

# **I. 總括研究報告**



## 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

### 総括研究報告書

## 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*, *ATP1A2* 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 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. 12<sup>th</sup> International Child Neurology Congress and 11<sup>th</sup> 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. 12<sup>th</sup> International Child Neurology Congress and 11<sup>th</sup> 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

