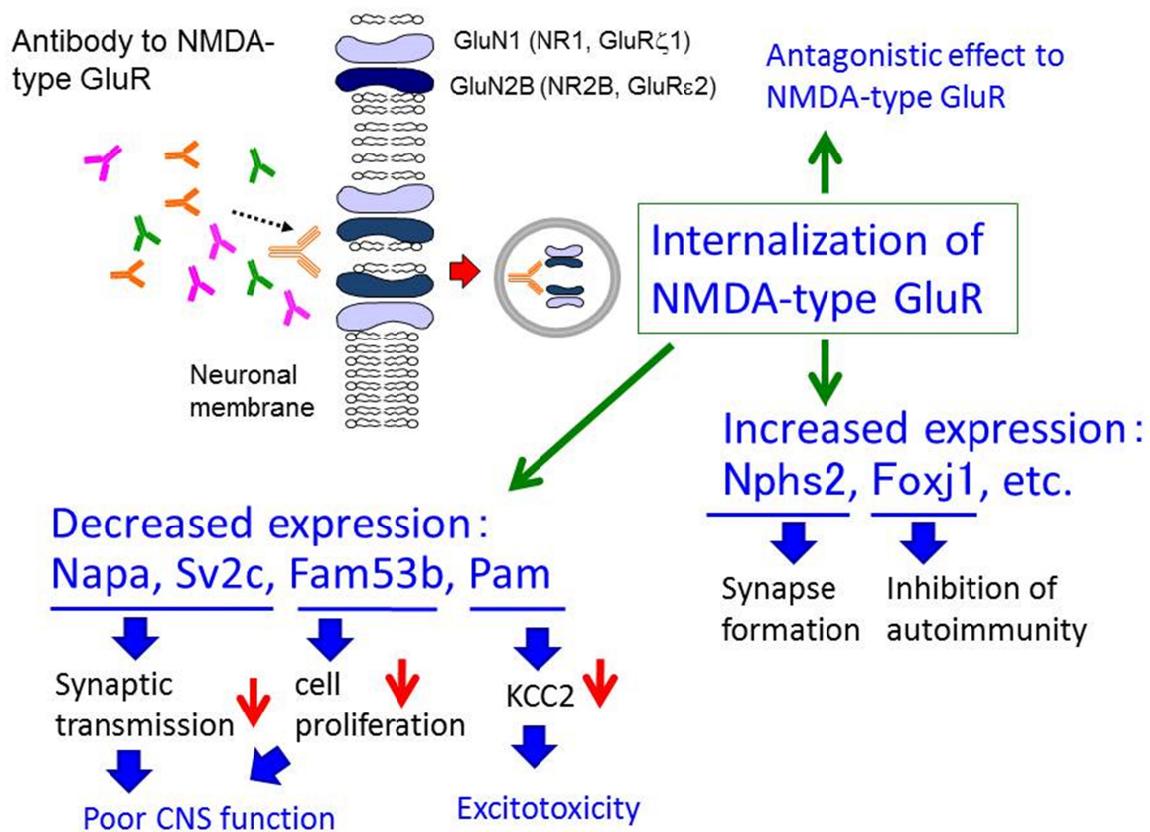


図8. NMDA型GluR抗体の病態機能仮説

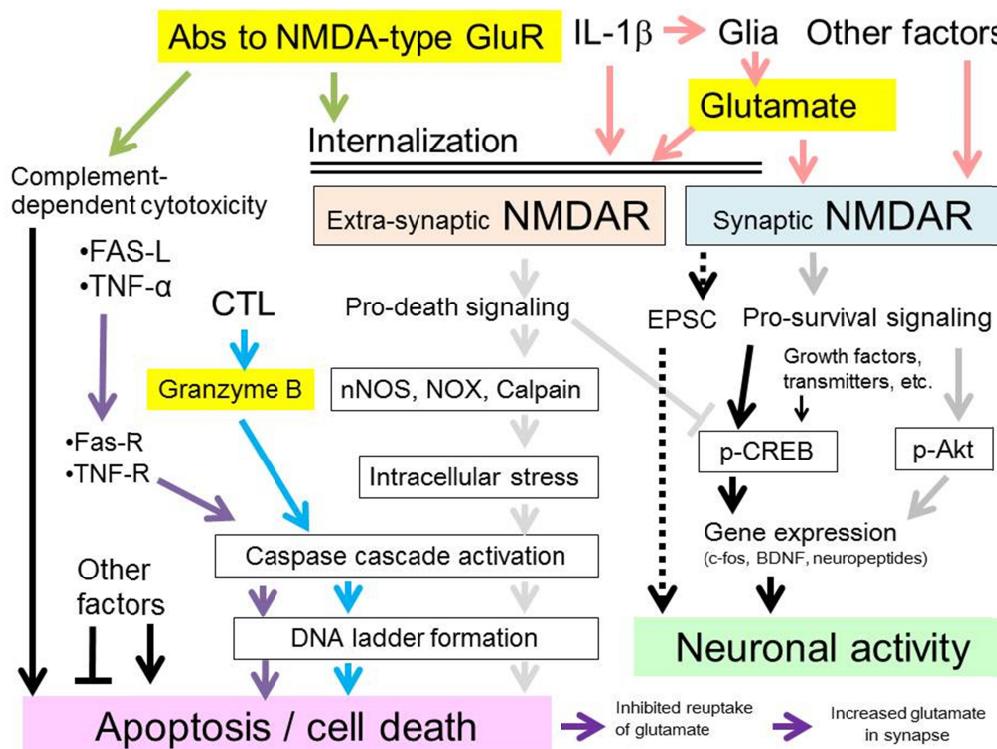


図9. 非ヘルペス性急性辺縁系脳炎における抗体、サイトカイン、granzyme Bなどの役割

E. 結論

前駆期に対する研究アプローチの中で、NHALEの10%程度の症例に、前駆期症状と推定できる精神障害関連疾患の既往歴があり、20-40歳の女性正常対照の中に血清NMDA型GluR抗体 (GluN2B-NT2抗体) が著しく高値の群が見つかり、NMDA型GluR抗体をpassive transferするマウスモデルにおいて、興奮性の行動変化が観察され、NHALE患者髄液IgG分画が、in vitroでAktリン酸化を抑制、シナプス機能を抑制することを見出した。以上からNMDA型GluR抗体が存在し軽度の精神神経症状を表出する前駆期が、NHALE発病前に存在するものと確信してきた。

先行症状期の研究では、発熱、頭痛といった不明熱的な症状が先行症状として多いこと、

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、血液検査ではリンパ球・血小板の減少、IgA高値、CRPの比較的の低値が特徴として見られ、早期診断に繋がる特徴である可能性があること

が分かった。髄液検査では、無菌性髄膜炎に比べて髄液蛋白が有意に高く、糖は有意に低値であり、脳炎移行の早期診断に繋がる特徴である可能性があることが分かった。

先行症状期に中枢神経系でのリンパ球細胞死によりリンパ球発現NMDA型GluRの破碎-抗原提示が起こり、CNS内でNMDA型GluR抗体産生にブースターがかかるために、NHALE発症につながる可能性が推定される。NHALEの発病予防のためには、末梢血およびCNSでリンパ球の細胞死を導く因子を確定する必要がある。また、NMDA型GluR抗体の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。

NMDA型GluR抗体による作用のみでは、痙攣や意識障害など説明しづらい症状がNHALE急性期にはあり、passive transferする動物モデルを用いて、NMDA型GluR抗体以外の脳炎に不可欠な因子を見出し、脳炎の予後を改善したい。

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。
- 2014年8月29日、NMDA型グルタミン酸受容体抗体による不安モデルマウスの開発、発明者：高橋幸利 特願2014-174749、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。
- 2014年10月30日、プライマーセット及び免疫介在性てんかんの診断方法、発明者：高橋幸利 特願2014-221632、出願：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団。
- フェノキシ-(N-置換カルバモイルメチル)-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願2012-015233。

- N-(置換)-2-(置換スルファモイルアミノ)-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願2012-037977。
 - N-[(アシル)ヒドラジノカルボチオニル]-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願2012-049955。
 - ベンゼンスルホニルアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願2012-135591。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

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

（総合）研究報告書

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の前駆期-先行感染症期の病態解明による障害防止研究

抗NMDAR複合体抗体の測定とGluR基礎研究

研究分担者 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・脳症患者および統合失調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)

抗NMDAR抗体の計測を実施した。また、浮遊性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、Cell Sorting 法を用いて細胞株樹立を試みた。

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、既に確立した接着性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)発現浮遊性培養細胞株を樹立し、Flow Cytometryによる評価が可能なスクリーニング系を確立して、より定量性が高く簡便な自己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 2N/R-DsRed と GluR 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

(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。一方、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では、約50%の細胞でデルタ型GluRを発現する安定発現細胞株を

得た。一方、NMDARの安定発現細胞株は得られなかつた。

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つたことから、解析前に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。この症例では、NMDARの機能を向上させるD-セリンの投与が症状の軽減に有効であったことから、さらに症例を増やしてD-セリンの効果を検証する必要がある。また、この患者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の病態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。一方、NMDARについては、浮遊性293F細胞株を用いた安定発現株が得られなかつた事から、この細胞株では、NMDARの発現による細胞生存率の低下か、Ce II sorting 後の細胞増殖の低下の可能性が示唆され、今後更なる検討が必要と考えられる。

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、統合失調症、小脳性の運動障害の病態診断、病態の発症機構解明に資する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tamura, K., Icutani, M., Yoshida, T., Tanaka-Hayashi, A., Yanagibashi, T., Inoue, R., Nagai, Y., Adachi, Y., Miyawaki, T., Takatsu, K., Mori, H. Increased production of intestinal immunoglobulins in *Syntenin-1*-deficient mice. **Immunobiology** in press.
2. Heresco-Levy, U., Durrant, A. R., Ermilov, M., Javitt, D. C., Miya, K., Mori, H.

Clinical and electrophysiological effects of D-serine in a schizophrenic patient positive for anti N-methyl-D-aspartate receptor antibodies. **Biological Psychiatry** 77:e27-e29, 2015.

3. Yamamoto, S., Niida, S., Azuma, E., Yanagibashi, T., Muramatsu, M., Huang, T-T., Sagara, H., Higaki, S., Icutani, M., Nagai, Y., Takatsu, K., Miyazaki, K., Hamashima, T., Mori, H., Matsuda, N., Ishii, Y., Sasahara, M. Inflammation-induced endothelial cell-derived extracellular vesicles modulate the cellular status of pericytes. **Sci. Rep.**, 5:8505, 2015.
4. Tanaka-Hayashi, A., Hayashi, S., Inoue, R., Ito, T., Konno, K., Yoshida, T., Watanabe, M., Yoshimura, T., Mori, H. Is D-aspartate produced by glutamic-oxaloacetic transaminase-1 like 1 (Got111), a putative aspartate racemase? **Amino Acids** 47: 79-86, 2015.
5. Kambara, K., Ohashi, W., Tomita, K., Takashina, M., Fujisaka, S., Hayashi, R., Mori, H., Tobe, K., Hattori, Y. *In vivo* depletion of CD206⁺ M2 macrophages exaggerates lung injury in endotoxemic mice. **Am. J. Pathol.** 185: 162-171, 2015.
6. Dikopoltsev, E., Foltyne, V. N., Zehl, M., Jensen, O. N., Mori, H., Radzishevsky, I., Wolosker, H. FBXO22 is required for optimal synthesis of the NMDA receptor co-agonist D-serine. **J. Biol. Chem.** 289: 33904-33915, 2014.
7. Mano, H., Ishimoto, T., Okada, T., Toyooka, N., Mori, H. Discovery of novel adenylyl cyclase inhibitor by cell-based screening. **Biol. Pharm. Bull.** 37:1689-1693, 2014.
8. Tabata-Imai, A., Inoue, R., Mori, H. Increased sensitivity to inflammatory pain induced by subcutaneous formalin injection in serine racemase knock-out mice. **PLOS ONE** 9:e105282, 2014.
9. Mori, H., Wada, R., Li, J., Ishimoto, T., Mizuguchi, M., Obita, T., Gouda, H., Hirono, S., Toyooka, N. In silico and pharmacological screenings identify novel serine racemase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 24:3732-5, 2014.
10. Tabata, T., Yamaguchi, Y., Hata, Y., Ichida, F., Mori, H. Modification of KCNH2-Encoded Cardiac Potassium Channels by KCNE1 Polymorphism - Reply - **Circ. J.** 78: 2331, 2014.
11. Kinoshita, K., Komatsu, T., Nishide, K., Hata, Y., Hisajima, N., Takahashi, H., Kimoto, K., Aonuma, K., Tsushima, E., Tabata, T., Yoshida, T., Mori, H., Nishida, K., Yamaguchi, Y., Ichida, F., Fukurotani, K., Inoue, H., Nishida, N. A590T mutation in KCNQ1 C-terminal helix D decreases I_{Ks} channel trafficking and function but not Yotiao interaction. **J. Mol. Cell. Cardiol.** 72: 273-280, 2014.

12. 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.
13. 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. **J. Invest. Dermatol.** 134: 1618-1626, 2014.
14. Yamaguchi, Y., Nishide, K., Kato, M., Hata, Y., Mizumaki, K., Kinoshita, K., Nonobe, Y., Tabata, T., Sakamoto, T., Kataoka, N., Nakatani, Y., Ichida, F., Mori, H., Fukurotani, K., Inoue, H., Nishida, N. Glycine/serine polymorphism at position 38 influences KCNE1 subunit's modulatory actions on rapid and slow delayed rectifier K⁺ currents. **Circ. J.** 78: 610-618, 2014.
15. Miya, K., Takahashi, Y., Mori, H. Anti-NMDAR autoimmune encephalitis. (Review) **Brain Dev-JPN.** 36: 645-652, 2014.
16. Mori, D., Ranawaka, U., Yamada, K., Rajindrajith, S., Miya, K., Kumara, H., Perera, K., Matsumoto, T., Dassanayake, M., Mitui, M. T., Mori, H., Nishizono, A., Söderlund-Venermo, M., Ahmed, K. Human Bocavirus in Patients with Encephalitis, Sri Lanka, 2009–2010. **Emerg. Infect. Dis.** 19: 1859-1862, 2013.
17. Horio, M. Mori, H., Hashimoto, K. Is D-Cycloserine a Prodrug for D-Serine in the Brain? **Biol. Psychiatry.** 73:e33-e34, 2013.
18. 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.** 62: 843-847, 2013.
19. Rosenberg D, Artoul S, Segal AC, Kolodney G, Radzishevsky I, Dikopoltsev E, Foltyn VN, Inoue R, Mori H, Billard JM, Wolosker H. Neuronal D-serine and glycine release via the Asc-1 transporter regulates NMDA receptor-dependent synaptic activity. **J Neurosci.** 33:3533-44, 2013.
20. LeMaistre, J. L., Lu, L., Anderson, H.D.I., Mori, H., Anderson, C.M. Astrocyte-induced cortical vasodilation is mediated by D-serine and endothelial nitric oxide synthase. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 110:3149-3154, 2013.
21. Kinoshita, K., Yamaguchi, Y., Nishide, K., Kimoto, K., Nonobe, Y., Fujita, A., Asano, K., Tabata, T., Mori, H., Inoue, H., Hata, Y., Fukurotani, K. and Nishida, N. A novel missense mutation causing-a-go-go-related gene channel. **J. Cardiovasc. Electrophysiol.** 23: 1246-1253, 2012.
22. Wolosker, H. and Mori, H. Serine racemase: an unconventional enzyme for an unconventional transmitter. **Amino Acids** 43:1895-1904, 2012 (Review).
23. Harai, T., Inoue, R., Fujita, Y., Tanaka, A., Horio, M., Hashimoto, K., Hongou, K., Miyawaki, T., Mori, H. Decreased susceptibility to seizures induced by pentylenetetrazole in serine racemase knockout mice. **Epilepsy Research** 102:180-187, 2012.
24. Ishimoto, T., Mano, H., Ozawa, T., Mori H. Measuring CREB activation using bioluminescence probes that detect KID-KIX interaction in living cells. **Bioconjugate Chem.** 22:1136-44, 2012.
25. Horio, M., Kohno, M., Fujita, Y., Ishima, T., Inoue, R., Mori, H., Hashimoto, K., Role of Serine Racemase in Behavioral Sensitization in Mice after Repeated Administration of Methamphetamine. **PLoS ONE** 7:e35494, 2012.

2. 学会発表

- 森寿. セリンラセマーゼと D-セリンの生体機能; 第 87 回日本薬理学会年会; 2014 Mar.19; 仙台.
- 和田亮吾, 李杰, 合田浩明, 広野修一, 水口峰之, 豊岡尚樹, 森寿. セリンラセマーゼ新規阻害剤の開発; 第 87 回日本薬理学会年会; 2014 Mar.19; 仙台.
- 草開祥平, 渡辺祐紀, 種市尋宙, 田中朋美, 田仲千秋, 宮一志, 森寿, 足立雄一. ステロイドパルス療法の反復が有効であった抗 NMDA 受容体抗体陽性辺縁系脳炎の 11 歳男児例; 第 56 回小児神経学会学術集会; 2014 May 29; 浜松.
- H Mori, A Tabata-Imai, R Inoue. Increased sensitivity to inflammatory pain induced by subcutaneous formalin injection in serine racemase KO mice; IDAR2014; 2014 Sep 4; 宇都宮.
- 石本哲也, 真野寛生, 森寿. スプリットルシフェラーゼを用いたマウス脳内 CREB のリン酸化イメージング; 第 37 回日本神経科学大会; 2014 Sep 11; 横浜.
- 井上蘭, 田中-林亜由美, 森寿. ストレスによる恐怖記憶制御における扁桃体外側核グルココルチコイド受容体の役割; 第 37 回日本神経科学大会; 2014 Sep 11; 横浜.
- 笹原正清, Chung Thanh Dang, 石井陽子, 濱島丈, 山本誠士, 大川宣昭, 斎藤喜人, 井ノ口馨, 森寿 PDGFR-□ の不活性化は OPC の分化、および間葉系幹細胞の動員と OPC への分化を誘導する; 第 37 回日本神経科学大会; 2014 Sep 11; 横浜.
- 塙田倫史, 笹原正清, 森寿, 福永浩司. 細胞内におけるドバミン D2L 受容体の新しい活性化機構; 第 37 回日本神経科学大会; 2014 Sep 11; 横浜.
- 福地守, 前畑陽祐, 和泉宏謙, 田中亜由

- 美、井上蘭、森寿、田渕明子、津田正明、PACAPによるBDNF遺伝子発現誘導-生物発光イメージングを利用した解析; 2014 Sep 12; 横浜
10. 田中・林亜由美、井上蘭、吉田知之、林修平、伊藤智和、吉村徹、森寿. Got111 ノックアウトマウスの解析; 第 87 回日本生化学会; 2014 Oct 18; 京都。
 11. T Ishimoto, H Mano, H Mori. In vivo imaging of CREB phosphorylation using a novel transgenic mouse line expressing bioluminescence probes; Society For Neuroscience; 2014 Nov 15; Washington DC.
 12. 吉田知之、城島知子、山崎真弥、阿部学、山形敦史、深井周也、森寿、崎村建司、岩倉洋一郎、三品昌美. インターロイキン-1受容体ファミリータンパク質による中枢シナプス形成の調節; 第 37 回日本分子生物学会年会 ワークショップ; 2014 Nov 26; 横浜。
 13. 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
 14. 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。
 15. 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
 16. 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。
 17. 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。
 18. 宮一志、原井朋美、宮脇利男、森寿「発熱を契機に行動異常が増悪し、抗 NMDA 受容体抗体が陽性であった広汎性発達障が

いの一例」第 54 回 日本小児神経学会
2012 年 5 月 17-19 日、札幌

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.
2. Mori, H. and Izumi, H. Bioluminescence imaging of Arc expression detects activity-dependent and plastic changes in the visual cortex of adult mice. J. M. Harris et al., Ed. "Visual Cortex: Anatomy, Function and Injuries" pp165-184. 2012 Nova Science Publishers, Inc.

1.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得、出願

- フェノキシ-(N-置換カルバモイルメチル)-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願
2012-015233.
- N-(置換)-2-(置換スルファモイルアミノ)-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願
2012-037977.
- N-[(アシル)ヒドラジノカルボチオニル]-アセトアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願
2012-049955.
- ベンゼンスルホニアミド誘導体およびそれを有効成分とするセリンラセマーゼ阻害剤 森寿、豊岡尚樹、水口峰之他 特願
2012-135591.

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

（総合）研究報告書

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の前駆期-先行感染症期の病態解明による障害防止研究

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者および

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床的特徴の検討

研究分担者 西田 拓司

独立行政法人国立病院機構 静岡てんかん・神経医療センター精神科医長

研究要旨

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

非ヘルペス性急性辺縁系脳炎（以下NHALE）患者には、脳炎発病以前より精神障害の既往がみられることがある。抗グルタミン酸受容体抗体が脳炎発病以前からNHALE患者の中権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ために、NHALE患者324名（傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名）の既往歴について後方視的に資料を検討した。傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名では、産婦人科関連既往症が9名（8%）、精神障害関連が5名（5%）（うち、気分障害3名、不安障害1名、摂食障害1名）、脳炎・髄膜炎が4名（4%）、てんかんが3名（3%）でみられた。非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名では、精神障害関連既往症が21名（10%）（うち、気分障害8名、アルコールあるいは薬物依存症8名、発達障害5名）、自己免疫性疾患関連が9名（4%）、婦人科関連が8名（4%）でみられた。NHALE患者に精神・神経障害の既往が多くみられることから、抗グルタミン酸受容体抗体がNHALE発病以前から既に精神症状の発現に対して何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

統合失調症、てんかん精神病などの精神疾患患者の一部で抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示すことが報告されている。抗グルタミン酸受容体抗体が精神神経患者の精神症状発現に何らかの影響を及ぼしている可能性を示唆する所見を得るために、抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者8名および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名の臨床的特徴について後方視的に資料を検討した。精神疾患患者8名の主たる精神症状は、抑うつ2名、幻覚妄想2名、躁1名、行動異常1名、不安1名、見当識障害1名だった。既往歴はアルコール依存症あるいは大量飲酒が3名、橋本病が1名でみられた。精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名は全例部分てんかんで、主たる精神症状は興奮、衝動行為、行動異常、幻聴だった。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者とNHALE患者の臨床的特徴との類似点が見出されたことから、抗グルタミン酸受容体抗体がこれらの患者の精神症状発現に何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。

【てんかん精神病患者の抗グルタミン酸受容体抗体の関連の検討】

てんかんには幻覚、妄想などの精神病症状、うつ症状、不安症状などさまざまな精神症状が出現するが、その発現機序は不明である。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示唆する所見を得るために、てんかん精神病患者で抗グルタミン酸受容体抗体の陽性率および経時的变化を検討した。てんかん精神病患者23名のうち血清中あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体の抗体価が高値を示したのは3名（13%）だった。これら

の3名は発病から検査時までの期間が平均7か月（6か月～9か月）と比較的短かった。複数回血清あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定した3名のうち1名では精神症状寛解後も血清中の抗体価は高値を示し、1名では精神症状寛解後は血清中の抗体価は高値を示さなくなり、1名では精神症状寛解後も髄液中の抗体価は高値を示したが低下した。てんかん精神病患者の一部で抗グルタミン酸受容体抗体の抗体価が高値を示すことがあることから、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。てんかん精神病の精神症状と抗グルタミン酸受容体抗体の経時的関連は更なる検討を要する。

A . 研究目的

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

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、これらの精神症状の発現機序に抗グルタミン酸受容体抗体が関与していることが考えられている。またNHALE患者には、脳炎発病以前より何らかの精神障害の既往がみられることがある。このことは、NHALE発病前から既に、抗グルタミン酸受容体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。そこで、抗グルタミン酸受容体抗体が脳炎発病以前からNHALE患者の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ためにNHALE患者の既往歴を調査した。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

統合失調症、てんかん精神病などの精神疾患患者の一部で抗グルタミン酸受容体抗体が陽性を示すことが報告されている。これまで、NHALE患者と抗グルタミン酸受容体抗体陽性を示す精神疾患患者の臨床的特徴の違いは明らかにされていない。そこで、抗グルタミン酸受容体抗体がこれらの患者の精神症状発現に何らかの影響を及ぼしている可能性を示唆する所見を得るために、抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者およ

び精神症状を伴う脳炎後てんかん患者の臨床的特徴を検討した。

【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】

てんかんには幻覚、妄想などの精神病症状、うつ症状、不安症状などさまざまな精神症状が出現するが、その発現機序は不明である。そこで、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示唆する所見を得るために、てんかん精神病患者で抗グルタミン酸受容体抗体の陽性率および経時的变化を検討した。

B . 研究方法

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

NHALE患者324名（傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名）の既往歴について後方視的に資料を検討した。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

髄液中のGluN2B-NT2抗体が対照髄液（非炎症性部分てんかん）の平均+2SD以上の高値を示した精神疾患患者8名と精神症状を伴う脳炎後てんかん患者4名の既往歴と精神症状について後方視的に資料を検討した。

【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】

Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I)にて、調査時の精神病症状あるいは過去の精神病症状の既往が確認できたてんかん患者23名の血清中あるいは髄液中のGluN2B-NT2抗体、GluN2B-C抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体をE

LISAにより測定した(高橋. 2013)。複数回血清あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定できたのは8名だった。患者の抗体価が対照(てんかん、あるいは不随意運動をもつ患者)の血清あるいは髄液と比較して平均+2SD以上を示す場合を高値とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、文書にて同意を得た患者、あるい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

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち、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。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。非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名のうち、精神障害関連既往症が21名(10%)で、自己免疫性疾患関連が9名(4%)で、婦人科関連が8名(4%)でみられた。精神障害関連既往症の内訳は、気分障害8名、アルコールあるいは薬物依存症8名、発達障害5名だった。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

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

【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】

対象患者23名のうち血清中あるいは髄液中、抗グルタミン酸受容体抗体の抗体価が高値を示したのは3名(13%) (高抗体価群) だ

った。高抗体価群3名と残りの20名(正常抗体価群)の臨床特徴を比較すると、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。複数回血清あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定した8名のうち、抗体価が高値を示したのは3名だった。3名のうち1名では精神症状寛解後も血清中の抗体価は高値を示し、1名では精神症状寛解後は血清中の抗体価は高値を示さなくなり、1名では精神症状寛解後も髄液中の抗体価は高値を示したが低下した。

D. 考察

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

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、Dalmauらの提唱する抗NMDA型グルタミン酸受容体自己抗体陽性脳炎でも、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。NHALEと抗NMDA型グルタミン酸受容体自己抗体陽性脳炎は共通の病態基盤がある可能性が考えられている。NMDA型グルタミン酸受容体に対して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グルタミン酸系機能と精神症状の関連が示唆されている。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。

本研究の結果では、脳炎発病以前に、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名（11%）で精神・神経障害の既往、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名のうち21名（10%）で精神障害の既往がみられた。特に、うつなどの気分障害、アルコールや覚醒剤に対する依存症が多くみられた。気分障害および依存症はいずれも辺縁系の機能障害との関連が示唆されている。NHALE発病以前からみられるこれらの精神障害の既往から、抗グルタミン酸受容体抗体が脳炎発病以前から既にNHALE患者の中枢神経系に何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。傍腫瘍性辺縁系脳炎患者では精神障害関連は5%と非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者の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つた脳炎・髄膜炎、および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。

いずれにしても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、抗グルタミン酸受容体抗体が何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者の精神症状は多彩であった。抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者でアルコール関連の既往、自己免疫疾患の既往がみられた。すでに述べたように、傍腫瘍性辺縁系脳炎患者107名のうち12名（11%）で精神・神経障害の既往がみられ、非傍腫瘍性辺縁系脳炎患者217名のうち21名（10%）で精神障害の既往がみられた。特にアルコールを含めた依存症が8名でみられた。抗グルタミン

酸受容体抗体陽性の精神疾患患者とNHALE患者の間の臨床特徴に共通点がみられ、何らかの共通する機序がある可能性が考えられる。

【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】

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（Niemann 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）。

本研究の結果では、てんかん精神病患者23名中3名（13%）で、血清中あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体（GluN2B-NT2抗体、GluN2B-CT抗体、GluN1-NT抗体、GluD2-NT抗体）のいずれかが、対照血清あるいは髄液抗体値の平均+2SD以上の高値を示した。抗体値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。また、複数回血清中あるいは髄液中の抗グルタミン酸受容体抗体を測定し、対照血清あるいは髄液抗体値の平均+2SD以上の高値を示した3名で、うち1名は精神症状寛解後も血清中の抗体値は高値を示し、1名は精神症状寛解後に血清中の抗体値は高値を示さなくなり、1名は精神症状寛解後も髄液中の抗体値は高値を示したが低下した。抗グルタミン酸受容体抗体と精神症状の経時的関連は更なる検討を要する。

E. 結論

【非ヘルペス性急性辺縁系脳炎患者の既往症の検討】

NHALE患者に精神・神経障害の既往が多く

みられることから、抗グルタミン酸受容体抗体がNHALE発病以前から既に精神症状の発現に対して何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。

【抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神神経疾患患者の臨床特徴の検討】

抗グルタミン酸受容体抗体陽性の精神疾患患者および精神症状を伴う脳炎後てんかん患者とNHALE患者の臨床的特徴との類似点が見出されたことから、抗グルタミン酸受容体抗体がこれらの患者の精神症状発現に何らかの影響を及ぼしている可能性があると考える。

【てんかん精神病患者の抗グルタミン酸受容体抗体の関連の検討】

てんかん精神病患者の一部で抗グルタミン酸抗体の抗体価が高値を示すことがあることから、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。てんかん精神病の精神症状と抗グルタミン酸受容体抗体の継時的関連は更なる検討を要する。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakakibara E, Nishida T, Sugishita K, Jinde S, Inoue Y, Kasai K. Acute psychosis during the postictal period in a patient with idiopathic generalized epilepsy: postictal psychosis or aggravation of schizophrenia? A case report and review of the literature. *Epilepsy Behav* 24: 373-376, 2012.

2. 学会発表

1. 西田拓司. てんかん外科治療前後の側頭葉てんかん患者の精神医学的側面に関する前方視的研究（第一報）；第48回日本てんかん学会；2014 Oct2；東京。

2. 西田拓司. てんかん学習プログラムMO SES; 第56回日本小児神経学会; 2014 May31; 浜松.
3. 西田拓司. てんかんの診断・治療はどのように行われるのか；第26回日本総合病院精神医学会；2013 Nov30；京都。
4. 西田拓司. 患者教育：患者学習プログラムの実践，特別企画セッション「てんかん医療と教育：人材育成と啓発のための提言」；第47回日本てんかん学会；2013 Oct12；北九州。
5. Nishida T. EEG studies in epilepsy -related psychiatric disorders; 11th World Congress of Biological Psychiatry; 2013 Jun23; Kyoto.
6. 西田拓司. てんかんの診断；第109回日本精神神経学会；2013 May24；福岡。
7. 西田拓司. 法的問題検討委員会報告：事例検討とアンケートからみた現行制度の問題点，ワークショップ1「てんかんと運転」；第46回日本てんかん学会；2012 Oct11；東京。
8. 西田拓司. てんかん診療の現状と課題，シンポジウム48「てんかん診療の最前线」；第108回日本精神神経学会；2012 May26；札幌。
3. 書籍の刊行
 1. 西田拓司. てんかん. ガイドライン外来診療2014. 日経メディカル開発. 東京: 539-541, 2014.
 2. 西田拓司. 分類：進化する概念. 井上有史監訳. てんかん症候群：乳幼児・小児・青年期のてんかん学, 第5版. 中山書店, 東京: 2-12, 2014.
 3. 西田拓司. 遺伝規定性の焦点てんかん. 井上有史監訳. てんかん症候群：乳幼児・小児・青年期のてんかん学, 第5

- 版. 中山書店, 東京: 364-378, 2014.
4. 西田拓司, 荒木剛. てんかん. 最新心
理学事典. 平凡社. 東京: 543-544, 2
013.
5. 西田拓司. 脳波検査. 現代臨床精神医
学改訂第12版. 金原出版. 東京: 136-
142, 2013.
6. 西田拓司. てんかん. 現代臨床精神医
学改訂第12版. 金原出版. 東京: 214-
239, 2013.
7. 西田拓司, 笠井清登訳. うつ病および
不安障害の薬物治療. 高折修二, 橋本
敬太郎, 赤池昭紀, 石井邦雄監訳. 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: 495-517, 2013.
8. 西田拓司. 新規発病症例の抗てんかん
薬選択: 成人. プライマリ・ケアのた
めの新規抗てんかん薬マスタートップ.
診断と治療社. 東京: 30-39, 2012.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金研究報告書

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、植田佑樹、保立麻美子	病因	辻貞敏	新しい診断と治療のABC74 /神経5 てんかん	最新医学社	東京	2012年7月	60-71
最上友紀子 高橋幸利	新規発病症例の抗てんかん薬選択：小児	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	22-29
高橋幸利	難治てんかん症例の抗てんかん薬付加選択：小児	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	40-46
山崎悦子、 高橋幸利	ラモトリギンの使い方	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	66-67
大谷英之、 高橋幸利	レベチラセタムの使い方	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	68-69
高橋幸利	スチリペントールの使い方	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	76-77
高橋幸利	抗てんかん薬開始量、血中濃度、ポイントの一覧表—小児版	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	-
高橋幸利	抗てんかん薬開始量、血中濃度、ポイントの一覧表—成人版	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	-
Mori H. Izumi H.	Bioluminescence imaging of Arc expression detects activity-dependent and plastic changes in the visual cortex of adult mice.	J. M. Harris et al., Ed.	Visual Cortex: Anatomy, Function and Injuries	Nova Science Publishers, Inc.	USA	2012	165-184
西田拓司	新規発病症例の抗てんかん薬選択：成人	高橋幸利	プライマリ・ケアのための新規抗てんかん薬マスター ブック	診断と治療社	東京	2012	30-39
高橋幸利 山口解冬	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	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	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	2014	176-177
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	2014	178-179
高橋幸利 束本和紀	てんかん	編集：山崎麻美 坂本博昭	小児脳神経外科学(改定2版)	金芳堂	東京		印刷中
高橋幸利 渡辺陽和	2 脳炎-1 総論	編集：兼本浩祐他	臨床てんかん学	医学書院	東京		印刷中
高橋幸利 大星大觀	2 脳炎-2 免疫介在性脳炎(小児)	編集：兼本浩祐他	臨床てんかん学	医学書院	東京		印刷中
高橋幸利 西田拓司 山口解冬	自己免疫性脳炎	編集：辻省次、吉良潤一	アクチュアル脳・神経疾患の臨床、免疫性神経疾患 病態と治療のすべて	中山書店	東京		印刷中
西田拓司	てんかん	泉孝英	ガイドライン外来診療2014	日経メディカル開発	東京	2014	539-541
西田拓司	分類：進化する概念	井上有史	てんかん症候群：乳幼児・小児・青年期のてんかん学	中山書店	東京	2014	2-12
西田拓司	遺伝規定性の焦点てんかん	井上有史	てんかん症候群：乳幼児・小児・青年期のてんかん学	中山書店	東京	2014	364-378

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Jun-ichi Takanashi, Nobuhiko Okamoto, Yuto Yamamoto, Shin Hayashi, Hirosi Arai, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Koichi Maruyama, Seiji Mizuno, Shuichi Shimakawa, Hiroaki Ono, Reiki Oyanagi, Satomi Kubo, James Barkovich, Johji Inazawa	Clinical and radiological features of Japanese patients with a severe phenotype due to CASK mutations.	Am J Med Genetics.	158A	3112-3118	2012
Rie Miyata, Naoyuki Tanuma, Masaharu Hayashi, <u>Yukitoshi Takahashi</u>	Focal encephalopathy with recurrent episodes of epileptic status and cluster mimicking hemiconvulsion-hemiplegia –epilepsy syndrome.	Brain & Development.	34	360-363	2012
Yukiko Mogami, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Rumiko Takayama, Hideyuki Ohtani, Hiroko Ikeda, Katsumi Imai, Hideo Shigematsu, Yushi Inoue	Cutaneous adverse drug reaction in patients with epilepsy after acute encephalitis	Brain & Development.	34	496-503	2012
Hiroyuki Wakamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Tomohiro Ebihara, Kentaro Okamoto, Masatoshi Hayashi, Takashi Ichiyama, Eiichi Ishii	An immunologic case study of acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures.	Brain & Development .	34	763-767	2012
<u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Hitoshi Ikeda, Yuko Kubota, Etsuko Yamazaki, Fuminobu Susa	Open study of pranlukast add-on therapy in intractable partial epilepsy.	Brain & Development.	35	236-244	2013
Uzawa A, Mori M, <u>Takahashi Y</u> , Ogawa Y, Uchiyama T, Kuwabara S.	Anti-N-methyl D-aspartate-type glutamate receptor antibody-positive limbic encephalitis in a patient with multiple sclerosis.	Clinical Neurology and Neurosurgery.	114(4)	402-404	2012 Epub 2011 Dec 5.
Takuya Fukuoka, Hidetaka Takeda, Yasuko Ohe, Ichiro Deguchi, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Norio Tanahashi	Anti-glutamate receptor δ2 antibody-positive migrating focal encephalitis.	Clinical Neurology and Neurosurgery.	114	1351-1354	2012 A available online 25 April 2012.
Dezhi Cao, Hideyuki Ohtani, Ikuro Ogiwara, Sanae Ohtani, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Kazuhiro Yamakawa, Yushi Inoue	Efficacy of stiripentol in hyperthermia-induced seizures in a mouse model of Dravet syndrome.	Epilepsia.	53(7)	1140-1145	2012 Epub 2012 May 11

Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Eri Suzuki, Nobuyuki Mishima, Kazuyuki Inoue, Kunihiro Itoh, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue	Risk factors for hyperammonemia associated with valproic acid therapy in adult epilepsy patients.	Epilepsy Research.	101(3)	202-209	2012
Hideyuki Matsumoto, Shingo Okabe, Minako Hirakawa-Yamada, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Noboru Satoh, Yukifusa Igeta, Hideji Hashida	Steroid-responsive focal epilepsy with focal dystonia accompanied by glutamate receptor delta2 antibody.	J Neuroimmunol ogy.	249(1-2)	101-104	2012 Epub 2012 May 19.
Koji Fujita, Tatsuhiko Yuasa, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Keiko Tanaka, Wataru Sako, Hidetaka Koizumi, Yasuhi Iwasaki, Mari Yoshida, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji	Antibodies to N-methyl-D-aspartate glutamate receptors in Creutzfeldt-Jakob disease patients.	J Neuroimmunol ogy.	251(1-2)	90-93	2012 Epub 2012 Jul 17.
Koji Fujita, Tatsuhiko Yuasa, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Keiko Tanaka, Shuji Hashiguchi, Katsuhiro Adachi, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji,	Detection of anti-glutamate receptor ε2 and anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies in a patient with sporadic Creutzfeldt–Jakob disease.	J Neurol.	259(5)	985-988.	2012
Iwasaki Y, Okamoto A, Shoda H, <u>Takahashi Y</u> , Fujio K, Kawahata K, Yamamoto K.	Subacute cerebellar ataxia and atrophy developed in a young woman with systemic lupus erythematosus whose cerebrospinal fluid was positive for antineuronal cell antibody.	Lupus.	21(3)	324-328	2012 Epub 2011 Sep 30.
Jun-ichi Takanashi, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Atsushi Imamura, Kazuhiro Kodama, Akimitsu Watanabe, Koji Tominaga, Kazuhiro Muramatsu	A. James Barkovich, Late delirious behavior with 2009 H1N1 Influenza; mild autoimmune-mediated encephaliti s?	Pediatrics.	Apr:129 (4)	e1068-1071	in press Epub 2 012 Ma r 12.
Koji Fujita, Tatsuhiko Yuasa, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Keiko Tanaka, Wataru Sako, Hidetaka Koizumi, Yasuhi Iwasaki, Mari Yoshida, Yuishin Izumi, Ryuji Kaji	Voltage-gated potassium channel complex antibodies in Creutzfeldt-Jakob disease.	Journal of Neurology.	259(10)	2249-2250	2012
Yuhei Chiba, Omi Katsuse, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Makoto Yoneda, Misako Kunii, Atsushi Ihata, Atsuhsa Ueda, Mitsuhiro Takeno, Takashi Togo, Yoshio Hirayasu	Anti-Glutamate Receptor ε2 antibodies in psychiatric patients with anti-thyroid autoantibodies --- a prevalence study in Japan.	Neuroscience Letters.			in press 2012 Nov 6. Epub ahead of print

Meilia M. Suriadi, <u>Yukitoshi Takahashi,</u> Shigeko Nishimura, Hisano Tsunogae, Yushi Inoue	Dysfunction of blood-brain barrier in epileptic patients after acute encephalitis.	Epileptologia.			in press
Jun Mine, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Yuki Mogami, Hiroko Ikeda, Yuko Kubota, Katsumi Imai	Characteristics of epilepsy and immunological markers in epileptic patients after influenza-associated encephalopathy.	Neurology Asia.			in press
Wolosker H, <u>Mori H.</u>	Serine racemase: an unconventional enzyme for an unconventional transmitter.	Amino Acids.	43	1895-1904	2012
Ishimoto T, Mano, H, Ozawa T, <u>Mori H.</u>	Real-time Monitoring of Action Polymerization in living cells using split luciferase.	Bioconjugate Chemistry.	22	1136-1144	2012
Harai T, Inoue R, Fujita Y, Tanaka A, Horio M, Hashimoto K, Hongou K, Miyawaki T, <u>Mori H.</u>	Decreased susceptibility to seizures induced by pentylenetetrazole in serine racemase knockout mice.	Epilepsy Research.	102	180-187	2012
Kinoshita K, Yamaguchi Y, Nishide K, Kimoto K, Nonobe Y, Fujita A, Asano K, Tabata T, <u>Mori H.</u> , Inoue H, Hata Y, Fukurotani K. Nishida N.	A novel missense mutation causin a G487R substitution in the S2-S3 loop of human ether-a-go-go-related gene channel.	J. Cardiovasc. Electrophysiol.	23	1246-1253	2012
Mori D, Ranawaka U, Yamada K, Rajindrajith S, Miya K, Perera HK, 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, Kohno, M Fujita, Y, Ishima T, Inoue R, <u>Mori H.</u> , Hashimoto K.	Role of serine racemase in behavioral sensitization in mice after repeated administration of methamphetamine.	PLoS ONE	7(4)	E35494	2012
LeMaistre J. L, Lu, L, Anderson H.D.I, <u>Mori H.</u> , Anderson C.M.	Astrocyte-induced cortical vasodilation is mediated by D-serine and endothelia l nitric oxide synthase.	Proc. Natl. Acad. Sci.	110(8)	3149-3154	2013
Sakakibara E, <u>Nishida T</u> , Sugishita K, Jinde S, Inoue Y, Kasai K.	Acute psychosis during the postictal period in a patient with idiopathic generalized epilepsy: postictal psychosis or aggravation of schizophrenia? A case report and review of the literature.	Epilepsy and Behaver.	24	373-376	2012

高橋幸利、山崎悦子、長尾雅悦、遠山潤、岡田久、渡邊宏雄、白石一浩、高田裕、夫敬憲、宮河真一郎、田中滋己、四家達彦、田中茂樹、中根俊成、佐久間啓、宇留野勝久	脳炎・脳症後てんかんの薬物治療.	Epilepsy.	6 suppl	102-104	2012
高橋幸利、高久保瞳、西村成子、高尾恵美子、笠井理沙、那須裕郷、山口解冬	脳症の臨床特徴・自己抗体（抗グルタミン酸受容体抗体）：小児科領域.	Neuroinfection	17	100-106	2012
高橋幸利、植田祐樹、保立麻美子、山口解冬、那須裕郷、高山留美子、西田拓司、山崎悦子	いま知っておくべきてんかん 診る・治す・フォローする-てんかん診療の新展開、自己免疫性てんかん.	Mebio.	29(11)	54-62	2012
小泉ひろみ、米山法子、高橋まや、石田和子、武田修、内藤信吾、水俣健一、高橋幸利	地震後急性発症し、精神病性障害と考えられた抗NMDA受容体脳炎の12歳女児例.	市立秋田総合病院医誌	22(1)	37-44	2012
高橋幸利、植田佑樹	小児疾患の診断治療基準：部分てんかん.	小児内科	44 増刊号	732-733	2012
最上友紀子、高橋幸利、福山智広、高山留美子、大谷英之、池田浩子、今井克美、重松秀夫、井上有史	脳炎・脳症後てんかん症例における抗てんかん薬の副作用の検討：眠気について.	脳と発達	44(6)	472-476	2012
山口佳剛、和田学、栗田啓司、高橋幸利、加藤丈夫	SLEを背景とし、病態に抗グルタミン酸受容体抗体の関与が示唆された自己免疫疾患関連性辺縁系脳炎の一例	臨床神経学	52(8)	545-550	2012
久保田昭洋、高橋幸利、他	短期記憶障害を呈し抗Ma2抗体、抗NMDAR抗体、抗GluR ϵ 2抗体陽性で、後に精巣腫瘍を認めた傍腫瘍性辺縁系脳炎の1例	臨床神経学	52(9)	666-671	2012
高橋幸利	自己免疫性介在性脳炎・脳症の診断・治療スキーム.	臨床神経学	52(11)	836-839	2012
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、	非ヘルペス性急性辺縁系脳炎.	小児内科	45(2)	376-380	2013
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	Rasmussen症候群.	小児内科	45(2)	416-421	2013
高橋幸利、保立麻美子、植田佑樹、山口解冬、那須裕郷	Antibody Update グルタミン酸受容体自己抗体.	Brain and Nerve.	65(4)	345-353	2013
高橋幸利	自己免疫性脳炎 Up-to-date グルタミン酸受容体抗体の意義.	脳と発達	45(2)		2013
西田拓司	てんかん診療の現状と課題	精神経誌	114	957-959	2012

松浦雅人、川合謙介、久保田英幹、 <u>西田拓司</u> 、杉本健郎、平田幸一、日本てんかん学会法的問題検討委員会	てんかんをもつ人における運転免許の現状と問題点	てんかん研究	30	60-67	2012
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 $\varepsilon 2$.	Clinical Neurology and Neurosurgery	115(4)	481-483	2013
Daisuke Usui, Shino Shimada, Keiko Shimojima, Midori Sugawara, Hajime Kawasaki, Hideo Shigematsu, <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 Takanaka, 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
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
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
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 subjects.	Pharmacogenomics	14(15)	1821-1831	2013
村上秀友、飯島昭二、河村 満、 <u>高橋幸利</u> 、市川博雄	伝染性单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
高橋幸利、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
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

Rosenberg D., <u>Mori H.</u> , et al.,	Neuronal D-serine and glycine release via the Asc-1 transporter regulates NMDA receptor-dependent synaptic activity.	J Neurosci.	33	3533-3544	2013
Hata Y, <u>Mori H.</u> , Tanaka A, Fujita Y, Shimomura T, Tabata T, Kinoshita K, Yamaguchi Y, Ichida F, Komimoto 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
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、 <u>井上有史</u> 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> 、 <u>井上有史</u>	成人てんかんの治療ガイドライン。	日精協誌	32	32-36	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
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, Aiko 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

Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Yukiko Mogami, Kazumi Matsuda, Masahiko Nakai, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue	Interaction between sulthiame and clobazam: Sulthiame inhibits the metabolism of clobazam, possibly via an action on CYP2C19.	Epilepsy & Behavior	34	124-126	2014
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.	Ann Neurol.	75(3)	435-441	2014
Kimura N, Kumamoto T, <u>Takahashi Y</u> .	Brain perfusion SPECT in limbic encephalitis associated with autoantibody against the glutamate receptor epsilon 2.	Clinical Neurol Neurosurg	118	44-48	2014
Yamaguchi Y, Furukawa K, Yamamoto T, <u>Takahashi Y</u> , Tanaka K, Takahashi M.	Multifocal Encephalopathy and Autoimmune-mediated Limbic Encephalitis Following Tocilizumab Therapy.	Intern Med. .	53(8)	879-882	2014
Mayumi Ueta, Nahoko Kaniwa, Chie Sotozono, Katsushi Tokunaga, Yoshiro Saito, Hiromi Sawai, Hiroko Miyadera, Emiko Sugiyama, Keiko Maekawa, Ryosuke Nakamura, Masaki Nagato, Michiko Aihara, Kayoko Matsunaga, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Hirokazu Furuya, Masaaki Muramatsu, Zenrou Ikezawa, Shigeru Kinoshita	Independent strong association of HLA-A*02:06 and HLA-B*44:03 with cold medicine-related Stevens-Johnson syndrome with severe mucosal involvement.	Scientific Reports	30(4)	4862	2014
Koji Fujita, Keiko Tanaka, <u>Yukitoshi Takahashi</u>	Neuronal Antibodies in Creutzfeldt–Jakob Disease.	JAMA Neurology	71(4)	514	2014
Kazuyuki Inoue, Suzuki Eri BS, Yazawa Rei, Yamamoto Yoshiaki, Takahashi Toshiki, <u>Takahashi Yukitoshi</u> , Imai Katsumi, Koyama Seiichi, Inoue Yushi, Tsui Daiki, Hayashi Hideki, Itoh Kunihiko	Influence of Uridine Diphosphate Glucuronosyltransferase 2B7 -161C>T Polymorphism on the Concentration of Valproic Acid in Pediatric Epilepsy Patients.	Therapeutic Drug Monitoring	36	406-409	2014

Wen-Hung Chung, Wan-Chun Chang, Yun-Shien Lee, Ying-Ying Wu, Chih-Hsun Yang, Hsin-Chun Ho, Ming-Jing Chen, Jing-Yi Lin, Rosaline Chung-Yee Hui, Ji-Chen Ho, Wei-Ming Wu, Ting-Jui Chen, Tony Wu, Yih-Ru Wu, Mo-Song Hsieh, Po-Hsun Tu, Chen-Nen Chang, Chien-Ning Hsu, Tsu-Lan Wu, Siew-Eng Choon, Chao-Kai Hsu, Der-Yuan Chen, Chin-San Liu, Ching-Yuang Lin, Nahoko Kaniwa, Yoshiro Saito, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Ryosuke Nakamura, Hiroaki Azukizawa, Yongyong Shi, Tzu-Hao Wang, Shio-w-Shuh Chuang, Shih-Feng Tsai, Chee-Jen Chang, Yu-Sun Chang, Shuen-Iu Hung	For the Taiwan Severe Cutaneous Adverse Reaction Consortium and the Japan Pharmacogenomics Data Science Consortium, Genetic Variant sAssociated With Phenytoin-Related Severe Cutaneous Adverse Reactions	JAMA.	312(5)	525-534	2014
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.	55(6)	942-943	2014
Kengo Moriyama, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Takashi Shiihara	Another case of respiratory syncytial virus-related limbic encephalitis.	Neuro-radiology	56(5)	435-436	2014
Kazuyuki Inoue, Eri Suzuki, Toshiki Takahashi, Yoshiaki Yamamoto, Rei Yazawa, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Kou Miyakawa, Yushi Inoue, Daiki Tsuji, Hideki Hayashi, Kunihiko Itoh	4217C>A polymorphism in carbamoyl-phosphate synthase 1 gene may not associate with hyperammonemia development during valproic acid-based therapy.	Epilepsy Research.	108(6)	1046-1051	2014
Sakakibara E, <u>Takahashi</u> Y, Murata Y, Taniguchi G, Sone D, Watanabe M.	Chronic periodic lateralised epileptic discharges and anti-N-methyl-D-aspartate receptor antibodies.	Epileptic Disorder	16(2)	218-222	2014

Yoshiaki Yamamoto, Yukitoshi Takahashi, Katsumi Imai, Masaaki Takahashi, Masahiko Nakai, Yushi Inoue, Yoshiyuki Kagawa	Impact of cytochrome P450 inducers with or without inhibitors on the serum clobazam level in patients with antiepileptic polypharmacy.	European Journal of Clinical Pharmacology	70(10)	1203-1210	2014
Takeshi Kondo, Mamiko Fukata, Ayumu Takemoto, Yuichiro Takami, Motoki Sato, Noriyuki Takahashi, Tomo Suzuki, Juichi Sato, Naoki Atsuta, Gen Sobue, Yukitoshi Takahashi, Nobutaro Ban	Limbic encephalitis-associated relapsing polychondritis responded to infliximab and maintained its condition without recurrence after discontinuation –a case report and review of the literature.	Nagoya journal	76(3-4)	361-368	2014.
Nobusuke Kimura, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Hideo Shigematsu, Katsumi Imai, Hiroko Ikeda, Hideyuki Ootani, Rumiko Takayama, Yukiko Mogami, Noriko Kimura, Koichi Baba, Kazumi Matsuda, Takayasu Tottori, Naotaka Usui, Yushi Inoue	Developmental outcome after surgery in focal cortical dysplasia patients with early-onset epilepsy.	Epilepsy Research	108(10)	1845-1852	2014
Hayata Y, Hamada K, Sakurai Y, Sugimoto I, Mannen T, <u>Takahashi Y.</u>	Anti-glutamate epsilon 2 receptor antibody positive and anti-NMDA receptor antibody negative lobar encephalitis presenting as global aphasia and swallowing apraxia.	Case Rep Neurol	171(6)	2941-296	2014
Kazushi Miya, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Hisashi Mori	Anti-NMDAR autoimmune encephalitis	Brain & Development	36(8)	645-652	2014
Hiroyuki Fujita Hiroyuki, Matsukura S, Watanabe T, Komitsu N, Watanabe Y, Takahashi Y, Kambara T, Ikezawa Z, Aihara M	The serum level of HMGB1 (high mobility group box 1 protein) is preferentially high in drug-induced hypersensitivity syndrome/drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms.	British Journal of Dermatology	171(6)	1585-1588	2014
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.		2013 Sep 23. doi:pii: S0033- 3182(13)001 36-9. 10.1016/j.ps ym..	in press

Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Kou Miyakawa, Hiroko Ikeda, Yuki Ueda, Tokito Yamaguchi, Hirosato Nasu, Hideyuki Ohtani, Hideo Shigematsu, Yoshiyuki Kagawa, Yushi Inoue	Individualized phenytoin therapy for pediatric Japanese epilepsy patients based on CYP2C9 and CYP2C19 genotypes.	Therapeutic Drug Monitoring			in press
Takahiro Furukawa, Naoko Matsui, Koji Fujita, Ai Miyashiro, Yuishin Izumi, Fumitaka Shimizu, Katsuichi Miyamoto, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Takashi Kanda, Susumu Kusunoki, Ryuji Kaj	Increased proinflammatory cytokines in sera of patients with multifocal motor neuropathy.	J Neurol Sci.		2014 Aug 4 . pii: S0022-510X(14)00505-X. doi: 10.1016/j.jns.2014.07.059.	in press
Hiroshi Sakuma, Naoyuki Tanuma, Ichiro Kuki, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Masashi Shiomi, Masaharu Hayashi	Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in febrile infection related refractory status epilepticus.	Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry			in press
Yoshiaki Yamamoto, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Katsumi Imai, Hiroko Ikeda, Masaaki Takahashi, Masahiko Nakai, Yushi Inoue, Yoshiyuki Kagawa	Influence of uridine diphosphate glucuronosyltransferase inducers and inhibitors on the plasma lamotrigine concentration in pediatric patients with refractory epilepsy.	Drug Metabolism and Pharmacokinetics			in press
Masaki Yoshimura, Zhang Shouwen, Yuki Ueda, Kazumi Matsuda, Katsumi Imai, <u>Yukitoshi</u> <u>Takahashi</u> , Yushi Inoue	An analysis of epileptic negative myoclonus by magnetoencephalography.	Epilepsy Research			in press
Norimichi Higurashi, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Ayako Kashimada, Yuji Sugawara, Hiroshi Sakuma, Yuko Tomono, Takahito Inoue, Megumi Hoshina, Ruri Satomi, Masaharu Ohfu, Kazuya Itomi, Kyoko Takano, Tomoko Kirino, Shinichi Hirose	Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy.	Seizure			in press

Matsumoto R, Mikuni N, Tanaka K, Usami K, Fukao K, Kunieda T, <u>Takahashi Y</u> , Miyamoto S, Fukuyama H, Takahashi R, Ikeda A	Possible induction of multiple seizure foci due to parietal tumour and anti-NMDAR antibody.	Epileptic Disord.		2015 Feb 3	in press
Yoshiki Kawamura, Ai Nakayama, Taichi Kato, Hiroki Miura, Naoko Ishihara, Masaru Ihira, <u>Yukitoshi Takahashi</u> , Kazumi Matsuda, Tetsushi Yoshikawa	Pathogenic role of human herpesvirus 6B infection in mesial temporal lobe epilepsy.	Journal of infectious disease			in press
<u>Yukitoshi Takahashi</u> , Hisashi Mori, Masayoshi Mishina, Masahiko Watanabe, Naomi Kondo, Jiro Shimomura, Yuko Kubota, Kazumi Matsuda, Katsuyuki Fukushima, Naohide Shiroma, Noriyuki Akasaka, Hiroshi Nishida, Atsushi Imamura, Hiroo Watanabe, Nobuyoshi Sugiyama, Makoto Ikezawa, Tateki Fujiwara	Autoantibodies to NMDA-type GluR ϵ 2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua.	Epilepsia			in press
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
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	46	195-201	2014
高橋幸利、渡辺陽和、吉富晋作、束本和紀、山口解冬	てんかん一基礎・臨床研究の最新知識- -10.抗てんかん薬の副作用。	日本臨床	72	908-919	2014
神里尚美、奈佐悠太郎、山崎大輔、上田江里子、津曲綾子、仲地耕、宮川真一、 <u>高橋幸利</u>	両手指の麻痺性拘縮を呈した抗NMDA型グルタミン酸受容体抗体陽性脳炎の一例。	沖縄県立南部医療センター・こども医療センター雑誌	7	13-17	2014
戸島麻耶、人見健文、陣上直人、谷岡洸介、山門穂高、松本理器、 <u>高橋幸利</u> 、池田昭夫、高橋良輔	急性無菌性髄膜脳炎の経過中に局所性皮質反射性ミオクローヌスを呈し抗グルタミン酸受容体抗体が検出された2例。	臨床神経学	54(7)	543-549	2014
高橋幸利、大星大觀、束本和紀、渡辺陽和、吉富晋作、山口解冬	抗てんかん薬の薬物動態・薬剤相互作用。	小児内科	46	1238-1241	2014

横山桃子、美根潤、岸和子、堀江昭好、山口清次、 <u>高橋幸利</u>	水痘に続発して起こった非ヘルペス性辺縁系脳炎の4歳女児例.	小児科臨床	67(9)	1481-1486	2014
高橋幸利、森達夫、大星大觀、束本和紀、渡辺陽和、吉富晋作、山口解冬	免疫介在性神経疾患.	小児感染免疫	26(3)	403-414	2014
関谷芳明、近藤司、 <u>高橋幸利</u> 、山崎裕一朗、山田均、宜保恵里、荒木祐一、松宮直樹	甲状腺クリーゼに抗NMDA受容体脳炎を併発した1例.	日本集中治療医学学会雑誌	21	659-660	2014
許全利、西田圭一郎、三井浩、北浦祐一、嶽北佳輝、加藤正樹、高瀬勝教、 <u>高橋幸利</u> 、木下利彦	高齢男性に発症した抗NMDA受容体脳炎の症例.	老年精神医学雑誌	25(10)	1153-1159	2014
真野ちひろ、平野恵子、奥村良法、渡邊誠司、愛波秀男、 <u>高橋幸利</u> 、他	subclinical seizureが観察された非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1症例.	小児科臨床	67	2153-2158	2014
長濱明日香、岩松浩子、大野拓郎、井上敏郎、 <u>高橋幸利</u> 、米田誠	非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の症状を呈した橋本脳症の1小児例.	小児科臨床	67(11)	2145-2151	2014
高橋幸利、大星大觀、束本和紀、渡辺陽和、吉富晋作	小児の慢性進行性持続性部分てんかん・非進行性持続性部分てんかん：Rasmussen症候群を主体に.	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ	No.31	41-46	2014
高橋幸利、森達夫、大星大觀、束本和紀、渡辺陽和、吉富晋作、山口解冬	神経疾患とNMDA型グルタミン酸受容体抗体.	日本小児科学会誌	118(12)	1695-1707	2014
朱膳寺圭子、石川元直、西村芳子、柴田興一、大塚邦明、佐倉宏、 <u>高橋幸利</u>	前頭葉に病変が及んだ非ヘルペス性急性辺縁系脳炎の1例.	東京女子医科大学雑誌	84(s1)	197-203	2014
保坂孝史、儘田直美、中馬越清隆、石井一弘、 <u>高橋幸利</u> 、玉岡晃	先行感染後にopsoclonus-myoclonus syndromeを認め、髄液中の抗GluRδ2抗体とGluRε2抗体が陽性であった1例.	運動障害	24(1)	1-6	2014
出口健太郎、柚木太淳、表芳夫、角田慶一郎、菱川望、山下徹、阿部康二、 <u>高橋幸利</u>	卵巣奇形腫摘出術後に痙攣重積状態をきたした抗NMDA受容体脳炎の1例.	ICUとCCU	38(9)	648-651	2014
高橋幸利、長尾雅悦、遠山潤、渡邊宏雄、夫敬憲、井上美智子、馬場啓至	新しい抗てんかん薬の適応と使い方.	小児科診療	78(2)	207-214	2015
宮城哲哉、近土善行、佐野輝典、岡本智子、西山毅彦、渡辺雅子、渡辺裕貴、村田美穂、 <u>高橋幸利</u>	失語発作を主症状とする成人型ラスマッセン症候群の一例.	てんかん研究	32	556-563	2015

西口亮、藤本武士、江口勝美、福田安雄、高橋幸利	両側耳介軟骨炎に抗グルタミン酸受容体 (GluR ϵ 2) 抗体陽性の非ヘルペス性急性辺縁系脳炎を合併した1例.	臨床神経学			印刷中
高橋幸利、大星大觀	自己免疫性脳炎	Medical Practice			印刷中
上野弘恵、西里ちづる、島津智之、渡邊聖、水上智之、小菅浩史、小篠史郎、野村恵子、木村重美、高橋幸利	めまいで発症し亜急性に四肢の筋力低下・歩行障害が進行した橋本脳症の1男児例.	脳と発達			印刷中
高橋幸利、木水友一、小池敬義、堀野朝子、中川直子	免疫性神経疾患-基礎・臨床研究の最新知見- Rasmussen症候群(脳炎)	日本臨床 増刊号			印刷中
Dikopoltsev, E., Folty, V. N., Zehl, M., Jensen, O. N., Mori, H., Radzishevsky, I., Wolosker, H.	FBXO22 is required for optimal synthesis of the NMDA receptor co-agonist D-serine.	J. Biol. Chem.	289	33904-33915	2014
Mano, H., Ishimoto, T., Okada, T., Toyooka, N., Mori, H	Discovery of novel adenylyl cyclase inhibitor by cell-based screening.	Biol. Pharm. Bull.	37	1689-1693	2014
Tabata-Imai, A., Inoue, R., Mori, H.	Increased sensitivity to inflammatory pain induced by subcutaneous formalin injection in serine racemase knock-out mice.	PLOS ONE	9	e105282	2014
Mori, H., Wada, R., Li, J., Ishimoto, T., Mizuguchi, M., Obita, T., Gouda, H., Hirono, S., Toyooka, N.	In silico and pharmacological screenings identify novel serine racemase inhibitors	Bioorg. Med. Chem. Lett.	24	3732-3735	2014
Tabata, T., Yamaguchi, Y., Hata, Y., Ichida, F., Mori, H.	Modification of KCNH2-Encoded Cardiac Potassium Channels by KCNE1 Polymorphism - Reply -	Circ. J.	78	2331	2014
Kinoshita, K., Komatsu, T., Nishide, K., Hata, Y., Hisajima, N., Takahashi, H., Kimoto, K., Aonuma, K., Tsushima, E., Tabata, T., Yoshida, T., Mori, H., Nishida, K., Yamaguchi, Y., Ichida, F., Fukurotani, K., Inoue, H., Nishida, N.	A590T mutation in KCNQ1 C-terminal helix D decreases IKs channel trafficking and function but not Yotiao interaction.	J. Mol. Cell. Cardiol.	72	273-280	2014
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

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.	J. Invest. Dermatol.	134	1618-1626	2014
Yamaguchi, Y., Nishide, K., Kato, M., Hata, Y., Mizumaki, K., Kinoshita, K., Nonobe, Y., Tabata, T., Sakamoto, T., Kataoka, N., Nakatani, Y., Ichida, F., Mori, H., Fukurotani, K., Inoue, H., Nishida, N.	Glycine/serine polymorphism at position 38 influences KCNE1 subunit's modulatory actions on rapid and slow delayed rectifier K ⁺ currents.	Circ. J.	78	610-618	2014
Heresco-Levy, U., Durrant, A. R., Ermilov, M., Javitt, D. C., Miya, K., Mori, H.	Clinical and electrophysiological effects of D-serine in a schizophrenic patient positive for anti N-methyl-D-a spartate receptor antibodies.	Biological Psychiatry	77	e27-e29	2015
Yamamoto, S., Niida, S., Azuma, E., Yanagibashi, T., Muramatsu, M., Huang, T-T., Sagara, H., Higaki, S., Iketani, M., Nagai, Y., Takatsu, K., Miyazaki, K., Hamashima, T., Mori, H., Matsuda, N., Ishii, Y., Sasahara, M.	Inflammation-induced endothelial cell-derived extracellular vesicles modulate the cellular status of pericytes.	Sci. Rep.	5	8505	2015
Tanaka-Hayashi, A., Hayashi, S., Inoue, R., Ito, T., Konno, K., Yoshida, T., Watanabe, M., Yoshimura, T., Mori, H.	Is D-aspartate produced by glutamic-oxaloacetic transaminase-1 like 1 (Got111), a putative aspartate racemase?	Amino Acids	47	79-86	2015
Kambara, K., Ohashi, W., Tomita, K., Takashina, M., Fujisaka, S., Hayashi, R., Mori, H., Tobe, K., Hattori, Y.	In vivo depletion of CD206 ⁺ M2 macrophages exaggerates lung injury in endotoxemic mice	Am. J. Pathol.	185	162-171	2015
Tamura, K., Iketani, M., Yoshida, T., Tanaka-Hayashi, A., Yanagibashi, T., Inoue, R., Nagai, Y., Adachi, Y., Miyawaki, T., Takatsu, K., Mori, H.	Increased production of intestinal immunoglobulins in Syntenin-1-deficient mice.	Immunobiology			in press
西田拓司	自動車運転とてんかんの新しい動き	Epilepsy	8	15-21	2014

西田拓司	てんかんの診断・治療はどのように行われるのか。	総合病院精神医学	26	2-10	2014
西田拓司	患者教育：患者学習プログラムの実践。	てんかん研究	31	534-535	2014