

201231058A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

重症・難治性急性脳症の
病因解明と診療確立に向けた研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 水口 雅

平成25（2013）年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- 重症・難治性急性脳症の病因解明と診療確立に向けた研究
水口 雅……………3

II. 分担研究報告

- Immunoblot による抗神経抗体検出の試み
奥村彰久……………13
- 急性脳症類縁病態としての *migrating partial seizures in infancy*
および片麻痺性片頭痛に関する研究
斎藤義朗……………17
- 神経画像による急性脳症の診断・病態解析に関する研究
高梨潤一……………21
- 重症・難治性急性脳症の病因解明へ向けた遺伝子解析
廣瀬伸一……………25
- 急性脳症における髄液サイトカイン解析
山形崇倫……………29
- 先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症
山内秀雄……………35

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……37

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ……45

I. 総括・分担研究報告

重症・難治性急性脳症の病因解明と診療確立に向けた研究

研究代表者 水口 雅（東京大学大学院医学系研究科 発達医科学 教授）

研究要旨

重症・難治性急性脳症の臨床症状と画像所見を調査し、免疫学的に病態を解明し、発症の背景にある遺伝子多型や変異を解析した。平成 24 年度の研究では遅発性拡散低下をともなう急性脳症（AESD）の発症早期の所見にもとづく予後予測を行うとともに、先天性副腎皮質過形成(CAH)や腸管出血性大腸菌(EHEC)感染に合併する急性脳症の臨床像を明らかにした。AESD や脳炎・脳症における髄液バイオマーカーや血中抗神経抗体を探索した。AESD をはじめ急性脳症を合併するてんかん症候群、発作性疾患の遺伝子解析を行い、サイトカイン関連遺伝子多型やイオンポンプ遺伝子変異の関与を明らかにした。AESD の治療に関する前方視的多施設共同研究を準備した。

研究分担者

奥村彰久（順天堂大学医学部准教授）

斎藤義朗（国立精神・神経医療研究センター病院医長）

高梨潤一（亀田総合病院部長）

廣瀬伸一（福岡大学医学部教授）

山形崇倫（自治医科大学医学部教授）

山内秀雄（埼玉医科大学医学部教授）

研究協力者

齋藤真木子（東京大学医学部助教）

種市尋宙（富山大学医学部助教）

三牧正和（東京大学医学部講師）

松尾宗明（佐賀大学医学部准教授）

後藤知英（東京都立小児総合医療センター医長）

として、インフルエンザやヒトヘルペスウイルス 6 型（HHV-6）などのウイルスが多いが、腸管出血性大腸菌(EHEC)などの細菌も見られる。罹病率は低いが、しばしば死亡や神経学的後遺症をもたらすため、医学的・社会的に大きな問題である。

急性脳症の分類には病原ウイルスによる分類（インフルエンザ脳症、HHV-6 脳症など）と臨床病理学的特徴にもとづく分類（急性壊死性脳症（ANE）、遅発性拡散低下をともなう急性脳症（AESD）、可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症（MERS）、難治頻回部分発作重積型脳炎（AERRPS）など）がある。このうちインフルエンザ脳症に関しては 1999 年以来、新興・再興感染症研究インフルエンザ脳症研究班が研究を進め、2009 年には改訂版インフルエンザ脳症ガイドラインを刊行した。しかし従来、

A. 研究目的

急性脳症は小児に多く、各種の感染症を契機として急激に発症する。感染症の病原

HHV-6 など他のウイルス性急性脳症に関する全国的・組織的研究は乏しかった。またインフルエンザ脳症ガイドラインに示された治療方針は現在、ANE、AESDなどの病型に関わらず画一的であり、軽症例で過剰な治療となる可能性がある反面、重症例における効果はしばしば不十分であった。

本研究班は、急性脳症のうち、とくに重症・難治性の病型に重点を置き、診断・治療の確立・向上を目指して平成22～24年度の3年間にわたり研究を行った。平成22年度（1年目）はANE、AESD、MERSなど個々の病型（症候群）ごとに診断基準を作成し、全国の病院小児にアンケート調査を実施して、各病型の罹病率、病原と病型との関係など疫学的事実を解明した。遺伝子研究の検体収集と解析を開始した。平成23年度（2年目）はAESDの早期診断、ANEの重症度判定のためのマーカーを探索した。ANE、AESDの遺伝子解析とサイトカイン解析を進めた。AERRPSや先天性副腎皮質過形成(CAH)に合併する急性脳症(CAH脳症)など急性脳症の特殊型に関する研究を進めた。さらに平成23年春、富山県などにおけるEHEC(O-111株)による食中毒の集団発生、急性脳症の多発という事態を受け、EHEC脳症に関する研究に着手した。

平成24年度(3年目、最終年度)はAESDの遺伝子解析を進め、熱性けいれんとの異同を調べた。AESDの予後予測因子を抽出、スコア化した。急性脳症を合併するてんかんや発作性疾患として、乳児悪性部分発作(migrating partial seizures in infancy, MPSI)、偏頭痛性片麻痺(hemiplegic migraine, HM)、乳児交互性片麻痺(alternating hemiplegia of childhood, AHC)の遺伝子解析を行った。AESDや脳炎・脳症における免疫学的病態の解明を進

めた。CAH脳症およびEHEC脳症の臨床データを集積し、その臨床像を明らかにした。AESDの治療の前方視的研究の準備を進めた(図)。

B. 研究方法

1. AESD、テオフィリン脳症の遺伝子解析(水口、廣瀬)

従来の研究で熱性けいれん(FS)との関連が指摘されているサイトカイン関連遺伝子(*IL1B*, *IL1RN*, *TLR4*)多型について、AESD群、FS群、正常対照群を対象に遺伝子解析を行った。またテオフィリン脳症(全例がAESD)を対象に*CPT2*, *ADORA2A*, *SCN2A*など多数の責任遺伝子・候補遺伝子について多型、変異を解析した。

2. AESDの予後予測(高梨)

AESD(二相性脳症)の初回けいれん時と2回目けいれん時における各種データと予後との相関を、全国アンケート調査の結果にもとづき統計学的に解析した。

3. MPSI、HM、AHCの遺伝子解析(斎藤、廣瀬)

MPSIとHMについては候補遺伝子解析(*CACNA1A*, *KCNT1*, *ATPIA2* 遺伝子)、AHCについては全エクソーム解析を行った。

4. AESDや脳炎・脳症における免疫学的病態解析(山形、奥村)

AESDや他の脳症の症例について髄液のサイトカインやバイオマーカー候補物質を測定した。自己免疫性脳炎の疑われる症例の血液からイムノブロット法による自己抗体(抗神経抗体)の検出を試みた。

5. CAH脳症とEHEC脳症の疫学的研究(山内、高梨、種市(研究協力者))

CAH脳症については全国アンケート調査、EHEC脳症については富山県集団発生

事例から症例の臨床・画像データを集積して検討した。

6. AESD の治療に関する研究（高梨、後藤（研究協力者）、松尾（研究協力者））

AESD の治療の前方視的研究に向け大規模症例集積システムとデータベースを構築する準備を開始した。デキストロメトルファン（メジコン®）を用いた新しい治療法の可能性につき検討した。

C. 研究結果

1. AESD、テオフィリン脳症の遺伝子解析

AESD 群（76 症例）では *IL1B* 遺伝子（interleukin-1 β をコードする）の-511C/T 多型の頻度が FS 群、対照群に比し有意に高かった。また *IL1RN*（interleukin-1 receptor antagonist をコードする）の RN1/RN2 遺伝子型の頻度が FS 群、対照群に比し有意に高かった。*TLR4* 遺伝子の多型の頻度に関しては、差が見られなかった。

またテオフィリン脳症（16 症例）の半数が AESD の危険因子である CPT2 熱感受性ハプロタイプ(CIM)を有していた。全例が AESD ないし FS・てんかんと関連が報告されている多型を複数有していた。

2. AESD の予後予測

単変量ロジスティック回帰分析の結果、予後と有意に相関する初回けいれん時所見は(1)抗けいれん薬に対する反応性不良、(2)気管挿管施行、(3)翌日の意識レベル不良、(4)血糖値 200 以上、2 回目けいれん時所見は(5)bright tree appearance の前頭部以外での存在、(6)CT 異常所見（浮腫、出血など）であった。多変量ロジスティック回帰分析の結果、有意差を認めた所見は初回けいれん翌日（12～24 時間後）の意識障害（JCS 10 以上）であった。暫定的な予後予測スコアとして、上記(2)(3)(5)(6)の組み合わせ

わせが考えられた。

3. MPSI と AHC の遺伝子解析

MPSI 3 症例では遺伝子変異は見られなかったが、HM の 1 症例で *ATP1A2* 遺伝子変異が同定された。

AHC13 症例の遺伝子解析では、全エクソーム解析で *ATP1A3* 遺伝子が候補遺伝子として浮上し、それに続くサンガーシーケンスで 13 例全例に同遺伝子の変異が見いだされた。

4. AESD や脳炎・脳症における免疫学的病態解析

AESD 8 症例の発症早期の髄液において PDGF と VEGF の増加が見られた。

自己免疫性脳炎の疑われる小児例 3 症例中 2 例で、イムノブロット法により血清中の抗神経抗体の存在が示唆された。

5. CAH 脳症と EHEC 脳症の疫学的研究

CAH 脳症については 16 症例の臨床データが集積され、その臨床的特徴が明らかになった。

EHEC(O-111) 脳症については 21 症例の臨床・画像データが集積され、頭部画像では両側の視床・被殻病変が特徴的であることが明らかとなり、治療上は副腎皮質ステロイドなど積極的治療の効果が示唆された。

6. AESD の治療に関する研究

AESD 症例を前方視的に集積・検討するための多施設共同研究の準備が、関東地区の医療機関を中心に始められた。

D. 考察

本年度の遺伝子解析研究では、AESD に関しては従来どおり候補遺伝子解析をおこなった。その結果、AESD 発症の遺伝的背景には *IL1B*、*IL1RN* 遺伝子多型など熱性けいれん(FS)と共通の要素が含まれる可能性が高まった。AESD と FS の異同、相互

の関係については、今後の研究でさらに詳細な検討を加える必要がある。テオフィリン脳症は AESD や FS と関連する複数の遺伝子多型を背景として発症すると推測された。

いっぽう AHC では全エクソーム解析を施行し、*ATP1A3* 遺伝子変異を病因として同定することができた。さらに HM の 1 例で *ATP1A2* 遺伝子変異を見いだした。AHC や HM では急性脳症の合併が報告されていることから、今後これらのイオンポンプ遺伝子と急性脳症の関連について、さらに検討を重ねるべきと考えられた。

AESD の予後予測について、暫定的なスコアはできたが、これを用いても治療と予後の相関は認められなかった。本研究は、症例数が小さいことと、後方視的検討であることに限界があった。今後は前方視的研究で大規模な症例集積とデータベース構築が必須である。このことは本研究班の当初の目標の 1 つであった。しかしこの研究を本格的に進めるには、多数の参加施設、多額の運営経費、長期間にわたり持続可能なシステムが求められる。本研究班の段階では、その構想を作るまでにとどめざるを得なかった。さらに AESD の早期治療のためには、早期診断バイオマーカーの発見も必須である。今年度の研究でその候補として見つかった PDGF と VEGF について、今後さらに検討が必要である。

E. 結論

本研究班の 3 年間にわたる研究により、AESD、ANE をはじめとする急性脳症の複数の症候群の疫学、臨床像、病因（危険因子となる遺伝子多型や変異）、病態が解明された。発症の背景となる遺伝子の変化の同定を通じて、複雑疾患（多因子遺伝疾患）

としての急性脳症の本態が徐々に明らかになるとともに、現在、治療成績の良くない重症・難治性急性脳症の新しい治療法開発の可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

ア. 原著論文

Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, Kubota M, Amemiya K, Takanashi JL, Hwang SK, Hirose S, Mizuguchi M. Mutations of the *SCN1A* gene in acute encephalopathy. *Epilepsia*. 2012; 53(3): 558-564.

Tran DN, Pham NT, Tran TT, Khamrin P, Thongprachum A, Komase K, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Phylogenetic analysis of rubella viruses in vietnam during 2009-2010. *Journal of Medical Virology* 2012; 84(4): 705-710.

Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takanashi JI, Hirose S, Yamagata T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes. *Brain and Development* 2012; 34(5): 337-343.

Bergamino L, Capra V, Biancheri R, Rossi A, Tacchella A, Ambrosini L, Mizuguchi M, Saitoh M, Marazzi MG. Immunomodulatory therapy in recurrent acute necrotizing encephalopathy ANE1: Is it useful? *Brain and Development* 2012; 34(5): 384-391.

Abe Y, Hashimoto K, Iinuma K, Ohtsuka Y, Ichiyama T, Kusuhara K, Nomura K, Mizuguchi M, Aiba H, Suzuki Y, Mizusawa H, Hosoya M. Survey of

- subacute sclerosing panencephalitis in Japan. *Journal of Child Neurology* 2012; 27(12): 1529-1533.
- Chan-It W, Thongprachum A, Khamrin P, Kobayashi M, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Emergence of a new norovirus GII.6 variant in Japan, 2008-2009. *Journal of Medical Virology* 2012; 84(7): 1089-1096.
- Kobayashi K, Ohzono H, Shinohara M, Saitoh M, Ohmori I, Ohtsuka Y, Mizuguchi M. Acute encephalopathy with a novel point mutation in the *SCN2A* gene. *Epilepsy Research* 2012; 102(1-2): 109-112.
- Thongprachum A, Khamrin P, Tran DN, Okitsu S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Evaluation and comparison of the efficiency of immunochromatography methods for norovirus detection. *Clinical Laboratory* 2012; 58(5-6): 489-493.
- 黒田友紀子, 三牧正和, 寺嶋 宙, 佐藤敦志, 高橋 寛, 狩野博嗣, 岡明, 水口 雅, 五十嵐隆. Guillain-Barre 症候群を合併した川崎病の 1 例. *日本小児科学会雑誌* 2012; 116(6): 985-989.
- Thongprachum A, Chan-It W, Khamrin P, Okitsu S, Nishimura S, Kikuta H, Yamamoto A, Sugita K, Baba T, Mizuguchi M, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Reemergence of new variant G3 rotavirus in Japanese pediatric patients, 2009-2011. *Infection, Genetics and Evolution* 2013; 13: 168-174.
- Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 strain. *Journal of Clinical Microbiology* 2013; 51(1): 356-359.
- Tran DN, Pham TM, Ha MT, Tran TT, Dang TK, Yoshida LM, Okitsu S, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Molecular epidemiology and disease severity of human respiratory syncytial virus in Vietnam. *PLoS One* 2013; 8(1): e45436.
- イ. 総説
- 水口雅. [小児・思春期診療最新マニュアル] 髄膜炎. *日本医師会雑誌* 2012; 141(Suppl. 1): S226-227.
- 水口雅. [小児・思春期診療最新マニュアル] 急性脳炎・急性脳症. *日本医師会雑誌* 2012; 141(Suppl. 1): S227-228.
- 水口雅. [NMO spectrum と AQP4 の病態意義] 小児の ADEM, MS, NMO. *神経内科* 2012; 76(6): 559-563.
- 水口雅. [神経疾患診療の進歩と話題] 急性脳症の診断と治療. *小児内科* 2012; 44(9):1486-1489.
- 水口雅. [けいれん重積型 (二相性) 急性脳症] 序: けいれん重積型 (二相性) 急性脳症のオーバービュー. *小児科臨床* 2012; 65(9):1941-1945.
- 水口雅. [知っておきたい小児科の知識—専門医の診方・治し方] 熱性けいれんと髄膜炎・脳炎・脳症. *耳鼻咽喉科・頭頸部外科* 2012; 84(12):927-930.
- 水口雅. [クローズアップ脳炎・脳症・髄膜炎] 序—急性脳炎・脳症研究の最近の進歩. *小児内科* 2013; 45(2):172-175.

2. 学会発表

山本啓之, 奥村彰久, 夏目淳, 水口雅: 急性壊死性脳症の重症度予測スコア. 第 115 回日本小児科学会学術集会福岡 2012 年 4 月 21 日

齋藤真木子, 水野葉子, 内野俊平, 高橋長久, 岩崎博之, 水口雅: Costello/CFC 重複症候群における新規 SOS1 変異の機能解析. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡 2012 年 4 月 21 日

水野葉子, 内野俊平, 高橋長久, 石井礼花, 岩崎博之, 五石圭司, 五十嵐隆, 齋藤真木子, 水口雅, 岡明: 新生児スクリーニングで発見された先天性 CMV 感染症における中枢神経病変の描出. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡 2012 年 4 月 21 日

大内啓嗣, 三浦健一郎, 内野俊平, 岩崎博之, 竹内正人, 磯島豪, 張田豊, 水口雅, 五十嵐隆, 武藤浩司: 急性腎不全と後頭葉可逆性白質脳症 (PRES) を合併したサルモネラ脳症の 1 例. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 福岡 2012 年 4 月 22 日

多田弘子, 高梨潤一, 山形崇倫, 奥野英夫, 久保田雅也, 河野剛, 椎原隆, 浜野晋一郎, 廣瀬伸一, 水口雅. Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD]における早期診断に関する後方視的検討. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 17 日

中川裕康, 八木信一, 水口雅. 深部灰白質の両側対称性病変を伴う腸管出血性大腸菌 (EHEC) 脳症. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 17 日

星野愛, 齋藤真木子, 篠原麻由, 長嶋雅子, 吉田健司, 加藤竹雄, 豊島光雄, 李守永, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 17 日

齋藤真木子, 篠原麻由, 星野英紀, 久保田雅也, 雨宮馨, 高梨潤一, 黄壽卿, 廣瀬伸一, 水口雅: 急性脳症における SCN1A 遺伝子解析. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 17 日

阿部裕一, 酒井哲郎, 水口雅, 山内秀雄: 先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症の臨床的検討. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 18 日

篠原麻由, 齋藤真木子, 山中岳, 雨宮馨, 久保田雅也, 山形崇倫, 菊池健二郎, 川脇寿, 亀井淳, 赤坂真奈美, 安西有紀, 塩見正司, 水口雅, 山内秀雄: テオフィリン関連急性脳症における遺伝的素因. 第 54 回日本小児神経学会総会, 福岡, 2012 年 5 月 18 日

Mizuguchi, M: Acute encephalopathy: devastating complications of influenza and other viral infections. 12th International Child Neurology Congress and 11th Asia and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, 2012 年 5 月 28 日

Yonee C, Toyoshima M, Maruyama S, Maegaki Y, Saito M, Mizuguchi M: A recurrent case of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion after acute necrotizing encephalopathy. 12th International Child Neurology Congress and 11th Asia and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, 2012 年 5 月 28 日

水口雅: [小児の急性脳症]急性脳症: 発症の遺伝的背景. 第 17 回日本神経感染症学会総会学術集会, 京都, 2012 年 10 月 19 日

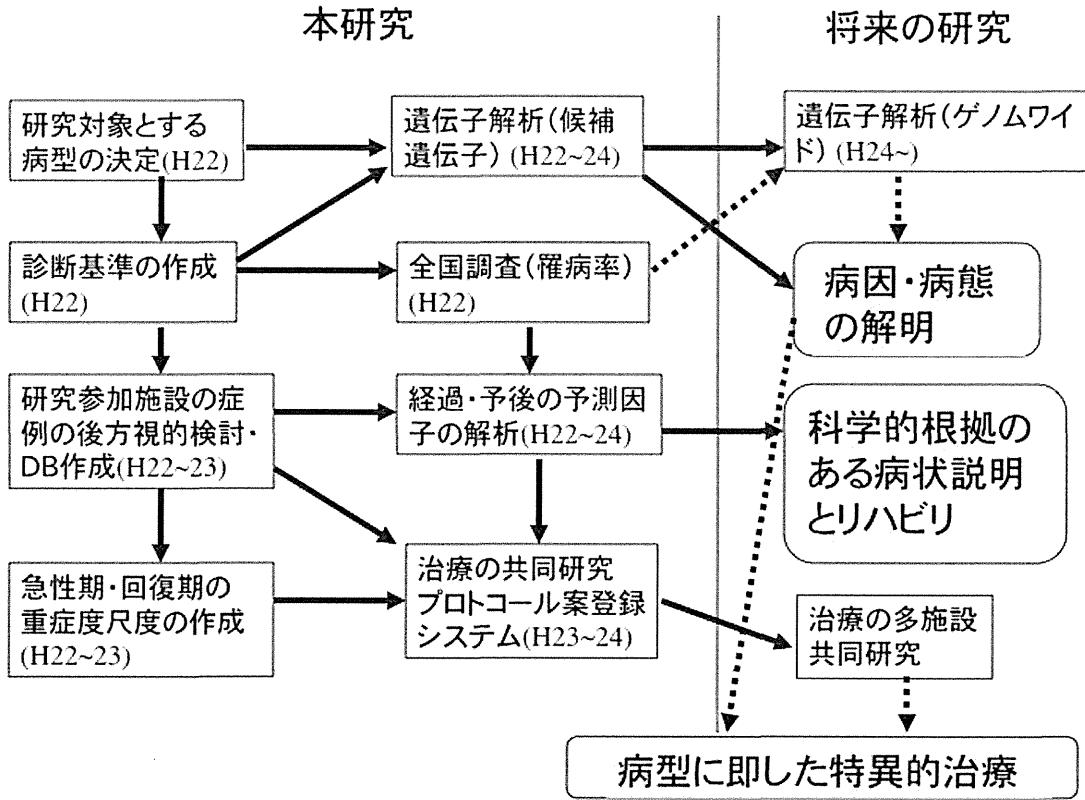
Mizuguchi, M: Influenza encephalopathy and related neuropsychiatric syndromes. 2nd ISIRV-Antiviral Group Conference, Hanoi, 2012 年 10 月 30 日

水口雅：急性脳症：病理・病態から病因へ。
第20回多摩小児感染・免疫研究会、武蔵野、
2013年2月16日

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
なし。

G. 知的所有権の取得状況

図 研究の流れ図



II. 分担研究報告

Immunoblot による抗神経抗体検出の試み

研究分担者 奥村彰久 順天堂大学医学部小児科・准教授

研究要旨

近年、急性脳炎・脳症における自己抗体（抗神経抗体）の関与が注目されている。しかし、精密な抗神経抗体の検出は容易でなく、実施できる施設に限られる。我々は premade membrane を使う immunoblot を用いる簡便な方法で、抗神経抗体の検出を試みた。ヒト対照脳を用いた免疫組織化学染色にて抗神経抗体の存在が推定されている 3 例について、Immunoblot を施行した。その結果、2 例について過剰バンドを認め抗神経抗体の存在が示唆された。Immunoblot は感度には限界があるが、簡便で陽性反応的中率が高い可能性があり、抗神経抗体の検出方法の一つとして使用できると考えた。

A. 研究目的

近年、急性脳炎・脳症における自己抗体（抗神経抗体）の関与が注目されている。特に精神症状が特徴的である辺縁系脳炎については、いくつかの異なる抗神経抗体が関与することが明らかになりつつある。これらの自己抗体の検出には、培養細胞に標的となる抗原分子を発現させてそれに対する抗体を検出する方法が一般的である。この方法は生体内に近い条件で抗体の関与を評価することができるが、その実施は容易でなく実施できる施設は限られている。一方、premade membrane を使う immunoblot は抗神経抗体の簡便な測定に有用である可能性がある。我々は、premade membrane を用いて Immunoblot による抗体検出を試みた。

B. 研究方法

以下の 3 症例の急性期および遠隔期の血

清について、抗神経抗体の検出を試みた。

症例 1：5 歳女児。急速に進行する舞蹈病・バリスムを 3 回反復し、いずれもステロイドパルス療法が有効であった。抗核抗体、Lupus anticoagulant、抗 ds-DNA 抗体、抗 RNP 抗体、抗 sm 抗体、抗 CLβ2GPI 抗体、抗基底核抗体は全て陰性。

症例 2：13 歳男児。亜急性に増悪するけいれん・意識障害・異常行動で発症し、辺縁系脳炎と診断された。

症例 3：11 歳女児。SLE で入院中に舞蹈様運動・アカシジアが出現し、ステロイドパルス療法が有効であった。

Immunoblot は、ヒト脳組織由来のタンパクを電気泳動した premade membrane を用いた。被験血清を 50 倍に希釈して incubation した後、Biotin-Streptoavidin 法にて染色し判定した。

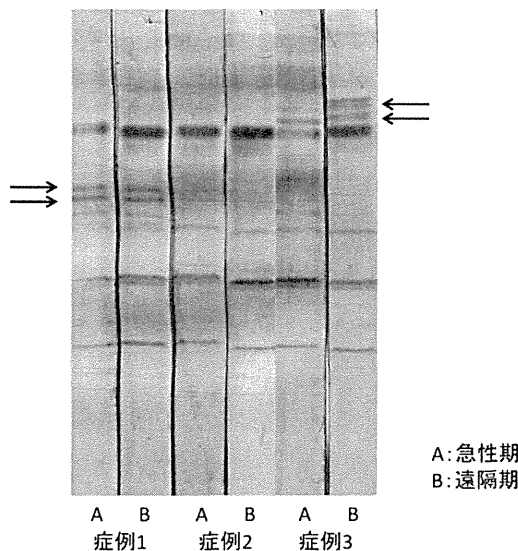
なお、3 症例とも、ヒト対照脳を用いた免疫組織化学染色にて、抗神経抗体の存在

が推定されている。

C. 研究結果

図に結果を示す。

症例 1 および 3 では急性期および遠隔期の血清で矢印に示すような過剰なバンドが染色され、抗神経抗体の存在が示唆された。症例 2 では通常染色される以外の過剰バンドを認めなかった。



D. 考察

今回対象とした 3 例は、免疫組織化学染色の結果からは抗神経抗体を持っていた可能性がある。一方、Immunoblot では 2 例のみに陽性と思われる所見を認めた。この結果は、Immunoblot は感度には限界があるが、陽性反応的中率は高い可能性があると思われた。抗神経抗体の証明には様々な測定法における再現性の確認が不可欠である。Immunoblot 単独による判定には限界があり、免疫組織化学染色などの複数の検出法を組み合わせる必要がある。

Immunoblot の利点としては、次のような点が考えられる。まず、特定のエピトープを標的としないため、未知のエピトープに対する抗体を検出し得る。また、抗体が単クローン性なのか、多クローン性なのか

判別できる可能性がある。さらに、抗体が結合したタンパクの分子量をもとに、エピトープの同定ができる可能性がある。

E. 結論

抗神経抗体の存在が推定される症例において、Immunoblot による検出を試みた。Immunoblot の陽性率はあまり高くないと思われたが、他の方法にはない利点もあり抗神経抗体の検出方法の一つになり得ると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okumura A, Tsuji T, Kubota T, Ando N, Kobayashi S, Kato T, Natsume J, Hayakawa F, Shimizu T. Acute encephalopathy with 2009 pandemic flu: Comparison with seasonal flu. *Brain Dev* 2012; 34(1): 13-19.

Okumura A, Uematsu M, Imataka G, Tanaka M, Okanishi T, Kubota T, Sudo A, Tohyama J, Tsuji M, Ohmori I, Naiki M, Hiraiwa-Sofue A, Sato H, Saitoh S, Shimizu T. Acute encephalopathy in children with Dravet syndrome. *Epilepsia* 2012; 53(1): 79-86.

Miyata R, Tanuma N, Hayashi M, Imamura T, Takanashi J, Nagata R, Okumura A, Kashii H, Tomita S, Kumada S, Kubota M. Oxidative stress in patients with clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenic lesion (MERS). *Brain Dev* 2012; 34(2): 124-127

Oikawa N, Okumura A, Oyama S, Baba H, Shimizu T, Kato A. A 15-month-old boy with reduced consciousness and convulsion. *J Clin Virol* 2012; 53(4): 276-279.

Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takanashi J, Hirose S, Yamagata T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes. *Brain Dev* 2012; 34(5): 337-343.

Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Mori H, Ichiyama T, Okumura A. Pertussis-associated encephalitis/encephalopathy with marked demyelination in an unimmunized child. *J Neurol Sci* 2012; 320(1-2): 145-148.

Hayashi N, Okumura A, Kubota T, Tsuji T, Kidokoro H, Fukasawa T, Hayakawa F, Ando N, Natsume J. Prognostic factors in acute encephalopathy with reduced subcortical diffusion. *Brain Dev* 2012; 34(8): 632-639.

Kato T, Okumura A, Hayakawa F, Tsuji T, Natsume J. Transient reduced diffusion in the cortex in a child with prolonged febrile seizures. *Brain Dev* 2012; 34(9): 773-775.

Kawashima H, Morichi S, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T; collaborating study group on influenza-associated encephalopathy in Japan. National survey of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in Japanese children. *J Med Virol* 2012; 84(8): 1151-1156.

Kawashima H, Morichi S, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T; The Collaborating Study Group On Influenza-Associated Encephalopathy In Japan. Treatment of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in children. *Scand J Infect Dis* 2012; 44(12): 941-947.

2. 学会発表

Akihisa Okumura, Tetsuo Kubota, Motomasa Suzuki, Tatsuya Fukazawa, Shinpei Abe, Mitsuru Ikeno, Mariko Hosozawa, Toshiaki Shimizu, Masaharu Hayashi. Autoimmune Encephalitis Proven by Immunohistochemical Study. 第54回日本小児神経学会総会、札幌、2012.5.17

Akihisa Okumura. Neonatal EEG in determining risk to the preterm brain. Joint congress of the 12th International Child Neurology Congress and the 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, 2012.6.1. 奥村彰久、池野充、久田研、東海林宏道、清水俊明. *TUBA1A* 変異による滑脳症・脳室拡大・小脳低形成の1剖検例. 第48回日本周産期・新生児医学会学術集会、さいたま、2012.7.10.

奥村彰久. 新生児および乳幼児の発作—aEEGによる評価—. 第46回日本てんかん学会、東京、2012.10.10.

Akihisa Okumura, Keiko Shimojima, Tetsuo Kubota, Shinpei Abe, Shintaro Yamashita, Katsumi Imai, Tohru Okanishi, Hideo Enoki, Tatsuya Fukasawa, Takuya Tanabe, Toshiaki Shimizu, Toshiyuki Yamamoto. *PRRT2* mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. 第46回日本てんかん学会、東京、2012.10.11.

奥村彰久. Hemorrhagic shock and encephalopathy. 第595回日本小児科学会東京都地方会講話会、東京、2012.10.13.

奥村彰久. 新生児発作の神経画像所見. 第7回小児神経放射線研究会、京都、2012.10.27.

奥村彰久. 小児急性脳症の脳波. 第 17 回日本神経感染症学会総会、京都、2012.10.19.
奥村彰久. 新生児および小児における amplitude-integrated EEG の臨床応用. 第 42 回日本臨床神経生理学会・学術大会、東京、2012.11.10.

Akihisa Okumura, Keiko Shimojima ,
Tetsuo Kubota , Shinpei Abe, Shintaro
Yamashita, Katsumi Imai, Tohru
Okanishi, Hideo Enoki, Tatsuya
Fukasawa, Takuya Tanabe, Shino
Shimada, Leanne M Dibbens, Toshiaki
Shimizu, Toshiyuki Yamamoto. *PRRT2*

mutation in Japanese children with
benign infantile epilepsy. The 16th
Annual Meeting of American Epilepsy
Society, San Diego, CA, USA , 2012.12.2.

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

3. その他

なし

急性脳症類縁病態としてのmigrating partial seizures in infancy および片麻痺性片頭痛に関する研究

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
研究協力者 齋藤 貴志 (同小児神経科), 石井 敦士, 廣瀬 伸一 (福岡大学小児科)
保立麻美子 (川口市民医療センター小児科)

研究要旨

急性脳症に共通する遺伝的素因の存在を疑い、migrating partial seizure in infancy (MPSI) 3 例で *SCN1A*, *KCNT1* 遺伝子を、脳症様エピソードを反復した片麻痺性片頭痛の 1 例で *CACNA1A*, *ATP1A2* 遺伝子を解析した。MPSI 例ではいずれの遺伝子も変異は見られなかった。片麻痺性片頭痛例で *ATP1A2* 遺伝子に c.2563 G>A (p.Gly855Arg) の de novo ヘテロ変異が同定された。急性脳症の病態に関与する神経細胞の興奮性や神経原性炎症への関与について、チャンネル/ポンプ遺伝子が急性脳症の遺伝的素因を成す可能性がある。

A. 研究目的

Migrating partial seizures in infancy (MPSI) は乳児期前半に発症するてんかん性脳症で、発作時にてんかん性活動の焦点が同側/対側半球に移動する特徴的脳波所見を呈する。一部の症例では発熱時に痙攣群発を伴う急性脳症様のエピソードで発症する。また、数か月の急性期を過ぎると発作のコントロールが付き、軽度の脳萎縮と重度の障害を残す点も急性脳症を連想させる。一部の症例で *SCN1A*, *KCNT1* 遺伝子異常の報告がある。

片麻痺性片頭痛(HM)は原因遺伝子として *CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A* が同定されている。急性脳症様のエピソードを合併することがあり、*CACNA1A* 遺伝子変異を有する 1 例での急性脳症について昨年の本研究班で報告した。

これら急性脳症の辺縁群は急性脳症の発症

素因としてのチャンネル/ポンプ遺伝子変異/多型という観点から興味深く、今回はその臨床像の詳細と原因遺伝子の関係の追究を試みた。

B. 研究方法

対象は MPSI 3 例、急性脳症様エピソードを反復した HM 1 例。MPSI 例で *SCN1A*, *KCNT1* 遺伝子、HM 例で *CACNA1A*, *ATP1A2* 遺伝子を解析した。家族および本人の同意を、当施設で倫理委員会の承認を得た生体材料による遺伝子解析研究の同意書によりインフォームド・コンセントを得、匿名化を施して福岡大学小児科で遺伝子解析を行った。てんかんおよび片頭痛の遺伝子解析に関して同大学の倫理委員会で承認を得た。

症例 1. 3 歳男児.

[現病歴] 生後 4 か月時に 39℃ 台の発熱 2

日目から眼球偏位、四肢・口唇の複雑な動きを伴う発作が群発。各種抗てんかん薬に抵抗性で、次第にてんかん性無呼吸が主な発作型となった。発作時脳波で Fp2→F8→T3→F7 と律動波の焦点が移動する所見があり MPSI と診断。臭化カリウムで無呼吸発作は一旦消失したが結節性臭素疹の出現により中止。PB+AZA+CLB にて生後 10 月時に発作は消失した。以後 2 年半発作の再燃なく、顎定は獲得したが重度の障害を残している。F3, F4, C4, T4 などにてんかん波は残存して

いる。両側頭頂後頭葉優位のびまん性大脳萎縮を呈している。

症例 2. 3 歳女兒

【現病歴】生後 5 か月時に複雑部分発作を発症。治療抵抗性に経過し 7 か月時からてんかん性無呼吸を頻発、人工呼吸管理を受けた。発作時脳波で Fp2→F3/F4→T3→Fp2/C4 と移動する律動性てんかん波を認め MPSI と診断。8 月時に追加した AZA が著効し、PB+KBr+AZM にて 1 年間発作消失。PB 減量後に月 1 回程度の発作が再燃、LTG 追加後は半年間発作が消失している。T5, F3 などに棘波が残存、MRI 上軽度の前頭葉萎縮を残している。3 歳までに伝い歩き・バイバイの手振りなどを獲得。

症例 3. 8 歳男児

【現病歴】生後 4 か月時に強直性けいれん群発にて発症。眼球偏位、ミオクローヌスなど他の発作型も出現し難治に経過。6 か月時に発作時脳波から MPSI と診断。PB+KBr にて一旦発作が消失し 8 か月時に退院。2 歳 9 か月時に眼球偏位、間代性けいれん再燃、KBr 増量後消失。以後 6 歳時に 2 階有熱時痙攣、7 歳時無熱性痙攣 1 回のみコントロールされている。9 歳時歩行可能、有意語あり。両側前頭部に連続した棘波が残存し頭部 MRI で海馬萎縮が見られている。

症例 4. 8 歳女兒

【現病歴】1 歳時有熱時に意識障害・左不全麻痺を発症。右半球優位の脳浮腫が認められ

mPSL パルス施行。数日後に麻痺が回復、次いで意識も回復し 2 週間で退院。幼児期に 10 回程度、

転倒して頭部を打つと 30 分後くらいから右片麻痺→意識減損→入眠後翌朝には回復というエピソードを反復した。7 歳時全身性痙攣・意識障害出現。頭部 MRI 上白質高信号が見られ急性脳症として治療。2 週間後に体動が出始めて右麻痺の存在に気づかれた。有意語消失、言語理解も低下した。麻痺は 2-3 か月後に回復、発語は 8 歳時に出現。支援学校に転校。8 歳 5 か月時に意識減損→右麻痺・発熱出現。mPSL パルス施行、2 日以内に元の状態に回復した。8 歳 8 か月 時にも同様のエピソードあり、この際は頭痛の訴えが先行していた。8 歳 9 か月時わずかな右片麻痺を残し、軽度知的障害を有している。

C. 研究結果

全エクソンシーケンスにより、症例 1-3 で *SCN1A* 遺伝子変異は見られなかった。*KCNT1* 遺伝子は症例 1,3 では正常、症例 2 では再検中。症例 4 で *ATP1A2* 遺伝子のエクソン 17 に c.2563 G>A (p.Gly855Arg) のヘテロ接合でのミスセンス変異を同定した。両親に対して同変異を検索したが変異は存在せず新生変異であることが確認できた。

D. 考察

MPSI は遺伝的に heterogeneous な疾患であり、*SCN1A*, *KCNT1* 以外の原因遺伝子の検索を要する。*SCN1A* 遺伝子変異例があるように、急性脳症の素因と overlap する可能性もある。

片麻痺性片頭痛における急性脳症の合併は *CACNA1A* 遺伝子変異例の報告が多いが、*ATP1A2* 変異例も 2 件ほど報告されている。今回の症例は非可逆的な後遺症を残しており、破壊性の機転が一般の急性脳症と同様に惹起されていた可能性がある。ポンプ遺伝子と急性脳症の関係について視野を広げる価値があると思われる。

E. 研究発表

1. 論文発表

Saito T, Saito Y, Sugai K, et al. Late-onset epilepsy in children with acute encephalopathy with prolonged febrile convulsions – a clinical and encephalographic study. Brain Dev in press

Ohmura K, Suzuki Y, Saito Y, et al. Sporadic hemiplegic migraine presenting

as acute encephalopathy. Brain Dev 2012; 34: 691-5.

F. 知的所有権の出願・登録状況

特記事項なし

神経画像による急性脳症の診断・病態解析に関する研究

研究分担者 高梨 潤一 亀田メディカルセンター小児科

研究協力者 多田弘子 千葉県済生会習志野病院小児科

研究要旨

Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD] 予後予測に関する後方視的検討を行った。AESD 85例の検討から発症 12-24 時間後の意識レベル不良が AESD の予後不良因子として最も有用であり、その他抗けいれん薬に対する反応性不良、けいれんの持続時間 50 分以上、挿管あり、血糖値 200mg/dl 以上、前頭部以外に存在する bright tree appearance (BTA)が挙げられた

A. 研究目的

AESD の臨床・検査・画像所見ならびに治療法と予後との相関を後方視的に検討し、AESDの予後予測に有用な項目を抽出する。

B. 研究方法

重症難治性急性脳症の病態解明と診療確立に向けた研究班（水口班） 班員、蔵王セミナー参加施設に対し AESD患児の臨床・検査・画像所見、治療等をアンケート形式で調査した。初回けいれん時と2回目けいれん時近傍の各種データと予後との相関を統計的（単変量/多変量ロジスティック回帰分析）に解析した。

統計的有意水準は0.05とした。対象は AESDと診断された90例、平均年齢1.7歳。

予後スコア：運動面（正常：0、独歩可能：1、補助具歩行：2、座位可能：3、頸定可能：4、頸定不可：5）と言語面（正常：0、会話可能：1、2語文可能：2、単語：3、有意語なし：4）を合計し、0：正常1~3：軽症、4~6：中等症、7~9：最重度に分類した。

（倫理面への配慮）

本研究は亀田メディカルセンターの臨床研究審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

AESDの予後不良因子として発症12-24時間後の意識レベル不良(JCS10以上)が多変量分析で唯一有意差が出た。その他抗けいれん薬に対する反応性不良、けいれんの持続時間50分以上、挿管あり、血糖値200mg/dl以上、前頭部以外に存在するBTA (bright tree appearance) が単変量分析で有意差が出た。統計結果を元にAESD予後予測のためのスコア化を試みたところ、Spearmanの相関係数 0.4811, $p<0.001$ であった。

D. 考察

予後不良因子を早期に見極め治療介入することが重要と思われるが、今回の検討では治療（ステロイドパルス、 γ グロブリン、脳低温療法）と予後の相関は認められなか