

—— 研究助成報告 ——

新規抗体検査を用いた自己免疫性てんかんの再分類

高 木 学¹⁾, 田 中 恵 子²⁾, 山 田 了 士³⁾, 岡 久 祐 子⁴⁾, 酒 本 真 次⁴⁾

Reclassification of autoimmune epilepsy by novel antibody test

要旨：自己免疫性てんかんは、既存のてんかん治療が無効な難治性てんかんの1原因である。本研究は、自己免疫性てんかんの診断に重要な自己抗体検査法を確立し、免疫療法の効果を検討し、てんかん治療に寄与することを目的とする。てんかん発作を伴う患者70例（女性44例、男性26例）の血清又は髄液中のNMDA、CASPR2、AMPA1/2、LGI1、DPPX、GABAB抗体をEUROIMMUNキットとNR1/2B共発現のCBA法で検査した（岡山大学倫理委員会にて承認）。抗NMDA受容体抗体陽性10例、LGI1抗体陽性2例、他、血清NAE抗体陽性1例、Yo抗体陽性1例、AQP4抗体陽性1例で、15例（21.4%）に自己抗体を認めた。各抗体で臨床経過、免疫療法への反応性に相違があった。神経自己抗体が原因となる病態はてんかんも含め様々であり、診断は臨床的特徴など様々な観点から慎重に行う必要がある。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2024；35：69-76

Key Words： 自己免疫性てんかん, NMDA受容体抗体, LGI1抗体, Cell Based Assay (CBA), 免疫療法

序論

てんかんと診断される患者は世界全人口の1%程度といわれ、日本では約100万人と推測される。うち20～30%の患者は現存する治療法では発作が止まらない難治性てんかんとされる。2017年、国際抗てんかん連盟(ILAE)てんかん分類にて、自己免疫が介在した中枢神経系炎症を示す証拠があり、これが直接てんかんの原因となり、発作が疾患の中核症状となるものを自己免疫性てんかんと定義している¹⁾。「2～3種類以上の抗てんかん薬で十分量、2年以上治療するも発作が1年以上抑制されず、日常生活に支障をきたす状態」とされる難治性てんかん

患者で、自己抗体を所有する32例の8割が免疫療法で発作頻度が減少したとの報告もみられ、免疫療法の有効性も指摘されている²⁾。2017年、自己免疫性てんかんは1群（自己免疫性脳炎急性期に生じる発作症候群）と2群（自己免疫性病態による脳損傷を基盤として生じる慢性の発作）に分類された¹⁾。前者には細胞表面抗原に対する抗体を生じ免疫療法が有効、後者には細胞内抗原に対する抗体やT細胞性免疫が関係すると言われ、免疫療法のみではコントロールが困難な群とされる。2017年Dubeyらが112例の原因不明のてんかん患者における神経自己抗体の頻度を調査したところ、23例で自己抗体が陽性であり、voltage-gated potassium channel

¹⁾ 岡山大学学術研究院 医歯薬学域 精神神経病態学

⁴⁾ 岡山大学病院精神科神経科

〔〒700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1〕

²⁾ 新潟大学脳研究所モデル動物開発分野

〔〒951-8585 新潟市中央区旭町通1-757〕

³⁾ 岡山県精神科医療センター

〔〒700-0915 岡山県岡山市鹿田本町3-16〕

(VGKC)抗体(12例), Glutamic acid decarboxylase (GAD) 65抗体(8例), N-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体抗体(4例), Hu抗体(1例)であった。臨床症状の比較検討から, 精神症状, 初発けいれん発作, MRIにて内側側頭葉の硬化, 自律神経障害, 先行するウイルス感染, 顔面ジスキネジアなどが自己抗体陽性てんかん患者で有意差をもって多い特徴とされている³⁾。これをもとに, 改訂版のAntibody prevalence in epilepsy (APE)2スコアが提唱されている。2021年のメタ解析では, 16歳以上の原因不明のてんかん患者1302例のうち82例(7.6%)で自己抗体が検出され, Glycine (Gly)受容体抗体(3.2%), GAD抗体(1.9%), NMDA受容体抗体(1.8%), Leucine-rich glioma-inactivated (LGI)1抗体, Contactin-2-associated protein (CASPR2)(0.6%)と, 腫瘍関連のMa抗体, Hu抗体(0.2%)であり, てんかんを主徴とする自己免疫性脳炎がある程度の頻度で存在することは確実である^{4, 5)}。しかし, これらは自己免疫性脳炎の初期, 慢性期に生じたてんかんの両方が含まれており, 臨床経過についての詳細な記載はない。

自己免疫性脳炎の確定診断に必要な細胞表面抗原抗体の検査は, 我々も行っているcell based assay (CBA)法を用いた, NR1/2Bサブユニット共発現による抗NMDA受容体抗体検査, 検査機関が有償で受託しているLGI1/CASPR2/MOG抗体以外は本邦ではほない状態である。更に自己免疫性脳炎を引き起こす自己抗体は年々新しい種類が発見され続けている⁶⁾。本研究は, 自己免疫性てんかんに関連する自己抗体の検査法を確立し, 自己抗体の関与, 免疫療法の効果を検討し, てんかん治療に寄与することを目的とする。

方法

岡山大学病院, または研究協力施設より依頼があった, てんかん発作を伴う患者70例(女性44例, 男性26例)の血清, 髄液の一方または両方を用い, EUROIMMUN社(ドイツ)のIIFT Autoimmune Encephalitis Mosaic6キットにて, NMDA受容体, CASPR2, AMPA1/2受容

体, LGI1, DPPX, GABAB受容体の6種類の抗体のCBA法に加え, 共同研究者の田中恵子が開発したNMDA受容体のNR1, 2Bサブユニット共発現のCBA法を用いて自己抗体検査を行った。加えて免疫療法の施行の有無, 有効性を調査した。本研究は岡山大学倫理委員会にて承認を受けている。

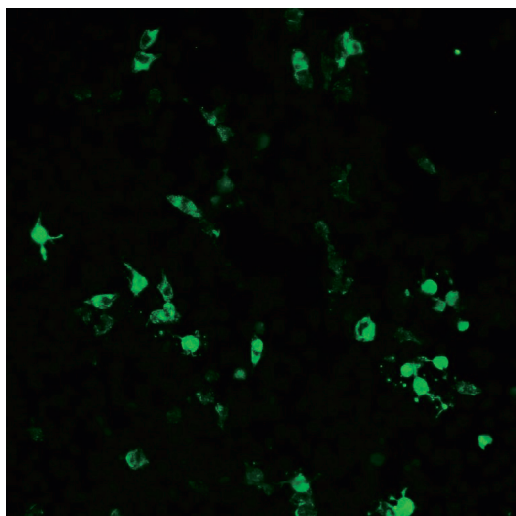
結果

70例のうち自己免疫の機序の関与が推測される患者は15例(21.4%)であった。うち, 10例(女性8例, 男性2例)で抗NMDA受容体抗体が陽性(髄液9例, 血清2例)であった。2名(女性1例, 男性1例)でLGI1抗体が陽性(髄液1例, 血清2例)であった。他に, 血清NAE抗体陽性1例, Yo抗体陽性1例, AQP4抗体陽性1例であった。

抗NMDA受容体抗体陽性患者は, Graus (2016)⁷⁾らの3か月以内の比較的急性の発症という典型的な自己免疫性脳炎の基準を全員みたしていた。全例に免疫療法(腫瘍摘出含む)が施行され, 完全寛解3例, 部分寛解7例と免疫療法に反応を認めた。4例で幻覚, 妄想, 興奮などの精神症状を慢性的に認め, 抗精神病薬による改善効果は部分的であった。4例で慢性期においてもてんかん発作が残存し, 発作型はミオクロニー発作3例, 笑い発作を伴い前頭葉起始とみられる焦点発作1例(詳細は下記に記載)であった。これら2例に抗てんかん薬, 1例にジアゼパムが投与され, 1例は中等度改善がみられたが, 2例は改善がほとんどみられなかった。**(症例1)10代女性⁸⁾**

X年(就学前), 非ヘルペス性辺縁系脳炎に罹患, ステロイドパルス療法にて改善した。その後, 既にMRIにて海馬硬化がみられていた。X+13年, 右手の強直間代発作~全身けいれんを生じ, レベチラセタム, ラコサミドにて加療された。X+14年, 「身の回りが違って見える」という異常感覚があり, あわせて希死念慮と暴力を認めたため, 精神科救急病院に医療保護入院となった。傾眠⇒細かい手の動き⇒強直間代発作⇒手足のばたつき⇒傾眠と周期的な症状がみられた。レベチラセタム2000mg, フェニト

A. 10代女性 NMDAR(+)



B. 70代男性 LGI1(+)

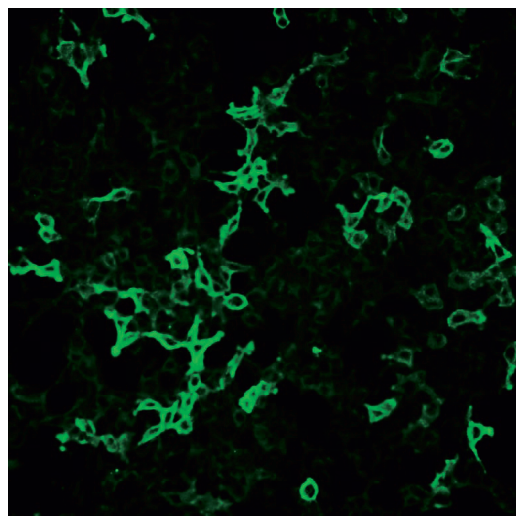


Fig. 1 IIFT Autoimmune Encephalitis Mosaic6

イン250mgと投与されたが無効であった。1ヵ月後、意識障害、呼吸困難、口のジスキネジアを生じICUに入室、気管挿管となった。CBA法にてNR1/2B法、EUROIMMUNキット検査 (Fig. 1A) 両方にて、髄液のNMDA受容体抗体 (+)、オリゴクローナルバンド (+)、細胞数 $20/\text{mm}^3 \uparrow$ となりNMDA受容体抗体脳炎と確定診断となった。ステロイドパルス療法2クール、免疫グロブリン大量療法 (IvIg) 1クール、血漿交換2クールにて、疎通は取れるが、幻聴や暴力、夜間の笑い発作は残存した。X+16年、小学校低学年相当の知能となっており、単科精神病院に入院継続。幻聴が残存するため、リスペリドン2mgを投与している。

LGI1抗体陽性患者は、いずれもてんかん発作が初発症状であり精神症状は認めず、Graus (2016) らの3か月以内の比較的急性の発症という典型的自己免疫性脳炎患者の基準を満たさなかった。1例は免疫療法を施行し部分寛解したが左上肢の発作は持続、レベチラセタムとラコサミドの併用が軽度有効、1例は免疫療法がおこなわれず、プリミドン、トピラマートで加療されたが、全般性の強直間代発作は継続し、認知症症状が進行した (詳細は下記に記載)。

(症例2：論文執筆中) 70代男性

X年 (50代)、右下肢の強直間代けいれんより全身に全般化けいれん発作を生じた。フェニトイン、バルプロ酸は無効であった。5か月後、物忘れをみとめるようになり、長谷川式認知症スケール (HDS-R) 22点と低下がみられた。脳波検査では左側頭部に棘波、頭部MRIでは左扁桃体腫大を認めた。抗てんかん薬は、カルバマゼピン (発作は軽減したが肝障害にて中止)、ゾニサミド (肝障害にて中止)、プリミドンで発作は減少した。X+1年、MRIにて左海馬萎縮を認め、X+2年、軟膜下皮質多切術施行。全身けいれんは消失も一瞬の右顔面けいれん、右下肢脱力発作を認めた。X+8～+13年、認知機能低下、左海馬萎縮は進行。HDS-Rは12から9点に低下した。X+15年、動作緩慢となり、筋強剛を認めたため、ドパミントランスポーター (DAT)-SPECTにて、両側被殻で取り込み低下を認めた。トピラマート追加でけいれん発作は年0～1回に減少した。X+23年、血清のLGI1抗体 (+) (Fig. 1B) となった。パーキンソン症状もヤール3度相当と進行している。

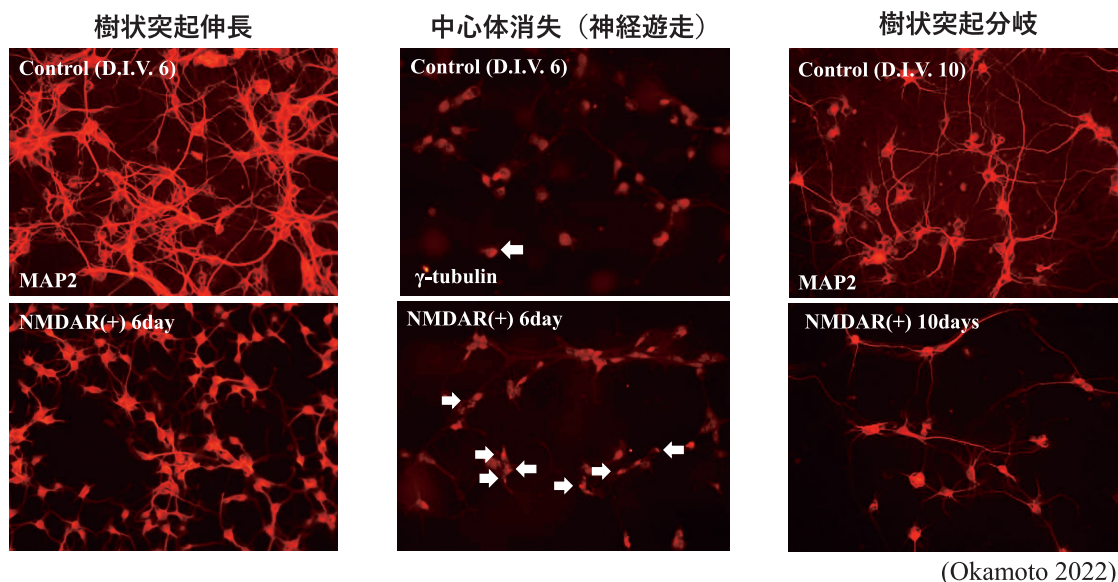


Fig. 2 ラット大脳皮質初代培養細胞

考察

自己免疫性脳炎のうち、細胞表面受容体・シナプス蛋白に対する抗体の頻度は、NMDA受容体抗体が半数以上を占め、次にLGI1抗体となり、CASPR2抗体、AMPA1/2受容体抗体、GABAB受容体抗体、Gly受容体抗体が各4~5%程度と報告される⁹⁾。一方、てんかんのリスクはGABAB受容体抗体が29%と最も高くLGI1抗体が15%であり、NMDA受容体抗体は5%以下と報告される¹⁰⁾。自己免疫性脳炎の頻度は、NMDA受容体脳炎が年間10万人に0.6人¹¹⁾、LGI1脳炎が年間100万人に1人、CASPR2脳炎が0.3人とされる¹²⁾。今回の検討では、自己免疫性の機序が関係する可能性がある患者を検査した選択バイアスがあるものの15/70例(21.4%)と多くの患者に神経自己抗体が検出された。てんかんの大きな原因の一つとして自己免疫の機序が関係することが示唆された。

また、抗体の種類は、先行研究で頻度が高いとされるNMDA受容体抗体とLGI1抗体を認めた。NMDAR抗体陽性例では、典型的な自己免疫性脳炎の経過の後、慢性的に抗体陽性となりてんかんが残存するものが多く、LGI1抗体陽

性例では、典型的な自己免疫性脳炎の経過をたどらず、てんかん発作が主症状で慢性的な経過となり、経過が異なっていた。免疫療法の反応性はNMDA受容体脳炎の方が良かったが、NMDA受容体脳炎の予後は早期発見にて改善されることから、LGI1脳炎患者の臨床経過が典型的自己免疫性脳炎の経過でなく、抗体検査までの期間が長期間となったことが免疫療法の反応性に影響しているかもしれない。NMDA受容体脳炎は、抗体を除去することで改善する可逆的な疾患とされるが、ラット初代培養細胞を用いた我々の検討で、抗体が神経突起伸長や分岐、中心体の消失に影響を及ぼし神経にダメージを与えること¹³⁾や、神経症状¹⁴⁾、精神症状¹⁵⁾ともに抗体価と臨床症状が相関することが報告されることから、自己免疫性てんかんの治療反応性、予後は抗体による治療反応性の違いというより、抗体に暴露された期間の違いが影響するかもしれない。早期発見による免疫療法の適応は、慢性的なてんかんへの移行を防ぐ意味で重要と考えられる。一方、近年、自己免疫性脳炎で遷延性に側頭葉てんかんや神経細胞死を来す機序としてCD8+細胞傷害性Tリンパ球が影響し、B細胞系や抗体は影響しないという

報告が複数みられる^{16, 17)}。CD8+細胞傷害性Tリンパ球が自己免疫性脳炎において、神経細胞死を来すことは以前より知られており¹⁸⁾、血液脳関門の障害のマーカーとなる可能性が報告されている¹⁹⁾。急性期の炎症による組織障害後、中枢神経内に集積したmemory T cellの関与により、遷延性に神経細胞が傷害される機序が想定されていることから、自己免疫性てんかんの治療や予後を考える上で早期治療の重要性が改めて認識されている。中枢神経の慢性的な炎症や神経変性疾患では、損傷を受け崩壊した神経細胞が提示する抗原物質に対して感受性のあるTリンパ球が増殖してresident memory T cellとして、中枢神経内で免疫反応を持続させるという説が多く提唱されている²⁰⁾。

今回の検討では、EUROIMMUN社(ドイツ)のIIFT Autoimmune Encephalitis Mosaic6キットを用いた。このキットは抗原を発現させたHEK293細胞をプレートに張り付けて固定したもので、30分程度で6種類の高頻度の神経自己抗体を検出することができる簡易なバイオチップであるが、あくまでも臨床的使用はできないとされている。このキットの精度についてスペインのグループより重要な報告がされている。6213例の検体に対してラットの脳を用いた免疫組織染色で何らかの神経自己抗体が存在する404例(6.5%)に対し、このキットを用い検討したところ163例(40%)で陽性、241(60%)で陰性となった。陰性例のうち彼らの施設でCBA等の様々な追加検査を行ったところ、42例で陽性となった。うち21例(9%)はIgLON5(13例)seizure-related 6 homolog like 2 (Sea6L2)(3例)、metabotropic glutamate receptor (mGluR)1(2例)、mGluR5(1例)、mGluR2(1例)、GABAA(1例)と違う自己抗体が検出された。しかし、21例(9%)は、LGI1(11例)、GABAB(7例)、AMPA(2例)、NMDAR(1例)陽性であり、21/184(11.4%)が偽陰性と判定されたことになる²¹⁾。一方で、この報告では触れられていないが、キット検査でNMDAR抗体陽性となったサンプルがスペインのグループが行っているのと同様のCBA(NR1/2B抗原の共発現)法では検出されないケースも我々は複数経験している

(論文執筆中)。一つの抗体検査の結果を鵜呑みにすることはできず複数の抗体検査を行う必要がある。

近年のアメリカ、イギリスの6施設の共同研究で、自己免疫性脳炎が疑われた393例のうち、286例は自己免疫性脳炎と診断されたが、107例(27.3%)は誤診されていた。そのうち72%はGrausの自己免疫性脳炎診断基準のpossible基準を満たしていなかった。誤診された疾患は、functional neurologic disorder (conversion disorder: 転換性障害)27例、変性疾患(22例: アルツハイマー病6例、レビー小体型認知症4例、前頭側頭型認知症4例、クロイツフェルト・ヤコブ病2例など)、精神疾患(19例: うつ病7例、不安障害3例、統合失調症2例、双極性障害2例など)、悪性腫瘍(10例: グリオーマ7例、リンパ腫2例など)、非感染性てんかん(5例)、感染症(3例)、エイズ脳症1例、多発性硬化症1例などであった。これら107例の誤診であった患者のうち、84例に免疫療法が施行され、副作用を17例で認め、副腎皮質ステロイドによる精神病や、免疫グロブリン大量療法による無菌性髄膜炎などを認めた²²⁾。神経自己抗体が原因となる病態は、てんかんも含めて様々であり、呈する精神症状も多彩である²³⁾。診断には臨床的特徴など様々な観点からの判断を慎重に行い、こうした誤診を防ぎつつ、迅速な治療開始を行う必要がある。

文献

- 1) Matricardi S, Casciato S, Bozzetti S, Mariotto S, Stabile A, Freri E, et al. Epileptic phenotypes in autoimmune encephalitis: from acute symptomatic seizures to autoimmune-associated epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2022; 58: jnnp-2022-329195.
- 2) Quek AM, Britton JW, McKeon A, So E, Lennon VA, Shin C, et al. Autoimmune epilepsy: clinical characteristics and response to immunotherapy. *Arch Neurol* 2012; 69(5): 582-593.
- 3) Dubey D, Alqallaf A, Hays R, Freeman M, Chen K, Ding K, et al. Neurological Autoantibody Prevalence in Epilepsy of Unknown Etiology.

- JAMA Neurol 2017 ; **74**(4) : 397-402.
- 4) Cabezudo-García P, Ciano-Petersen NL, Mena-Vázquez N, Ortega-Pinazo J, Postigo-Pozo MJ, García-Martín G, et al. Prevalence of Neural Autoantibodies in Paired Serum and Cerebrospinal Fluid in Adult Patients with Drug-Resistant Temporal Lobe Epilepsy of Unknown Etiology. *J Clin Med*. 202 ; **10**(21) : 4843.
 - 5) Levite M, Goldberg H. Autoimmune Epilepsy - Novel Multidisciplinary Analysis, Discoveries and Insights. *Front Immunol* 2022 ; **12** : 762743.
 - 6) Pollak TA, Lennox BR, Müller S, Benros ME, Prüss H, Tebartz van Elst L, et al. Autoimmune psychosis : an international consensus on an approach to the diagnosis and management of psychosis of suspected autoimmune origin. *Lancet Psychiatry* 2020 ; **7**(1) : 93-108.
 - 7) Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol* 2016 ; **15**(4) : 391-404.
 - 8) Mino S, Hinotsu K, Fujiwara M, Sakamoto S, Sasaki R, Yada Y, et al. Inconsistency of antibody testing in a patient with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Asian J Psychiatr* 2022 ; **72** : 103124.
 - 9) Ramanathan S, Mohammad SS, Brilot F, Dale RC. Autoimmune encephalitis : recent updates and emerging challenges. *J Clin Neurosci* 2014 ; **21**(5) : 722-730.
 - 10) Spatola M, Dalmau J. Seizures and risk of epilepsy in autoimmune and other inflammatory encephalitis. *Curr Opin Neurol* 2017 ; **30**(3) : 345-353.
 - 11) Dubey D, Pittock SJ, Kelly CR, McKeon A, Lopez-Chiriboga AS, Lennon VA, et al. Autoimmune encephalitis epidemiology and a comparison to infectious encephalitis. *Ann Neurol* 2018 ; **83**(1) : 166-177.
 - 12) Binks SNM, Klein CJ, Waters P, Pittock SJ, Irani SR. LGI1, CASPR2 and related antibodies : a molecular evolution of the phenotypes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018 ; **89**(5) : 526-534.
 - 13) Okamoto S, Takaki M, Hinotsu K, Kawai H, Sakamoto S, Okahisa Y, et al. Impairment of early neuronal maturation in anti-NMDA-receptor encephalitis. *Psychopharmacology (Berl)* 2022 ; **239**(2) : 525-531.
 - 14) Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, Aguilar E, McCracken L, Leypoldt F, et al. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis : a retrospective study. *Lancet Neurol* 2014 ; **13**(2) : 167-177.
 - 15) Kawai H, Takaki M, Sakamoto S, Shibata T, Tsuchida A, Yoshimura B, et al. Anti-NMDA-receptor antibody in initial diagnosis of mood disorder. *Eur Neuropsychopharmacol* 2019 ; **29**(9) : 1041-1050.
 - 16) Tröscher AR, Mair KM, Verdú de Juan L, Köck U, Steinmaurer A, Baier H, et al. Temporal lobe epilepsy with GAD antibodies : neurons killed by T cells not by complement membrane attack complex. *Brain* 2023 ; **146**(4) : 1436-1452.
 - 17) Pitsch J, van Loo KMJ, Gallus M, Dik A, Kamalizade D, Baumgart AK, et al. CD8+ T-Lymphocyte-Driven Limbic Encephalitis Results in Temporal Lobe Epilepsy. *Ann Neurol* 2021 ; **89**(4) : 666-685.
 - 18) Ehling P, Melzer N, Budde T, Meuth SG. CD8 (+) T Cell-Mediated Neuronal Dysfunction and Degeneration in Limbic Encephalitis. *Front Neurol* 2015 ; **6** : 163.
 - 19) Hansen N, Schwing K, Önder D, Widman G, Leelaarporn P, Prusseit I, et al. Low CSF CD4/CD8+ T-cell proportions are associated with blood-CSF barrier dysfunction in limbic encephalitis. *Epilepsy Behav* 2020 ; **102** : 106682.
 - 20) Kimura K, Nishigori R, Hamatani M, Sawamura M, Ashida S, Fujii C, et al. Resident Memory-like CD8+ T Cells Are Involved in Chronic Inflammatory and Neurodegenerative Diseases

in the CNS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2023 ; **11**(1) : e200172.

- 21) Ruiz-García R, Muñoz-Sánchez G, Naranjo L, Guasp M, Sabater L, Saiz A, et al. Limitations of a Commercial Assay as Diagnostic Test of Autoimmune Encephalitis. *Front Immunol*. 2021 ; **12** : 691536.
- 22) Flanagan EP, Geschwind MD, Lopez-Chiriboga AS, Blackburn KM, Turaga S, Binks S, et al : Autoimmune Encephalitis Misdiagnosis in Adults. *JAMA Neurol* 2023 ; **80**(1) : 30-39.
- 23) Hinotsu K, Miyaji C, Yada Y, Kawai H, Sakamoto S, Okahisa Y, et al. The validity of atypical psychosis diagnostic criteria to detect anti-NMDA receptor encephalitis with psychiatric symptoms. *Schizophr Res*. 2022 248 : 292-299.

Summary

Reclassification of autoimmune epilepsy by novel antibody test

Manabu Takaki, Keiko Tanaka, Norihito Yamada, Yuko Okahisa, Shinji Sakamoto

Autoimmune epilepsy is one cause of refractory epilepsy whose patient is not effective to any epilepsy treatment. The purpose of this study is to establish an autoantibody test which is important for the diagnosis of autoimmune epilepsy, to investigate the effects of immunotherapy, and to contribute to the treatment of epilepsy. Anti-NMDA, CASPR2, AMPA1/2, LGI-1, DPPX, and GABAB antibodies in serum or cerebrospinal fluid of 70 patients (44 women and 26 men) with epileptic seizures were tested using the EUROIMMUN kit and the CBA method of NR1/2B co-expression (approved by the Okayama University Ethics Committee). Autoantibodies were found in 15 patients (21.4%) including NMDA (10), LGI1 (2), serum NAE (1), Yo (1), AQP4 (1). Each clinical course and response to immunotherapies is different. There are various pathologies caused by neuronal autoantibodies, including epilepsy, and the diagnosis of autoimmune encephalitis and epilepsy needs to be made carefully from various perspectives such as clinical characteristics.

Ann.Rep.Jpn.Epi.Res.Found. 2024 ; 35 : 69-76