

201128263A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐久間 啓

平成24（2012）年 5月

目 次

I. 総括研究報告

難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究 佐久間啓	-----	1
---------------------------------------	-------	---

II. 分担研究報告

1. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎における血清中抗神経抗体の検討 佐久間啓	-----	6
2. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病理学的検討 斎藤義朗	-----	8
3. 急性脳炎・脳症の髄液バイオマーカー解析 田沼直之	-----	12
4. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎における脳機能画像所見 九鬼一郎	-----	14

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	16
---------------------	-------	----

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究

研究代表者 佐久間 啓（国立精神・神経医療研究センター神経研究所 免疫研究部研究員）

研究要旨

難治頻回部分発作重積型急性脳炎（AERRPS）に類似する症例が、最近 fever-induced refractory epilepsy syndrome (FIRES) の名称で相次いで報告されており、両者が同一の疾患かどうかを調べるために文献による比較検討を行った。その結果、患者背景・臨床症状・検査所見・治療など多くの点で両者の特徴は概ね一致した。発症年齢、けいれんの発作型、予後などいくつかの点において相違が見られたが、これは両者の定義の違いやその他のバイアスによる可能性がある。従って FIRES は AERRPS と同一の疾患である可能性が高いが、疾患の定義や診断基準の確立を含めた国際的な概念の統一が早急に求められる。

研究分担者

齋藤 義朗（国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科医長）
田沼 直之（都立府中療育センター 小児科医長）
九鬼 一郎（静岡てんかん神経医療センター 医師）

難治性疾患克服研究事業において AERRPS の臨床研究を行った（難治頻回部分発作重積型急性脳炎の診断基準作成のための疫学研究）。この中で、AERRPS の診断基準の妥当性を検討するため、最近になって報告された 15 症例を対象として臨床症状、検査所見、治療、予後などについて検討した。その結果、過去の報告とほぼ一致した結果が得られたことから、従来の暫定的な診断基準は概ね妥当であることが示された。しかし急性期の発熱、画像所見、治療に対する反応性などいくつかの点で修正が必要なことが明らかになり、これらの結果を元に新たな診断基準を（表 1）作成した。

A. 研究目的

難治頻回部分発作重積型急性脳炎（AERRPS）は、主に学齢期の小児に見られる原因不明の脳炎である。極めて難治かつ頻回の部分けいれんが数ヶ月にわたって持続し、長期間のバルビタール麻酔によるけいれん抑制を要する。知的障害、精神症状、不随意運動等を合併し、予後は不良である。我が国で発見された新しい疾患概念であり、同様の報告は海外からも散見されるが様々な呼称が用いられ統一されていなかった。2001 年に我々は両者を包括した概念として AERRPS を提唱した。

さらに我々は昨年度の厚生労働科学研究・

表 1 AERRPS の診断基準

1 主要項目

- 1) けいれんや神経疾患を基礎に持たない小児に、けいれんまたは意識障害で急性発症
- 2) 急性期の発熱
- 3) 複雑部分発作・二次性全般化発作が頻

発、重積し、1週～数ヶ月持続。けいれん抑制にはバルビツレートの経静脈的持続投与により脳波をburst-suppressionに維持することが必要（稀にミダゾラム著効例あり）

4) 上述発作が抑制されぬまま難治な部分てんかんに移行

2 参考項目

1) 先行感染を有し、2～10日後に神経症状が出現

2) 急性期の発熱

3) 髄液細胞数または蛋白の軽度上昇（細胞数・蛋白の増加がない場合にもIL-6、ネオプテリンなどの増加例があり）

4) 脳波所見：間欠時脳波では急性期に高振幅徐波、その後（多）焦点性棘（徐）波が出現、起始焦点はときに変動、発作時脳波は局所起始でときに二次性全般化

5) MRI所見：急性期では正常～軽度脳浮腫、回復期では全般性脳萎縮（ときに急性期MRIのFLAIR画像で海馬、前障、視床などに高信号所見）

6) 後遺症として難治性部分てんかんの他、知的障害、記憶障害、精神症状や行動障害、重症例で一部運動障害を残す

一方、最近になって類似の症例がヨーロッパ諸国をfever-induced refractory epilepsy syndrome (FIRES) の名称で相次いで報告されている。FIRESの診断基準は未だ示されていないが、急性の熱性疾患に罹患した2-28日後に反復性けいれんまたはけいれん重積をきたし、既知の疾患が否定されたものと定義されている場合が多く、これらはAERRPSの特徴によく似ている。従ってFIRESとして報告されている症例の多くがAERRPSと推定されるが、両者が全く同一の疾患であるかどうかについては明らかにされていない。これらの疾患についての研究を行う際に、そ

の対象を明確に限定することは重要であり、また国際的な枠組みを作っていく中で両者の擦り合わせを行っていくことには重要な意義がある。

そこで本研究はAERRPSとFIRESの臨床的特徴を比較し、両者の相違点を明らかに類縁疾患との共通点および相違点を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

AERRPSに関しては、我々がかつて行った全国調査によって集められた29症例のデータと、これらをまとめた報告（文献）を参照した。またFIRESに関しては、これまでのFIRESとして報告された77例を総括した報告（文献）を参照した。これらについて、以下の項目を比較検討した。

- 1) 患者背景：年齢、性別、発症の誘因など
- 2) 臨床症状：初発症状、けいれんの特徴
- 3) 検査所見：髄液、脳波・脳画像所見等
- 4) 治療：免疫調整療法、抗てんかん薬など
- 5) 予後：てんかん、神経学的後遺症など

C. 研究結果

1) 患者背景

発症年齢はAERRPS：1-14歳（中央値5歳）、FIRES：2-17歳（中央値8歳）とFIRESの方がやや高かった。男女比はAERRPS：19:10、FIRES：2:1と明らかな差を認めなかった。

いずれも大半の症例で発熱を伴う先行感染を認め、先行感染から神経症状発現までの潜伏期間はAERRPS：2-10日（平均5日）、FIRES：1-14日（平均4日）であった。

2) 臨床症状

けいれんはAERRPS、FIRESの中核症状であるが、AERRPSにおいては部分発作は必発症状と定義されているのに対し、FIRESでは部分発作を認めなかった症例が19/77例含

まれていた。発作型に関しては FIRES の報告では詳細な記載がなく不明であるが、臨床的に部分発作を認めたのは 31 例で、一方 19 例では二次性全般化発作のみが認められた。一方 AERRPS で二次性全般化のみの症例は 1 例のみであり、多くの症例で顔面を中心とする部分発作が見られていた。このような特徴的な発作型は FIRES では 9 例で記載されているのみであった。けいれんの頻度についても尺度が異なるため比較は困難だったが、いずれも極めて頻発するという点では共通していた。

AERRPS ではけいれんに加えて意識障害、精神症状、不随意運動、記憶障害などが認められる場合があるが、FIRES では検討されていなかった。

3) 検査所見

髄液細胞増加は AERRPS : 66%, FIRES : 57% で認められ、その範囲は $100/\text{mm}^3$ 以内と比較的軽度にとどまることが多かった。FIRES では 12 例でオリゴクローナルバンドを認めたが、AERRPS ではほとんどの例で検査されていなかった。なお原因検索としてのウイルス・代謝学的検査でいずれも異常を認めない点は双方の診断に必須の事項である。免疫学的検査では AERRPS で GluR ϵ 2 抗体 (5 例) を、FIRES で VGKC (6 例), GAD (5 例) 等の抗体が一部の症例で同定されたが、全例で検索された訳ではないため比較は困難であった。

脳波上の発作焦点は AERRPS では側頭葉 (28%) と後頭葉 (48%) が多かったが、FIRES では側頭葉 (27%) と前頭側頭葉 (27%) に多かった。MRI では初回検査では概ね異常を認めない (AERRPS : 86%, FIRES : 55%) が、フォローアップの検査で海馬、前障などに信号異常を認める例があった (AERRPS : 34%, FIRES : 48%)。しかし慢性期の脳萎縮は AERRPS : 75%,

FIRES : 48% と前者に多かった。

4) 治療

急性期の burst-suppression coma (BSC) は AERRPS : 76%, FIRES : 60% で実施され、その期間は AERRPS : 4-312 日 (中央値 24 日, 平均値 52.3 日), FIRES : 1.5-49 日 (中央値 7 日, 平均値 14.3 日) と AERRPS で長い傾向にあった。これに伴い AERRPS の 83%, FIRES の 96% で人工呼吸管理が実施されていた。使用された抗てんかん薬は AERRPS : 3-12 剤 (中央値 8), FIRES : 2-16 剤 (中央値 6) と同程度であった。これらの薬剤の有効性に関しては FIRES におけるデータがないため比較は困難であった。免疫調整療法としては副腎皮質ステロイドとガンマグロブリン静注量法がそれぞれ約 4 割の症例で実施されていたが、明らかな効果を認めた例はなかった。

5) 予後

FIRES では急性期における死亡が 12% に認められたが、AERRPS では急性期の死亡例はなかった。神経学的予後は、知能面では正常例が AERRPS : 4%, FIRES : 18% であり、一方重度後遺症により長期臥床となった例は AERRPS : 40%, FIRES : 16% と、全体的に AERRPS の方がより不良であった。ほとんどの例で後遺症としてのてんかんを認め (AERRPS : 100%, FIRES : 97%), そのほとんどが難治な部分発作を主体とし、潜伏期間を経ずに発症するという点で共通していた。

D. 考察

AERRPS と同一と考えられる病態は過去にも様々な病名で世界各国から報告されていたが、FIRES としての報告が相次いだことで、このような独立した疾患が存在するという事はもはや動かぬ事実として認められたと考えられる。しかし一方で、FIRES として報告された症例の中には、我々の考える AERRPS

とは異なる例も少なからず含まれるのではないかという懸念があった。これは AERRPS と似て非なる症例が事実存在するという臨床的な経験に基づいている。これらの症例と AERRPS を区別する手がかりとして、我々は特徴的な発作型な脳波所見などを重視してきたが、これらの特徴は FIRES ではあまり強調されていない。そこで我々は、両者が同一の疾患であればその臨床的特徴も一致するであろうという仮説に基づき、比較検討を試みた。

その結果、両者の特徴は多くの点で一致していた。疫学的特徴の一致は重要である。FIRES で発症年齢が高い傾向が見られたが、かつてヨーロッパ諸国では FIRES は *devastating epileptic encephalopathy in school aged children* という名称で知られていた時期があり、一部の施設で学童記以前の症例が除外されるというバイアスがかかっていた可能性がある。先行感染に関する項目もほとんど一致していた。

臨床症状の中で、けいれんの特徴には若干の違いが認められた。AERRPS では顔面中心の部分発作が高頻度に見られたのに対し、FIRES では全般発作あるいは二次性全般化発作のみを呈した症例が少なからず認められた。しかしこれは AERRPS と FIRES の定義の違いによるところが大きいと推測される。見方を変えれば、けいれん発作の特徴から AERRPS とは言えない症例も FIRES と診断される可能性があるということになる。

もう一つの重要な相違点として、AERRPS は FIRES と比較して全般的に予後が不良であることが挙げられる。AERRPS ではより重篤な後遺症を残す例が多く、また脳萎縮が高頻度に見られた点もこれを反映している可能性がある。ただし AERRPS では急性期の死亡例がなく、本来重度後遺症を残すような重症例の一部が FIRES では急性期に死亡して

いた可能性も否定できない。また burst-suppression coma (BSC) の期間は AERRPS の方が長かった。この理由として AERRPS の方がより重篤であるためと考えることができる一方、最近指摘されているように長期間の BSC が神経学的予後を悪化させているという見方も可能である。

E. 結論

以上より、AERRPS と FIRES の臨床的特徴はほぼ一致することが確認された。発症年齢、けいれんの発作型、予後などいくつかの点において相違が見られたが、これは両者の定義の違いやその他のバイアスによる可能性がある。一方でこれらの定義の違いが原因で含められる症例が異なってくることも十分に考えられ、疾患の定義や診断基準の確立を含めた国際的な概念の統一が早急に求められる。

(文献)

1. Sakuma H, Awaya Y, Shiomi M, Yamanouchi H, Takahashi Y, Saito Y, Sugai K, Sasaki M. Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AERRPS): a peculiar form of childhood encephalitis. *Acta Neurol Scand.* 2010;121:251-6.
2. Kramer U, Chi CS, Lin KL, Specchio N, et al. Febrile infection-related epilepsy syndrome (FIRES): pathogenesis, treatment, and outcome: a multicenter study on 77 children. *Epilepsia.* 2011;52:1956-65.

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 佐久間啓. 特異な脳炎・脳症後てんかんの一群 (栗屋-福山). 小児内科. 2011;43:506-8.
- 2) 佐久間啓. 栗屋福山症候群. 小児科診療. 2011;74:986-90.
- 3) 佐久間啓. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎 (AERRPS). 小児科ピクシス. 28. 急性脳炎・急性脳症:122-5.

2. 学会発表

- 1) 佐久間啓. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎 Acute Encephalitis with Refractory, Repetitive Partial Seizures (AERRPS) の診断基準作成のための疫学研究. 第 53 回日本小児神経学会総会. 2011. 5. 27. 横浜.
- 2) 佐久間啓. 中枢神経系と免疫系のクロ

ストーク. 第 54 回日本小児神経学会関東地方会. 2011. 9. 17, 東京.

- 3) Sakuma H, Inflammation, autoimmunity, and epilepsy. 2011 Cross-Strait Pediatric Epilepsy Symposium. 11 Dec 2011, Taipei.

H. 知的所有権の出願・登録情報

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

研究課題名 「難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究」

難治頻回部分発作重積型急性脳炎における血清中抗神経抗体の検討

研究代表者 佐久間 啓（国立精神・神経医療研究センター神経研究所 免疫研究部研究員）

研究要旨

難治頻回部分発作重積型急性脳炎（AERRPS）の原因は不明であるが、中枢神経系の炎症の関与が疑われており、特に自己免疫性脳炎との類似性から神経細胞に対する何らかの自己抗体が重要な役割を果たしている可能性がある。神経抗原を遺伝子導入した細胞を用いた免疫細胞化学法により血清中の抗神経抗体の存在を検討した。その結果、AERRPSの5例中2例で、血清中の抗 NMDA 受容体抗体が陽性であった。この自己抗体が AERRPS の原因であるとは結論できないが、何らかの自己抗体が AERRPS に関連する可能性を裏付ける結果と考えられる。

A. 研究目的

難治頻回部分発作重積型急性脳炎（AERRPS）の原因は未だ不明であるが、何らかの中枢神経系の炎症の関与が疑われている。その根拠として、急性期に発熱の遷延、髄液細胞増加、脳波上の高振幅徐波や神経画像上の脳浮腫、など急性脳炎を示唆する所見が認められる点が挙げられる。また AERRPS の臨床症状は急性辺縁系脳炎や抗 NMDA 受容体脳炎と少なからずオーバーラップすることから、これらの疾患で見られるように神経細胞に対する自己抗体が存在する可能性が指摘されてきた。事実、一部の症例では抗 voltage-gated potassium channel (VGKC) 抗体や抗 glutamic acid decarboxylase (GAD) 抗体が血清中で検出された症例の報告がある。しかしこれらは全ての症例で陽性となるわけではなく、AERRPS の直接的な原因であるという証拠は得られていない。そこで本研究では AERRPS 患者における抗神経抗

体の系統的な解析を行い、特定の自己抗体の関与を調べることを目的とした。

B. 研究方法

「難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究」で集められた症例のうち、急性期の血清が得られた5例を対象とした。抗神経抗体の測定に関しては患者またはその家族より文書による同意を取得した。また正常コントロールとして健常成人血清を使用した。血清は遠心分離後速やかに凍結し、測定まで-80℃で保存した。抗神経抗体としては、自己免疫性脳炎の原因となる以下の4種類の自己抗体を測定した。

1. 抗 NMDA 受容体抗体
2. 抗 LGI1 抗体
3. 抗 Caspr2 抗体
4. 抗 AMPA 受容体抗体

それぞれの抗原を遺伝子導入した HEK293 細胞をスライド上で培養した後、4%パラホル

ムアルデヒドで固定した (Euroimmun 社, Lubeck). 一次抗体として 200 倍希釈した患者血清と常温で 2 時間反応させた後, 二次抗体として Alexa Fluor488 標識抗ヒト IgG 抗体と常温で 2 時間反応させた. 細胞核を DAPI で染色し, 蛍光顕微鏡で観察した.

C. 研究結果

1) 患者背景

発症年齢は 4-10 歳, 男女比は 4:1 であった. 1 例のみ採血時既にステロイドパルス療法と IVIg 療法が実施されていたが, 他はいずれも治療開始前であった.

2) 抗神経抗体

5 例中 1 例で抗 NMDA 受容体抗体が陽性で (図 1), また 1 例では弱陽性を示した (図 2). 抗 LGI1 抗体, 抗 Caspr2 抗体, 抗 AMPA 受容体抗体は全例で陰性だった. なお正常コントロールではいずれの抗体も陰性であることを確認した (図 3).

3) 臨床症状との関連

弱陽性を示した 1 例では口部ジスキネジアと精神症状を認めたが, 症状はけいれんが主体であり典型的な抗 NMDA 受容体脳炎の経過とは明らかに異なっていた. また陽性を示した 1 例ではこれらの症状は認めなかった.

D. 考察

AERRPS の 5 例中 2 例で抗 NMDA 受容体抗体が陽性 (うち 1 例は弱陽性) であった.

抗 NMDA 受容体抗体は精神症状, 不随意運動, 自律神経症状, 中枢性無呼吸等で特徴づけられる抗 NMDA 受容体脳炎の原因自己抗体である. 過去に我々は, AERRPS の 9 例中 5 例で NMDA 受容体 NB2B サブユニット (=GluR ϵ 2) に対する自己抗体が陽性であったと報告したが, この自己抗体は ELISA 法により測定されており, また急性辺縁系脳炎やてんかんの症例でも陽性となることから

疾患特異性は低いと考えられている.

今回の結果は, 抗 NMDA 受容体抗体が AERRPS の原因であるという証拠とはならない. しかし神経細胞に対する自己抗体が産生されやすいような状態が疾患の背景にある可能性があり, 自己抗体を含めた免疫学的異常が病態に関与するという仮説を裏付けるものである.

今後はラット脳切片を用いた免疫組織化学法による検討も併せて行い, AERRPS に直接関連する自己抗体が存在するかどうか, 検索を進める予定である.

E. 結論

AERRPS の 5 例中 2 例で, 血清中の抗 NMDA 受容体抗体が陽性であった. この自己抗体が AERRPS の原因であるとは結論できないが, 何らかの自己抗体が AERRPS に関連する可能性を裏付ける結果と考えられる.

図1 陽性例

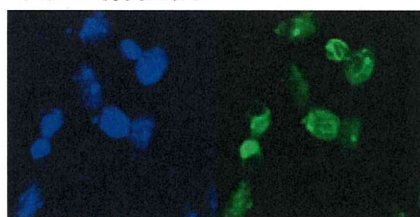


図2 弱陽性例

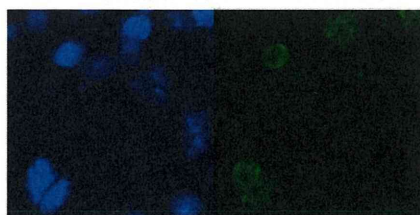
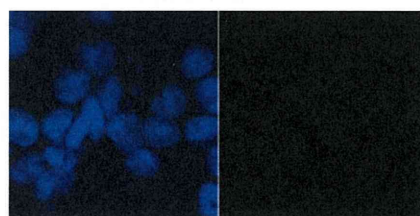


図3 正常対象



DAPI anti-NMDAR

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

研究課題「難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究」

難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病理学的検討

分担研究者 斎藤 義朗（国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科）
研究協力者 福與なおみ¹⁾, 植松 貢¹⁾, 伊藤 雅之²⁾, 佐久間 啓³⁾

1) 東北大学小児科, 2) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第二部, 3)
国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部

研究要旨

目的： **Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AEPPRS)** は難治性のでんかん発作が脳炎/脳症様の急性期から慢性期への経過を通じて持続することを特徴とし、知的障害・運動障害の後遺症をきたす原因不明の疾患である。その原因は不明であり、剖検例の報告はない。病態解明の手がかりを得ることを目的として、本疾患の診断基準を満たす症例で、てんかん治療の目的で頭部 MRI 上の局所病変について施行された脳組織切除検体を病理学的に検討した。

方法：ホルマリン固定・パラフィン包埋した切除脳組織を HE 染色, LB 染色により顕微鏡的に観察した。また、炎症やてんかん原性の機序について詳細を検討するために、GFAP, CD8, CD68, MMP-9, 興奮性アミノ酸トランスポーター(EAA1, EAA2)に対する抗体を用いた免疫染色を施した。

結果：病変部の大脳皮質には血管周囲の炎症細胞浸潤と神経細胞の脱落、基質の粗鬆化とグリオシスが見られた。血管炎の所見は皮質・白質双方に見られ、MMP-9 陽性細胞が多数認められた。病変部の大脳皮質では興奮性アミノ酸トランスポーターの発現亢進が見られた。対照とした SSPE 症例に比べて免疫反応性が高く、より強いてんかん原性の存在が示唆された。

病変部ではグリオシスや CD8 や CD68 陽性細胞の増加が見られたが、後者については病変の重症度や SSPE 症例との差異は明らかではなかった。

考察：炎症の強い部位で EAA1, EAA2 の発現が亢進している所見は、中枢神経の炎症機転が AERRPS のてんかん原性に関与していることを示唆した。今回の検討からは CD8, CD68 陽性細胞が特にてんかん原性に関与しているとは考えにくく、液性免疫あるいは神経細胞の興奮性に関わる遺伝的素因についても検討が必要と思われた。

A. 背景・研究目的

「Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AEPPRS) (2001 佐久間・神山ら)、「難治頻回部分発作重積型急性脳炎」(2007 佐久間)は急性

期に遷延する難治性のけいれん群発に加え、慢性期には難治性のでんかんや中等度以上の知的障害を呈し、症例の 3 分の 1 では歩行不能の運動障害も伴う重度の疾患である。

通常の脳炎/脳症とは異なる特徴を有する独立した疾患と考えられるが、病因は不明であり、特定の検査指標がなく、診断は臨床経過や(代謝疾患などの)除外診断に依っている。

神経画像上は非特異的な広汎な軽度の脳萎縮のみの症例が多いが、一部に限局性皮質病変が見られる例もある。てんかん発作焦点の局在が発症初期から慢性期まで同じ部位に持続して見られた自験例の脳波所見から、造影所見を含めて必ずしも局在性皮質病変が頭部 MRI 上明瞭でない場合にも、てんかん原性を有する限局性の病態が存在すると我々は推測してきた。このてんかん原性は、中枢神経に存在する特異な一次性の炎症機転によると考えられるが、これまで病理学的な報告例はない。

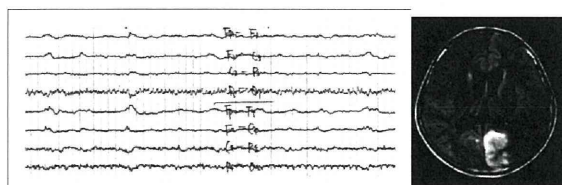
今回、画像上局所性病変が見られた症例の外科切除標本を病理学的に検討しその病態を考察した。

B. 研究方法

[症例] 11歳, 男児

[既往歴] 特記事項なし

[現病歴] 発熱4日目にけいれん重積となり低体温・ステロイドパルス療法を受けたが右下肢/右半身けいれんが5分間隔で頻発。AERRPSの診断を受けた。Thiopental 持続投与, propofol 投与も効果は一過性で、脳波・頭部 MRI 上発作焦点と考えられた左後頭葉切除術を施行。



[方法] ホルマリン固定・パラフィン包埋した切除脳組織を HE 染色, LB 染色により顕微鏡的に観察した。また、炎症やてんかん原性の機序について詳細を検討するために、GFAP (polyclonal, Chemicon), CD8 (monoclonal, DAKO),

CD68(monoclonal, DAKO), MMP-9 (monoclonal, DAKO), 興奮性アミノ酸トランスポーター(EAA1, EAA2; monoclonal, Novocastra), グルタミン酸受容体 GluR2 (Chemicon, polyclonal)に対する抗体を用いた免疫染色を施した。

C. 研究結果

病変部の大脳皮質には血管周囲の炎症細胞浸潤と神経細胞の脱落、基質の粗鬆化とグリオシスが見られた(図 1)。血管炎の所見は皮質・白質双方に見られ、MMP-9 陽性細胞が多数認められた(図 2)。

また病変部の大脳皮質では興奮性アミノ酸トランスポーターの発現亢進が見られた(図 3)。対照とした SSPE に比べて免疫反応性が高く、より強いてんかん原性の存在が示唆された。

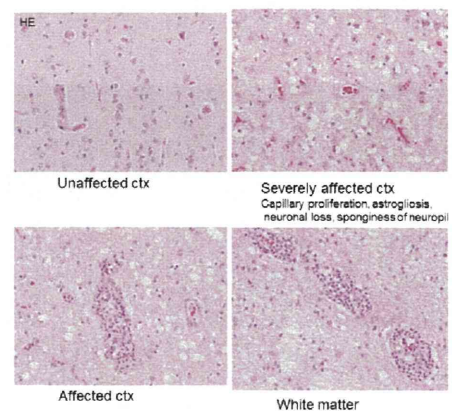


図 1. 病変部の病理所見(HE 染色)

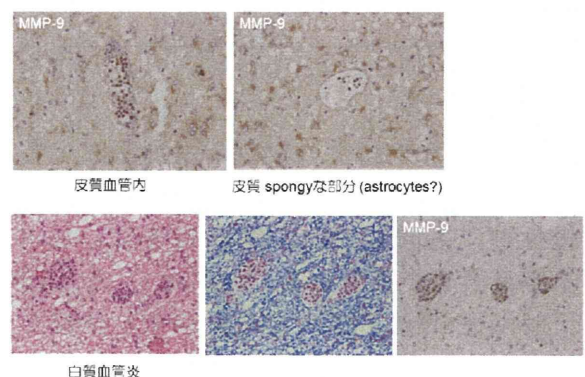


図 2. 皮質・白質内の血管炎所見

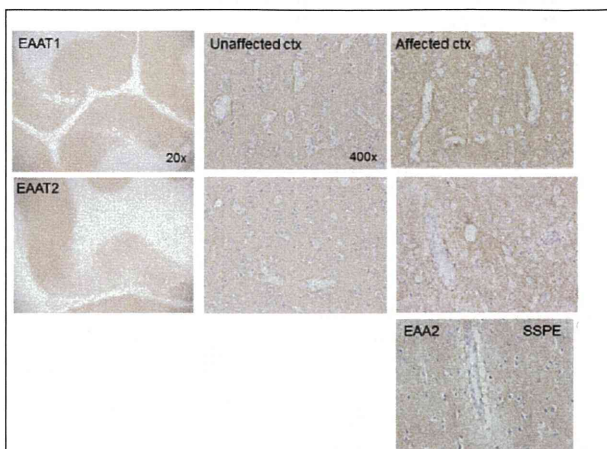


図 3. 病変部における興奮性アミノ酸トランスポーターの発現亢進. 疾患対照として亜急性硬化性全脳炎(SSPE)における所見を示す.

病変部ではグリオーシスやCD8やCD68陽性細胞の増加が見られたが、後者については病変の重症度や対照のSSPE症例との差異は明らかではなかった(図4)。

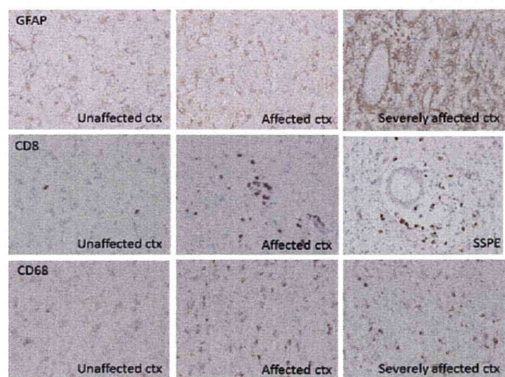


図 4. GFAP および CD8, CD68 に対する免疫組織化学所見.

D. 考察

AERRPS では急性期から左前頭部・右後頭部にてんかん性放電の焦点が存在し、慢性期にも同じ部位に焦点が残存している脳波所見が見られる。これは、「急性期より回復・慢性期まで同じ発作型が持続し、いつから後遺症としてのてんかん発作が発症したか判断が難しい」という栗屋・福山による記載を裏付ける。通常の急性脳症後に後遺症としてのてんかんが急性期から2-12ヶ月の間をおいて発症するのと対

照的であり、AERRPS では異なる機序のてんかん原性が急性期から存在すると考えられる。病理所見で脳実質内の炎症細胞の増加に加えて興奮性アミノ酸トランスポーターの発現が亢進していたことから、このてんかん原性が中枢神経の特異な炎症機転による可能性が高い。今回の検討からはCD8, CD68陽性細胞が特にてんかん原性に関与しているとは考えにくく、液性免疫あるいは神経細胞の興奮性に関わる遺伝的素因についても検討が必要と思われた。

てんかん原性を有する中枢神経の一次性炎症として Rasmussen 症候群が知られるが、同症候群では AERRPS の急性期にみられる意識障害・発熱を伴う脳炎様経過は伴わず、別個の疾患と考えられる。一方、感染によらず中枢神経の特発性の免疫機転によると考えられる、小児の一次性小血管炎の報告があり、難治性のけいれん重積を呈した例も含まれている。問題はこの疾患名に頭痛や退行が主徴となり意識障害やけいれんを呈さない症例も一括されていることである。今回病理所見を検討した症例のように画像上の局所病変が明瞭な場合を本当に AERRPS の極型と考えてよいか否かについても議論が必要である。

E. 結論

AERRPS の本態として、中枢神経の特異な炎症の存在が推測され、難治性てんかんの病態にも関与していると考えられた。heterogeneous な遺伝的素因を有する可能性もあり、発熱期間・検体検査・画像検査などの炎症性所見により subgroup に分けた検討が有用かもしれない。

F. 健康危険情報：特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

H. 知的所有権の取得状況：特記事項なし

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

研究課題「難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究」

急性脳炎・脳症の髄液バイオマーカー解析
研究分担者 田沼 直之（都立府中療育センター・小児科医長）

研究要旨

急性脳症とは、「急性発症の意識障害を主徴とする症候群」の総称であり、てんかんや熱性けいれんとの鑑別が困難なことも多い。急性脳症の予後は熱性けいれん重積に比べて悪く、治療開始が遅れば死亡あるいは重篤な神経学的後遺症を呈するため、早期診断、早期治療は重要である。本研究は難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のために有用なバイオマーカーの開発を目的とし、今年度は急性脳炎・脳症における髄液バイオマーカー解析を行った。髄液タウ蛋白や酸化ストレスマーカーなどは急性脳炎・脳症の病態解析や治療効果判定に応用可能と考えられた。

A. 研究目的

急性脳炎・脳症は、急激な経過で意識障害、けいれんなどの中枢神経症状が出現し、重篤な神経学的後遺症を呈することも多い疾患群である。近年、急性壊死性脳症 (acute necrotizing encephalopathy, ANE) (1995)、けいれん重積型急性脳症 (2000) ないし二相性けいれんと遅発性拡散能低下を呈する急性脳症 (acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion, AESD) (2006)、難治頻回部分発作重積型急性脳炎 (acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures, AERRPS) (2001)、可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症 (clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversal splenial lesion, MERS) (2004) などの新しい疾患概念がわが国の小児神経科医から記載・確立され、急性脳症の病態解析も進歩しつつある。

本研究は、AERRPS の病態解明のために有

用なバイオマーカーの開発を目的とし、今年度は急性脳症の病態解析、治療効果判定、予後予測などに応用可能なバイオマーカーについて解析を行った。

B. 研究方法

(1) 急性脳症の治療としてエダラボンを使用した症例について治療前後で髄液酸化ストレスマーカーを測定し効果を検討した。対象は急性脳症 5 例、けいれん重積 1 例で、抗ウイルス療法、抗脳浮腫療法、抗けいれん薬などの投与に加えて、エダラボンは 7~12 日間投与 (1mg/kg/日) した。治療前後での髄液酸化ストレスマーカー (DNA に対する 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine ; 8-OHdG、脂質の過酸化マーカー Hexanoyl lysine adduct ; HEL の 2 種類) 測定を実施した。

(2) 急性脳症の亜型のうち、MERS 患者 6 例 (男 2 名、女 4 名、年齢 1-13 歳) について、各種髄液バイオマーカー (8-OHdG、HEL、タウ蛋白、サイトカイン) を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は府中療育センターと協力医療機関の倫理委員会から承認されている。生体試料の収集にあたっては十分な説明の上での書面による同意を患者家族から受けている。

C. 研究結果

(1) 治療前の髄液 8-OHdG は、6 例中 5 例(脳症 4 例中 3 例、けいれん重積 1 例)で高値を示し、治療後はいずれも改善を示した。HEL は測定しえた 5 例中 3 例で治療前に高値を示したが、治療後の改善も 8-OHdG に比べて乏しかった。けいれん重積の 1 例は脳症への進展が考慮され、入院時より脳症急性期治療が開始された結果、後遺症なく退院した。

(2) MERS 患者 6 例の髄液酸化ストレスマーカー解析では、8-OHdG が 4 例、HEL が 1 例で上昇していた。サイトカインでは IL-6、IL-10 が 3 例で上昇し、3 例中 2 例は病変が脳梁から大脳白質に広がっていた。軸索障害マーカーであるタウ蛋白は全例正常であった。

D. 考察

エダラボンはフリーラジカル消去作用により、細胞膜脂質の過酸化を抑制し、血管内皮細胞や神経細胞保護作用を有し、脳梗塞治療に使用されているが、急性脳症に対するエビデンスは得られていない。今回の検討は少数例であり有効性の確認はできなかったが、治療開始を早期に行うことによって効果が得られる可能性はある。

髄液バイオマーカー解析で MERS 患者の 6 例中 5 例で酸化ストレスマーカーが上昇していたことから MERS の病態に酸化ストレスが関与していることが示唆された。また、IL-6 や IL-10 の上昇は MERS の病変の拡大にサイトカインが関与している可能性がある。

る。今後症例数を増やした解析で病態への関与が一層明らかになることが期待される。

E. 結論

現時点では、急性脳症の早期診断に有用なバイオマーカーは確立していないが、髄液タウ蛋白や酸化ストレスマーカーは脳症の病態解析や治療効果判定に有用と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 田沼直之. 急性脳症とバイオマーカー. 小児科診療 74: 931-36, 2011.
- 2) 安西有紀, 林 雅晴, 松岡正樹, 高橋宏行, 宮田理英, 田沼直之, 大矢達男. パンデミック(H1N1) 2009 インフルエンザ感染により脳幹病変を呈した急性脳症の 1 例. 脳と発達 43: 57-9, 2011.
- 3) Hayashi M, Miwa-Saito N, Tanuma N, Kubota M. Brain vascular changes in Cockayne syndrome. Neuropathology. 2011 May 26. [Epub ahead of print]
- 4) Miyata R, Tanuma N, Hayashi M, et al. Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS). Brain Dev. 34: 124-7, 2012.

2. 学会発表

- 1) 田沼直之ら. 急性脳症治療にエダラボンは有効か? 第 53 回日本小児神経学会総会, 横浜 (2011, 5. 26).
- 2) 田沼直之ら. 重症心身障害児者の睡眠覚醒リズムとメラトニン. 第 37 回日本重症心身障害学会学術集会, 徳島 (2011, 9. 30).

H. 知的所有権の出願・取得状況

(予定を含む)

該当するものは無い。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

分担研究報告書

研究課題「難治頻回部分発作重積型急性脳炎の病態解明のための包括的研究」

難治頻回部分発作重積型急性脳炎における脳機能画像所見

研究分担者 九鬼 一郎(静岡てんかん神経医療センター 小児科医師)

研究要旨

難治頻回部分発作重積型急性脳炎(以下AERRPS)の病態については不明点が多い。AERRPS4例について、急性期臨床的特徴、免疫学的検査(特に抗NMDA受容体抗体の有無)および脳機能画像の観点から、抗NMDA受容体抗体脳炎(NMDARE)5例と比較し、相違点について検討した。急性期においては、発症年齢、発症症状、バルビタールを要した要因、発作コントロールの困難さ、不随意運動の有無が重要な相違点であった。抗NMDA受容体抗体はAERRPS全例で陰性であり、病態形成に関与していない可能性が高いと考えられた。脳機能画像に関して、AERRPSでは中枢性ベンゾジアゼピン受容体イメージングにおいて、多発性の広汎な集積低下所見を認め、他ではみられない特徴であった。両疾患は、急性脳炎として時に鑑別を必要とするが、病因・病態からも別の疾患概念であることが考えられ、それらを念頭に、急性期から治療計画を決定する必要がある。

A. 研究目的

難治頻回部分発作重積型急性脳炎(Acute encephalitis with refractory repetitive partial seizures: 以下AERRPS)は、発熱と反復するけいれんで急性発症し、けいれん抑制にバルビツレートによるSuppression-Burstパターンの維持が必要で、難治な部分てんかんに移行する脳炎である。一方で、近年、抗NMDA受容体抗体脳炎(NMDARE)の疾患概念が確立し、小児例が多いことやけいれんが多いこともふくめて、その特徴的な臨床像が広く示された。急性期において、両者とも脳炎としての症状や所見を呈するため、鑑別を必要とする場合がある。抗NMDAR抗体および脳画像検査の観点から、両疾患の病態形成メカニズムを考察し、比較検討を行った。

B. 研究方法

2002～2010年までに、当院で診断したAERRPSとNMDAREの症例。診断は、NMDAREは飯塚ら(lizuka 2008)による5期(前駆期, 精神病期, 無反応期, 不随意運動期および緩徐回復期)の臨床経過に一致し、抗NMDA受容体(NMDAR)抗体陽性であること、AERRPSは佐久間らの提唱した診断基準(Sakuma 2009)をもとに、バルビタール療法を必要とする頻回部分けいれん、急性期以降の難治性てんかんへの移行などの臨床症状から行った。主に急性期の臨床像、頭部MRI所見、脳機能画像所見について、診療録を基に後方視的に検討した。

PSは佐久間らの提唱した診断基準(Sakuma 2009)をもとに、バルビタール療法を必要とする頻回部分けいれん、急性期以降の難治性てんかんへの移行などの臨床症状から行った。主に急性期の臨床像、頭部MRI所見、脳機能画像所見について、診療録を基に後方視的に検討した。

1. 抗NMDA受容体(NMDAR)抗体は、Dalmauの方法で髄液サンプルを用いて検討した(金沢医大田中恵子教授による)。脳機能画像については、脳血流分布はcerebral blood flow SPECT(CBF)を、中枢性ベンゾジアゼピン受容体は¹²³I iomazenil SPECT(BZR)の後期像を使用し、シンチグラムを視察的に評価した。

(倫理面への配慮) 抗体測定をはじめ各種検査実施に関しては、患者もしくは患者家族にインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

該当症例はAERRPS4例(男女比3:1)とNMDARE5例(男女比2:3)であった。頭部MRIは全例で実施。SPECTは、AERRPSでCBF2例、BZR3例、NMDAREで

CBF4例、BZR3例で実施した。AERRPSにおいて全例抗NMDAR抗体は陰性であった。NMDAREの1例は急性期にバルビタール療法を要する、頻回のけいれんを認めた。AERRPSはNMDAREに比し、平均発症年齢が低く(4歳vs14歳)、発熱から平均4.5日後にけいれんで発症し、一方NMDAREは感冒症状より平均9.4日後に全例で言動・行動異常や統合失調様の精神症状で発症していた。両疾患とも高頻度で(4/4:4/5)挿管を要したが、挿管理由は、AERRPSでバルビツレート療法に伴うもので、NMDAREでは中枢性低換気であった。また、NMDAREでは口部ジスキネジアなど不随意運動は必発だが、発作コントロールは1例を除き、容易であった。MRI画像変化は、AERRPSは2例で両側の視床と海馬に、NMDAREの2例で片側の側頭葉、海馬、小脳など認めた。CBF-SPECT変化は、AERRPSでは1例(/2例)で広汎性の軽度集積低下を示し、NMDARでは1例で側頭葉の灌流変化(急性期に増加、慢性期に低下)を認めたが、残りの3例では変化に乏しかった。BZR-SPECT変化は、AERRPSでは3例全例に多発性の広汎な集積低下所見を認め、NMDAREの2例とも片側側頭葉の限局した集積低下を示した。後遺症は、AERRPSで全例に重度の知的障害と難治性てんかんを、NMDAREの2例で軽度知的障害を遺した。

D. 考察

急性期における鑑別点は、発症年齢、発症症状、バルビタールを要した要因、発作コントロールの困難さ、不随意運動の有無が重要と考えられた。抗NMDA受容体抗体はAERRPS全例で陰性であった。頭部MRIにおいて、両者間で病変分布が異なった。特に知的予後の不良であった2例のAERRPSでは、左右対称性の視床枕と内側面の病変を認め、他疾患では見られない特徴的な所見であった。脳機能画像に関して、AERRPSではBZRでは多発性の広汎な集積低下所見が特徴で、頻回の発作と炎症性サイトカインによるGABAR traffickingを示したものと推測された。NMDAREにおいては、病態形成に抗NMDAR抗体によるNMDARのInternalizationが推測されているが、BZR所見からはGABARの変化は限局的であった。これまでAERRPSの抗神経細胞抗体については、一部の症例でELISA法によるグルタミン酸受容体 ϵ 2に対する抗体が陽性であることが報告されているが、Dalmou法による立体構造を有するNMDA受容体に対する抗体が陰性であったことは、NMDAREとAERRPSとが明確に異なることを原因抗体の面でもあきらかになったと考える。

E. 結論

両疾患は臨床経過からほぼ鑑別可能であると考えられた。AERRPSでは抗NMDA受容体抗体は全例陰性で、脳機能画像所見も異なり、病因・病態からも別の疾患概念であることが考えられた。それらを念頭に、急性期から治療計画を決定する必要がある。

F. 健康危険情報

省略 (分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Determinants of outcomes following acute child encephalopathy and encephalitis: pivotal effect of early and delayed cooling.

Kawano G, Iwata O, Iwata S, Kawano K, Obu K, Kuki I, Rinka H, Shiomi M, Yamanouchi H, Kakuma T, Takashima S, Matsuishi T; Research Network for Acute Encephalopathy in Childhood.

Arch Dis Child. 2011 Oct;96(10):936-41.

2. 学会発表

抗NMDA受容体抗体脳炎とAERRPS (acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures)の鑑別に関する検討

堀野 朝子、塩見 正司、長谷川 結子、服部 妙香、井上 岳司、温井 めぐみ、九鬼 一郎、岡崎 伸、川脇 壽

大阪市立総合医療センター 小児神経内科、感染症センター

第53回 日本小児神経学会 東京 2011年

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
佐久間啓	難治頻回部分発作重積型急性脳炎 (AERRPS)	小児科ピクシス	28	122-125	2011
九鬼一郎	画像検査—SPECT	小児科ピクシス	28	47-51	2011

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
佐久間啓	特異な脳炎・脳症後てんかんの一群 (粟屋-福山)	小児内科	43	506-8	2011
佐久間啓	粟屋福山症候群	小児科診療	74	986-90	2011
田沼直之	急性脳症とバイオマーカー	小児科診療	74(6)	931-936	2011
安西有紀, 林 雅晴, 松岡正樹, 高橋宏行, 宮田理英, 田沼直之, 大矢達男.	パンデミック(H1N1) 2009インフルエンザ感染により脳幹病変を呈した急性脳症の1例	脳と発達	43(1)	57-59	2011
Hayashi M, Miwa-Saito N, Tanuma N, Kubota M.	Brain vascular changes in Cockayne syndrome.	Neuropathology			
Miyata R, Tanuma N, Hayashi M, Imamura T, Takanashi JI, Nagata R, Okumura A, Kashii H, Tomita S, Kumada S, Kubota M.	Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS).	Brain Dev	34	124-127	2012

