

図2 マルチプレックス・リアルタイムPCR法と  
単独リアルタイムPCR法との相関

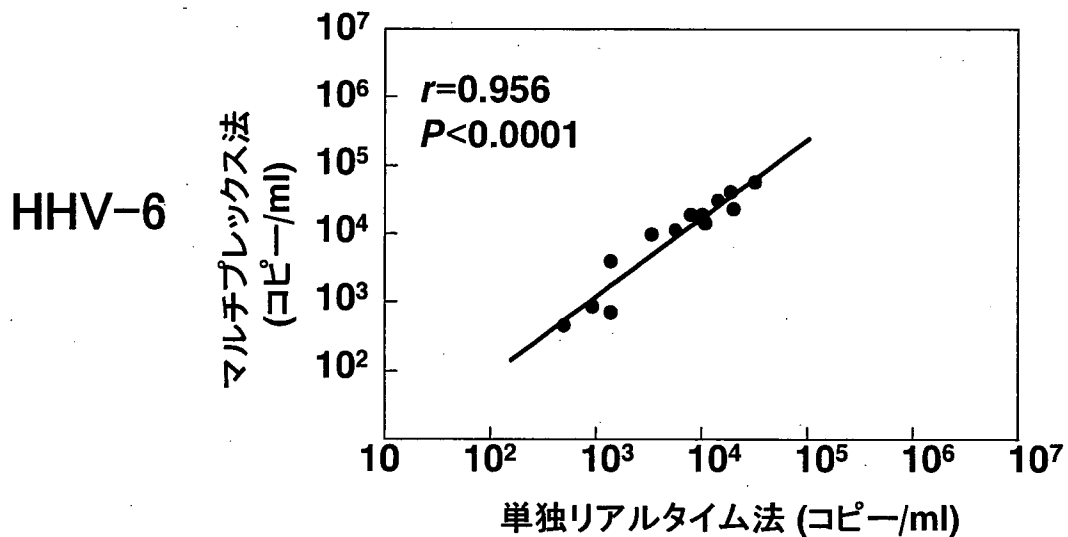
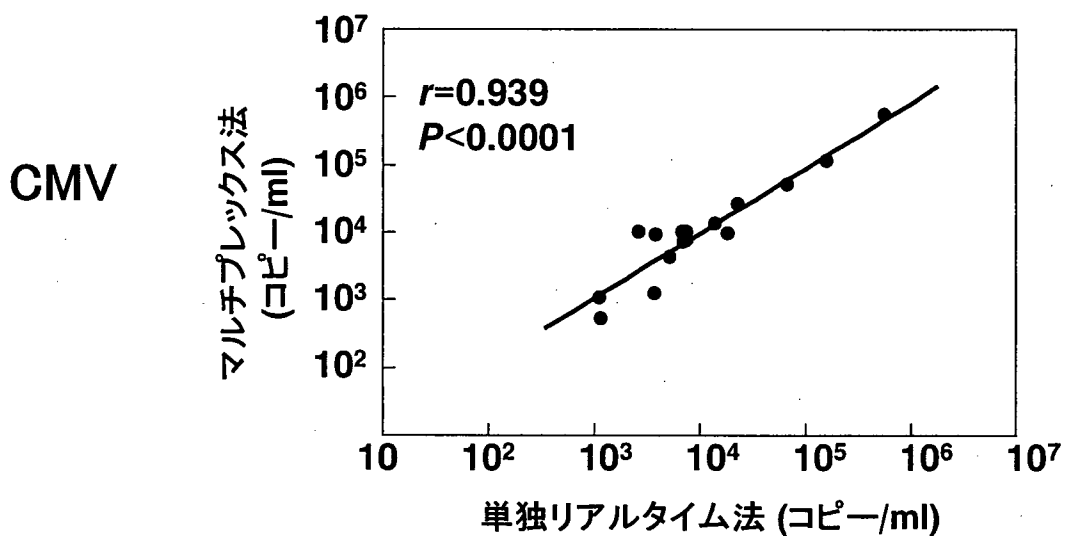
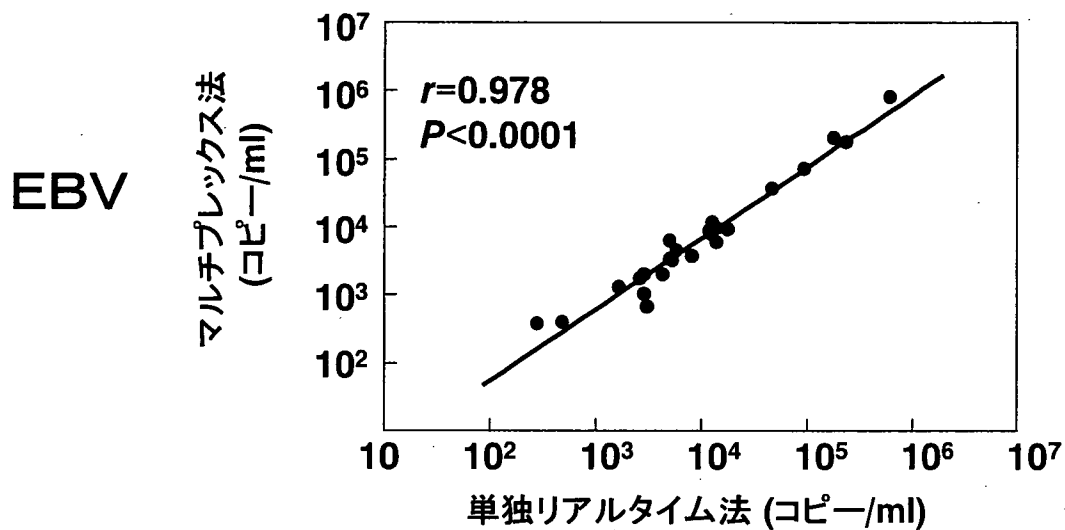
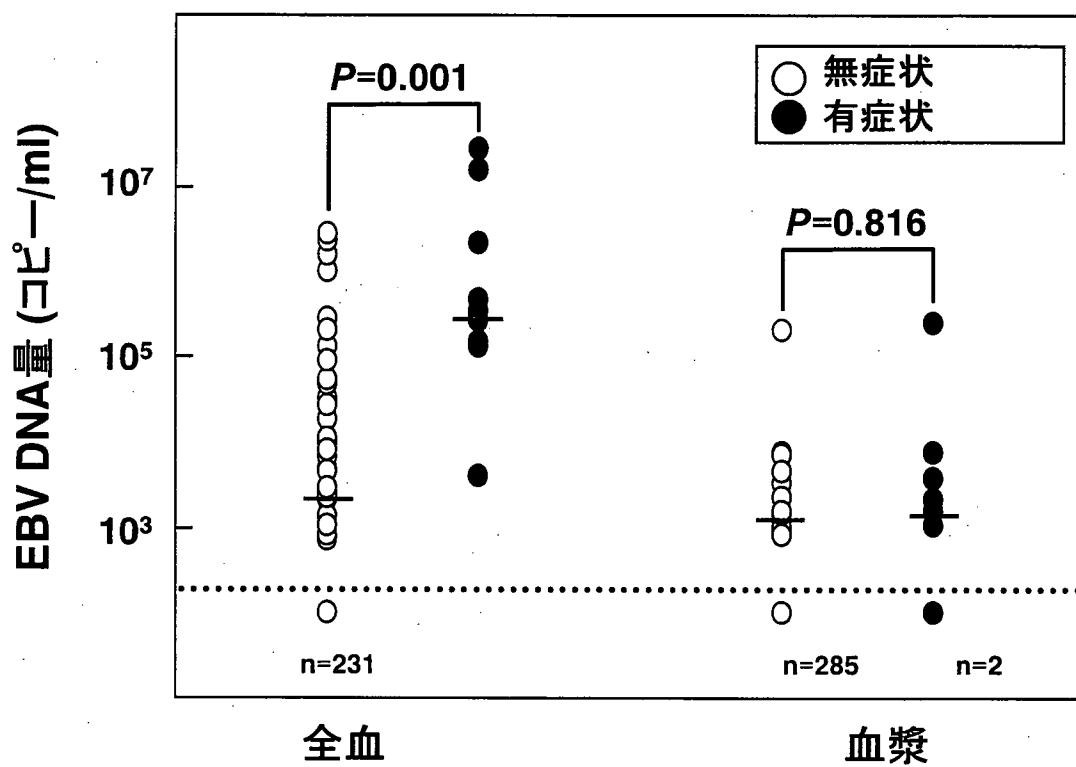


図3 マルチプレックス・リアルタイムPCR法によるEBV DNA  
 量  
 全血と血漿の比較



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

マイクロアレイを用いたインフルエンザ脳症発症に関連する  
遺伝子の探索に関する研究

分担研究者 伊藤 嘉規 名古屋大学医学部小児科学  
研究協力者 木村 宏 名古屋大学医学部ウイルス学

**研究要旨** マイクロアレイを用いてインフルエンザ脳症発症に関連する遺伝子の探索を網羅的に行った。今回は、熱性痙攣を合併したインフルエンザ症例（熱性痙攣群、5例）において発症に関連する遺伝子の検索した。約 17,000 の遺伝子発現について、合併症のないインフルエンザ群（対照群、4例）と比較した結果、熱性痙攣群では、22 の遺伝子の発現が増強し、5 つの遺伝子の発現が減弱していた。増強あるいは減弱した遺伝子群には、脂質代謝や細胞内輸送、シグナル伝達に関する分子などが含まれていた。マイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析はインフルエンザ脳症の病態解明に有用な手段となり得ることが示唆された。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症の発症にはウイルス感染を契機に大量に分泌された interleukin-6 (IL-6), および tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) などの炎症性サイトカインの関与が示唆されている。例えば、本症の患者末梢血ではこれら炎症性サイトカイン遺伝子の高発現が認められる。すなわち、脳症の発症には、ウイルスの増殖よりもむしろウイルスに対する生体の過剰な免疫反応が関与している可能性がある。

しかし、インフルエンザに罹患したすべての個体が脳症を生じるわけではないこと、必ずしもウイルスに対して抵抗力の弱い者

が発症するわけではないこと、我が国に報告が集中していることなど、など、インフルエンザ脳症の発症病理については未だ不明な点が多く、そこに遺伝的素因の関与が疑われてきた。

私共は、インフルエンザ脳症の発症機序や重症化に関わる遺伝的背景・遺伝子異常を明らかにするために、マイクロアレイ法を用いた網羅的遺伝子解析の基礎的検討を行ってきた。同法を用いることで、今まで検討課題と考えられなかった遺伝子の関与が明らかになるかもしれない。今回は、インフルエンザ熱性痙攣患者および中枢神経系合併症のないインフルエンザの患者の末梢血を用い、マイクロアレイ法により、網

羅的遺伝子解析を行い患者群間の遺伝子発現を比較した。

## B. 研究方法

対象は熱性痙攣患者 5 例、中枢神経系合併症のないインフルエンザ 4 例、計 9 例とした。臨床検体の使用にあたり、ドナーの承諾を得た。

遺伝子発現解析は以下の手順で行った。

1. インフルエンザ患者から急性期に採血。
2. PAX gene Blood RNA Kit (QIAGEN) を用い RNA を抽出。
3. 抽出した RNA をそれぞれ 400 ng 使用し Low RNA Input リニア増幅・ラベル化キット (Agilent Technologies) を用い cDNA の合成、ラベル化 cRNA の合成を行った。急性期を Cyanine 3-dCTP でラベル化した。
4. ラベル化 cRNA 各 1 $\mu$ g を In Situ Hybridization Kit (Agilent Technologies) を使用し、マイクロアレイ (Human 1A Oligo Microarray, Agilent Technologies; 17,086 遺伝子を搭載) に 60°C で 17 時間ハイブリダイゼーションさせた。
5. アレイを洗浄した後 DNA Microarray Scanner (Agilent Technologies) で読みとった。読みとったマイクロアレイの発現情報を Feature Extraction (Agilent Technologies) で解析した。
6. 発現情報から、各遺伝子について Z score を算出した。遺伝子 A の熱性痙攣群における Z score の計算式;  $Z \text{ score} = (A \text{ の発現強度} - \text{熱性痙攣時のすべての遺伝子の平均発現強度}) / \text{熱性痙攣時のすべての遺伝子の平均発現強度の標準偏差}$

の平均発現強度) / 熱性痙攣時のすべての遺伝子の平均発現強度の標準偏差

## C. 研究結果

インフルエンザ患者 9 例 (熱性痙攣 5 例、合併症なし 4 例) を対象に急性期検体として発症後 (発熱後) 平均 1.1 日目の血液を採取した。全血より RNA 抽出、cDNA 合成後、インフルエンザ小児例における遺伝子の発現について、マイクロアレイを用いて網羅的解析を行った。

- 1) 熱性痙攣群と対照群とを比較したところ、熱性痙攣群では、22 の遺伝子の発現が増強し、7 つの遺伝子が減弱していた (図 1)。
- 2) これらの遺伝子を機能別に分類したところ、発現が増強あるいは減弱した遺伝子群には、脂質代謝や細胞内輸送、シグナル伝達に関する分子などが含まれていた。(表 1)。

## D. 考察

インフルエンザ脳症の発症機序については未だ不明な点が多いが、サイトカインを介した炎症反応の亢進や血管内皮細胞の障害に引き続いた多臓器不全が示唆されてきた。私共は、定量的 RT-PCR 法を用い、インフルエンザ脳症患者の末梢血中において、炎症性サイトカインである IL-6 および TNF  $\alpha$  遺伝子の高発現が見られることを報告してきた。これらのことは、脳症では systemic に活性化 T 細胞やマクロファージなどの免疫担当細胞が活性化していることを示している。また、熱性痙攣群でも末梢血中の TNF

$\alpha$ の発現が亢進していることも明らかにし、インフルエンザ脳症と熱性痙攣の間には連続した発症病理が存在すると考えられた。

このように定量的 RT-PCR 法は鋭敏かつ再現性の高い優れた手法であるが、解析する遺伝子数の数に限りがあり、関連を予想した特定の遺伝子のみの解析しかできないこと、相互の関連がわかりにくいなどの欠点があった。

マイクロアレイ法は従来の遺伝子発現解析法と比べ、以下の様な有利な点がある。

多数の遺伝子を解析できるため、いままで思いもよらなかった遺伝子の関与を発見できる可能性がある。

発現の亢進に留まらず、発現減弱もとらえることができる。

単一遺伝子の発現のみならずクラスター解析を行うことで、遺伝子群、経路の活性化・抑制を見いだすことができる。

今回私共は、熱性痙攣を伴ったインフルエンザ患者を対象とし、マイクロアレイ法による患者末梢血中の遺伝子発現解析を行った。熱性痙攣群では、対照群に比べ、22の遺伝子の発現が増強していた。発現増強していた遺伝子の中で、いくつかのものはインフルエンザ関連中枢神経合併症と関連している可能性があり興味を持たれる。今後これらの遺伝子について、定量的 RT-PCR 法や蛋白レベルの解析で発現を確認すべきと考えられる。

マイクロアレイ法によって得られた知見は、本症の発症・重症化機序の解明に役立つばかりか、その遺伝子発現を定量するこ

とにより、脳症の早期診断に応用できるかもしれない。

## E. 結論

インフルエンザ患者を対象にマイクロアレイ法による患者末梢血中の遺伝子発現解析を行った。同法による網羅的遺伝子発現解析はインフルエンザ脳症の発症機序・重症化の解明および早期診断法開発に有用と考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ito Y, Kondo E, Demachi-Okamura A, Akatsuka Y, Tsujimura K, Tanimoto M, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K. Three immunoproteasome-associated subunits cooperatively generate a CTL epitope of the EBV-LMP2A by overcoming specific structures resistant to epitope liberation. *J Virol* 80: 883-890, 2006
- 2) Demachi-Okamura A, Ito Y, Akatsuka Y, Tsujimura K, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K. Induction of Epstein-Barr virus (EBV)-encoded latent membrane protein 1-specific cytotoxic T lymphocytes with mRNA-transduced antigen presenting cells targeting EBV-carrying natural killer cell malignancies. *Eur J Immunol*, 36:593-602, 2006
- 3) Tsujimura K, Obata Y, Matsudaira Y, Nishida K, Akatsuka Y, Ito Y,

Demachi-Okamura A, Kuzushima K, Takahashi T. Characterization of murine CD160+ CD8+ T lymphocytes. *Immunol Lett*, 2006 15;106(1):48-56, 2006

4) Kawada J, Kimura H, Kamachi Y, Nishikawa K, Taniguchi M, Nagaoka K, Kurahashi H, Kojima S, Morishima T. Analysis of gene-expression profiles by oligonucleotides microarray in children with influenza. *J Gen Virol*, 87;1677-1683, 2006

5) Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Kawashima H, Okuno T, Morishima T. Absence of Associations between Influenza-Associated Encephalopathy and Human Herpesvirus 6 or Human Herpesvirus 7. *Pediatr Infect Dis J*, 22:115-119, 2005

6) Kimura H, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J, Ito Y, Morishima T, Yoshikawa T, Asano Y. Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR. *Med Microbiol Immunol* 194:181-5, 2005

7) 伊藤嘉規. EB ウイルス: ウイルス関連疾患とリアルタイム PCR 法の応用 *VIRUS REPORT* 3:109-116, 2006

8) 伊藤嘉規. HIV とヘルペスウイルス *日本臨床* 64 Suppl (3):594-597, 2006

## 2. 学会発表

1) Ito Y, Demachi-Okamura A, Kuzushima K,

Full-Length EBNA1-mRNA-transduced dendritic cells stimulate CTLs recognizing a novel HLA-Cw\*0303 and Cw\*0304-restricted epitope on EBNA1-expressing cells. 31st International Herpesvirus Workshop, Seattle, 2006. 7. 22-28

2) 伊藤嘉規、木村宏、Multiplex real-time PCR 法による EBV, CMV および HHV-6 同時検出システムの確立、第 38 回日本小児感染症学会、高知、2006. 11. 10-11

3) 和田かおる、伊藤嘉規、吉川哲史、西山幸廣、木村宏、ワークショップ「ウイルス同定・診断法の新規開発」Multiplex real-time PCR 法による EBV、CMV、HHV-6 のウイルス DNA 同時検出システムの確立、第 54 回日本ウイルス学会学術集会 2006. 11. 19. 名古屋

4) 木村宏、川田潤一、西川和夫、森島恒雄、インフルエンザ感染に伴う神経合併症例のマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子解析、第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005. 11. 20-22

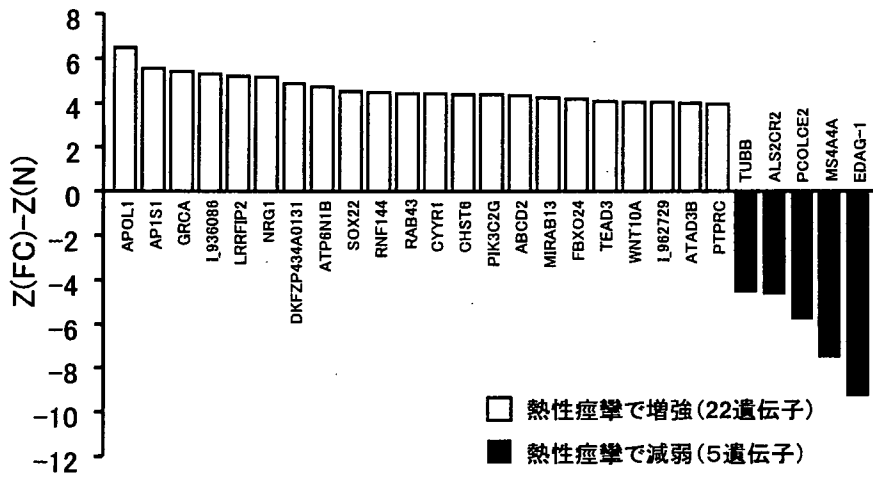
## G. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得  
特になし

2. 実用新案登録  
特になし

3. その他  
特になし

(図1) 熱性痙攣患者での発現／減弱遺伝子



(表1) 熱性痙攣患者での発現／減弱遺伝子の定義一覧

Z (FC) - Z (N)	GenBank accession no.	Gene symbol	Gene name	Gene ontology (biological process)
<b>Upregulated genes</b>				
6.50	NM_145344	APOL1	Apolipoprotein L	Lipid metabolism
5.53	NM_057089	AP1S1	Adaptor protein complex 1 sigma 1 subunit	Endocytosis; intracellular protein transport
5.39	NM_019858	GRCA	Gene-rich cluster, A gene	G-protein-coupled receptor protein signalling pathway
5.32	AB065742	OR5M1	Olfactory receptor, family 5, subfamily M, member 1	Signal transduction
5.21	NM_006309	LRRFIP2	Leucine-rich repeat- (in FLII) interacting protein 2	Unclassified
5.13	NM_013956	NRG1	Neuregulin 1	Cell differentiation; embryonic development; neurogenesis
4.84	NM_018991	DKFZP434A0131	DKFZP434A0131 protein	Unclassified
4.69	NM_020632	ATP6N1B	ATPase (H <sup>+</sup> transporting) lysosomal V0 subunit A isoform 4	Proton transport; regulation of pH
4.50	NM_006943	SOX22	SRY (sex-determining region Y)-box 22	Regulation of transcription from Pol II promoter
4.48	NM_014746	RNF144	Ring-finger protein 144	Protein ubiquitination
4.42	AY166852	RAB41	RAB41, member RAS oncogene family	Intracellular protein transport; small GTPase-mediated signal transduction
4.42	NM_052954	CYYR1	Cysteine- and tyrosine-rich 1	Biological process unknown
4.36	NM_021615	CHST6	Carbohydrate sulfotransferase 6	N-Acetylglucosamine metabolism
4.35	NM_004570	PIK3C2G	Class II phosphoinositide-3-kinase gamma	Intracellular signalling cascade
4.32	NM_005164	ABCD2	ATP-binding cassette, subfamily D (ALD), member 2	Fatty acid metabolism; transport
4.23	NM_033386	MIRAB13	Molecule interacting with Rab13	Vesicle mediated transport
4.19	NM_033506	FBXO24	Protein containing an F-box domain	Protein ubiquitination
4.09	NM_003214	TEAD3	TEA domain family member 3	Regulation of transcription, DNA-dependent
4.01	NM_025216	WNT10A	Wingless-type MMTV integration site family member 10a	Development; frizzled-2 signalling pathway
4.01	NM_025152	NUBPL	Nucleotide-binding protein-like	Unclassified
4.00	NM_031921	ATAD3B	ATPase family, AAA domain-containing 3B	Cell division
3.94	NM_080923	PTPRC	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, C	Cell-surface receptor-linked signal transduction; protein amino acid dephosphorylation
<b>Downregulated genes</b>				
-9.24	NM_018437	HEMGN	Haemogen	Signal transduction
-7.50	NM_024021	MSHA4A	Membrane-spanning 4-domain subfamily A member 4A	Signal transduction
-5.80	NM_013363	PCOLCE2	Procollagen C-endopeptidase enhancer 2	Transport
-4.64	NM_018571	ALS2CR2	Amyotrophic lateral sclerosis 2 chromosome region candidate 2	Protein amino acid phosphorylation
-4.56	NM_001069	TUBB	Tubulin, beta polypeptide	Microtubule polymerization; microtubule-based movement; natural killer cell-mediated cytotoxicity

Z scoreは方法に記載した方法で計算。>3.92あるいは<-3.92を有意と判定。



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

けいれん重積型急性脳症のサイトカイン解析に関する研究

分担研究者 市山高志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野・講師

研究要旨

【目的】けいれん重積型急性脳症の病態はいまだ明らかでない。本症の病態を血清および髄液サイトカイン解析の面から検討したので報告する。【方法】対象は痙攣重積型急性脳症 13 例。男児 3 例、女児 10 例、年齢 7 か月～2 歳（中央値 1.5 歳）。痙攣重積型急性脳症の定義は 1) 発熱時の 30 分以上の痙攣重積または群発で発症し、その後意識障害や麻痺が遷延、2) 数日後の頭部 MRI 拡散強調像で皮質下白質病変を主とする所見を認めたものとした。原因病原体はインフルエンザウイルス 3 例、ロタウイルス 3 例、HHV-6、RS ウイルス、大腸菌（急性腎盂腎炎）各 1 例だった。方法は急性期（1-5 病日、平均 3.2 病日）に採取した血清および髄液を用い、interferon- $\gamma$ 、tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin-2 (IL-2)、IL-6、IL-4、IL-10 を cytometric bead array で、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1) を ELISA 法で測定した。【成績】血清 IL-6、IL-10、sTNFR1 および髄液 IL-6 の上昇を認めた。IL-6 値は血清に比し、髄液で有意に高値だった。IL-10 および sTNFR1 値は髄液に比し、血清で有意に高値だった。interferon- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4 は有意な上昇を認めなかった。【考察】本症では血清と髄液でサイトカインプロファイルが異なった。血清での IL-6、IL-10、sTNFR1 上昇は炎症を示唆する。一方、髄液では IL-10、sTNFR1 の上昇を伴わない IL-6 上昇がみられ、この髄液 IL-6 値の上昇は炎症とは考えにくい。文献的考察を加え、けいれん重積による相対的脳虚血を示唆する所見と考えた。【結論】本症では血清と髄液でサイトカインプロファイルが異なり、血液中と中枢神経系内では免疫病態が異なることが示唆された。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症ではその免疫病態として高サイトカイン血症が明らかにされている。しかし、インフルエンザ脳症の病型は一様でなく、高サイトカイン血症では説明できない病型も存在する。けいれん重積型急性脳症の病態はいまだ明らかでない。本症の病態を血清および髄液サイトカイン解析の面から検討したので報告する。

B. 研究方法

対象はけいれん重積型急性脳症 13 例。男児 3 例、女児 10 例、年齢 7 か月～2 歳（中央値 1.5 歳）。けいれん重積型急性脳症の定義は 1) 発熱時の 30 分以上の痙攣重積または群発で発症し、その後意識障害や麻痺が遷延、2) 数日後の頭部 MRI 拡散強調像で皮質下白質病変を主とする所見を認めたものとした。原因病原体はインフルエンザウイル

ス3例、ロタウイルス3例、HHV-6、RSウイルス、大腸菌（急性腎盂腎炎）各1例だった。方法は急性期（1-5病日、平均3.2病日）に採取した血清および髄液を用い、interferon- $\gamma$ 、tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、interleukin-2 (IL-2)、IL-6、IL-4、IL-10をcytometric bead arrayで、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1)をELISA法で測定した。

#### （倫理面への配慮）

本研究は保存血清及び髄液を用いた研究であり、個人名等の個人情報は保護され、公表はされないことより倫理面への影響はない。

#### C. 研究結果

血清IL-6、IL-10、sTNFR1および髄液IL-6の上昇を認めた（図1）。IL-6値は血清に比し、髄液で有意に高値だった。IL-10およびsTNFR1値は髄液に比し、血清で有意に高値だった。interferon- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4は有意な上昇を認めなかった。

#### D. 考察

本症では血清と髄液でサイトカインプロフィールが異なった。血清でのIL-6、IL-10、sTNFR1上昇は炎症を示唆する。一方、髄液ではIL-10、sTNFR1の上昇を伴わないIL-6上昇がみられ、この髄液IL-6値の上昇は炎症とは考えにくい。けいれん重積では、大脳神経細胞の酸素消費量が増大し、それに呼応して脳血流量もそれ以上に増加する。しかしけいれん重積が長時間持続すると細胞性浮腫の出現・増悪により末梢循環不全を来し、脳血流量は次第に減少し、ある時点で神経細胞の酸素需要量を供給できなくなり、相対的脳虚血の状態になる。この状態が持続すると不可逆的な障害を残すと考えられる。成人の脳梗塞では髄液中IL-6

上昇がみられ、実験的にIL-6は脳虚血から神経細胞を保護する作用が明らかにされている。以上から髄液中でのIL-6上昇はけいれん重積による相対的脳虚血に対する脳保護反応と考えた。

#### E. 結論

けいれん重積型急性脳症では血清と髄液でサイトカインプロフィールが異なり、血液中と中枢神経系内では免疫病態が異なることが示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ishizu T, Minohara M, Ichiyama T, Kira R, Tanaka M, Osoegawa M, Hara T, Furukawa S, Kira J: CSF cytokine and chemokine profiles in acute disseminated encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 175: 52-58, 2006.
2. Matsubara T, Hasegawa M, Shiraishi M, Hoffman HM, Ichiyama T, Tanaka T, Ueda H, Ishihara T, Furukawa S: A severe case of chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome treated with biologic agents. *Arthritis Rheum* 54: 2314-2320, 2006.
3. Makata H, Ichiyama T, Uchi R, Takekawa T, Matsubara T, Furukawa S: Anti-inflammatory effect of intravenous immunoglobulin in comparison with dexamethasone in vitro: implication for treatment of Kawasaki disease. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 373: 325-332, 2006.
4. Asada K, Ichiyama T, Sekino T, Okuda H, Okuno F, Furukawa S. A case of Fanconi-like syndrome caused by aminoglycoside followed by Fanconi syndrome caused by valproic acid. *Case*

Reports and Clinical Practice 7: 193-195, 2006.

5. Hasegawa S, Oda Y, Ichiyama T, Hori Y, Furukawa S. Ginkgo nut intoxication in a 2-year-old male. *Pediatr Neurol* 35: 275-276, 2006.

6. Nagafuchi M, Nagafuchi Y, Sato R, Imaizumi T, Ayabe M, Shoji H, Ichiyama T: Adult meningism and viral meningitis, 1997-2004: clinical data and cerebrospinal fluid cytokines. *Internal Med* 45: 1209-1212, 2006.

7. Shiihara T, Kato M, Ichiyama T, Takahashi Y, Tanuma N, Miyata R, Hayasaka K: Acute encephalopathy with refractory status epilepticus: bilateral mesial temporal and claustral lesions, related to DNA oxidative damage. *J Neurol Sci* 250: 159-161, 2006.

8. Ichiyama T, Siba P, Suarkia D, Reeder J, Takasu T, Miki K, Kira R, Kusahara K, Hara T, Toyama J, Furukawa S: Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurol Sci* 252: 45-48, 2007.

9. Ichiyama T, Morishima T, Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* in press.

10. Kajimoto M, Ichiyama T, Suenaga N, Matsufuji H, Akashi A, Furukawa S. A girl with West syndrome associated with mosaic Down syndrome. *Brain Dev* in press.

11. Otake Y, Yamagata T, Morimoto Y, Imi M, Mori M, Aihara T, Ichiyama T, Momoi MY: Elevated CSF IL-6 in a patient with

respiratory syncytial virus encephalopathy. *Brain Dev* in press.

#### 学会発表

1. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、前場進治、松原知代、古川 漸. 急性散在性脳脊髄炎における blood-brain-barrier 機能. 第 109 回日本小児科学会学術集会. 金沢. 2006. 4. 21-23

2. 市山高志. シンポジウム. ロイコトリエン受容体拮抗薬の新しい側面. 第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 東京. 2006. 5. 30-6. 1

3. 市山高志、末永尚子、梶本まどか、吉良龍太郎、原 寿郎、遠山 潤、松原知代、古川 漸. 亜急性硬化性全脳炎における blood-brain-barrier 機能. 第 47 回日本小児神経学会. 浦安. 2006. 6. 1-3

4. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、松原知代、古川 漸. インフルエンザ脳症における血清 MMP-9 および TIMP-1 の動態. 第 11 回日本神経感染症学会. 三重. 2006. 10. 13-14

5. 市山高志. シンポジウム. 免疫病態からみたインフルエンザ脳症診療のポイント. 第 58 回中国四国小児科学会. 宇部. 2006. 10. 21-22

6. 市山高志、長谷川真成、真方浩行、松原知代、古川 漸. 単球/マクロファージの cysteinyl leukotriene 受容体機能—TNF- $\alpha$  による MMP-9 産生に対する影響—. 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京. 2006. 11. 2-4

7. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、松原知代、古川 漸. インフルエンザ脳症における血清 MMP-9 および TIMP-1 の動態. 第 38 回日本小児感染症学会. 高知. 2006. 11. 10-11

8. 市山高志、長谷川真成、真方浩行、松原知代、古川 漸. 単球/マクロファージの

cysteinyl leukotriene 受容体機能—TNF- $\alpha$ によるMMP-9産生に対する影響—, 第43回日本小児アレルギー学会, 千葉, 2006. 11. 25-26

9. 市山高志、梶本まどか、末永尚子、友近喜代子、松原知代、古川 漸. 細菌性髄膜炎におけるデキサメサゾン療法時の髄液中soluble TNF receptor 1の動態. 第10回中国地区小児免疫薬物療法研究会, 広島, 2007. 3. 10

#### G. 知的所有権の取得状況

特許取得

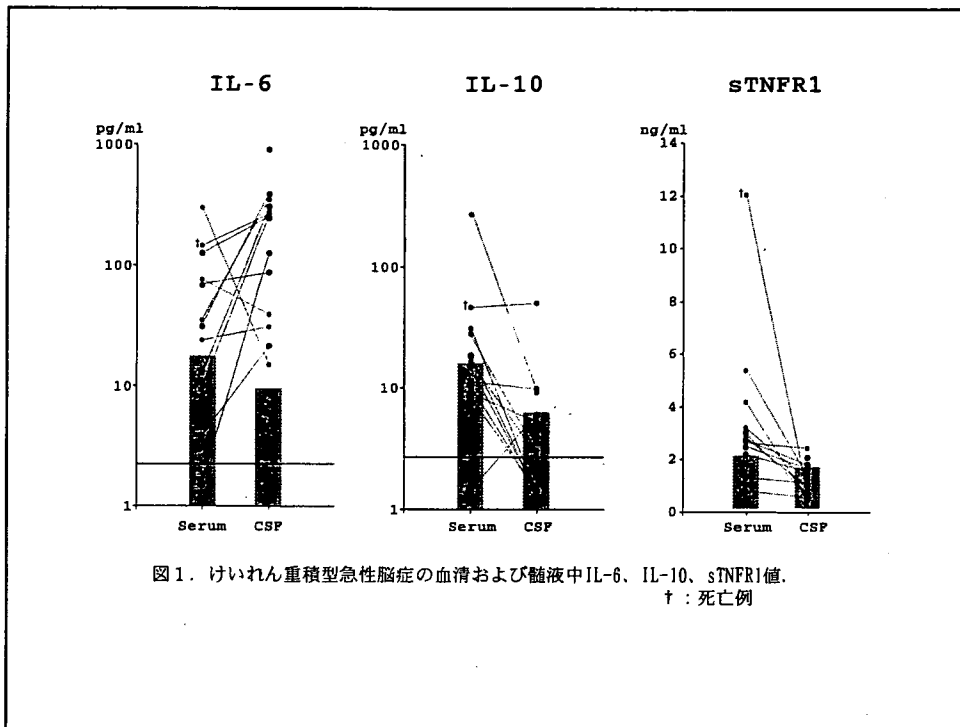
なし

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

なし



## テオフィリンの投薬中に発症した急性脳症に関する研究

分担研究者 塩見正司 大阪市立総合医療センター 小児救急科部長

### 研究要旨

小児科医にとって「急性脳症」という診断名は発熱があり、けいれんや意識障害が出現し、死亡や重篤な神経学的後遺症を残す疾患をさすと認識されている。世界的にも「急性脳症」の研究の進歩は小さく、臨床の現場に大きな変化は生じていない。著者らは近年進歩の著しいMRIなどの脳画像所見からインフルエンザや突発性発疹に合併する「急性脳症」には複数の病態があることを報告してきた。その中で有熱時けいれん重積後に後遺症を残す例は臨床経過や脳葉単位の広がりや病変が生じるなどの特徴があり、「けいれん重積型急性脳症 Acute encephalopathy with febrile convulsive status epilepticus (AEFCSE)」として検討すべきであると提案してきた。今回検討した、テオフィリン服用中に発熱し、AEFCSEを生じた当院の11症例の特徴としては、2歳以上に多く、血中濃度は測定した9例中8例が $15\mu\text{g/ml}$ 以下、発熱原因はインフルエンザが2例、HHV6が1例などである。元来2歳以上には少ないAEFCSEが多いのは、欧米では市販されていないテオフィリン徐放性ドライシロップ製剤によるところが大きいと考えられた。

### A. 研究目的

我々は、インフルエンザ脳症の病型分類を試みる中で、発熱時痙攣重積症(FCS)を伴う症例は、①脳CTでは数日後に両側前頭葉、一側側頭葉など脳葉単位の広がりをもつ低吸収域が生じる(lobar edema, LE)、②FCS後意識は回復するが数日後に短時間の痙攣(late seizure, LS)を反復する、③ASTが100前後の軽度上昇する他は髄液・血液検査の異常はすくない、④知的障害優位の後遺症を生じる、⑤テオフィリン(THEO)服用例がある、などの特徴があることに気付いた。FCS後に痙攣活動があった神経細胞が選択的に遅発的細胞死をするという機序を想定

すると理解しやすく、発生機序からも急性脳症の独立した病型(痙攣重積型急性脳症、AEFCSE)とするのが妥当と考えた。今回はテオフィリン服用中のAEFCSE症例について検討した。

### B. 研究方法

当院に1997～2005年に入院したAEFCSE症例27例中テオフィリンの投与中に発症した11例について検討した。

(倫理面への配慮)

入院診療録、画像記録などを後方視的に調査し、患者の個人情報保護に配慮して集計した。

## C. 研究結果

### 1. 痙攣重積型急性脳症の年齢分布と、発熱原因、テオフィリンの有無

痙攣重積型急性脳症の年齢分布と発熱の原因を図1に示す。非テオフィリン群は0-1歳に多く、テオフィリン群は2歳以上に多いことがわかる。さらに、0-1歳ではHHV6の8例をはじめ、いろんなウイルスが明らかとなったが、2歳以上では発熱原因を同定できない例が多い。インフルエンザに伴うAEFCSEは4例あり、2例はテオフィリン服用中であった。

### 2. 痙攣重積型急性脳症の年別患者数

図2にはAEFCSEの年別症例数を示した。おそらくはテオフィリン徐放剤が1995年に発売され、広く使用された結果であろうが、テオフィリン関連症例がコンスタントに入院している。また、非テオフィリン例も少なくない。2005年以後、テオフィリン関連AEFCSE入院例がないが、大阪地区の小児科医にテオフィリンの危険性が認識され、乳幼児への処方例が減少したためと考えている。

## D. 考察

AEFCSEの年齢分布と発熱原因から、2歳以上ではHHV6などの熱性けいれん重積症を起こしやすいウイルスの感染が少なく、テオフィリンが熱性けいれんの持続時間を延長させていると考えた。逆に2歳以上でテオフィリンとAEFCSEが強く関連していることはAEFCSEの発症メカニズムがHHV6などのウイルス感染に伴う高サイトカインなどの生体反応やウイルスの中枢神経への侵入ではなく、単に発熱時のけいれん重積であることを明瞭にしているともいえる。また、HHV6、インフルエンザ、麻疹、b型

インフルエンザ菌(Hib)などは、これまで、急性症候性けいれん重積の原因としてとらえられていたが、脳障害がけいれん重積自体に起因するものであれば、「脳葉性浮腫」の存在からAEFCSEと診断することができる。

AicardiはFCSEは2歳を超えると稀であること、また、それと関連してHHE症候群の発症年齢は多くが5か月から2歳未満であるとしている。すなわち、当院の2歳以上のAEFCSEの多くはテオフィリンが関与しているという結果であるが、2歳以上のAEFCSEの多発は乳幼児用の徐放性テオフィリン散剤が発売されている日本でのみ見られる異常な現象と考える。

我々は2004年にテオフィリン服用中のAEFCSEを続けさまに3症例経験し、大阪の小児科医にメーリングリストや講演会、大阪小児科医会報などにより、5歳以下へのテオフィリン使用の中止を訴えた。2005年以後、テオフィリン関連AEFCSE入院例がないことは、我々の行動の結果であれが喜ばしいが、もっと早い時期に訴えるべきであったのかもしれない。

また、本研究を含む、複数の研究報告を受けて、日本小児アレルギー学会はテオフィリンと急性脳症の因果関係を不明としながらも、2005年11月発行の小児気管支喘息治療・管理ガイドライン2005(JPGL2005)において気管支喘息の乳児・幼児の長期管理薬の選択においてテオフィリンを第1選択薬から除くことに改めた。

## E. 結論

テオフィリン服用中に生じたAEFCSEはAEFCSEの27例中の11例をしめ、AEFCSEの発症にテオフィリンの関与を証明する事

実であると考え。しかし AEFCSE には発熱の原因として多種類の病原体が関与しており、テオフィリン非服用者にも発症している。例えば、インフルエンザとテオフィリンの両者が関与した急性脳症では、どちらが強く、その症例の病態をもたらしたか、を決定することは困難であろう。JPGL2005 以後テオフィリン処方が大きく減少したので、今後は、過去のインフルエンザ脳症報告例の病型分類を行い、テオフィリン服用例がどの病型に多いか、などの検討が必要となろう。

3. その他  
なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

テオフィリン投与中の熱性けいれん重積後に脳葉性浮腫を来し後遺症を残した 8 症例。川崎有希, 塩見正司, 外川正生, 澤田好伴, 岡崎伸, 川脇壽, 富和清隆, 藤田敬之助. 日本小児科学会雑誌 2006;110:674-680

##### 2. 学会発表

Shiomi, M. A Proposal of acute encephalopathy with convulsive status epilepticus (AEFCSE) and an epidemic of AEFCSE in young Japanese children on theophylline medication. At 9<sup>th</sup> International Symposium on Status Epilepticus in Infants and Young Children, Osaka, 2006. 04. 30

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし



