

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

希少難治性てんかんのレジストリ構築による総合的研究：
West 症候群における静注免疫グロブリン療法の有効性と血清・髄液サイトカインの変化

研究分担者 浜野晋一郎 埼玉県立小児医療センター 神経科部長

研究要旨

希少難治性てんかんの一つである West 症候群に対する静注免疫グロブリン (IVIg) 療法の作用機序と West 症候群の病態の解明のため、IVIg 投与前後のサイトカインの検討を行った。ACTH 療法が未施行の West 症候群 11 例に対して、IVIg 療法を行い IVIg 投与前後に血清と髄液のサイトカイン (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- γ , GM-CSF, IL-18, TNF- α) を計測し、治療前後の変化、ならびに IVIg の有効性による差を検討した。発作が消失した有効群 (5 例)、発作が残存した無効群 (6 例) の 2 群間で比較すると IVIg 療法前において、血清 IL-18 が無効群では 456.6 ± 174.9 pg/ml、有効群では 231.0 ± 72.5 pg/ml と有意差を認めた ($p < 0.05$)。IVIg 投与前後の変化では、血清 IL-18 が無効群では全例で低下したが、有効群では 5 例中 3 例で上昇した。また髄液 IL-8 は無効群では IVIg 後に全例で上昇を認めたと、有効群では 5 例中 3 例で低下した。IL-18 は発作重積で増加し神経保護的作用が報告され、髄液 IL-8 はスパズム、ヒプスアリスミアの持続との関連が示唆されており、血清 IL-18 と髄液 IL-8 は West 症候群の病態や IVIg の作用機序の解明にも重要な因子であることが考えられた。

A. 研究目的

希少難治性てんかんの一つである West 症候群は、特徴的な臨床発作であるてんかん性スパズムと特異な脳波所見であるヒプスアリスミアを呈する。他のてんかん症候群から West 症候群が際だっているもう一つの特徴は、通常の抗てんかん薬治療が無効なことが多く、免疫修飾療法と言える ACTH 療法の有効性が高く、静注免疫グロブリン (IVIg) 療法が有効な症例も報告されていることである。今回、免疫修飾療法の一つである IVIg 療法の、West 症候群に対

する有効性の機序とその病態を解明するために IVIg 療法前後の血清・髄液サイトカインの変化を検討したので報告する。

B. 研究方法

対象はてんかん性スパズム、ヒプスアリスミアを認めて当センター神経科に入院し、Vitamin B6 (20-50mg/kg/day) が無効で、ACTH 療法前に IVIg 療法 (200-500mg/kg/日) を施行した West 症候群患者 11 例である。IVIg を 3 日間連続投与 (初期導入 IVIg) し、2 週間以内にスパズムが消失した場合、その後 2 週間おきに 1 回、IVIg (同量) を最大 7 クール施行 (維持 IVIg) した。初期

導入 IVIG 前と初期導入 IVIG 後 2 週間以内に血液および髄液を採取し、血清と髄液のサイトカインを計測した。初期導入 IVIG の有効性に関し、投与 2 週以内に発作が 1 週間以上消失した有効群と、発作が残存した無効群に分類し、2 群間で各種サイトカイン値を比較検討した。サイトカインの計測は IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN, GM-CSF をビーズアッセイ法で、IL-18, TNF を ELISA 法で行った。試薬はそれぞれ Human Custom Luminex Kit (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN, GM-CSF) (Life Technologies), Human IL-18 ELISA Kit (IL-18) (Medical & Biological Laboratories Co), TNF (TNF) (SIEMENS) を使用した。統計学的検定は、統計ソフト SPSS statistics version 19 (IBM) を用い、項目に応じて Fisher's exact 検定, Mann-Whitney の U 検定を行った。

(倫理面への配慮)

なお、本研究のサイトカイン計測は、埼玉県立小児医療センター倫理委員会の承認(2009年10月22日)を得て、書面で患児保護者の同意を取得して行った。

C. 研究結果

初期導入 IVIG 後に発作が消失した有効群は 5 例(潜因性 1 例, 男 4 例), 無効群は 6 例(潜因性 1 例, 男 2 例)だった。有効群, 無効群それぞれの初期導入 IVIG 投与量は 229-347mg/kg/日(中央値 298mg/kg/日), 202-463mg/kg/日(中央値 309mg/kg/日), 発症月齢は 3 - 8 か月(中央値 5.0 か月), 3 - 15 か月(中央値 5 か月), 発症から治療

開始までの treatment lag は 21 - 125 日(中央値 59 日), 14 - 125 日(中央値 54 日)と 2 群間で有意差はなかった。なお、症候性 West 症候群の病因は有効群では結節性硬化症 2 例, 新生児仮死 1 例, 知的障害 1 例, 無効群では Down 症候群 2 例, 脳室周囲白質軟化症 1 例, Miller Dieker 症候群 1 例, 原因不明の知的障害が 1 例だった。

IVIG 療法前の血清, 髄液サイトカイン示す(表 1)。

表 1 IVIG 療法前の血清, 髄液のサイトカイン

	血清 (n = 11)	髄液 (n = 11)
	mean ± SD	mean ± SD
(pg/ml)		
IL-1	11.8 ± 18.1*	0.0 ± 0.0*
IL-2	4.2 ± 7.2	0.0 ± 0.0
IL-4	5.2 ± 10.9	4.9 ± 10.3
IL-5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
IL-6	7.9 ± 17.7	1.6 ± 6.5
IL-8	80.0 ± 144.4*	124.7 ± 101.0*
IL-10	28.1 ± 66.4*	1.2 ± 5.6*
IL-17	5.8 ± 24.2	2.5 ± 8.3
IL-18	351.6 ± 181.0*	1.0 ± 2.8*
GM-CSF	9.6 ± 22.8	0.0 ± 0.0
IFN	0.7 ± 2.3	0.0 ± 0.0
TNF	19.7 ± 7.5*	6.2 ± 3.5*

(* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

IVIG 療法前では, IL-1, IL-10, IL-18, TNF が髄液より血清で有意に高値であり, IL-8 は血清より髄液で有意に高値であった。

有効群と無効群の 2 群間で血清, 髄液サイトカイン値を比較すると IVIG 療法前において, 有効群では血清 IL-18 が 231.0

±72.5 pg/ml, 無効群では 456.6 ± 174.9 pg/ml と有意に低値 ($p < 0.05$) であったが, 初期導入 IVIG 後には 2 群間に有意差を認めなかった. 初期導入 IVIG 前後の変化では, 血清 IL-18 が有効群では 5 例中 3 例で上昇を認め, 無効群では全例で低下した. また髄液 IL-8 は有効群の 5 例中 3 例で低下, 無効群では全例で上昇を認めた.

D. 考察

これまでも, てんかんの病態において免疫学的機序の関与は報告されており, 特に IL-1 は催けいれん性物質として多数の報告がある¹⁾. West 症候群に関しては, 各種の治療前のサイトカインに関しては複数の報告がなされているが, 治療前後の変化に関する報告は少なく, IVIG 療法による治療反応性とサイトカインの変化に関する報告はない.

血清 IL-18 は, 視床下部・下垂体・副腎系の活性により増加し, ストレスによる反応, IFN- γ , IL-6 を介した生体防御反応や免疫系の過度の活性による臓器障害に関与する可能性が報告されている²⁾. てんかんに関しては, ラットの痙攣重積後に海馬内歯状細胞, 錐体細胞, アストロサイト, ミクログリアで IL-18 が上昇したこと, IL-18 の脳室内注入によりてんかん重積状態による神経障害の軽減が報告されている³⁾. 以上から IL-18 はてんかん重積状態による神経障害を軽減する神経保護作用が考えられている. West 症候群発症の仮説として, corticotropine releasing hormone (CRH) 仮説, すなわち催けいれん性のある CRH が胎生期のストレスにより持続的に高値である病態が提唱されている⁴⁾. 母胎の慢性的

なストレスで胎盤から分泌される CRH は胎児の海馬に作用すること⁵⁾, ストレスにより扁桃体と海馬で CRH が合成されること⁶⁾, 増加した CRH が海馬のてんかん発症の閾値を下げること⁷⁾, CRH が IL-18 を誘導することが報告されている⁸⁾. 本検討では, 治療前血清 IL-18 は全例において正常上限基準値より高値で, 髄液と比較して有意に血清値が高値であった. 以上の点から, 末梢血中での IL-18 産生亢進がスパズムの発症と関与している可能性が考えられた.

IL-18 の治療による変化に関しては, ラットにおいて ACTH 療法後の IL-18 mRNA と pro-IL-18 peptide の上昇⁹⁾, ヒトにおいても ACTH 療法後の血清 IL-18 上昇が報告されている¹⁰⁾. 本検討でも有効群においては IVIG 後に 5 例中 3 例で血清 IL-18 が上昇し, 無効例では全例低下した. ストレスとともに視床下部・下垂体・副腎系の活性により IL-18 は増加するため ACTH 療法後の IL-18 増加は当然であろう. IVIG 療法に関してもストレス, IL-6 増加などに伴い, 同様に血清 IL-18 の更なる上昇が推定される. これに対し, IVIG 無効例においては全例で血清 IL-18 が低下したことは, IL-18 に関する feedback 機構の異常が推定できる. 慢性的な CRH 高値が存在し, 視床下部・下垂体・副腎系の機能異常が West 症候群の発症に関与するという Baram らの CRH 仮説⁴⁾は, CRH による tachyphylaxis で ACTH 療法による脳血管の反応異常¹¹⁾がもたらされることと同様に, この病態の解釈に支持的と思われる.

血清 IL-8 は好中球と T 細胞の遊走や接着分子としての機能を有し, 抗ウイルス性サイトカインである IFN- γ の産生を促進する

こと等が判明している一方、てんかんに関する報告は少なく、てんかんと関連性は不明である。Billauらは難治性てんかんに対するIVIG療法で、IVIG療法後に髄液IL-8上昇を認めたが、髄液IL-8と発作抑制の関連性は見いだせなかったと報告した¹²⁾。本検討では、有効群の60%の症例においてIVIG投与後に髄液IL-8の減少、無効群では全例で上昇を認めた。Billauらの報告では、50%以上の発作抑制を有効群として比較し、発作の完全抑制例は0例だったため、発作抑制との関連性を見いだせなかったのかもしれない。その上で、Billauらはヒプスアリスミアの持続は髄液IL-8高値と関連すると指摘している。本検討においてもIVIG療法前の髄液IL-8高値、ならびに無効例における髄液IL-8高値の持続を確認できた。さらに、IVIG療法前の髄液IL-8は血清IL-8より有意に高値であった。髄液IL-8高値は、スパスムス、もしくはヒプスアリスミアと関連している可能性が高く、繰り返すスパスムス、ヒプスアリスミアの持続が髄液IL-8高値をもたらす可能性が推測された。

E. 結論

West症候群の一部にIVIG療法が有効な症例が存在した。さらに、IVIG療法による血清IL-18と髄液IL-8の変化はIVIG療法の有効性と関連し、West症候群におけるIVIG療法ではサイトカインの変動を介した免疫修飾作用が関連していると推測された。特に髄液IL-8は繰り返すスパスムス、持続するヒプスアリスミアと関連している可能性が高い。IVIGの作用機序の解明のみならず、West症候群の病態の解明において免疫

学的な要素は重要な因子と考えられた。

【参考文献】

- 1) Vezzari A, Conti M, De Kuigi A, et al. Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainite application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J Neurosci* 1999;19:5054-5065.
- 2) Sugama S, Conti B. Interleukin-18 and stress. *Brain Res Rev* 2008;58:85-95.
- 3) Ryu HJ, Kim JE, Kim MJ, et al. The protective effects of interleukin-18 and interferon- on neuronal damages in the rat hippocampus following status epilepticus. *Neuroscience* 2010;170:711-721.
- 4) Baram TZ. Pathophysiology of massive infantile spasms: perspective on the putative role of the brain adrenal axis. *Ann Neurol* 1993;33:231-236.
- 5) Avishai-Eliner S, Brunson KL, Sandman CA, Baram TZ. Stressed-out, or in (utero)? *Trends Neurosci* 2002;25:518-524.
- 6) Hatafski CG, Guirguis C, Baram TZ. Corticotropin releasing factor mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and the central nucleus of the amygdala is modulated by repeated acute stress in the immature rat. *J Neuroendocrinol* 1998;10:663-669.
- 7) Hollrigel GS, Chen K, Baram TZ,

- Soltesz I. The pro-convulsant actions of corticotropin-releasing hormone in the hippocampus of infant rats. *Neuroscience* 1998;84:71-79.
- 8) Yang Y, Hahm E, Kim Y, et al. Regulation of IL-18 expression by CRH in mouse microglial cells. *Immunol Lett.* 2005;98:291-296.
- 9) Conti B, Sugama S, Kim Y, et al. Modulation of IL-18 production in the adrenal cortex following acute ACTH or chronic corticosterone treatment. *Neuroimmunomodulation* 2000;8:1-7.
- 10) 小一原玲子, 浜野晋一郎, 山本英明, 山口明, 大石勉. ウエスト症候群の血漿・髄液中サイトカインおよび血漿 ACTH 濃度の検討. *てんかん研究* 2012;30:27-34.
- 11) Hamano S, Yoshinari S, Higurashi N, Tanaka M, Minamitani M, Eto Y. Regional Cerebral Blood Flow and Developmental Outcome in Cryptogenic West Syndrome. *Epilepsia* 2007;48:114-119
- 12) Billiau AD, Witters P, Ceulemans B, Kasran A, Wouters C, Lagae L. Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure frequency, EEG activity, and cerebrospinal fluid cytokine profile. *Epilepsia* 2007;48:1739-1749.
- G . 研究発表
論文発表
- 1) 菊池健二郎, 浜野晋一郎, 松浦隆樹, 大場温子, 田中学, 南谷幹之, 井田博幸: 小児てんかん重積状態および発作頻発に対する fosphenytoin の有用性, *てんかん研究*. 2014 ; 31 : 491-497
- 2) 平田佑子, 浜野晋一郎, 加藤光広, 井田博幸: ARX ポリアラニン伸長変異による X連鎖性 West 症候群とその自然寛解が疑われる同胞例. *小児科臨床* 2014;67:1143-1147
- 3) Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Matsuo M, Suzuki Y, Sameshima K, Kimura R, Yamamoto Y, Fukushi D, Fukuhara Y, Ishihara N, Nishi E, Imataka G, Suzumura H, Hamano S, Shimizu K, Iwakoshi M, Ohama K, Ohta A, Wakamoto H, Kajita M, Miura K, Yokochi K, Kosaki K, Kuroda T, Kosaki R, Hiraki Y, Saito K, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Wakamatsu N.: The Spectrum of ZEB2 Mutations Causing the Mowat-Wilson Syndrome in Japanese Populations, *American Journal of Medical Genetics Part A.* 2014 ; 164A: 1899-1908
- 4) Kato M, Saitsu H, Murakami Y, Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R, Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N.: PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology.* 2014;82:1587-96
- 5) Tanuma N, Miyata R, Nakajima K, Okumura A, Kubota M, Hamano S, Hayashi M. Changes in Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Human

- Herpesvirus-6-Associated Acute Encephalopathy/Febrile Seizures. Mediators of Inflammation 2014; Article ID 564091, 8 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/564091>
- 6) Japanese Society of Nuclear Medicine; Optimization Committee for Pediatric Nuclear Medicine Studies, Koizumi K, Masaki H, Matsuda H, Uchiyama M, Okuno M, Oguma E, Onuma H, Kanegawa K, Kanaya S, Kamiyama H, Karasawa K, Kitamura M, Kida T, Kono T, Kondo C, Sasaki M, Terada H, Nakanishi A, Hashimoto T, Hataya H, Hamano S, Hirono K, Fujita Y, Hoshino K, Yano M, Watanabe S.: Japanese consensus guideline for pediatric nuclear medicine: Part1: Pediatric radiopharmaceutical administered doses (JSNM pediatric dosage card). Part2: Technical considerations for pediatric nuclear medicine imaging procedures, Annals of Nuclear Medicine. 2014;28:498-503
- 7) Inoue T, Shimizu M, Hamano S, Murakami N, Nagai T, Sakuta R. Epilepsy and West syndrome in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. Pediatr Int. 2014;56:369-72
- 治療成績についての検討, 第48回日本てんかん学会総会. 東京. 2014.10.3
- 2) Kenjiro Kikuchi, Shin-ichiro Hamano, Ryuki Matsuura, Kotoko Suzuki, Yuko Hirata, Atsuko Oba, Yuji Kumagai, Manabu Tanaka, Motoyuki Minamitani, Hiroyuki Ida: Predictive factors of epilepsy after acute encephalitis/encephalopathy during childhood; a hospital study in 152 patients. 7th IGAKUKEN International Symposium on "Fever, Inflammation, and Epilepsy". Tokyo, 2014.2.21
- 3) 菊池健二郎, 浜野晋一郎, 樋渡えりか, 平田佑子, 大場温子, 熊谷勇治, 田中学, 南谷幹之, 中村譲: 小児専門病院におけるけいれん性疾患の救急医療の現状. 第51回埼玉県医学会総会. さいたま市. 2014.2.23
- 4) 菊池健二郎, 浜野晋一郎, 樋渡えりか, 平田佑子, 大場温子, 熊谷勇治, 田中学, 南谷幹之, 井田博幸: 小児てんかん重積状態の病因と転帰, 第56回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.31
- 5) Kenjiro Kikuchi, Yuko Hirata, Atsuko Oba, Yuji Kumagai, Reiko Koichihara, Manabu Tanaka, Motoyuki Minamitani, Hiroyuki Ida, Shin-ichiro Hamano: Can benign infantile seizures be diagnosed in the acute phase? 第48回日本てんかん学会. 東京. 2014.10.2
- 6) 平田佑子, 浜野晋一郎, 大場温子, 熊谷勇治, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之, 井田博幸: Levetiracetam 投与初期に発作増悪し増量により著効した多剤薬剤有害事象をもつ一症例, 第117回日本小

学会発表

- 1) 南谷幹之, 浜野晋一郎, 田中学, 菊池健二郎, 小一原玲子, 平田佑子, 大場温子, 熊谷勇治: てんかん性スパズムを呈したてんかん症例におけるラモトリギンの

- 児科学会学術集会 2014.4.11 名古屋市
- 7) 平田佑子, 浜野晋一郎, 松浦隆樹, 菊池健二郎, 南谷幹之, 田中学, 大場温子, 熊谷勇治: 小児期発症てんかんにおける Levetiracetam の有効性と副作用: 併用薬剤との関係, 第 56 回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.30
- 8) 平田佑子, 浜野晋一郎, 大場温子, 熊谷勇治, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之, 内山眞幸, 小熊栄二: 抗 NMDA 受容体脳炎における 123I-IMP-SPECT と 123I-IMZ-SPECT の変化, 第 50 回日本小児放射線学会学術集会. 神戸市. 2014.6.28
- 9) 平田佑子, 浜野晋一郎, 菊池健二郎, 松浦隆樹, 南谷幹之, 田中学, 大場温子, 熊谷勇治: 小児期発症てんかん患者におけるレベチラセタム長期投与による血液学的変化, 第 48 回日本てんかん学会学術集会 2014.10.3 東京
- 10) Hiwatari E, kikuchi K, Hirata Y, Oba A, kumagai Y, Koichihara R, Tanaka M, Minamitani M, Hamano S. The changes of regional accumulation of 123I-iodoamphetamine scintigraphy in subcortical band heterotopia. 第 48 回日本てんかん学会学術集会. 東京. 2014.10.2
- 11) 大場温子, 浜野晋一郎, 熊谷勇治, 平田佑子, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之: West 症候群発症を契機に診断できた結節性硬化症の家族例, 第 128 回埼玉小児科医会, 第 155 回日本小児科学会埼玉地方会. さいたま市. 2014.2.15
- 12) 大場温子, 菊池健二郎, 平田佑子, 熊谷勇治, 小一原玲子, 田中学, 南谷幹之, 浜野晋一郎: 化膿性髄膜炎後てんかんに対する抗てんかん薬の使用状況. 第 48 回日本てんかん学会学術集会. 東京. 2014.10.2
- 13) 熊谷勇治, 小一原玲子, 菊池健二郎, 平田佑子, 大場温子, 田中学, 南谷幹之, 浜野晋一郎: デキストロメトルファンが部分発作に有効であった早期ミオクロニー脳症の 1 例, 第 8 回日本てんかん学会関東甲信越地方会. 東京. 2014.6.14
- 14) 松浦隆樹, 浜野晋一郎, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之, 高橋幸利, 井田博幸: 小脳失調と同様に自己免疫学的機序が発症に関与したと考えられたミオクロニー失立発作を持つてんかんの 1 例. 第 5 回愛宕小児神経精神研究会. 東京. 2014.3.12
- 15) 松浦隆樹, 浜野晋一郎, 平田佑子, 熊谷勇治, 大場温子, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之, 井田博幸: West 症候群に対する グロブリン療法前後の血清・髄液サイトカイン変化. 第 55 回日本小児神経学会総会. 浜松市. 2014.5.29
- 16) 松浦隆樹, 浜野晋一郎, 平田佑子, 熊谷勇治, 大場温子, 小一原玲子, 菊池健二郎, 田中学, 南谷幹之: West 症候群に対する グロブリン療法前後の Q-albumin, TIMP, MMP9 変化. 第 48 回日本てんかん学会学術集会. 東京. 2014.10.2
- 17) 鈴木ことこ, 浜野晋一郎, 田原真由, 菊池健二郎: 難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)の12歳男児のIMZ-SPECT画像所見の変化, 第 56 回日本小児神経学会, 浜松市. 2014.5.30
- 18) 樋渡えりか, 菊池健二郎, 平田佑子,

- 大場温子,熊谷勇治,田中学,南谷幹之,浜野晋一郎: 大脳皮質病変を呈した Leigh 脳症の 4 歳女児例,第 56 回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.29
- 19) 成田有里,浜野晋一郎,南谷幹之,田中学,菊池健二郎,黒田舞,平田佑子,大場温子,熊谷勇治: てんかんに関する心理職の意識調査,第 56 回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.31
- 20) 久保田淳,松浦隆樹,浜野晋一郎,井田博幸: N-desmethyloclobazam 濃度高値により日常生活に支障をきたす眠気を呈した 1 例,第 56 回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.29
- 21) 池本智,浜野晋一郎,平田佑子,鈴木ことこ,大場温子,松浦隆樹,菊池健二郎,井田博幸: West 症候群の ACTH 療法前後における ^{123}I -iomazenil SPECT の変化について,第 56 回日本小児神経学会. 浜松市. 2014.5.29
- 22) 池本智,菊池健二郎,松浦隆樹,加藤光広,村上良子,才津浩智,松本直通,浜野晋一郎: 多発奇形,特徴的な画像所見,ミオクロニー発作を認め PIGA 変異から先天性 GPI アンカー欠損症と診断した一例,第 48 回日本てんかん学会. 東京. 2014.10.3
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし