

った。脳低温療法施行症例は限られており、今後の検討が必要と思われた。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

Takanashi J, Shirai K, Sugawara Y, Okamoto Y, Obonai T, Terada H. Kawasaki disease complicated by mild encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS). *J Neurol Sci* 2012; 315: 167-169

Kouga T, Iai M, Yamashita S, Aida N, Takanashi J, Osaka H. A case of 3 episodes of reversible splenial lesions. *Neuropediatrics* in press.

Takanashi J, Takahashi Y, Imamura A, Kodama K, Watanabe A, Tominaga K, Muramatsu K, Barkovich AJ. Late delirious behavior with 2009 H1N1 influenza: mild autoimmune-mediated encephalitis? *Pediatrics* 2012; 129: e1068-e1071.

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 syndrome. *Brain Dev* 2012; 34: 337-343.

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

Miyata R, Tanuma N, Hayashi M,

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

Mori H, Maeda M, Takanashi J, Kunimatsu A, Matsushima N, Suzuki H, Saito N, Ohtomo K. Reversible splenial lesion in the corpus callosum following rapid withdrawal of carbamazepine after neurosurgical decompression for trigeminal neuralgia. *J Clin Neurosci* 2012; 19: 1182-1184.

Takanashi J, Okamoto N, Yamamoto Y, Hayashi S, Arai H, Takahashi Y, Maruyama K, Mizuno S, Shimakawa S, Ono H, Oyanagi R, Kubo S, Barkovich AJ, Inazawa J. Clinical and radiological features of Japanese patients with a severe phenotype due to CASK Mutations. *Am J Med Genet Part A* 2012; 158A: 3112-3118.

Takanashi J, Hayashi M, Yuasa S, Satoh H, Terada H. Hypomyelination in I-cell disease; MRI, MR spectroscopy and neuropathological correlation. *Brain Dev* 2012; 34: 780-783.

Takanashi J, Saito S, Aoki I, Barkovich AJ, Ito Y, Ken Inoue K. Increased N-acetylaspartate in model mouse of Pelizaeus-Merzbacher disease. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 418-425.

Takanashi J, Somazawa F, Maruyama K, Terada H, Xu D, A. Barkovich AJ. Metabolic changes in early childhood using LCModel with corrected water scaling method. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 174-180.

Hayashi S, Okamoto N, Chinen Y, Takanashi J, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Novel intragenic duplications and mutations of CASK in patients with mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). *Hum Genet* 2012; 131: 99-110.

Yoneda Y, Haginoya K, Kato M, Osaka H, Yokochi K, Arai H, Kakita A, Yamamoto T, Otsuki Y, Shimizu SI, Wada T, Koyama N, Mino Y, Kondo N, Takahashi S, Hirabayashi S, Takanashi JI, Okumura A, Kumagai T, Hirai S, Nabetani M, Saitoh S, Hattori A, Yamasaki M, Kumakura A, Sugo Y, Nishiyama K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N, Saitsu H. Phenotypic spectrum of *COL4A1* mutations: Porencephaly to schizencephaly. *Ann Neurol* in press.

Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with

periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology* in press.

Tada H, Takanashi J. MR spectroscopy in 18q- syndrome suggesting other than hypomyelination. *Brain Dev* in press.

Okumura A, Lee T, Ikeno M, Shimojima K, Kajino K, Inoue Y, Yoshikawa N, Suganuma H, Suzuki M, Hisata K, Shoji H, Takanashi J, A. James Barkovich, Shimizu T, Yamamoto T, Hayashi M. A severe form of epidermal nevus syndrome associated with brainstem and cerebellar malformations and neonatal medulloblastoma. *Brain Dev* 2012; 34: 881-885.

高梨潤一. 脳浮腫と頭蓋内圧亢進. 小児科学レクチャー けいれん重積・意識障害 総合医学社; 2012: 741-747.

高梨潤一. けいれん重積型(二相性)急性脳症. 頭部 MRI 所見と病態. 小児科臨床 2012; 65: 1953-1958.

#### F. 知的所有権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究研究事業）  
分担研究報告書

重症・難治性急性脳症の病因解明へ向けた遺伝子解析

研究分担者 廣瀬 伸一 福岡大学医学部小児科 教授

研究要旨

重症・難治性急性脳症各病型に関係する遺伝子同定に、全エクソーム解析が利用できないか探るため、責任遺伝子が不明な小児交互性片麻痺（Alternating Hemiplegia of Childhood: AHC）を対象に、全エクソーム解析を行った。次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析は、未知の疾患遺伝子変異同定に使用され始めている。非血縁関係にある AHC 典型症例 8 名のみ全エクソーム解析を行った。その結果、*ATP1A3* 遺伝子のヘテロ接合での *de novo* ミスセンス変異が AHC を引き起こすことが明らかになった。以上から、全エクソーム解析は重症・難治性急性脳症の病因解明へ向けた遺伝子解析にも利用可能と判断した。

A. 研究目的

重症・難治性急性脳症各病型に関係する遺伝子同定に、全エクソーム解析が利用できないか探るため、小児交互性片麻痺（Alternating Hemiplegia of Childhood: AHC）を対象に、全エクソーム解析を行った。次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析は未知の疾患遺伝子変異同定に使用され始めている。AHC は責任遺伝子が不明で、てんかんや多彩な不随意運動を随伴症状とする難治性疾患である。

B. 研究方法

対象は、孤発の小児交互性片麻痺患者 8 名に対して、次世代シーケンサーを用いて全エクソーム解析を実施した。両親の検体は全エクソーム解析に使用しなかった。責任遺伝子変異は、中枢神経発現遺伝子の *de novo* 変異とする作業仮説の基、候補遺伝子を選択した。続いて、サンガーシーケンスにて他患者 2 例とともに変異を確認し、責任遺伝子を

同定した。（倫理面への配慮）本研究は福岡大学倫理委員会承認を受け実施した。また、患者両親に対して書面により説明し、書面にて同意を得て実施した。

C. 研究結果

解析の結果、合計 13,517 個の遺伝子で 712,558 個のバリエーションが同定された。「新規バリエーション」と「中枢神経発現遺伝子」の抽出条件により 630 個の遺伝子まで絞りこんだ。発端者 4 人以上に共通したバリエーションを有する、*CNTN4*, *SYEN1*, と *ATP1A3* の 3 個の遺伝子を候補遺伝子として同定した。さらに、サンガーシーケンス法での発端者に対する変異確認と両親と健常者 96 名に対して同変異を探索した。その結果、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPase ポンプの  $\alpha 3$  サブユニットをコードする *ATP1A3* に発端者 8 人全員でヘテロ接合のミスセンス変異を認められたが、同変異は両親に存在しなかった。また、追加症例の孤発患者 2 名にサンガーシーケンスにて *ATP1A3* の

de novo のミスセンス変異をヘテロ接合で同定した。

#### D. 考察

*ATP1A3* 遺伝子のヘテロ接合での de novo ミスセンス変異が AHC を引き起こすことが解明できた。今回、従来の全エクソーム解析とは異なり、親子のトリオを使わず、患者のみで責任遺伝子同定が行えた。重症・難治性急性脳症各病型に關係する遺伝子同定にも次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析の可能が示された。

#### E. 結論

全エクソーム解析により、AHC の責任遺伝子同定が行えたことから、重症・難治性急性脳症各病型に關係する遺伝子同定にも次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析の可能が示された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, Ikeda K, Hirose S, Takanashi J, Takita J, Kikuchi K, Kubota M, Yamanaka G, Shiihara T, Kumakura A, Kikuchi M, Toyoshima M, Goto T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. *ADORA2A* polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology* 2013 in press.

Ishii A, Saito Y, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Arai H, Yamashita S, Kimura S, Oguni H, Morishita S, Tsuji S, Sasaki M, Hirose S. Identification of *ATP1A3* mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients, *PLoS One* 2013 in press.

Migita K, Yamada J, Nikaido Y, Shi X, Kaneko S, Hirose S, Ueno S. Properties of

a novel GABAA receptor  $\gamma 2$  subunit mutation associated with seizures. *J Pharmacol Sci* 2013 in press.

Wang J, Shi X, Kurahashi H, Hwang SK, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S. Prevalence of *SCN1A* mutations in children with suspected Dravet syndrome and intractable childhood epilepsy. *Epilepsy Res* 2012; 102:195-200.

Shimojima K, Inoue T, Imai Y, Arai Y, Komoike Y, Sugawara M, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Kanno H, Hirose S, Yamamoto T. Reduced PLP1 expression in induced pluripotent stem cells derived from a Pelizaeus-Merzbacher disease patient with a partial PLP1 duplication. *J Hum Genet* 2012; 57(9): 580-6.

Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, Kubota M, Amemiya K, Takanashi J, Hirose S, Mizuguchi M. Mutation of the *SCN1A* gene in acute encephalopathy. *Epilepsia* 2012; 53(3): 558-64.

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 Dev* 2012; 34(5): 337-43.

Hwang SK, Hirose S. Genetics of temporal lobe epilepsy *Brain Dev* 2012; 34(8): 609-16  
Shi X, Wang J, Kurahashi H, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S. On the likelihood of *SCN1A* microdeletions or duplications in Dravet syndrome with missense mutation. *Brain Dev* 2012; 34(8): 617-9.

Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N. Mutations in *PRRT2* responsible for

paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions. *J Hum Genet* 2012; 57(5): 338-41.

Shi X, Yasumoto S, Kurahashi K, Nakagawa E, Fukasawa T, Uchiya S, Hirose S. Clinical spectrum of *SCN2A* mutations. *Brain Dev* 2012; 34(7): 541-5.

Higurashi N, Shi X, Yasumoto S, Oguni K, Itomi K, Miyamoto A, Shirishi H, Kato T, Makita Y, Hirose S. *PCDH19* mutation in Japanese females with epilepsy. *Epilepsy Res* 2012; 99(1-2): 28-37.

Lossin C, Shi X, Rogawski MA, Hirose S. Compromised function in the Na(v)1.2 Dravet syndrome mutation R1312T. *Neurobiol Dis* 2012; 47(3): 378-84.

Kurahashi H, Hirose S. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy (September 2012) in: Gene Reviews at Gene Tests: Medical Genetics Information Resource [database online] Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2010 Available at <http://www.genetests.org>.

Ishii A, Yasumoto S, Ihara Y, Inoue T, Fujita T, Nakamura N, Ohfu M, Yamashita Y, Takatsuka H, Taga T, Miyata R, Ito M, Tsuchiya H, Matsuoka T, Kitao T, Murakami K, Lee WT, Kaneko S, Hirose S. Genetic analysis of *PRRT2* for benign infantile epilepsy, infantile convulsions with choreo-athetosis syndrome, and benign convulsions with mild gastroenteritis. *Brain Dev* 2012 in press.

Ishii A, Miyajima T, Kurahashi H, Wang JW, Yasumoto S, Kaneko S, Hirose S. *KCNQ2* abnormality in BECTS: Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes following benign neonatal seizures resulting from a mutation of *KCNQ2*. *Epilepsy Res* 2012; 102(1-2): 122-5.

## 2. 学会発表

Genetic analysis of sporadic alternating

hemiplegia of childhood. A Ishii. 2012.9/30-10/6 ヨーロッパてんかん学会 ロンドン

An Update on The Genetics of Epilepsy. Shinichi Hirose 2012.6/15-6/18 第2回中国瀋陽てんかん治療の標準化のためのサミット会議

① Challenges in the Establishment of a Dravet Syndrome Model Using Patient-derived Induced Pluripotent Stem Cells. Norimichi Higurashi, Shinichi Hirose.

② Genetic analysis of *PRRT2* for benign infantile epilepsy, infantile convulsions with choleoathetosis syndrome, and benign convulsions with mild gastroenteritis. Atsushi Ishii, Sawa Yasumoto, Yukiko Ihara, Takahito Inoue, Takako Fujita, Noriko Nakamura, Masaharu Ohfu, Wang-TsoLee, Sunao Kaneko, Shinichi Hirose.

③ Genetic abnormality in *SCN9A*: Cause and modifier of Dravet syndrome Su-Kyeong Hwang, Christoph Lossin, Xiuyu Shi, Wenzhe Wang, Toshio Kojima, Sunao Kaneko, Shinichi Hirose.

2012.6/6-6/9 KES(韓国てんかん学会)

Genetics of benign neonatal seizures. Shinichi Hirose. 12th International Child Neurology Congress, 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Brisbane, 2012.5.31

New molecular technologies to discover disease-related or susceptibility genes.

Shinichi Hirose. 12th International Child Neurology Congress, 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Brisbane, 2012. 5. 28

## H. 知的所有権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特願 2008-031002 : てんかんモデル非ヒト哺乳動物

特願 2008-273446 : 変異導入遺伝子およびそ

れを導入したノックイン非ヒト動物  
特願 2009-188152: 注意欠陥/多動性障害診断  
用モデル非ヒト動物  
特願 2010-60019: リーシーケンス DNA チ  
ップおよび最適抗てんかん薬決定方法

寄与した指針又はガイドライン等：  
世界抗てんかん連盟 genetic commission の一  
員として、てんかんの遺伝子診断ガイドライ  
ンにあたる、「Genetic Testing in the  
Epilepsies : Report of the ILAE Genetics

Commission」をまとめ、Epilepsia に投稿、  
受理された。Ottman R, Hirose S, Jain S,  
Lerche H, Cendes IL, Noebels JL,  
Serratosa J, Zara F, Scheffer IE. Genetic  
testing in the epilepsies: Report of the  
ILAE Genetics Commission. Epilepsia 2010,  
51(4): 655-670

2. 実用新案登録  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究研究事業）  
分担研究報告書

急性脳症における髄液サイトカイン解析

研究分担者 山形 崇倫 自治医科大学小児科学 教授  
研究協力者 小島 華林 自治医科大学小児科学

研究要旨

急性脳症の病系分類の中で、急性壊死性脳症や出血性ショック脳症の発症にサイトカインストームが関与しているが、痙攣重積型脳症（AESD）とサイトカインの関連については、報告が様々である。AESDの初回痙攣時は一相性脳症や熱性痙攣複雑型との鑑別が困難であるが、二相目の痙攣発症後は後遺症を残す確率が高く、これらの鑑別と病態解明は急務である。AESDとサイトカインとの関連の解析を行い、病態解明の手掛かり、またバイオマーカーを得ることが本研究の目的である。

急性脳症の発症にはウイルス感染が強く関与しているが、細菌感染に伴い発症した譫妄・異常行動を伴う軽度脳症を呈した傍感染性脳症を経験した。本症例は炎症に伴うサイトカイン上昇が脳症発症に関与すると推察し、他の軽度脳症とともにサイトカインとの関連を解析した。

A. 研究目的

急性壊死性脳症や出血性ショック脳症は、発症にサイトカインストームが関与している一方、痙攣重積型脳症(AESD)や譫妄や行動異常を伴う軽度脳症（以下、軽度脳症）とサイトカインの関連の報告はあるが一定していない。

AESDを含む脳症でのサイトカイン解析報告では、熱性けいれんに比較し、脳症で髄液IL-6、IL-8が高かったとの報告がある。

(Asano T, et al. 2010) (Ichiyama T, et al. 2009) そこで本研究では、AESDに関連するサイトカインを同定するために、AESD

症例8例の髄液中サイトカイン・ケモカインプロファイルを作成し熱性痙攣複雑型症例と比較した。

また、脳症は何らかのウイルス感染を契機に発症する例が多いが、細菌感染に伴う傍感染性脳症を経験した。症状は譫妄や行動異常を伴う軽度脳症であったが、発症にサイトカインとの関連が疑われたため、サイトカインプロファイルを作成し解析し、インフルエンザ感染に伴う軽度脳症症例のサイトカインプロファイルと比較した。

B. 研究方法

①【AESD の髄液サイトカインプロファイル】

・対象：両親から informed consent を取得したけいれん重積型急性脳症 (AESD 群) 8 例、熱性痙攣複雑型 (熱性痙攣群) 26 例の入院時採取した髄液検体。

・方法：MagPlex 磁気ビーズベースアッセイである Bio-Plex pro human cytokine 27-plex panel (BIO-RAD Laboratory Inc.) を使い、Bio-Plex protein array system, Luminex 100 system にて 27 種類のサイトカイン、ケモカイン、成長因子などを測定した。

・測定項目：IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, Basic FGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PDGF-BB, RANTES, TNF- $\alpha$ , VEGF

・検定：2 群間の平均値の差を Student's t-test で解析した。P<0.05 で有意差ありと判断した。

②【軽度脳症とサイトカイン】

【傍感染性脳症：症例】8 歳、女児。重複腎盂尿管、VUR(II 度)、熱性痙攣の既往あり。尿路感染と考えられる発熱が 3 日持続後、異常行動が出現し、近医受診。熱せん妄として、自宅にて経過観察となるが、傾眠傾向が続き、近医再診。会話が支離滅裂で暴言あり、歩行障害あり。24 時間持続する意識障害を認め、脳症が疑われ、当院へ紹介入院した。体温 39.4°C、意識 JCS I-3 ~ II-10、GCS 11 (E4V2M5)。神経学的異常所見なし。入院時検査所見：WBC 25,400/ $\mu$ l, CRP 21.78mg/dl と上昇。肝機能・腎機能に異常所見なし。Na 126mmol/l、他電解質異常なし。髄液所見正常。尿培養：E.coli 陽性で、尿路感染症と診断。入院時の脳波 (覚醒時) で徐波を認めた。尿路感染に伴う傍感染性急性脳症

と診断し、抗生物質点滴とともにステロイドパルス療法 1 クール施行。精神症状は、入院後 3 日で、傾眠傾向は 7 日で改善した。

【サイトカインプロファイル】

・傍感染性脳症症例：入院時を day1 とし、day1、day4、day17 の血清及び day1 の髄液検体を用いて、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  を測定した。

・興奮・異常行動等の軽症インフルエンザ脳症 (2 例) とインフルエンザ感染時の熱せん妄例 (1 例) の入院時髄液検体を用いて、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  を測定した。

C. 研究結果

①【AESD の髄液サイトカインプロファイル】

・AESD 群で、熱性痙攣群と比較して、PDGF と VEGF が有意に高値であった (図 1)。

・AESD 群、熱性痙攣群の両群で、IP-10 と MCP-1 が高値を示した。IP-10 は熱性痙攣群で有意に高く、MCP-1 は 2 群間に差はなかった (図 2)。

・脳症患者の髄液中で高値であると報告されているサイトカインを比較した。IL-6 は 2 群で差が無く、IL-8 は熱性痙攣群が有意に高値を示した (図 3)。他、IL-10、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  は、本研究では有意差は無かった。

②【軽度脳症とサイトカイン】

・傍感染性脳症症例のサイトカインプロファイルでは、血清サイトカインでは IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  が上昇していたが、髄液サイトカインの上昇は軽度であった。軽症インフルエンザ脳症例で、IL-6、TNF- $\alpha$  が軽度上昇していた。(表 1)



## D. 考察

### 【AESD とサイトカイン】

けいれん重積型脳症の髄液で上昇が報告されている IL-6、IL-8 は自験例では有意な上昇は見られなかった。本研究は入院時採取の髄液を用いており、痙攣初発時髄液である。IL-6 上昇の報告例 (Ichiyama T, et al. 2009) では、二相目の痙攣時の髄液検体が多かったことから、IL-6 が二相目の痙攣発症に関与する可能性が示唆される。

本研究では、IL-8 は熱性痙攣複雑型に比較し、低下していた。既報告例も入院時採取の髄液を用いた解析であり、条件は類似しているが結果は反対であった。

本研究で、IP-10 と MCP-1 は、熱性痙攣・脳症ともに髄液中で上昇していた。IP-10 は、tick born encephalitis での高値が報告されている (Zaikowska J, et al. 2011)。また、MCP-1 は、脳症で血清より髄液中が高値であると報告されている (Eisenkraft A, et al. 2006)。これらの 2 つのサイトカインは、痙攣との関連が考えられ、今後の解析が必要である。

PDGF と VEGF は脳症群で有意差をもって上昇していた。PDGF (血小板由来成長因子) はグリア等の遊走及び増殖等の調節に関与する増殖因子で、ニューロンやグリア細胞は PDGF 及びその受容体を発現しており、PDGF はこれらの分化・増殖を促している。また、VEGF (血管内皮細胞増殖因子) は脈管形成及び血管新生に関与する糖タンパクで、ニューロンやアストロサイトで産生され、神経-血管間の発達や活性に重要な役割を果たしている。PDGF、VEGF とも中枢神経内で、炎症や傷害の修復に関連して産生され作用するケモカインであり、脳症との関連が示唆される。これらと脳症の病態との関連性や、痙攣重積型脳症の早期診断のバイオマーカーとなり得るか、今

後も検討が必要である。

### 【軽度脳症とサイトカイン】

傍感染性脳症症例のサイトカインプロファイルを見ると、血清サイトカインでは IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  が上昇していたが、それと比較し髄液サイトカインの上昇は軽度であった。そこで、興奮・異常行動などの軽症インフルエンザ脳症例と熱せん妄例のサイトカインプロファイルと比較した。髄液中サイトカインは、インフルエンザ脳症で IL-6、TNF- $\alpha$  が軽度上昇していた。我々が以前経験したインフルエンザ感染に伴い譫妄、異常行動を呈した脳症例でも、髄液サイトカインは IL-6、TNF- $\alpha$  が軽度高値を示した。譫妄、異常行動を示した脳症のサイトカイン解析の報告として、Pandemic H1N1 influenza 感染時の譫妄等を伴う軽度意識障害例で、IL-6、IL-10、INF- $\gamma$  が軽度上昇している例が報告されている。

(Hasegawa et al. 2011) これらのサイトカインのいずれかが、軽度意識障害、譫妄の誘発に関与する可能性が考えられた。特定のサイトカインが関与するのか、サイトカインネットワークのバランスの異常や、細胞興奮毒性などの機序と関連して発症するのか、さらに解析が必要である。

## E. 結論

痙攣重積型脳症では、早期診断のバイオマーカーの同定が必要である。我々の解析では、痙攣重積型脳症で、発症早期の髄液中の PDGF と VEGF が上昇していた。これらが早期診断バイオマーカーとなる可能性があり、さらに解析が必要である。

また、軽度の脳症における譫妄、異常行動にサイトカインの関与も考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Monden Y, Yamagata T, Kuroiwa Y, Takahashi T, Mori M, Fukuda T, Sugie H, Momoi MY: A case of ADEM with atypical MRI findings of a centrally-located long spinal cord lesion. Brain Dev 2012; 34: 380-383.

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: 337-343.

### 2. 学会発表

池田尚広、森雅人、山形崇倫、宮内彰彦、長嶋雅子、福田冬季子、野崎靖之、杉江秀夫、桃井真里子：二相性発作と遅延拡散低下を伴った急性脳症の臨床的検討。第54回日本小児神経学会総会、2012年5月18日  
谷口祐子、山形崇倫、門田行史、長嶋雅子、森雅人、英雅世、福田冬季子、郡司勇治、杉江秀夫、桃井真里子：多彩な画像所見を示したけいれん重積型脳症の1例。第54回日本小児神経学会総会、2012年5月18日

## H. 知的所有権の出願・登録状況 なし

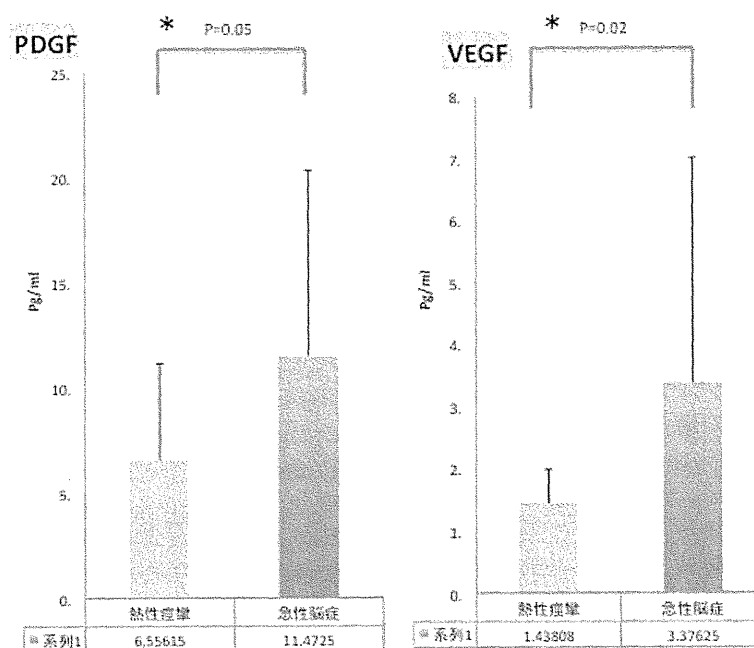


図1. 痙攣重積型脳症で高値であったサイトカイン  
痙攣重積型脳症発症早期の髄液中で、PDGFとVEGFは熱性痙攣よりも高値であった。

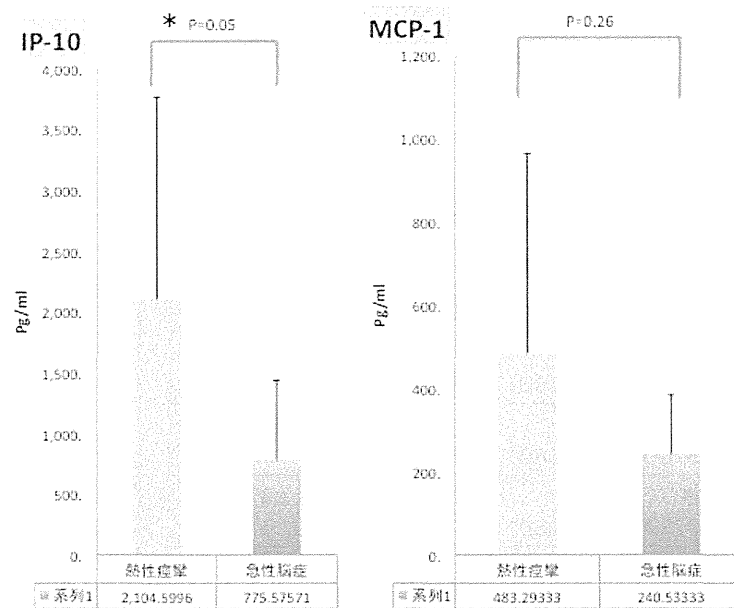


図2. 痙攣重積型脳症、熱性痙攣ともに高値であったサイトカイン  
IP-10とMCP-1は両者で高値であったが、IP-10は、熱性痙攣でより高値であった。

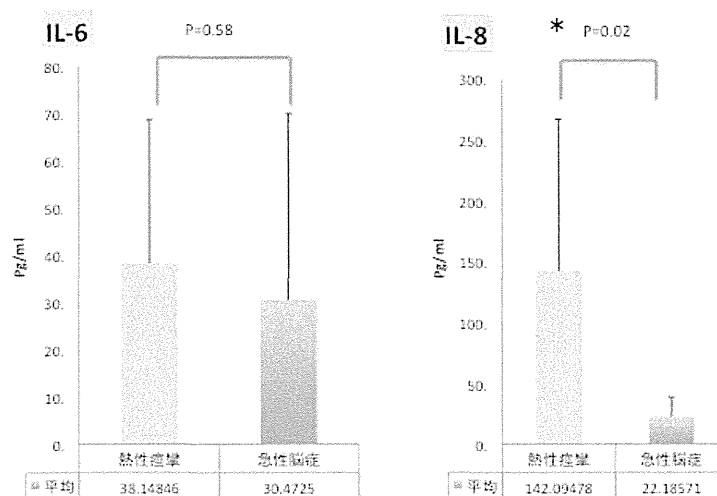


図3. 既報告の、痙攣重積型脳症で高値であったサイトカイン  
IL-6は両群とも軽度高値であった。IL-8は、脳症では上昇せず、熱性痙攣でより高値であった。

表1. 謔妄、行動異常を来した例の髄液中サイトカイン値

	症例1 Flu A型 インフル エンザ脳症	症例2 Flu B型 インフル エンザ脳 症	症例3 Flu A型 熱せん妄	(対照) 熱性痙攣30例 (平均±SD)		Parainf ectious encep halopa thy	正常値
IL-1 $\beta$ (pg/ml)	0.44 (+1.41SD)	0.05 (-1.09SD)	0.16 (-0.39SD)	0.22±0.16			
IL-2 (pg/ml)	2.26 (+0.07SD)	5.25 (+1.92SD)	0.12 (-1.26SD)	2.15±1.61	IL-2	4.69	<2.6
IL-4 (pg/ml)	1.16 (+0.10SD)	1.96 (+1.53SD)	0.43 (-1.20SD)	1.10±0.56	IL-4	4.63	<6.6
IL-6 (pg/ml)	189.94 (+5.1SD)	11.9 (-0.76SD)	13.55 (-0.71SD)	36.44±30.3	IL-6	10.4	<6.2
IL-10 (pg/ml)	4.24 (+0.57SD)	5.86 (+1.32SD)	1.3 (-0.80SD)	3.15±2.15	IL-10	2.59	<2.8
IFN- $\gamma$ (pg/ml)	21.68 (+1.77SD)	17.73 (+0.90SD)	7.91 (-1.28SD)	13.68±4.51	IFN- $\gamma$	10.91	<7.1
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	8.9 (+0.80SD)	11.99 (+2.02SD)	3.95 (-1.16SD)	6.89±2.53	TNF- $\alpha$	3.04	<3.5

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究研究事業）  
分担研究報告書

先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症

研究分担者 山内秀雄 埼玉医科大学小児科教授  
研究協力者 阿部裕一 埼玉医科大学小児科講師

研究要旨

「先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症（CAH 脳症）」の臨床的全容解明のための全国調査を施行し、15例が集計された。CAHのタイプは13例が21水酸化酵素欠損症、2例がリポイド過形成症であった。発症年齢中央値は2歳8ヶ月（1歳5ヶ月～9歳5ヶ月）、男女比は11：4で男児に多かった。発症様式は発熱・胃腸症状を背景としてけいれんと遷延する意識障害で発症していた。低血糖ないし低髄液糖を認め、急性期の大脳半球病変が広汎であるものは神経学的予後不良となる例が多かった。

A. 研究目的

先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症（CAH 脳症）の臨床的全容を解明すること。

B. 研究方法

日本小児神経学会専門医1061名に対して一次調査、二次調査を行い、中枢神経合併症の回答のあった症例について、発症前の治療や状態、実際に急性脳症発症時の急性期治療および経過、予後等についての検討を行った。

C. 研究結果

二次調査回答22施設25例の急性中枢神経合併症例のうち、急性脳症と診断されていたのは16例であった。詳細経過の得られなかった例をのぞくCAH脳症15症例（自

験例含む）を対象とした。

CAHのタイプは13例が21水酸化酵素欠損症、2例がリポイド過形成症であった。発症年齢中央値は2歳8ヶ月、男女比は11：4、発熱の先行は12例、無熱性胃腸炎症状で発症したものが3例にみられた。けいれん重積状態、群発するけいれんを認めたものはそれぞれ6例であった。2例では5分間以内に終了するけいれんで発症し、また1例はけいれん症状がみられず意識障害のみであった。意識障害期間48時間以上に及ぶもの10例にみられた。けいれん治療においてジアゼパム・ミダゾラムが有効であったのは5例にすぎず、バルビツレート使用の7例中3例は無効であった。

検査成績では8例が低血糖をきたし、6例は髄液糖の低下を示した。脳MRI・CT検査は急性期両側大脳半球に信号異常を

示すものは11例、片側半球に病変を認めるものが4例であった。基底核や脳幹小脳に異常信号を呈する例はなかった。MRI施行例8例全例において拡散強調画像で信号変化を認めた。精神運動能力の保たれていた予後良好群(5例)、重症であった予後不良群(6例)、およびその中間群(4例)で分けた場合、低血糖・低髄液糖例は予後不良群で多い傾向を示した。また、予後不良群は大脳半球広汎に病変を認めた。急性期の脳波所見はその予後との相関に乏しかったが、予後良好群の経時的脳波では正常化する例が多く見られた。

#### D. 考察

CAH脳症の特徴は以下のとおりである。すなわち、1)好発年齢は乳児期で男児に多い、2)発熱をともなうけいれん重積状態(ないし群発)・意識障害で発症する、3)けいれん重積状態は難治であり遷延する意識障害を認める、4)発症時低血糖低髄糖をきたす例は全体の約半数である、5)MRI拡散強調画像は急性期の診断に有用であり、大脳半球片側ないし両側に病変がみられる、6)低血糖・低髄糖、急性期の広範な大脳浮腫性病変は神経学的予後不良を示唆する所見である。

#### E. 結論

CAH脳症は比較的重篤な神経学的後遺症を認める。低血糖・低髄糖はその予後不良因子であるため、その予防を厳重に行い、発症時には最優先して行うべきである。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

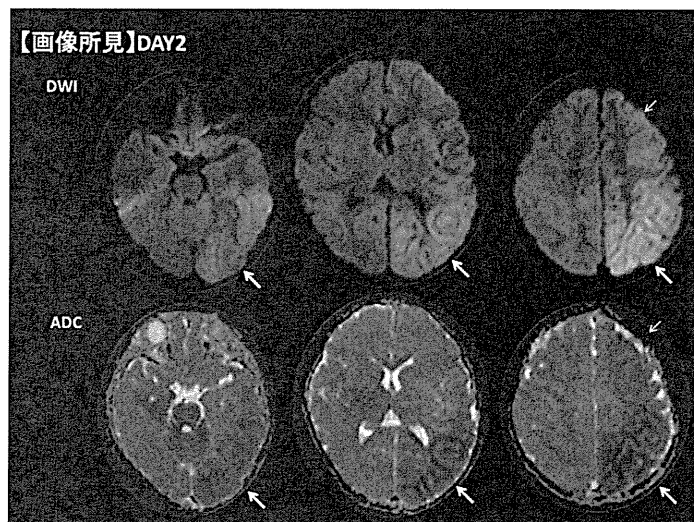
山内秀雄. 先天性副腎皮質過形成に伴う急性脳症. 小児科レクチャー 2012; 2: 918-924.

##### 2. 学会発表

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, 2012年5月17-19日, 札幌  
山内 秀雄, 阿部 裕一, 酒井 哲郎, 水口 雅. 先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症に関する研究. (モーニング教育セミナー) 第54回日本小児神経学会総会, 2012年5月17-19日, 札幌

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

なし



### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
水口雅	急性脳炎・急性脳症	五十嵐隆	小児・思春期診療最新マニュアル	日本医師会	東京	2012	S227-228

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
Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, Kubota M, Amemiya K, Takanashi JL, Hwang SK, Hirose S, Mizuguchi M.	Mutations of the <i>SCN1A</i> gene in acute encephalopathy.	Epilepsia	53(3)	558-564	2012
Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takanashi JL, 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	34(5)	337-343	2012
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	34(5)	384-391	2012
Kobayashi K, Ohzono H, Shinohara M, Saitoh M, Ohmori I, Ohtsuka Y, Mizuguchi M.	Acute encephalopathy with a novel point mutation in the <i>SCN2A</i> gene.	Epilepsy Research	102(1-2)	109-112	2012
水口雅	急性脳症の診断と治療	小児内科	44(9)	1486-1489	2012
水口雅	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	65(9)	1941-1945	2012



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	84(12)	927-930	2012
水口雅	序—急性脳炎・脳症研究の最近の進歩	小児内科	45(2)	172-175	2013
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 and Development	34 (1)	13-19	2012
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	53 (1)	79-86	2012
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 splenial lesion (MERS).	Brain and Development	34 (2)	124-127	2012
Oikawa N, Okumura A, Oyama S, Baba H, Shimizu T, Kato A.	A 15-month-old boy with reduced consciousness and convulsion.	Journal of Clinical Virology	53(4)	276-279	2012
Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Mori H, Ichiyama T, Okumura A.	Pertussis-associated encephalitis/encephalopathy with marked demyelination in an unimmunized child.	Journal of Neurological Science	320 (1-2)	145-148	2012
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 and Development	34 (8)	632-639	2012
Kato T, Okumura A, Hayakawa F, Tsuji T, Natsume J.	Transient reduced diffusion in the cortex in a child with prolonged febrile seizures.	Brain and Development	34 (9)	773-775	2012

Kawashima H, Morichi S, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T.	National survey of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in Japanese children.	Journal of Medical Virology	84 (8)	1151-1156	2012
Kawashima H, Morichi S, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T.	Treatment of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in children.	Scandinavian Journal of Infectious Diseases	44 (12)	941-947	2012
Ohmura K, Suzuki Y, Saito Y, Wada T, Goto M, Seto S.	Sporadic hemiplegic migraine presenting as acute encephalopathy.	Brain and Development	34	691-695	2012
Saito T, Saito Y, Sugai K, Nakagawa E, Komaki H, Okazaki T, Ishido Y, Kaneko Y, Ohtsuki T, Sakuma H, Sasaki M.	Late-onset epilepsy in children with acute encephalopathy with prolonged febrile convulsions – a clinical and encephalographic study.	Brain and Development		in press	2013
斎藤義朗	[けいれん重積・意識障害] 難治頻回部分発作重積性脳炎 (acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures: AERRPS)	小児科学レクチャー	2(4)	912-917	2012
Takanashi J, Shirai K, Sugawara Y, Okamoto Y, Obonai T, Terada H.	Kawasaki disease complicated by mild encephalopathy with a reversible splenic lesion (MERS).	Journal of Neurological Science	315	167-169	2012
Kouga T, Iai M, Yamashita S, Aida N, Takanashi J, Osaka H.	A case of 3 episodes of reversible splenic lesions.	Neuropediatrics		in press	2013
Takanashi J, Takahashi Y, Imamura A, Kodama K, Watanabe A, Tominaga K, Muramatsu K, Barkovich AJ.	Late delirious behavior with 2009 H1N1 influenza: mild autoimmune-mediated encephalitis?	Pediatrics	129	e1068-e1071	2012

Mori H, Maeda M, Takanashi J, Kunimatsu A, Matsushima N, Suzuki H, Saito N, Ohtomo K.	Reversible splenial lesion in the corpus callosum following rapid withdrawal of carbamazepine after neurosurgical decompression for trigeminal neuralgia.	Journal of Clinical Neuroscience	19	1182-1184	2012
Takanashi J, Somazawa F, Maruyama K, Terada H, Xu D, A. Barkovich AJ.	Metabolic changes in early childhood using LCModel with corrected water scaling method.	Journal of Magnetic Resonance Imaging	35	174-180	2012
高梨潤一	[けいれん重積・意識障害] 脳浮腫と頭蓋内圧亢進	小児科学レクチャー	2(4)	741-747	2012
Ishii A, Saito Y, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Arai H, Yamashita S, Kimura S, Oguni H, Morishita S, Tsuji S, Sasaki M, Hirose S	Identification of <i>ATPIA3</i> mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients	PLoS One		in press	2013
Migita K, Yamada J, Nikaido Y, Shi X, Kaneko S, Hirose S, Ueno S.	Properties of a novel GABAA receptor $\gamma 2$ subunit mutation associated with seizures.	Journal of Pharmacological Science		in press	2013
Wang J, Shi X, Kurahashi H, Hwang SK, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S.	Prevalence of <i>SCN1A</i> mutations in children with suspected Dravet syndrome and intractable childhood epilepsy.	Epilepsy Research	102	195-200	2012
Shi X, Wang J, Kurahashi H, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S.	On the likelihood of <i>SCN1A</i> microdeletions or duplications in Dravet syndrome with missense mutation.	Brain and Development	34(8)	617-619	2012
Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N.	Mutations in <i>PRRT2</i> responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions.	Journal of Human Genetics	57(5)	338-341	2012

Shi X, Yasumoto S, Kurahashi K, Nakagawa E, Fukasawa T, Uchiya S, Hirose S.	Clinical spectrum of <i>SCN2A</i> mutations.	Brain and Development	34(7)	541-545	2012.
Lossin C, Shi X, Rogawski MA, Hirose S.	Compromised function in the Na(v)1.2 Dravet syndrome mutation R1312T.	Neurobiology of Disease	47(3)	378-384	2012
Monden Y, Yamagata T, Kuroiwa Y, Takahashi T, Mori M, Fukuda T, Sugie H, Momoi MY	A case of ADEM with atypical MRI findings of a centrally-located long spinal cord lesion.	Brain and Development	34	380-383	2012
山内秀雄, 阿部裕一	前頭葉を主として障害する乳幼児急性脳症	小児科臨床	65(9)	1977-1982	2012
山内秀雄, 酒井哲郎, 阿部裕一	子どもへの負担を少なくするための画像診断の進め方.	小児科	53(7)	915-923	2012
山内秀雄, 酒井哲郎, 馬場和美, 阿部裕一	小児の急性脳症	日本臨床	70(Sup pl 6)	671-675	2012
山内秀雄	小児てんかん重積状態の診断と治療	小児科	53(13)	1823-1830	2012
阿部裕一, 山内秀雄	先天性副腎皮質過形成に伴う脳症	小児科レクチャー	2(4)	918-924	2012