

図2 リン酸オセルタミビル内服開始までの時間別に比較した、解熱するまでの内服回数。縦軸は内服回数(単位:回)、横軸は内服開始までの時間を12時間ごとに区分したもの(単位:時間)。横軸のカッコ内は、内服開始までの平均時間を示す。各時間区分の黒丸は、1個が1症例を示し(例:0~12時間の区分では内服回数1回で解熱したものが2名)、黒横線は各時間区分での内服回数の平均値を示す。なお内服回数0回は、内服開始時点の体温が37.5°C未満で、以後内服継続中一度も体温が37.5°C以上に上昇することなく内服を終了したものである。

と思われるその他の症状(上気道症状、消化器症状、関節症状など)の有無については、家庭における観察と客観的判断の正確性が困難であると考え、発症と回復の指標とはしなかった。統計解析方法は、student-t 検定を用いた。

結 果

対象患者87名の内訳は、男子54名・女子33名、年齢は0歳3カ月から15歳7カ月までで、年齢の分布は図1に示すようになっていた。またうち4名(男子1名・女子3名)が外来でインフルエンザウイルス抗原陽性を確認後入院していたが、入院の理由は2名が受診が遅れたため有熱期間が長引き脱水傾向を示したため、1名は喘息発作を併発し内服困

難であったため、1名は低月齢(0歳3カ月)で下痢症状を伴っていたためであった。別の診断で入院中にインフルエンザが疑われ、検査で陽性になった入院例はなかった。

インフルエンザウイルス抗原の型別の内訳は、A型50名、B型34名、A・B両型4名であった。前述したように、87名中1名が調査対象期間内にA型次いでB型の順で2回罹患している。入院例は全例A型だった。

リン酸オセルタミビルを処方されたが1回も内服しなかった(できなかった)ものは87名中1名のみで、理由は患児が自閉症のための内服困難によるものであった。

1. 発症からリン酸オセルタミビル内服開始までの時間(図2)

0~12時間以内が29名(5.07±2.55時間)、

表 リン酸オセルタミビル服用による副作用と人数

症 状	人数	A型	B型	AB型	7Y未満
下 痢	7	5	0	2	4
軟 便	4	3	1	0	4
腹 痛	7	5	1	1	4
嘔気・嘔吐	5	3	1	1	4
口 内 炎	8	4	4	0	1
計	31	20	7	4	17

(単位：人)

12～24時間以内が37名 (18.08±2.15時間)、24～36時間以内が9名 (28.00±3.87時間)、36～48時間以内が4名 (41.00±3.56時間)、48時間以上が8名 (91.88±29.61時間) だった (カッコ内は平均時間)。全症例の90.80%が、リン酸オセルタミビルの投与開始有効期限とされる発症後48時間以内に内服を開始しており、その平均内服開始時間は15.78±1.01時間であった。

2. 解熱までのリン酸オセルタミビル服用回数 (図2)

0回6名、1回4名、2回47名、3回7名、4回11名、5回6名、6回3名、7回0名、8回3名、9回以上0名だった (平均2.70±1.69回)。なお内服回数0回と答えたものは、内服開始時点の体温が37.5°C未満で、以後内服継続中一度も体温が37.5°C以上に上昇することなく内服を終了したものである。

図2に、解熱までのリン酸オセルタミビルの内服回数を、発症から内服開始までの時間別に比較を行った。各時間の平均内服回数は、0～12時間以内で2.86±1.55回、12～24時間以内で2.72±2.00回、24～36時間以内で2.67±1.66回、36～48時間以内で2.50±0.58回、48時間以上で2.13±1.13回であり、2～3回の間集中していた。これは7歳未満の症例42名について同様の比較を行っても、やはり全時間帯で平均内服回数は2回台であ

った。

また解熱するまでのリン酸オセルタミビルの内服回数を、インフルエンザウイルス抗原の型別に比較してみると、平均内服回数はA型2.63±1.52回、B型2.94±1.94回であり、2群間での統計学的有意差は認められなかった (p=0.40)。

3. リン酸オセルタミビル服用の容易さ

リン酸オセルタミビルをドライシロップ製剤で投与されたものが21名、カプセル製剤が20名、カプセルを外して中味の粉末を投与されたものが46名であった。カプセルを外す方法は、今シーズンのインフルエンザの爆発的流行によって、調査期間途中から薬剤の供給が必要に追いつかず在庫が無くなってしまう可能性が出てきたため、メーカー並びに当院薬剤部と協議のうえ行った緊急的措置である。

前述のように、1回も内服できなかったものは1名のみであった。ドライシロップ製剤で投与された21名のうち、13名は特に問題なく内服していたが、8名 (38.1%) は「苦い」「おいしくない」「無理やり飲ませた」など若干の投薬困難を示し、1名は苦さのため2回嘔吐していた。内服方法は、水・湯に溶く、市販の経口薬内服用ゼリーを使うなどであった。またカプセルを外して中味の粉末を投与された46名では、13名 (28.3%) が「苦い」「まずい」と訴えていたがオブラート・

砂糖・ハチミツ・経口薬内服用ゼリーなどを用いて内服していた。

4. 家庭で確認し得た、リン酸オセルタミビル服用によると思われる副作用の有無(表)

何らかの症状を訴えたものは、31名(35.6%)で、その内訳は口内炎が8名、下痢・腹痛が各7名、嘔気・嘔吐が5名、軟便が4名であった。インフルエンザウイルス抗原の型別では、A型20名、B型7名、AB型4名だった。また7歳未満の症例42名については、17名(40%)が副作用を示し、下痢・軟便・腹痛・嘔気嘔吐が各4名、口内炎は1名であった。

考 察

今シーズン(2002~2003年)のインフルエンザ流行は、例年の3倍~10倍とも言われ⁷⁸⁾、特にシーズン初期での流行の立ち上がり急だったのが特徴的であった。近年の患者動向の特徴としては、簡便なインフルエンザウイルス抗原迅速診断キットの普及により、従来臨床診断だけでは見落とされていたインフルエンザ患者数が含まれるようになってきている点が挙げられる。

また検査手技も、外来で多くの人手を要さずに簡単にできるものであり、結果を得るまでに要する時間が短いという点も、検査数自体が増加する要因であったと思われる。流行規模が大きかったのは間違いないが、確定診断が従来の臨床診断のみによるのではなく、検査キットによって陽性と判定されたものが多くを占めるようになったという点と、A・B両型に有効な抗インフルエンザ剤の普及という2点の、病勢統計への影響は過去のデータと比較する際に考慮すべきであろう。

対象症例のうち入院に至った症例数(4例、4.6%)については、後述のように、外来での本剤投与で罹病期間が短縮されるため、有熱期間が長引いての脱水による入院は

減少した印象を受けた。実際、入院例のうち2例は内服開始が遅れ、従来同様のインフルエンザの自然経過をたどったため最終的に脱水傾向に至り、入院後リン酸オセルタミビルを開始したものである。

次に発症からリン酸オセルタミビル内服開始までの時間であるが、全体の90.80%が48時間以内、75.86%は24時間以内に内服を開始している。これは後に内服のコンプライアンスに関する考察でも述べるが、近年インフルエンザ脳炎・脳症に関する情報が保護者間にも広く知られるようになり、シーズンに突入すると通常時より早期受診を心がける風潮があるためであろう。また集団生活に入っている子どもの中には、保母や教師から受診を勧められているケースも多かった。7歳以上の年長児でも、服薬開始時間に関する傾向は変わらなかった(48時間以内95.23%、24時間以内71.46%)。

なお、ここで注意を要するのは、発熱から非常に短時間(多くは12時間以内)の患者ではインフルエンザウイルス抗原迅速検査が偽陰性になる場合である。患者によっては発熱後1~2時間でも陽性になる例もあるため、数時間後で陰性であればその結果を信頼しなくなるが、実際にそのために内服開始が遅れたケースもあったため、偽陰性の可能性がある場合には1日分だけリン酸オセルタミビルを処方し、翌日再診して確認した例も多かった。あるいは予防内服の意味も含めて、偽陰性例でも内服開始する方法も可能であろう。

このように我々の調査の結果では、ほとんどの症例がリン酸オセルタミビル投与開始に有効とされる発症後48時間以内に内服を開始していたわけであるが、ではその後何回内服すれば解熱したのであるか?薬品添付文書によれば、「国内で実施されたドライシロップ剤による小児(1~12歳)を対象にした第II相臨床試験においては、投薬中の体温が平熱(37.4°C以下)に回復するまでの時間は

35.3時間（中央値）であった」と記載されている。48時間以内に内服開始した79名の、発症から内服開始までに要した時間の平均が 15.78 ± 1.01 時間なので、それに2回内服するまでの時間=24時間を加えると39時間となり、ほぼ添付文書に記載されている中央値と近似したデータが得られた。これは従来のインフルエンザの自然経過と比較すると、明らかに罹病期間を短縮していると思われる。健康成人を対象とした研究では、プラセボ群と比較してインフルエンザ主要症状が1~1.5日程度短縮するだけであるとしたデータもあるが⁹⁾¹⁰⁾、今回の調査期間中に自然経過の終わり頃に内服を開始したケースではやはり6~7日間発熱が続いていた。また、内服開始時点の体温が 37.5°C 未満で、内服開始後一度も体温上昇がないまま内服を終了したもの（解熱するまでの内服回数0回に数えられている6名）も、インフルエンザウイルス抗原は検出されているので、内服しなければその後発熱していたと思われ、リン酸オセルタミビルによって症状の増悪が防げたものと考えられる。では、同じ48時間以内であっても、内服開始が早ければ早いほど薬効も強いのかどうかを調べるため、内服開始までに要した時間別に解熱までの内服回数を比較してみた（図2）。発症から36時間以内では内服開始が早いほど効果が強い¹¹⁾、あるいは罹病期間が短縮されるという報告もあるが¹²⁾、発症後早期に投与したからといって発熱期間が短縮されるわけではないとする報告もある¹³⁾。

今回の調査では12時間ごとに区切った4群間では内服回数の平均に有意差はなく、低年齢層（7歳未満）においてもその傾向は同様であった。つまり発症後48時間以内に関しては、早く内服開始したからといって症状が改善するまでに要する時間が短いというわけではなく、内服し始めた時点から解熱するまでには同じように24時間程度時間がかかるという結果である。ただし48時間以上経過例につ

いては、内服回数の平均をとると2回台になったが、前述のように5~6日経過後に内服開始している例が含まれているため、自然経過で解熱した可能性もあり、より多くの症例での検討が望まれる。

以上の結果から、リン酸オセルタミビルの投与日数は、症状改善後もウイルスの放出が続くため他人への感染を防ぐために5日間と規定されているが¹⁴⁾、患者本人の症状改善だけに限って言えば、より短期間の投与でも十分な治療効果が得られるのではないかと推測される。感染拡大防止の観点からも、もちろん5日間しっかり内服できればそれが一番良いのであるが、内服が困難な例や副作用がある場合などの最低内服日数は1~3日程度と思われる。

また臨床的な印象としては、解熱するまでのリン酸オセルタミビル内服回数はA型インフルエンザの方が少ないように感じていたが、今回の調査結果では内服回数の平均に差はなかった。これは、A型に比しB型の方に発熱の経過が緩やかなケースが多かったため、このように感じられたのではないかと推測している。具体的には、A型はいわゆる古典的インフルエンザの臨床症状、すなわち突然の $39\sim 40^{\circ}\text{C}$ 台の発熱で来院しリン酸オセルタミビルを処方すると翌日には解熱していた、といういわゆる「薬のキレがいい」パターンが多く、B型は $37\sim 38^{\circ}\text{C}$ 台前半までの発熱が2~3日続くので来院し、検査を取るとB型が出たので処方したが3日目に解熱した、というような例が多かった。

次に、リン酸オセルタミビル服用の容易さについてであるが、一部の症例に対しては前述のようにカプセルを外す方法まで取り、実際かなり苦くて内服し辛い味であるにもかかわらず、服薬のコンプライアンスは非常に良く、内服を途中で止めてしまった例もほとんどなかった。これは内服開始までに要した時間についての考察でも述べたように、保護者

の間にインフルエンザに関する知識が普及してきたためと思われる。「とにかくインフルエンザの薬だけは無理やり飲ませた」と答えた保護者が多く、通常ありがちな「子どもが嫌がるので」「どうやって飲ませたらいいか、わからない」などの理由で、簡単に内服を諦めたケースは皆無であった。なお、カプセルを外す形の処方を受けたものに対して、院外薬局によっては、あらかじめ砂糖を添えて薬を渡したり内服用ゼリーを紹介するなど、内服方法の指導を行った所もあった。来シーズン以降は薬の供給量が不足するような事態は起こらないと思うが、以上の結果から万が一緊急などのケースでは、カプセルを外して中味を内服する形でも、ドライシロップと同等の効果が得られ、また保護者の努力と工夫さえあれば小児でも内服可能であることがわかった。

副作用については、薬品添付文書に記載された主な有害事象の中から、症状として保護者が確認し得るものについて尋ねた。症状を訴えたものの割合や内訳はほぼ記載どおり¹⁾、インフルエンザウイルス抗原の型別による偏りや、低年齢層で特に多いということはなく、いずれも軽度で内服終了とともに速やかに回復していた。ただし内容的には消化器症状が中心であり、今シーズンのインフルエンザは消化器症状を伴うものが多かったため、元々のインフルエンザの症状との厳密な判別は困難な部分があった。

以上よりリン酸オセルタミビルの小児における内服治療は、臨床的に非常に有用であり、服用の容易さや副作用の面からも、実際の使用に優れた製品であると考えられた。今後の課題としては、ワクチンによる予防と本剤の使い方の関係をどのように位置付けていくかではないかと思われる。今後、本剤の簡便さやコストの面から、ワクチンによる予防が疎かにされ「罹ってしまったら薬を飲めばいい」という考え方が、医療者側・患者側双

方で主流になっていく可能性がある。インフルエンザワクチンの予防効果が60~90%¹¹⁾であり、全額自費で2回接種しなければならぬ費用と手間を考えると、よく効いて簡単に飲める薬が、ワクチンよりはずっと安価に手に入るのであれば、そちらが選択されてもおかしくはない。今後の病因解明を待たねばならないが、ワクチンを2回接種していても脳炎・脳症に至っている例も少数ながらあるとなると¹⁵⁾¹⁶⁾、従来の「脳炎・脳症になるのはA型がほとんどであり、A型はワクチンで予防できる可能性が高いのでワクチンを接種すべきだ」あるいは「脳炎・脳症は発症からの経過が非常に速いので^{2)~4)}、ワクチンによってまず罹患しないように努めるべきだ」という理由は成り立たなくなってしまう。本剤の予防内服効果と併せて、さらなる検討が望まれる。

文 献

- 1) 柏木征三郎, 工藤翔二, 渡辺 彰他: リン酸オセルタミビルのインフルエンザ発症抑制効果に関する検討—プラセボを対照とした第III相二重盲検並行群間比較試験成績—, 感染症学雑誌 74: 1062~1076, 2000
- 2) 富樫武弘, 古田博文, 松園嘉裕他: インフルエンザ流行期に発症した小児急性脳炎・脳症, 日児誌 103: 1202~1209, 1999
- 3) 森島恒雄, 富樫武弘, 横田俊平他: インフルエンザに合併する脳炎・脳症に関する全国調査, 日本醫事新報 3953: 26~28, 2000
- 4) 河島尚志, 長谷川友香, 松浦恵子他: インフルエンザ脳症の臨床と治療, 小児感染免疫 13: 359~366, 2001
- 5) 菅谷憲夫: 一般診療の立場から—アマンタジンとノイラミニダーゼ阻害薬—, 小児科診療 67: 2093~2096, 2000
- 6) Woodhead M, Lavanchy D, Johnston S, et al: Neuraminidase inhibitors: progress in the management of influenza. Int J Clin Pract 54: 604~610, 2000
- 7) 東京都立衛生研究所ホームページ: インフルエンザウイルス情報, <http://www.tokyo-eiken.go.jp/IDSC/influenz/index-j.html>
- 8) 感染症情報センターホームページ: インフルエンザ, <http://idsc.nih.go.jp/kanja/weekly-graph/Influ.html>

- 9) 柏木征三郎, 工藤翔二, 渡辺 彰他: インフルエンザウイルス感染症に対するリン酸オセルタミビルの有効性および安全性の検討—プラセボを対照とした第III相二重盲検並行群間比較試験成績—。感染症学雑誌 74:1044~1061, 2000
- 10) Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS et al: Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group. JAMA 283: 1016~1024, 2000
- 11) Stiver G: The treatment of influenza with antiviral drugs. CMAJ 168: 49~56, 2003
- 12) McClellan K, Perry CM: Oseltamivir: a review of its use in influenza. Drugs 61: 775, 2001
- 13) 伊藤弘道: 小児のインフルエンザに対するリン酸オセルタミビルの使用経験。日児誌 107(4): 652~656, 2003
- 14) Oxford JS, Lambkin R: Targeting influenza virus neuraminidase—a new strategy for antiviral therapy. DDT 3(10): 448~455, 1998
- 15) 杉山延喜, 浜野晋一郎, 田中 学他: インフルエンザ予防接種を受けた後に発症したインフルエンザ脳脊髄炎の1例。第38回日本小児神経学会関東地方会プログラム・抄録集, p.15, 2003
- 16) 富田 直, 垣内五月, 高橋礼花他: インフルエンザ予防接種後にインフルエンザ脳症を発症した1症例。第38回日本小児神経学会関東地方会プログラム・抄録集, p.15, 2003

☆ ☆ ☆ ☆ ☆ ☆

原著

Infantile neuroaxonal dystrophy の早期診断に関する検討*

塩田 睦記¹⁾, 宍倉 啓子¹⁾, 吉井 啓介¹⁾, 児玉 美帆¹⁾
 松尾 真理¹⁾, 佐々木香織¹⁾, 田良島美佳子¹⁾, 舟塚 真¹⁾
 鈴木 暁子¹⁾, 小国 弘量¹⁾, 大澤真木子¹⁾, 原 正道²⁾

要旨：Infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) は乳児期後半に発症し、運動・知能障害を呈する常染色体劣性遺伝疾患である。我々は皮膚生検で確定診断し得た典型的2症例を経験し、早期診断に有用と考えられる共通の臨床及び検査所見をretrospectiveに検討した。その結果、①退行以前からの血清aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH)軽度上昇、②creatin kinase (CK) 高値を伴わない著明な筋緊張低下、③頭部MRIでの小脳の萎縮とT2強調画像での高信号、④脳液での全般性高振幅速波、⑤末梢運動神経伝導速度は正常、の所見が注目された。特に①と③の組み合わせは特徴的な検査所見であり、本症の早期診断に有用と考えられた。また、病理学的に小脳の病変が早期から顕著である点に考察を加えた。

Key Words：乳児型神経軸索ジストロフィー、小脳萎縮、グリオーシス、ジストロフィー様軸索、MRI画像

末梢神経 2004; 15(1): 71-78

はじめに

Infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) は1952年にSeitelbergerが初めて報告し¹⁾、1963年にCowenとOlmsteadによって命名された常染色体劣性遺伝疾患である²⁾。臨床的には6ヶ月から2歳までの乳児期後半より急激に発症し、進行性の運動知能障害を呈し、10歳前後で死亡することが多い。確定診断は、中枢・末梢神経にdystrophic axonを確認することでなされる³⁾。しかし発症病態はいまだ不明であり、特異的な臨床所見や検査値がなく、発病初期にINADを疑うことはしばしば困難である。我々

は、最近典型的2症例を経験し、本症の早期診断の留意点につきretrospectiveに検討した結果、生化学検査と頭部MRI所見が有用であると結論したので報告する。また、中枢神経系の病理学的所見と特徴的な頭部MRI所見との関連性につき比較検討したのであわせて報告する。

症 例

症例1 3歳0ヶ月女児

【初発症状】1歳6ヶ月 精神運動発達遅滞

【家族歴】同胞の姉5歳は健康。父方伯母幼少期に死亡。

* Early diagnostic points in infantile neuroaxonal dystrophy

¹⁾Mutsuki SHIODA, M.D., Keiko SHISHIKURA, M.D., Keisuke YOSHII, M.D., Miho KODAMA, M.D., Mari MATSUO, M.D., Kaori SASAKI, M.D., Mikako TARASHIMA, M.D., Makoto FUNATSUKA, M.D., Haruko SUZUKI, M.D., Hirokazu OGUNI, M.D., Makiko OSAWA, M.D.: 東京女子医科大学小児科 [〒161-8666 東京都新宿区河田町8-1]; Division of Neurology, Department of Pediatrics School of Medicine Tokyo Women's Medical University, Tokyo

²⁾Masamichi HARA, M.D.: 横浜市立大学医学部付属病院 [〒236-0004 横浜市金沢区福浦3-9]; Yokohama City University, School of Medicine, Yokohama

父方従姉（9歳）は脳性麻痺に、従妹（7歳）はてんかんに罹患。

【既往歴】妊娠中特記すべき合併症なし。

在胎37週、体重2910g、頭位自然分娩。

【発達歴】定頭3ヶ月、坐位6ヶ月、つたい歩き9ヶ月。

有意語1歳。

【現病歴】生後3ヶ月に海外移住のため行った血液検査でAST高値を指摘された。その後も定期的に血液検査を施行したが同様であった。健診では特に異常を指摘されなかった。1歳になっても独歩なく、言葉も増えず、1歳6ヶ月時他院で精査をした。AST、LDH軽度高値であったため筋疾患が疑われ、2歳時に頭部CT、頭部MRI、脳波検査を施行されたが、異常は認められなかった。この頃から右優位の内斜視を認めた。2歳6ヶ月には筋生検が施行されたが、異常は認められなかった。その直後から精神・運動発達の退行が出現し、2歳7ヶ月に伝い歩きをしなくなった。言葉も減少し、眼振が出現した。2歳10ヶ月になって足関節が尖足位で拘縮し、2歳11ヶ月から這い這いをしなくなった。3歳時、座位のみとなったため当科での精査を希望し入院した。

【入院時現症】

座位はとんび座り。うつぶせから座位可能。寝返りは側臥位まで可能。筋緊張は著明に低下（double folding, window徴候, scarf徴候, loose shoulder 陽性）。固視・追視あり。水平方向の注視眼振を認める。右優位の内斜視あり。胸腹部異常所見なし。肝脾腫なし。上下肢深部腱反射亢進、Babinski反射陽性で下肢に痙性を認めた。足関節尖足位で内反し、背屈制限あり。測定障害あり。眼底では視神経乳頭の蒼白を認めた。

【検査所見】

血液検査所見では、血清AST、LDHの軽度高値（AST 118I/U, LDH 462I/U：分画1,2上昇、5低下）を認めたが、CKは正常（CK 94U/I）であり、乳酸、ビリビン酸は正常上限（乳酸

18.6mg/dl, ビルビン酸1.05mg/dl）であった。白血球ライソゾーム、有機酸分析に異常を認めなかった。 α -N-acetylgalactosaminidaseも正常であり、Schindler病は否定された。また、髄液でもLDH, 77I/U（30I/U以下）の軽度高値を認めた。

電気生理学的所見では、脳波の全般性高振幅速波、視覚誘発電位（VEP）の波形分離不良を認めた。聴性脳幹反応（ABR）、脛骨神経の運動神経伝導速度（MCV）は正常であった。

頭部MRI（図1）：T1強調画像矢状断では、小脳の著明な萎縮を認めた。T2強調画像冠状断では、Flair画像がないため脳脊髄液との区別が難しいが、小脳皮質の高信号を認めた。T2強調画像水平断では、小脳の萎縮は認められたが、小脳皮質の高信号は明らかではなかった。1歳11ヶ月時の退行以前に他院で施行された頭部MRIでは、T2強調画像での小脳皮質高信号は見出されなかったが、小脳の萎縮はすでに認められた。

皮膚生検：腋窩部の皮膚の組織病理学的検査を施行した。電子顕微鏡低倍率像（図2）では、正常の軸索とともに、多数のdystrophic axonを汗腺周辺の末梢神経終末に認めた。高倍率像では、軸索内の膜様管状構造物を認めた。

以上の臨床経過、検査所見よりINADと確定診断された。

症例2 1歳11ヶ月女児

【初発症状】9ヶ月 筋緊張低下

【家族歴】神経筋疾患なし、近親婚なし、母親の流産歴なし。

【既往歴】切迫早産のため妊娠7ヶ月より母親は投薬を受けていた。

在胎39週、体重3160g、吸引分娩。

1歳3ヶ月と1歳6ヶ月時にチアノーゼを伴う20～30秒ほどの泣き入りひきつけがみられた。

【発達歴】定頭3ヶ月、寝返り6ヶ月、坐位8ヶ月、いざり這い1歳、這い這い1歳6ヶ月 喃語1歳6月

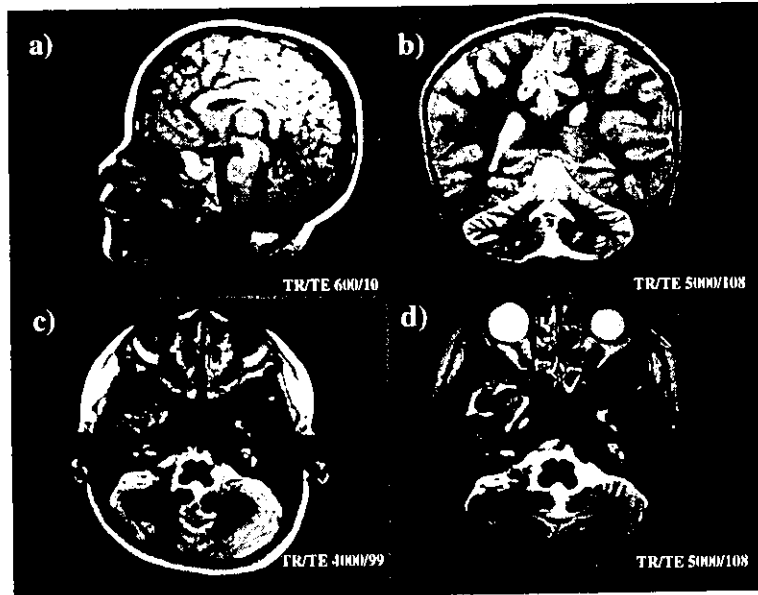


図1 a) 3歳0ヶ月T1強調画像矢状断で小脳の著明な萎縮を認める。
 b) 3歳0ヶ月T2強調画像冠状断で小脳皮質の高信号を認める。
 c) 1歳11ヶ月退行以前のT2強調画像水平断でも小脳皮質の萎縮を認める。
 d) 3歳0ヶ月T2強調画像水平断では小脳萎縮を認めるが、小脳の高信号は明らかではない。

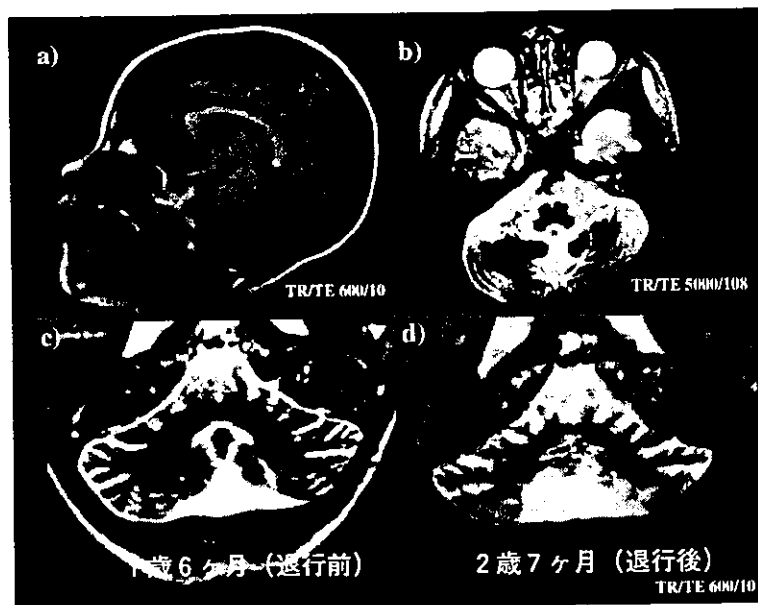


図2 a) 1歳11ヶ月T1強調画像矢状断で小脳の著明な萎縮を認める。
 b) 1歳11ヶ月T2強調画像水平断で小脳の萎縮を認める。
 c) 1歳6ヶ月退行以前のT2強調画像冠状断では小脳皮質の高信号を認める。
 d) 2歳7ヶ月退行後のT2強調画像冠状断では小脳皮質の高信号を認める。

【現病歴】生後9カ月頃より体がやわらかいことに母親は気づいていたが、健診などで指摘されたことはなかった。1歳になっても独歩なく発達遅延を指摘された。1歳6ヶ月某病院にて、血液・脳波・頭部MRI等の精査を受けるが、ASTの軽度高値ほか異常を指摘されなかった。1歳7ヶ月39.0度の発熱があり、解熱剤により1日で解熱したが、この日より座位保持・寝返り・定頸ができなくなった。表情は乏しくなり、喃語も認められなくなった。1歳9ヶ月より眼振を認めるようになったため、1歳11ヶ月時精査目的で入院した。

【入院時現症】

仰臥位姿勢ではfrog postureをとり、表情は乏しかった。喃語なく発語のみ。定頸不可能であったが、上肢の抗重力運動可。筋緊張は著明に低下 (double folding, window 徴候, scarf 徴候, loose shoulder 陽性)。固視・追視あり。水平方向の注視眼振あり。胸腹部異常所見なし。肝脾腫なし。上肢深部腱反射正常。膝蓋腱反射亢進。アキレス腱反射消失。Babinski反射陽性。

測定障害あり。眼底では視神経乳頭の蒼白を認めた。

【検査所見】

血液検査所見では、血清AST、LDHの軽度高値 (AST 108I/U, LDH 459U/I) を認めた。CKは正常 (CK 48U/I) であり、乳酸、ビルビン酸は正常上限 (乳酸 17.2mg/dl, ビルビン酸 0.80mg/dl) であった。白血球ライソゾーム、有機酸分析、 α -N-acetylgalactosaminidaseは正常であった。

電気生理学的所見では、脳波の全般性高振幅速波、VEPの波形分離不良を認めた。ABR、正中神経、脛骨神経のMCV、正中神経、腓骨神経の知覚神経伝導速度 (SCV) は正常であった。針筋電図所見では、脱神経所見が認められた。

頭部MRI (図3) : 1歳11カ月の頭部MRIでは著明な小脳の萎縮を認めた。2歳7ヶ月時の頭部MRIT2強調画像冠状断では小脳皮質の高信号が認められた。1歳6ヶ月の頭部MRI冠状断でも小脳の萎縮と小脳皮質の高信号が認められた。

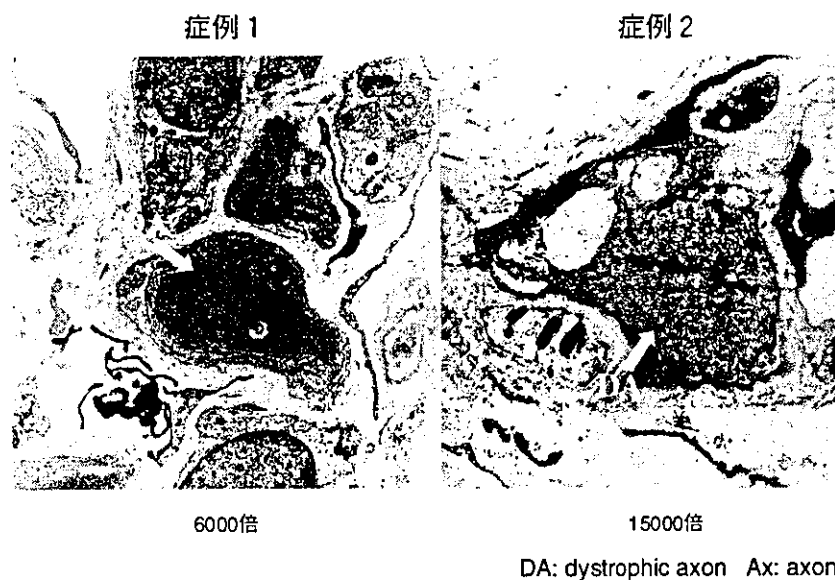


図3 汗腺の電気顕微鏡学的所見

症例1の低倍像 (×6000) では多数のDAを認めた。

症例2の高倍像 (×15000) では軸索内の膜様管状構造物を認めた。

皮膚生検：腋窩部の皮膚の組織病理学的検査を施行した。電子顕微鏡にて軸索内の膜様管状構造物を認めた。

以上の臨床経過、検査所見よりINADと確定診断された。

考 察

表1に2症例の臨床像のまとめを示す。2症例とも2歳前後にはじまる急激な退行を示した。神経学的所見では、著明な筋緊張低下、眼振、測定障害、深部腱反射の亢進、Babinski反射陽性等の錐体路症状、視神経乳頭の蒼白が認められた。また、両症において汗腺周囲の末梢神経にいわゆる dystrophic axon が認められINADの確定診断が行われた。錐体外路症状、知覚障害、けいれんは認められなかった。症例2では、アキレス腱反射が消失し、末梢神経障害が存在すると判断した。

表2に2症例に共通する検査所見を示す。

INADは乳児期後期より急激な退行で発症するが、退行以前にもAST、LDHの軽度高値、筋緊張低下、頭部MRIでの小脳の萎縮は注目すべき所見であり、本症の発症は退行が認められる以前であると考えられた。症例2では1歳までの発達はほぼ正常であったが、その時点ですでにASTの軽度高値を指摘されていた。INADの発症病態は未だに不明であるが、AST、LDHの上昇は神経性的変性あるいは神経細胞の軸索輸送に関与する何らかの酵素異常を意味すると考えられている⁴⁾。過去の症例報告でも血清AST、LDHの軽度高値は報告されているが、AST、LDHの上昇は特異的所見ではないため、あまり注目されてこなかった。しかし、退行の発症年齢、CK高値を伴わない著明な筋緊張低下、錐体路徴候などの臨床症状と合わせれば、INADの早期診断に有用な所見と思われる。また、本症が常染色体劣性遺伝疾患であることから、同胞罹患の有無の早期診断に、血清AST軽

表1

	症例1 (女児)	症例2 (女児)
初診時年齢	3歳0ヶ月	1歳11ヶ月
初発症状 (年齢)	精神・運動発達遅滞 (1歳6ヶ月)	筋緊張低下 (9ヶ月)
初診時発達レベル	座位 喃語のみ	定頭不可 喃語なし
最高発達レベル	伝い歩き (9ヶ月) 有意語 (1歳)	這い這い (1歳6ヶ月) 喃語 (1歳6ヶ月)
退行出現年齢	2歳7ヶ月	1歳7ヶ月
現在の運動レベル	支持座位 (3歳6ヶ月)	寝たきり (2歳9ヶ月)

表2 2症例に共通する検査所見

血液生化学など	症例1: AST 118 ↑ LDH 462 ↑ (髄液でも軽度上昇) 症例2: AST 108 ↑ LDH 459 ↑ (髄液で検査なし) 白血球ライゾゾーム酵素 α-Nacetylgalactosaminidase 正常 血清、髄液中の乳酸、ビリルビンの著明な上昇はなし
電気生理学的検査 (初診時)	ABR・SCV・MCV 正常 VEP: 波形分離不良 EMG: 脱神経所見 (症例2のみ) 脳波: 全般性高振幅性速波を認める

度高値は有用であると推定される。

また、頭部MRIでは非常に特徴的な所見が得られた。T1強調画像矢状断では、小脳の著明な萎縮が明らかであった⁵⁾。T2強調画像冠状断では、小脳皮質の高信号を認められたが、脳脊髄液との区別のためFlair画像を同時に行うことが必要と思われた。一方、T2強調画像水平断では、小脳の萎縮を認めるが、小脳皮質の高信号は明らかではなかった。INADで時に認められるT2強調画像での淡着球・黒質・大脳白質の低信号は認められなかった^{6), 7)}。また、2症例とも退行以前に頭部MRIを施行しており、T2強調画像冠状断では、小脳皮質の萎縮と皮質の高信号を認めたが、水平断では、萎縮のみ認めた。小児の代謝・変性疾患の多くは小脳に病変があるにもかかわらず、MRI画像上ではINADで認めるような異常信号を小脳に認めず、本所見はINADに特異的な所見といえる。

BarlowらはINADの発症7ヶ月の症例でもすでに小脳のT2高信号を認めることを報告しており⁸⁾、INADでは小脳が最も早期から重度に変性すると推測していた。臨床的に小脳症状は著明であり、2症例とも退行が出現する前から頭部MRIで、萎縮・皮質の高信号と特徴的な所見を認めたことから、本症における小脳症状の重要性が示唆された。一方、過去の剖検例の報告によると、小脳ではINADに特徴的なspheroid bodyは散在、もしくはほとんど認められなかったとするものが多い^{9), 10), 11)}。共著者原による神奈川こども医療センターの剖検例の検討では、小脳皮質の病理学的所見は著明なブルキンエ細胞と顆粒細胞の脱落、グリオーシスであり、その程度は剖検時の年齢とは相関せず、低年齢児でも非常に著明なグリオーシスを認めた。また、spheroid bodyはごくわずかに認められるにすぎなかった。これは小脳の病変が早期から非常に強いため、神経細胞の変性、脱落がすでに高度に進行していたため、dystrophic axonも見出せなくなった可能性が示唆された。頭部MRIでの小脳萎縮・皮質の高信号は

このグリオーシスを反映していると考えられた。また、この所見を得るには冠状断が有用であったが、脳脊髄液との鑑別のため、Flair画像での比較検討が今後強く望まれる。

INADの病因は未だ不明であり、治療法も認められていない。組織所見の特徴のひとつとなるspheroidはINADに特徴的な所見ではない。ビタミンE欠乏にでもaxonの腫大が起こる。本症でのビタミンEの定量では対照との有意な差を認めず、血中ビタミンEを高値に維持しても臨床的には明らかな機能の改善はみられなかったと報告されている¹²⁾。両症例にはビタミンB1,B2,Eを投与して、表情が豊かになったと臨床的な改善を認めたが、定量的な評価は未施行であり、今後検討する予定である。

まとめ

INAD 2症例の臨床及び検査所見から、退行以前の血清AST,LDHの軽度上昇、筋緊張の低下、頭部MRIでの小脳萎縮とT2強調画像での小脳皮質の高信号が本症に特徴的な所見として注目された。T2強調画像での小脳皮質の高信号が、水平断では明らかではなく、冠状断が最も有用であったが、確定にはFlair画像での比較検討が望まれた。また、病理学的にも、小脳の病変は早期から顕著であると推察された。

謝 辞

中枢神経系の病理所見についてご指導をいただいた神奈川こども医療センター神経内科山下純正先生、また、 α -N-acetylgalactosaminidaseの測定をしていただきました鹿児島大学医学部付属病院皮膚科神田彰先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) Seitelberger F: Eine unbekannte Form von infantiler lipoid-speicher Krankheit des Gehirns. In: Proceedings of First International Congress of Neuropathology, vol.3, Turin: Rosenberg and Sellier, pp323-333, 1952
- 2) Cowen D, Olmstead EV: Infantile neuroaxonal

- dystrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 22: 175-236, 1963
- 3) 木村清次、岩本弘子、佐々木佳郎、ほか: Infantile neuroaxonal dystrophyの末梢神経所見. *脳と発達* 18: 8-13, 1986
 - 4) 小林康子: Infantile neuroaxonal dystrophy. *小児内科* 28増刊号: 760-762, 1996
 - 5) 石井光子、田辺雄三、後藤実千代、ほか: MRIが診断に有用であった infantile neuroaxonal dystrophyの1例. *脳と発達* 24: 491-493, 1992
 - 6) Nardocci N, Zorzi G, Farina L, *et al.*: Infantile neuroaxonal dystrophy. Clinical spectrum and diagnostic criteria. *Neurology* 52: 1472-1478, 1999
 - 7) Farina L, Nardocci N, Bruzzone MG, *et al.*: Infantile neuroaxonal dystrophy: neuroradiological studies in 11 patients. *Neuroradiology* 41: 376-380, 1999
 - 8) Barlow JK, Sims KB, Kolodny EH: Early cerebellar degeneration in twins with infantile neuroaxonal dystrophy. *Ann Neurol* 25: 413-415, 1989
 - 9) 山下純正、山田美智子、岩本弘子、ほか: Infantile neuroaxonal dystrophyにおける小脳の神経病理学的検討. 第39回日本神経病理学会, 1998
 - 10) Tanabe Y, Iai M, Ishii M, *et al.*: The use of magnetic resonance imaging in diagnosing infantile neuroaxonal dystrophy. *Neurology* 43: 110-113, 1993
 - 11) 伊東恭子、河合神二、西野昌光、ほか: 発症初期より経過を追えた infantile neuroaxonal dystrophyの兄弟例—臨床増像、画像診断、電気生理学的、病理学的所見について. *脳と発達* 24: 283-288, 1992
 - 12) 湯浅洗、横田清、満留昭久、ほか: Infantile neuroaxonal dystrophyの同胞例. *脳と発達* 5: 182-190, 1973

研 究 臨 床

第66回学術講演会(4)

小児の意識障害のみかた — Reye 症候群の剖検例より学ぶこと —

東京女子医科大学小児科 近田照己、舟塚 真、斎藤加代子、大澤真木子

1 はじめに

意識障害に陥る原因、疾患は多岐にわたり、臨床の場面では迅速かつ正確な鑑別診断と治療が要求される。成人では外傷以外には脳血管障害の頻度が高いが、小児では感染症、代謝異常症、薬物中毒、痙攣性疾患などが重要である。今回、喘息様気管支炎後にReye症候群を発症し、基礎疾患として脂肪酸代謝異常症が疑われた1剖検例を経験した。テオフィリン製剤の関与も否定できない。症例を提示し、問題点を検討した。また、小児の意識障害のみかたのポイントを概説した。

2 症例提示

(1) 症例

症例は3歳女児。健康な1歳の妹がいる。成長・発達に特に問題なし。気管支喘息、痙攣の既往なし。

(2) 現病歴

平成14年5月11日より喘息様気管支炎を発症し、テオフィリン製剤と鎮咳薬他(詳細不明)の内服をしていた。翌日発熱したが、解熱剤の内服はしていなかった。5月13日、7~8回の嘔吐があったが、意識は清明だった。14日16時49分、全身性強直性間代痙攣があり、他院にてジアゼパム、フェノバルビタール等使用したが、痙攣は消失せず、当院搬送となった。

(3) 入院時現症

体温41℃、意識レベルはJCS300で痛み刺激への反応はなし。また、瞳孔径は2~3mmで、左右差はなく、対光反射は消失していた。口唇は乾燥。項部硬直はなし。頻拍、多呼吸、喘鳴、呼吸延長を認めた。腹部は平坦で、ツルゴール低下。肝臓を1cm触知、脾臓は触知しなかった。皮膚所見なし。浮腫なし。深部腱反射は消失していた。

(4) 入院時検査所見

血算：WBC 10800/ μ l (好中球47%、リンパ球51%)、Hb 11.0g/dl、Plt 24.5万/ μ l。

凝固系：PT 13.5秒、APTT 50.3秒、Dダイマ— 5.04 μ g/ml、TAT 41.4ng/ml。

生化学：AST 140IU/l、ALT 48IU/l、LDH 976IU/l、BUN 16.9mg/dl、Cr 7.2mg/dl、Na 121mEq/l、C1 89mEq/l、Ca 7.2mWq/l、K 6.7mEq/l、CRP 1.09mg/dl、CK 273IU/l、尿酸 14.5mg/dl、NH₃ 147 μ g/dl、血糖 258mg/dl。

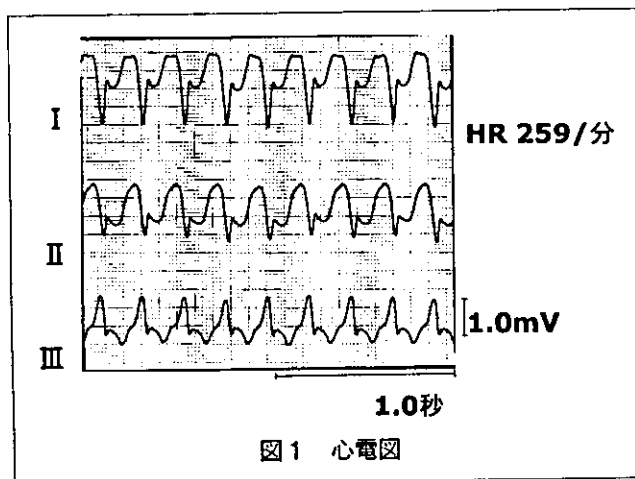
血液ガス分析(挿管、酸素投与下)：pH 7.317、PCO₂ 28.3mmHg、PO₂ 133.2mmHg、BE -9.5mmol/l、HCO₃⁻ 14.6mmHg。

Theophylline濃度：12.04 μ g/ml。

検尿：蛋白(1+)、糖(-)、潜血(-)、ケトン(3+)。

頭部CT：出血、梗塞はなし。明らかな浮腫もなし。

胸部Xp：CTR49%。明らかな肺炎像なし。



心電図：心拍数毎分259回、心室頻拍の所見。【図1】

(5) 入院後の検査所見の推移【図2】

AST、ALT、LDH、CKの急速な上昇が認められた。血糖は、入院時258mg/dlと高血糖であったが、その後、痙攣があったため、血糖測定したところ3.2%糖含有の補液を継続していたにも拘らず17mg/dlと低血糖を呈していた。グルコース静注後低血糖は補正された。アンモニアは軽度高値のままであった。血液ガスでは、乳酸値の上昇に伴う代謝性アシドーシスの高度な進行が認められた。

(6) 入院後経過

入院時、痙攣は約1時間10分持続していたが、チオペンタール100mg静注にておさまった。呼吸困難に対し、気管内挿管、酸素投与を行い、同時に、鎮静、痙攣予防のため、ミダゾラム0.2mg/kg/時の持続静注を開始した。アシドーシス補正のため重炭酸ナトリウム静注を、脳浮腫対策として、グリセオール点滴を施行した。19時20分、心室頻拍があり除細動を施行した。当初、テオフィリン関連痙攣を疑いテオフィリン血中濃度を測定したが、12.04 $\mu\text{g/dl}$ とやや高めながらも治療域だった。多呼吸、呼吸延長、喘鳴を認め、20時より人工呼吸器管理、プレドニゾン静注、アミノフィリン0.5mg/kg/時持

続点滴、イソプレテレンール持続吸入を開始した。髄液穿刺では、初圧8 cmH_2O 、細胞数3/3と髄膜炎は否定的だった。21時20分、低血糖による右眼瞼、右手の痙攣があったが、グルコース静注にて消失した。

その後、代謝性アシドーシスの進行、血中乳酸値の上昇、肝腫大が認められた。重炭酸ナトリウム持続静注、カルニチン、シクロ酢酸ナトリウムの投与、マンニトールの静注等によりアシドーシスの補

正、脳浮腫対策、高乳酸血症対策を行ったが、多臓器不全となり、翌朝5時32分、永眠された。

3 本症の臨床的特徴のまとめ

本症の臨床的特徴としては、感染症の先行、急激な発症、呼吸性喘鳴、初発の痙攣、頻脈、持続する意識障害、肝腫大の進行、ALT、ASTの急速な上昇、低血糖発作、代謝性アシドーシスの進行、乳酸値の上昇等が挙げられる。

臨床診断は、急性脳症 (Reye症候群)、気管支喘息、心室頻拍であった。

4 病理解剖

(1) マクロ所見

肝臓は670gと腫大し、黄白色変性、うっ血が

	18:00	21:00	22:50	0:40	3:00
AST (IU/l)	140			530	20,400
ALT (IU/l)	48			152	7,550
LD (IU/l)	976			4,017	39,050
CK (IU/l)	273				2,672
BS (mg/dl)	258	17	44	115	128
NH ₃ ($\mu\text{g/dl}$)	147			145	
Na (mEq/l)	121	124		131	
K (mEq/l)	6.7	4.5		3.1	
Ca (mg/dl)	7.2	7.0			
pH	7.32	7.31	7.29	7.26	7.17
PCO ₂ (mmHg)	28.3	19.4	23.1	24.4	20.4
BE (mmol/l)	-9.5	-16.6	-12.6	-13.4	-18.5
乳酸 (mmol/l)	2.2	4.7	7.4	9.8	13.6
(正常値0.6~2.4 mmol/l)					

図2 検査所見の推移

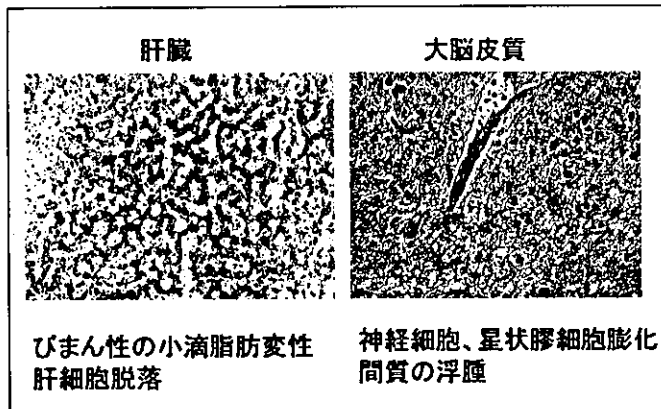


図3 病理

認められた。脳の重量は1340gと増加し、静脈怒張、脳溝狭小化が認められた。

(2) ミクロ所見

肝臓では、びまん性の小滴脂肪変性、肝細胞脱落が、大脳皮質では、神経細胞、星状膠細胞の膨化、間質の浮腫が認められ、典型的なReye症候群の所見だった。【図3】

ただし、骨髄では著しい低形成像が、脾臓ではリンパ濾胞胚中心に壊死物質が認められ、ウイルス感染または薬剤性による免疫抑制状態の可能性が示唆され、テオフィリン等の薬剤の関与も否定できなかった。

5 考察

(1) Reye症候群の原因

Reye症候群の原因としては一般的に、感染症、先天性代謝異常症、薬剤等が考えられている。

本症例では発熱を伴う喘息様気管支炎が先行し、何らかの感染症が疑われたが、ウイルス・サーベイランスでは、インフルエンザウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルスを含めすべて陰性で、特定の感染症は判明しなかった。そこで、脂肪酸代謝異常等の先天性代謝異常症の有無、テオフィリン製剤等の薬剤の関与について考察する。

(2) Reye症候群をきたす先天性代謝異常症

有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、尿素サ

イクル障害、ビルビン酸代謝障害、解糖系障害などがある。本例では、血中遊離脂肪酸分析で中鎖脂肪酸C10、極長鎖脂肪酸C14の特異的増加があり、脂肪酸代謝異常症が疑われた。中でも中鎖、極長鎖の2系統の異常があることから、多系統にわたる脱水素酵素障害が特徴であるグルタル酸尿症2型が疑われ、アシルカルニチン分析を並行して行った。結果として、遊離カルニチン、アセチル

カルニチンの著増は認められたが、アシルカルニチン・プロフィールとしての病的変化は認められず、グルタル酸尿症2型と確定するには至らなかった。他の代謝性疾患について尿中有機酸・アミノ酸分析をしたが、特に異常は認められなかった。

同時に、健康な同胞に同様な分析を行ったところ、血中遊離脂肪酸検査で、極長鎖脂肪酸C14の増加が認められた。姉妹例であり、グルタル酸尿症を含め、何らかの脂肪酸代謝異常症の存在が強く疑われた。

(3) グルタル酸尿症2型について⁽¹⁾⁽²⁾

グルタル酸尿症2型は、ミトコンドリアの複数の脱水素反応が同時に阻害される疾患である。病因は電子伝達フラビン蛋白(EFT)の α 、 β サブユニット、EFT脱水素酵素(EFTQO)の欠損の3つがある。

臨床病型としては、生後まもなく死亡する新生児型と遅発型があり、遅発型の症状としては、代謝性アシドーシス、肝腫大、低血糖、高アンモニア血症などの間欠的発作を来したり、Reye症候群様症状で発症することもある。

診断は、血中遊離脂肪酸、アシルカルニチン分析で複数の炭素鎖の遊離脂肪酸、アシルカルニチンの上昇があること、急性期の尿中有機酸分析でグルタル酸の上昇があること、酵素診断などがあ

表1 グラスゴー昏睡判定表(小児用) (Hahn YS, et al. 1988)

判定基準	程度	点数
開眼	自発的に	4
	音に対して	3
	痛みに対して	2
言語	開眼せず	1
	年齢相当の発語、音に反応、固視と追視、笑み	5
	泣くがなだめられる	4
	不穏、協調できず、周囲には関心あり	3
	不穏、泣き続ける、なだめることが困難	2
運動	なだめられない啼泣、周囲や両親に無関心	2
	不眠、興奮状態	1
	発語なし	1
	命令に従う、自発的な動き	6
	疼痛部の位置がわかる	5
	逃避反応あり	4
	痛みに対する異常屈曲反応	3
	痛みに対する異常伸展反応	2
動きなし	1	

人と同様にはできない。そこで、坂本らによる乳児用に改定された判定方法⁽⁶⁾や、【表1】に示すようにグラスゴーの小児用昏睡判定法⁽⁷⁾を参考に意識障害の程度を正確に判定する必要がある。

小児には、事故に遭遇しやすい、免疫力が弱い、恒常性を保てない、脱水症に陥りやすいなどの特徴がある。

そのため、小児の意識

障害の原因としては、外傷以外では、①感染症(脳炎、髄膜炎など)、②代謝異常症(低血糖、電解質異常症、Reye症候群など)、③薬物中毒(抗痙攣剤、テオフィリン製剤など)、④神経疾患(てんかん、熱性痙攣)等が成人に比して多い。その他、もやもや病、脳腫瘍、熱中症、気管支喘息大発作、急性喉頭蓋炎、不整脈、虐待なども重要である。

(4) テオフィリン関連痙攣・脳症の可能性

本症例では、来院時、心室頻拍があり、テオフィリン痙攣が疑われたが血中濃度はいわゆる治療域であった。しかし、病理所見では骨髄・脾臓の免疫抑制状態が認められ、ウイルスもしくは薬剤の関与が疑われた。我々が調べた範囲では、テオフィリンによるReye症候群の報告はなかった。

しかし、テオフィリン血中濃度が治療域であっても、何らかの神経学的異常が基礎にある場合に急性脳症をきたすこともある⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾。テオフィリン関連脳症の可能性も充分考えられるが、Reye症候群様症状も同時に呈した報告は過去になく、テオフィリン関連と考えると本症例が初めての報告となる。

(5) 小児の意識障害のみかた

小児では、会話能力や知的発達の問題で、軽微な意識障害の判定が大

問診のポイントを【図4】に示す。来院状況、家族の態度などから虐待が疑われることもある。

問診のポイント

- 1: 家族歴
てんかん、熱性けいれんなどの神経疾患や突然死の有無
- 2: 既往歴
基礎疾患
(神経、循環器、呼吸器、内分泌・代謝、肝、腎、精神
消化器など)
薬物常用の有無
- 3: 現病歴
最近の外傷、感染症、予防接種の有無
感染症の流行状況
発症のしかた(突発的、急性、亜急性、再発性など)
前駆症状(頭痛、嘔吐、けいれん、発熱など)
来院状況、家族の態度

図4

治療では、①初期治療としての、気道確保、血管確保と補液、薬物投与（昇圧剤、アシドーシス・電解質・血糖補正等）などが特に重要である。並行して、②脳圧降下剤、過換気などの脳浮腫対策、③痙攣対策、④原疾患対策等を行っていく。最近、⑤脳低体温療法を積極的に行う施設もある。

6 おわりに

診断確定には至らなかったが、遊離脂肪酸分析で2系統の炭素鎖脂肪酸の上昇があり、本症例ではグルタル酸尿症を含めた脂肪酸代謝異常症が強く疑われた。今後、健康同胞に発症前の酵素診断をするべきか否かが検討課題である。臨床の場面においては代謝異常の存在は推測し得ないことも多いと思われるが、小児の意識障害の場合には、後に代謝異常症の有無等を検査できるように急性期の血液、尿等の検体を保存しておく必要が高いと思われる。また、発熱、意識障害を伴う乳幼児においては、テオフィリン製剤等の使用に際し、慎重を期する必要があることをあらためて強調したい。本症例では、人工呼吸管理後も閉塞性呼吸障害が改善されず、アミノフィリン持続点滴を継続して行ったが、このことがReye症候群の病態をさらに増悪させた可能性もあり、反省すべき点であった。

参考文献

1. 山口清次, 日本臨床別冊先天異常症候群 辞典 (上巻): 108-110, 2001.
2. Frerman FE, Goodman SI: Nuclear-encoded defects of the mitochondrial chain, including glutaric acidemia type II. In: The Metabolic Molecular Basis of Inherited Metabolic Disease 7th ed: 1611-1629, McGraw-Hill, New York, 1995.
3. 佐野正, 岩田厚司, 立木秀樹他, 日本小児アレルギー学会誌11- 2: 51-57, 1997.
4. 平野幸子, 小児科35: 1385-1391, 1994.
5. 平野幸子, 兼松幸子, 林北見ほか, 小児アレルギー会誌 7: 227-228, 1993.
6. 坂本吉正, 小児の意識障害、小児神経診断学, 金原出版 pp33-54, 1978
7. Hahn YS et al.: Impairment of consciousness and coma. In Swaiman KF et al. (eds): Pediatric Neurology Principles and Practice, 3rd ed, Mosby, St. Louis, pp861-872, 1999.



Mutations in *EFHC1* cause juvenile myoclonic epilepsy

Toshimitsu Suzuki^{1,2,12}, Antonio V Delgado-Escueta³, Kripamoy Aguan^{1,12}, Maria E Alonso⁴, Jun Shi¹, Yuji Hara^{5,6}, Motohiro Nishida^{5,6}, Tomohiro Numata⁵, Marco T Medina^{3,7}, Tamaki Takeuchi¹, Ryoji Morita¹, Dongsheng Bai³, Subramaniam Ganesh¹, Yoshihisa Sugimoto¹, Johji Inazawa², Julia N Bailey^{3,8}, Adriana Ochoa⁴, Aurelio Jara-Prado⁴, Astrid Rasmussen⁴, Jaime Ramos-Peek⁴, Sergio Cordova⁴, Francisco Rubio-Donnadieu⁴, Yushi Inoue⁹, Makiko Osawa¹⁰, Sunao Kaneko¹¹, Hirokazu Oguni¹⁰, Yasuo Mori^{5,6} & Kazuhiro Yamakawa¹

Juvenile myoclonic epilepsy (JME) is the most frequent cause of hereditary grand mal seizures^{1,2}. We previously mapped and narrowed a region associated with JME on chromosome 6p12–p11 (*EJM1*)^{3–5}. Here, we describe a new gene in this region, *EFHC1*, which encodes a protein with an EF-hand motif. Mutation analyses identified five missense mutations in *EFHC1* that cosegregated with epilepsy or EEG polyspike wave in affected members of six unrelated families with JME and did not occur in 382 control individuals. Overexpression of *EFHC1* in mouse hippocampal primary culture neurons induced apoptosis that was significantly lowered by the mutations. Apoptosis was specifically suppressed by SNX-482, an antagonist of R-type voltage-dependent Ca²⁺ channel (Ca_v2.3). *EFHC1* and Ca_v2.3 immunomaterials overlapped in mouse brain, and *EFHC1* coimmunoprecipitated with the Ca_v2.3 C terminus. In patch-clamp analysis, *EFHC1* specifically increased R-type Ca²⁺ currents that were reversed by the mutations associated with JME.

Two separate regions of the short arm of chromosome 6, 6p21.3 and jp12–p11, are proposed to be associated with JME. In the 6p21.3–HLA region^{6,7}, two single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in *BRD2* were in linkage disequilibrium with JME, although no causative coding mutations were found⁸. In contrast, families with JME from Belize, Los Angeles^{3,4} and Mexico⁵ showed significantly high lod scores at the 6p12–p11 locus but exclusionary lod scores at 6p21.3. An independent study of Dutch families with JME confirmed that 6p12–p11 is associated with JME⁹.

We identified 18 genes in the narrowed 3.5-cM region at 6p12–p11 (ref. 5) and excluded all of them except *EFHC1* from association with JME by mutation analyses (ref. 10 and T.S. *et al.*, unpublished data). *EFHC1* is located between the markers *D6S1960* and *D6S1024* (data

not shown), spans ~72 kb and encodes a protein of 640 amino acids (Supplementary Fig. 1 online). A domain search identified three DM10 domains, a motif with unknown function and an EF hand, a Ca²⁺ binding motif¹¹ (Fig. 1a). *EFHC1* transcripts undergo alternative splicing in exon 4, resulting in a C-terminally truncated protein (Supplementary Fig. 1 online and Fig. 1b). Northern-blot analysis confirmed that both transcripts were expressed in various human tissues, including brain (Fig. 1c), but not in lymphocytes, as confirmed by RT-PCR (data not shown). We also identified a partial cDNA clone that corresponded to the 7-kb and 9-kb transcripts observed on northern blots. These longer transcripts could contain structures of transcript B with its extended 3' untranslated region, as they were detected by probes 2 and 4 (Fig. 1b,c).

We also isolated a mouse ortholog of *EFHC1*, named *Efhc1*, and investigated its expression by RT-PCR and northern-blot analyses (Supplementary Fig. 2 online). A 2.3-kb *Efhc1* transcript appeared on northern blots, but the analyses detected almost none of the larger transcripts that were observed in humans. We raised a polyclonal antibody to *EFHC1* that recognizes amino acid residues 522–533 of both human and murine *EFHC1* proteins (Supplementary Fig. 2 online) and investigated their expression (Fig. 1d–i). Double-staining of mouse primary culture neurons with the antibody to *EFHC1* and antibodies to MAP2 (dendrite marker) or to phosphorylated neurofilament (axon marker) showed that *Efhc1* localized at soma and dendrites of neurons (Fig. 1d–f), but the *Efhc1* signal was not observed at axons (data not shown). Immunohistochemistry of mouse brain sections showed *Efhc1* signals in soma and dendrites of pyramidal neurons of the hippocampal CA1 region (Fig. 1g), pyramidal neurons of the cerebral cortex (Fig. 1h) and Purkinje cells of cerebellum (Fig. 1i).

We carried out mutation analyses of *EFHC1* in 44 families with JME (31 Mexican families⁵, 1 family from Belize and 12 European

¹Laboratory for Neurogenetics, RIKEN Brain Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako-shi, Saitama, 351-0198, Japan. ²Department of Molecular Cytogenetics, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan. ³Epilepsy Genetics/Genomics Laboratories, Comprehensive Epilepsy Program, David Geffen School of Medicine at UCLA and VA GLAHS-West Los Angeles, Room 3405 (127B), Building 500, West Los Angeles DVA Medical Center, 11301 Wilshire Boulevard, Los Angeles, California 90073, USA. ⁴National Institute of Neurology and Neurosurgery, Mexico City, Mexico. ⁵Center for Integrative Bioscience, The Graduate University for Advanced Studies, Okazaki, Japan. ⁶Graduate School of Engineering, Kyoto University, Kyoto, Japan. ⁷National Autonomous University, Tegucigalpa, Honduras. ⁸Neuropsychiatric Institute, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, California, USA. ⁹National Epilepsy Center, Shizuoka Medical Institute of Neurological Disorders, Shizuoka, Japan. ¹⁰Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan. ¹¹Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Hiroshima University, Aomori, Japan. ¹²These authors contributed equally to this work. Correspondence should be addressed to K.Y. (yamakawa@brain.riken.go.jp) or A.V.D.E. (escueta@ucla.edu).

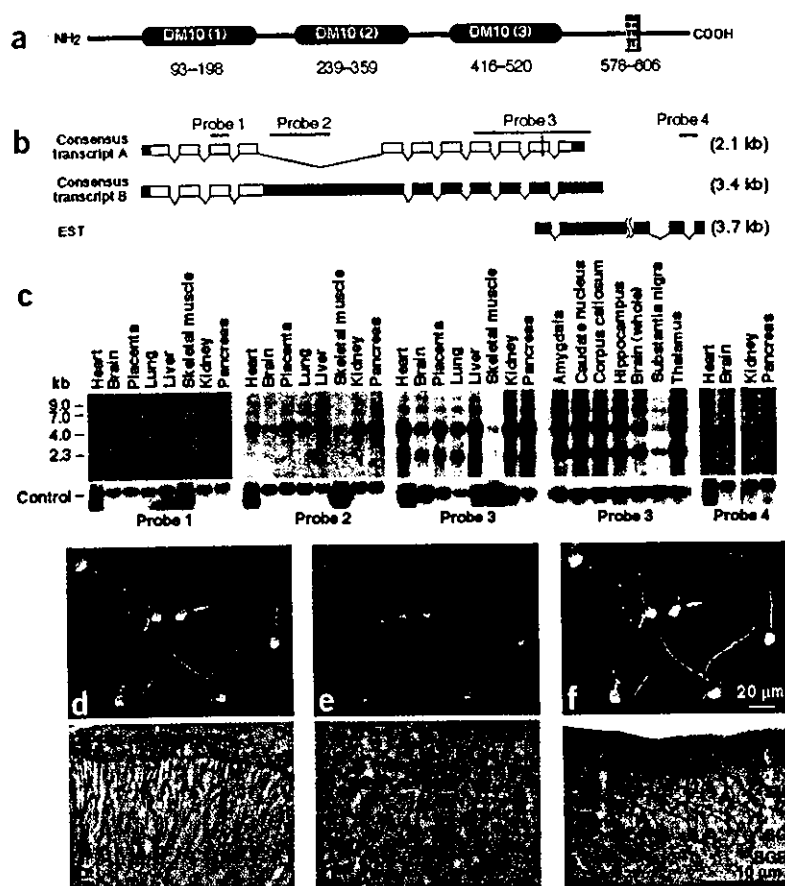


Figure 1 Structure and expression of *EFHC1*. (a) Schematic diagram of *EFHC1* protein (encoded by transcript A). (b) Schematic diagrams of the *EFHC1* isoforms consensus transcript A, transcript B and an EST clone. Coding regions are shown as open boxes and presumptive untranslated regions as filled boxes. The vertical line in transcript A indicates the EF-hand domain. Relative positions of the probes used for the northern-blot analyses are shown on the top. Probe 2 is specific for transcript B. (c) Northern-blot analyses of *EFHC1* in human adult tissues using probes 1, 2, 3 and 4. Signals obtained for control *ACTB* (for probes 1, 2 and 4) or *GAPD* (for probe 3) probes are shown. (d-f) Hippocampal primary culture neurons (6 d *in vitro*) from E16 mouse embryos were double-stained with antibodies to *EFHC1* (d) and to *MAP2* (e). Signals of *Efhc1* and *MAP2* mostly overlap (f). (g-i) Sections of adult mouse brain were stained with antibody to *EFHC1*. (g) Hippocampal CA1 region. Soma and dendrites of pyramidal neurons show signals. O, stratum oriens; P, stratum pyramidale; R, stratum radiatum. (h) Layer III of cerebral cortex. Soma and dendrites of neurons show signals (arrows). (i) Cerebellum. Dendrites of Purkinje cells show intense signals (arrowheads). SG, stratum gangiosum; SGR, stratum granulosum; SM, stratum moleculare. Results of control stainings with preimmune rabbit serum or serum preabsorbed with *EFHC1* peptide are shown in **Supplementary Figure 2** online.

American families^{3,4}; Fig. 2a,b) and detected three heterozygous mutations (685T→C, 628G→A and 757G→T, resulting in the amino acid substitutions F229L, D210N and D253Y, respectively) and one double heterozygous mutation (229C→A and 662G→A, resulting in the amino acid substitutions P77T and R221H, respectively) among all 21 affected members of 6 unrelated families (Fig. 2a). The mutations cosegregated with disease symptoms in 13 individuals with epilepsy and 8 individuals with polyspike wave in six Mexican families with JME. Of these 13 individuals with epilepsy, 10 had JME and 3 had grand mal only. Of the 10 individuals with JME, 3 also had rare absence seizures and one had rare absence seizures in clusters. Pyknoleptic absence seizures as the only phenotype was not observed in any affected member³. Several family members with mutations (individual I-1 in family 1; individual II-1 in family 2; individuals II-2, II-3 and II-6 in family 4; and individual II-3 in family 5) did not have clinical epilepsy or polyspike waves, indicating that the mutations had 78% (21 of 27) penetrance^{3,4}. These mutations were not observed in 382 unrelated healthy controls, implying that they are not neutral polymorphisms. Haplotype analysis suggested that there was a founder effect for a 640-kb region surrounding the double heterozygous mutations (Fig. 2c). Four of these mutations affected residues conserved among *EFHC1* orthologs (Supplementary Fig. 1 online). We also detected three coding (457C→T, 545G→A and 1855A→C, resulting in the amino acid substitutions R159W, R182H and I619L, respectively) and several noncoding polymorphisms in both affected and control individuals. The frequencies of these coding polymorphisms were 16% (5 of 31), 19% (6 of 31) and 10% (3 of 31), respectively, in probands of the 31 Mexican families with JME and 14% (29 of 209), 11% (23 of 213) and 5% (10 of 208), respectively, in the gen-

eral population. The frequencies were higher in individuals with JME, but the differences were not statistically significant ($P = 0.78, 0.22$ and 0.38 , respectively). A large three-generation family from Belize⁴ carried the variant 545G→A (resulting in the amino acid substitution R182H), which cosegregated with JME in 11 affected members (Fig. 2b) with 65% (11 of 17) penetrance. The variant I619L segregated with JME in affected individuals of three other families. We regrouped the families into those with and without *EFHC1* mutations and recalculated lod scores separately but did not find any significant differences between scores of the two groups (data not shown).

To investigate the functional significance of *EFHC1* and its mutants in neurons, we transfected mouse hippocampal primary culture neurons with enhanced green fluorescent protein (EGFP)-*EFHC1* expression constructs (Fig. 3a-i). *EFHC1*-positive neurons had shorter neurites and fewer branches 16 h after transfection (Fig. 3b) and showed signs of neurodegeneration and cell death, including shrinkage of the cell body and fragmentation of processes 48 h after transfection (Fig. 3d), whereas control cultures seemed to be healthy (Fig. 3c). Cells transfected with *EFHC1* were TUNEL-positive, indicative of apoptosis (Fig. 3e-g). Next, we investigated the effects of *EFHC1* mutations on cell survival by counting GFP-positive surviving cells attached to the dishes at various time points, irrespective of cellular morphologies. The cell-death effect of *EFHC1* was substantially reduced by any of the five mutations associated with JME and by the double mutation 229C→A and 662G→A. In contrast, the three coding polymorphisms that were also present in the control population did not affect cell death considerably (Fig. 3h). Although the numbers of surviving cells transfected with mutations associated with JME seemed close to that of