

< Symposium 06-4 > 神経感染症における日本からの新たな発信

抗 NMDA 受容体脳炎の病態における新たな展開：
正常卵巣における NMDA 受容体の同定

立花 直子¹⁾ 池田 修一²⁾

要旨：卵巣奇形腫非合併，抗 *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体脳炎女性例における抗体提示部位を明らかにする目的でヒト・ウシ卵巣を検索した。ウシ卵巣と未受精卵から精製した蛋白をウエスタンブロット法で分析すると NR1, NR2B の陽性バンドがえられ，アミノ酸分析では NMDA 受容体のペプチド断片を同定しえた。またウシ未受精卵細胞膜は蛍光抗体法で本症患者血清中の IgG と強く結合した。以上から正常卵細胞細胞膜には NMDA 受容体がほぼ完全な形で存在し，抗原決定基として作用しうると考えられた。生殖年齢の女性に偏って発症する本症は正常卵巣に発現した NMDA 受容体が抗原として提示されることにより発症する自己免疫性シナプス脳炎といえる。

(臨床神経 2014;54:1031-1033)

Key words：辺縁系脳炎，グルタミン酸受容体，*N*-methyl-D-aspartate 受容体，卵巣，卵巣奇形腫

はじめに

抗 *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体脳炎は，シナプス後膜に局在する同受容体に対する抗体が出現し発症する自己免疫性辺縁系脳炎である。

欧米では 2005 年，Vitaliani ら¹⁾が卵巣奇形腫にともなって精神症状や低換気を呈した症例を報告したことに始まり，その後 2007 年に Dalmau ら²⁾が主に卵巣奇形腫に合併した 12 症例を傍腫瘍性の抗 NMDA 受容体脳炎として提唱し，本症の概念が確立した。一方，本邦ではそれより以前，1960 年代から順天堂大学精神科の飯塚らによりヘルペス脳炎とはことなるリンパ球浸潤と脳浮腫が主体の辺縁系脳炎が散発的に報告されてきた。1997 年に Kamei ら³⁾が類似例を若い女性に好発する急性非ヘルペス性脳炎として提唱。また，同年 Okamura ら⁴⁾，Nokura⁵⁾らは卵巣奇形腫切除後に神経症状が改善した 2 症例を報告している。その後，2008 年に Iizuka ら⁶⁾が Kamei らの提唱した若年女性の脳炎と Dalmau らの抗 NMDA 受容体脳炎が同一の疾患概念であることを示している。

現在，本症患者の 8 割は女性であるが卵巣奇形腫の合併率は 4 割以下であり⁷⁾，当初のように本症の発症機序を傍腫瘍性と位置づけることは困難である。一方，卵巣奇形腫をとまなわな女性例と，少数の男性例や小児例における NMDA 受容体抗原の提示部位は不明なままである。

われわれは本症が生殖年齢の女性に多発するという点に注目し，正常のヒト卵巣・ウシ卵巣内に NMDA 受容体が発現しているのではないかと仮説をたてて，以下のような検索をおこなった。

ヒト卵巣，ウシ卵巣およびウシ未受精卵をもちいた検索

1. 免疫組織化学的検索

正常のヒト卵巣・ウシ卵巣を抗 NR1・抗 NR2A・2B 抗体をもちいて免疫組織化学的に検索すると，正常のヒトおよびウシの原始卵細胞細胞質に NR2B 抗原が確認できた⁸⁾⁹⁾。また，蛍光抗体法をもちいて NR2B 抗体をウシ未受精卵に反応させ観察すると，ウシ未受精卵は抗 NR2B 抗体に反応することがわかった。

2. 蛋白分析

以降の検索は倫理的問題もあり，ウシ卵巣と未受精卵をもちいおこなった。ヒトとウシの NMDA 受容体を構成する各サブユニットのアミノ酸配列は 89~96% の高い相同性を示しており，ウシの NMDA 受容体はおそらくヒトのそれと同様の機能を果たしていると推定されるからである。まずウシ卵巣と未受精卵をもちい NMDA 受容体蛋白の分離同定を試みた。上記の試料をホモゲナイズし NMDA 受容体の各サブユニットに対する抗体で免疫沈降させ，えられた蛋白を SDS-PAGE と immunoblotting 法にて検索した。また，ウシ未受精卵の細胞膜をホモゲナイズし，免疫沈降法でえられた蛋白分画を液体クロマトグラフィーで解析した。

まず，SDS-PAGE と immunoblotting 法による解析では 110 kDa の NR1，180 kDa の NR2B と考えられる陽性バンドがえられた。また，液体クロマトグラフィーをもちいた蛋白解析では，NMDA 受容体の各サブユニットのペプチドフラグメント (NR1 の 593-599 : SPFGFRFK，869-874 : KNLQDR，NR2A の

¹⁾ 市立岡谷病院神経内科 [〒 394-8512 長野県岡谷市本町 4-11-33]

²⁾ 信州大学脳神経内科，リウマチ・膠原病科

(受付日：2014 年 5 月 21 日)

339-348:GVEDALVSLK, NR2B の 1421-1429:QPTVAGAPK, NR2C の 817-823:NEVMSSK) を同定することができた。

3. ウシ未受精卵の抗原性の検討

次に、ウシ未受精卵細胞膜の抗原性を検討する目的で、ウシ未受精卵細胞膜に精製した抗力価の患者血清 IgG を反応させて蛍光抗体法で観察した。同細胞膜には本症患者血清中の IgG が強く結合することが判明した。

考察

以上の検索結果から、正常ウシ卵細胞には NMDA 受容体を構成する各サブユニットの蛋白が発現していると考えられた。さらに、正常のウシ卵細胞が患者血清 IgG と強く結合したことは、正常卵細胞の細胞膜上に NMDA 受容体がほぼ完全な形で存在し、抗原決定基としての生物学的作用を有していることを示している。ヒトとウシの NMDA 受容体のアミノ酸配列の高い相同性を考慮すると、正常ヒト卵細胞に対しても患者血清 IgG は強く結合すると推測できる。すなわち生殖年齢の女性においては、抗原提示可能な NMDA 受容体が中枢神経系以外の正常組織、卵巣に存在するのである。

抗 NMDA 受容体脳炎は当初、卵巣奇形腫にもなった傍腫瘍性の脳炎として位置づけられるも、現在では卵巣奇形腫の合併率は 4 割以下であることは冒頭にも述べたとおりである⁷⁾。しかし、卵巣奇形腫非合併の女性患者も奇形腫合併例と同様に生殖年齢を中心とした発症ピークを示し、発症者は生殖年齢以前の小児期にも分布している¹⁰⁾。卵巣奇形腫の合併、非合併にかかわらず本症は Kamei ら³⁾が提唱したように若い女性に好発するのである。以上の事実と卵巣奇形腫の発生源が卵胞であることを合わせ、卵巣内、ことに卵胞に NMDA 受容体が発現しているのではないかと仮説のもとにわれわれは検索をおこなった。その結果、ウシ未受精卵をもちいた結果ではあるが、卵胞の細胞膜表面に NMDA 受容体が発現し抗原性を示していることを証明しえた。

卵胞は胎生期の女兒の卵巣にすでに存在し、その数は 700 万個といわれているが、生殖年齢に達するまでにアポトーシスにより 40 万個程度まで数を減じるとされている。その後も排卵やアポトーシスなどで卵胞数は減じていき、40 歳では 1,000 個程度になるという。このような特徴を持つ卵巣はアポトーシスや排卵によって常に炎症にさらされている組織であるといえる。卵巣におこった炎症がきっかけとなり NMDA 受容体が抗原提示され、さらには中枢内での抗体産生とつながり抗 NMDA 受容体脳炎の発症にいたるのではないかと考えられるのである。

さて、卵巣における抗原提示の契機については以下のように推測される。本症では男女を問わず約 9 割に脳炎発症前に

軽微な感染徴候をみとめる。この感染による炎症が卵巣に波及し正常原始卵胞内の NMDA 受容体が抗原として提示されるのではないかと、さらには血液脳関門のことに tight-junction が炎症性サイトカインなどで破綻し、NMDA 受容体抗原自体または抗原提示細胞が中枢内に侵入して抗 NMDA 受容体抗体を中枢内で産生し、本症発症にいたるのではないかと考えられるのである。

生殖年齢の女性に偏って発症する本症は、卵巣に起源を持つ感染後の自己免疫性シナプス脳炎であると推論されるのである。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれもありません。

文 献

- 1) Vitaliani R, Mason W, Ances B, et al. Paraneoplastic encephalitis, psychiatric symptoms, and hypoventilation in ovarian teratoma. *Ann Neurol* 2005;58:594-604.
- 2) Dalmau J, Tüzün E, Wu HW, et al. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol* 2007;61:25-36.
- 3) Kamei S, Kuzuhara S, Ishihara M, et al. Nationwide survey of acute juvenile female non-herpetic encephalitis in Japan: relationship to anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Intern Med* 2009;48:673-679.
- 4) Okamura H, Oomori N, Uchitomi Y. An acutely confused 15-year-old girl. *Lancet* 1997;350:488.
- 5) Nokura K, Yamamoto H, Okawara Y, et al. Reversible limbic encephalitis caused by ovarian teratoma. *Acta Neurol Scand* 1997;95:367-373.
- 6) Iizuka T, Sakai F, Ide T, et al. Anti-NMDA receptor encephalitis in Japan. *Neurology* 2008;70:504-511.
- 7) Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, et al. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol* 2013;12:157-165.
- 8) Tachibana N, Shirakawa T, Ishii K, et al. Expression of various glutamate receptors including N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) in an ovarian teratoma removed from a young woman with anti-NMDAR encephalitis. *Intern Med* 2010;49:2167-2173.
- 9) Tachibana N, Kinoshita M, Saito Y, et al. Identification of N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) related epitope, NR2B, in the normal human ovary: implication for the pathogenesis of anti-NMDAR encephalitis. *Tohoku J Exp Med* 2013;230:13-16.
- 10) Florance NR, Davis RL, Lam C, et al. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol* 2009;66:11-18.

Abstract**Identification of NMDA receptor in normal bovine ovary and ovum**Naoko Tachibana, M.D., Ph.D.¹⁾ and Shu-ichi Ikeda, M.D., Ph.D.²⁾¹⁾Department of Neurology, Okaya City Hospital²⁾Department of Medicine (Neurology & Rheumatology), Shinshu University School of Medicine

To clarify the pathogenesis of anti-*N*-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in patients without ovarian teratoma, we investigate normal human ovary, normal bovine ovary and bovine ova. On the basis of immunohistochemical studies, normal human ovary expressed NR2B epitope in primordial oocytes. The results of SDS-PAGE and immunoblotting using bovine ovarian tissues and ova, we identified two bands of NR1 and NR2B. Moreover, reverse phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry showed peptides fractions of NR1, NR2A, NR2B and NR2C. Immunocytochemical study disclosed that normal bovine oocyte has a strong affinity for a patient's disease-specific IgG. Anti-NMDAR encephalitis involves mainly young women who are in their reproductive age. Ovarian teratoma is important as simultaneous tumor, the percentage of patients with ovarian teratoma is less than 40%. It is obvious that the origin of ovarian teratoma is oocyte. So the existence of NMDAR in normal oocytes is very important to assert that ovary itself is the antigen presenting tissue. And also it is helpful to explain why young women are mainly affected from this disease. It seems to conclude that anti-NMDAR encephalitis is one form of autoimmune synaptic encephalitis and that the antigen presenting tissue is ovary itself.

(Clin Neurol 2014;54:1031-1033)

Key words: limbic encephalitis, glutamate receptor, *N*-methyl-D-aspartate receptor, oocyte; ovarian teratoma
