

II. 分担研究報告

けいれん重積状態の予後関連因子に関する研究

研究分担者 前垣義弘 鳥取大学医学部脳神経医科学講座脳神経小児科学分野教授

研究要旨

小児てんかん重積状態の疫学調査を行った。後遺症を来す原因は急性脳症が最も多かった。予後御関連因子は、低年齢、難治性発作、血糖異常、CRP陽性であった。

A. 研究目的

小児てんかん重積状態（SE）の発生頻度や病因、予後に関してはこれまで病院調査のみであった。本研究では、鳥取県を中心とした多施設の救急病院における疫学調査を行い、予後関連因子を明らかにする。

B. 研究方法

- ・対象は：鳥取県内の全ての病院小児科と県外病院を受診したSE小児例。2006.1.1～2009.12.31の4年間に生じた初発のSE。
- ・SE定義：30分以上持続する発作、あるいは発作が30分以上にわたり反復し、意識障害を伴う場合。
- ・年齢：1ヶ月～16歳。
- ・調査内容：臨床症状や検査データを前方視的に統一した調査票に匿名化して記載。

（倫理面への配慮）

本研究実施を各病院ごとに倫理委員会で承認を得た

C. 研究結果

- ・初発のてんかん重積状態の発生頻度は小児10万あたり年間43.4人であり、欧米に比べ高かった。本邦では、熱性けいれん重積と急性脳症が多いのがその理由である。

- ・病因分類では、熱性けいれん、慢性症候性、急性症候性、特発性の順に多かった。
- ・後遺症はすべて急性症候性であり、急性脳症が最も多かった。
- ・急性脳症では、二相性脳症が半数以上を占め、高率に脳障害を来した。
- ・予後関連因子（多施設共同研究）
多変量解析による予後関連因子は、年齢（ $<2y$ ）、難治性発作、血糖異常（ <61 or >250 mg/dL）、AST $>56U/L$ 、CRP $>2.0mg/dl$ であった。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

Early predictors of status epilepticus associated mortality and morbidity in children. Maegaki Y, Kurozawa Y, et al.; Status Epilepticus Study Group. Brain Dev.2015;37(5):478-86.

Effect of levetiracetam in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures during acute and chronic phase. Ueda R, Saito Y, Ohno K, Maruta K, Matsunami K, Saiki Y, Sokota T,

Sugihara S, Nishimura Y, Tamasaki A,
Narita A, Imamura A, Maegaki Y. Brain
Dev. 2015;37(5):471-7.

2 . 学会発表

なし

F . 知的財産権の出願・登録状況

いずれもなし

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

けいれん重積を伴う急性脳症の遺伝的素因

研究分担者 齋藤真木子 東京大学大学院医学系研究科発達医科学助教

研究要旨

けいれん重積を伴う急性脳症の素因候補として自然免疫系関連遺伝子群 (*IL1B*, *IL1RN*, *IL6*, *IL10*, *TLR3*, *HMGB1*, *TLR4* and *CTLA4*) に注目し、患者群と正常対照群で多型解析を行った。*IL1B* rs16944 でヘテロ接合型(CT)頻度、rs4848306 T アリルおよび *CTLA4* rs3087243 G アリル頻度が患者群で有意に高いことが明らかとなった。rs3087243 G アリルは *CTLA4* 発現低下と関連することが既に報告されており、脳内ミクログリアの IL1 産生制御に影響を及ぼすと考えられる。今回の検討によりけいれん重積型急性脳症の病態の一つとして、IL1 シグナル亢進による易興奮性が示唆された。

A. 研究目的

けいれん重積を伴う急性脳症の病態として感染後の全身性免疫反応により中枢神経系の自然免疫系が賦活され、神経細胞興奮性の亢進をもたらす機序が予想される。ヒトインターロイキン1 (IL1) 関連遺伝子は染色体2q.12のおよそ500Kbの範囲にコードされている。これらの遺伝子は免疫担当細胞で強く発現するが、中枢神経系においてはニューロンおよびグリア細胞で発現している。中枢神経系では感染や外傷、出血などのストレス時に IL1 産生が増大し、これらが神経細胞膜上の IL1 受容体と結合することにより、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のリン酸化が起こり細胞内へのカルシウムイオン流入が増大して神経過興奮をもたらし、けいれんを引き起こす。自然免疫系関連遺伝子群の多型の一部は熱性けいれんとの疾患関連性が報告されており、けいれん重積型急性脳症の遺伝的素因候補となり得る。

本研究では種々のサイトカイン、受容体、

免疫反応制御因子遺伝子に注目して、これらの多型の疾患関連性を明らかにすることを目的とした。

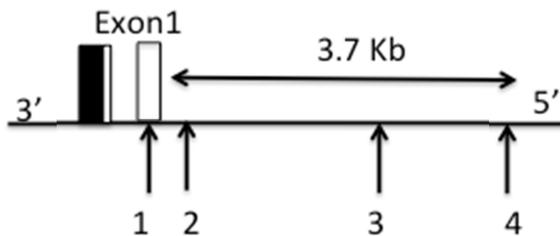
B. 研究方法

星野らによるけいれん重積型急性脳症の診断基準を満たす患者 40 例 (男女比 16:24, 平均発症年齢 22 ヶ月) を対象とした。各遺伝子: インターロイキン 1 (*IL1B*)、インターロイキン1受容体アンタゴニスト (*IL1RN*)、インターロイキン6 (*IL6*)、インターロイキン10 (*IL10*)、High mobility group box1 (*HMGB1*) および細胞傷害性 T リンパ球抗原 4 (*CTLA4*) については 5' および 3' 末端非翻訳領域を含む多型解析を行った。Toll 様受容体 3 (*TLR3*) および Toll 様受容体 4 (*TLR4*) 遺伝子は全長塩基配列解析した。対照正常として (1000GENOMES: phase_1_JPT) より得られた遺伝子型頻度を用い、患者群との比較を行い、カイ二乗検定によって統計学的有意差を検討した。

本研究は倫理委員会の承認を得ており、患者家族の文書による同意を得た後に採取された末梢血からDNAを抽出した。

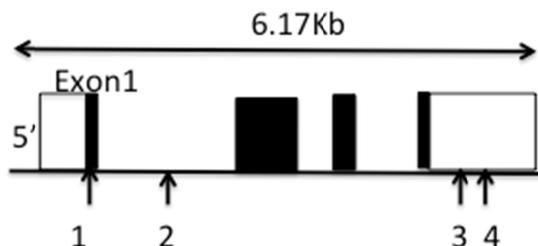
C. 研究結果

IL1B では図の4カ所の SNP 遺伝子型を決定した。



SNP2 (rs16944)の遺伝子型頻度は患者群で CC/CT/TT;6/31/3 であり、正常対照群の頻度 28/39/22 (1000GENOMES: phase_1_JPT)と比較して有意に異なっていた ($p=0.001$)。SNP4(rs4848306)の遺伝子型頻度は患者群 CC/CT/TT;5/22/13 に対し、正常群では 44/57/33 で有意に異なっていた ($p=0.042$)。rs16944 アリル C はドミナントモデル(CC+CT/TT)を用いると正常群との比較で最も低い p 値 (OR4.05, 95%CI1.14-14.4, $p=0.022$) が得られた。rs4848306 アリル T も優性モデル (TT+TC/CC)を用いると正常群との比較で最も低い p 値 (OR3.42, 95%CI1.25-3.94, $p=0.01$) が得られた。

CTLA4 は図の4カ所の SNP 遺伝子型を決定した。



SNP3 (rs3087243)の遺伝子型頻度は患者群で GG/GA/AA;31/6/3 であり、正常対照

群の頻度 45/38/6 (1000GENOMES: phase_1_JPT)と比較して有意に異なっていた ($p=0.008$)。rs3087243 アリル G は劣性モデル (GG/GA+AA)を用いると正常群との比較で最も低い p 値 (OR3.36, 95%CI1.44-7.88, $p=0.004$) が得られた。

IL1RN, *IL6*, *IL10*, および *HMGB1* について今回解析では正常対照群と有意差のあるSNPは見出せなかった。*TLR3*および*TLR4*の全長塩基配列解析で変異は認めなかった。

D. 考察

アジア人の熱性けいれんではrs16499アリルTの頻度が高いことが報告されているが (Chouら、2010)日本人の熱性けいれん患者群に関する研究では、家族歴のある患者群においてアリルT頻度が有意に高かったという報告がある (Kiraら、2010)。今回のけいれん重積型急性脳症では熱性けいれんとは異なりヘテロ型の頻度が高かった。また、rs4848306アリルTの疾患関連性が明らかになった。今後*IL1B*のmRNA発現解析を両方のSNPの遺伝子型の組み合わせを考慮したよるハプロタイプ毎に行えば、さらに機能と関連した遺伝的素因が明らかになると予想される。

CTLA4 rs3087243 Gアリルは*CTLA4*発現低下と関連することが既に報告されている。*CTLA4*はT制御細胞の表面マーカーであり、中枢神経系においても免疫反応抑制に関与すると考えられている。今回の検討でアリルGの疾患関連性が示された。患者群ではこのSNPに関連して脳内ミクログリアの*IL1* 産生制御が影響を受ける可能性がある。

今回の検討によりけいれん重積型急性脳症の病態の一つとして、*IL1* シグナル

亢進による易興奮性が示唆された。

E . 研究発表

1 . 論文発表

Makiko Saitoh, Atsushi Ishii, Yukiko Ihara, Ai Hoshino, Hiroshi Terashima, Masaya Kubota, Kenjiro Kikuchi, Gaku Yamanaka, Kaoru Amemiya, Shinichi Hirose, Masashi Mizuguchi. Missense mutations in sodium channel SCN1A and SCN2A predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures. *Epilepsy Research* 117 (2015) 1-6.

2 . 学会発表

Makiko Saitoh, Sain Kou, Ai Hoshino, Kenjiro Kikuchi, Gaku Yamanaka, Masaya Kubota, Jun-ichi Takanashi, Tomohide Goto, Masashi Mizuguchi. Cytokine genes and risk of acute encephalopathy with status epilepticus. 第57回日本小児神経学会学術集会 (大阪)脳と発達 第47巻 Suppl. s214.

Ai Hoshino, Makiko Saitoh, Masaya Kubota, Jun-ichi Takanashi, Akira Oka, Masashi Mizuguchi. Genetic background in Japanese acute necrotizing encephalopathy: cytokine gene polymorphism analysis. 第57回日本小児神経学会学術集会 (大阪)脳と発達 第47巻 Suppl. s320.

齋藤真木子、星野 愛、菊也健二郎、山中 岳、久保田雅也、石井敦土、井原由紀子、廣瀬伸一、水口 雅 HE 症候群の遺伝的素因 第118回日本小児科学会学術集会(大阪)日本小児科学会雑誌 119巻 2号 390.

F . 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理

研究代表者 山内 秀雄 埼玉医科大学小児科教授

研究要旨

小児の急性脳症・けいれん重積状態の診療指針の策定を行うため、小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理について国内外の文献を検索し検討した。全身管理では適切なモニター装置を使用し、全身状態を出来る限り改善・維持するための支持療法を行うべきことが示された。けいれん重積状態の管理ではけいれん遷延状態・重積状態治療は全身管理を行いながら、けいれん持続時間に応じた適切な薬物治療の選択を行い、急性脳症の早期診断にはけいれん後の意識状態の評価が重要であり、必要以上の抗けいれん薬の投与を行うべきでないことが示された。

A. 研究目的

小児の急性脳症・けいれん重積状態の診療について定められた指針は存在しない。本研究の目的は小児急性脳症の1)全身管理、2)けいれん重積状態の管理に対する指針を策定することである。

B. 研究方法

小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理に関する文献検索を1992年1月～2012年8月までの期間における英文雑誌（PubMed）と邦文雑誌（医学中央雑誌）掲載の文献を対象に行った。全身管理については英文では154件、邦文では89件の文献が抽出された。けいれん重積状態の管理については英文では123件、邦文では11件の文献が抽出された。それぞれの文献についてその妥当性について評価を行った。

C. 研究結果

小児急性脳症の全身管理では適切なモニター装置を使用し、全身状態を出来る限り改善・維持するための支持療法を行うべきことが示された。一定以上の意識障害下の呼吸器管理では気管挿管による気道確保による呼吸管理を行い、SpO₂モニターとPaCO₂モニターないし呼気終末CO₂モニターの使用、循環管理ではさらに心電図モニター、血圧・脈圧モニターの使用が必要であることが示された。また、十分な脳遺流圧が確保できるように管理されるべきことが重要であることが示された。中枢神経管理においては、aEEGの使用と脳圧測定モニターの使用が推奨された。体温管理では特に高体温を避ける必要性があり、脳低温療法が施行される場合のあることが示された。栄養管理についてはエビデンスに乏しいものの、感染症に対する対策や生命予後の改善の為にその適切な管理が重要であることが示された。けいれん重積状態はけいれん遷延状態と区別して

定義され、その遷延状態では治療を迅速に開始し、適切な全身管理下で適切な薬物治療の選択を行うことが重要であり、けいれん後の意識状態の評価が急性脳症の診断に重要であることから、必要以上の抗けいれん薬の投与を行うべきでないことが示された。

D．健康危険情報

なし

E．研究発表

なし

F．知的財産権の出願・登録状況

なし

けいれん重積型（二相性）急性脳症の脳病理に関する研究

研究分担者 高梨潤一 東京女子医科大学八千代医療センター小児科教授

研究要旨

Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD] では、グルタミン酸などの興奮毒性が病態として想定されているが明確ではない。AESD の経過中に脳生検を施行し得た 1 例を経験した。変性神経細胞周囲に多数の活性化ミクログリア、皮質のアストログリオシスを認めた。活性化ミクログリア由来の $TNF\alpha$ は autocrine loop により持続的にミクログリア自身のグルタミン酸産生を誘導する。AESD の病態に活性化ミクログリアが関与していることが示唆された。

A. 研究目的

日本の小児に好発する Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD] の病態は解明されていない。MR spectroscopy を用いた脳代謝解析から、急性期に Glutamine (Gln)+Glutamate (Glu) [Glx] 高値が報告され、興奮毒の関与が想定されている。AESD は 70% 以上に神経後遺症を認めるが、死亡率は 1% と低いとため、脳病理の報告がなかった。AESD 患児の脳生検を施行し脳病理を検討しえたので報告する。

B. 症例

症例は 2 歳の男児、知的障害、心房中隔欠損、右側大動脈弓、血管輪を認める。発熱とけいれん重積 (ES) で発症し、4 病日に右片側けいれん (LS) を呈した。ステロイドパルス療法、ガンマグロブリン療法を施行するも脳浮腫が進行するため、8 病日から脳低温療法を開始した。同日、脳圧モニター挿入時に脳生検を施行した。最終診

断は、RS ウイルス感染に伴う AESD である。

C. 脳生検の結果

変性した神経細胞周囲に複数のミクログリアが集簇した Neuronophagia が広範に認められた。ミクログリアは amoeboid で、CD163 陽性であった。大脳皮質で GFAP 陽性アストロサイトが増加していた。脳浮腫を伴う脳症でよくみられるアストロサイトの突起分断化 Clasmotodendrosis は認められなかった。Perivascular cuffing や Glial nodule はみられなかった。脳生検の結果から、AESD では活性化したミクログリアの増生とアストログリオシスが特徴的と考えられた。ミクログリアは炎症性サイトカイン、一酸化窒素、フリーラジカル、興奮性アミノ酸などの細胞障害性因子を産生する。その内でも、グルタミン酸は最も強力な細胞傷害物質とされる。活性化ミクログリア由来の $TNF\alpha$ は autocrine loop により持続的にミクログリア自身のグルタミン酸産生を誘導する。

AESD の病態に活性化ミクログリアが関与していることが示唆された。

D . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) I Omata T, Fujii K, Takanashi J, Murayama K, Takayanagi M, Muta K, Kodama K, Iida Y, Watanabe Y, Shimojo N. Drugs indicated for mitochondrial dysfunction as treatments for acute encephalopathy. J Neurol Sci 2016; 360: 57-60.
- 2) Takanashi J, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ. Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. Neuroradiology 2015; 57: 1163-1168
- 3) Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). J Neurol Sci 2015; 358: 62-65.
- 4) Takanashi, J, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenial lesion (MERS) after mumps vaccination. J Neurol Sci 2015; 349: 226-228
- 5) Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kutota M, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K,

Itomi S, Ohno K, Takanashi J, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. Brain Dev 2015; 37: 423-431.

- 6) Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niiijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. Brain Dev 2015; 37: 418-422.
- 7) 高梨潤一: 脳症. 疾患から見る画像診断の進め方・読み方 小児科診療2015増大号 診断と治療社 2015, 81-86.

2 . 学会発表

1. Takanashi J.: Neuroimaging findings in children with acute encephalopathy. 13th Asian Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN) 2015.5.13-17.
2. 高梨潤一: 二相性脳症 (acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion; AESD) up to date. 第201回日本小児科学会千葉地方会 2015.6.21.
3. 高梨潤一: 小児急性脳症. 第51回日本医学放射線学会秋季臨床大会 2015.10.2.
4. Takanashi J: Neuroimaging in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). 10th AOCNR 2015.11.6.

E . 知的財産権の出願・登録状況 なし

髄液プロテオーム解析による AESD 早期診断マーカーの探索

研究分担者 山形崇倫 自治医科大学医学部小児科学教授

研究要旨

けいれん重積型脳症(AESD)の早期診断のためのバイオマーカー同定と、発症機序と病態を解明するために、AESDを発症した患者の初回けいれん後早期の髄液で変化している蛋白の同定を試みた。AESD 3例、比較対照として一相性脳症 3例の、初回痙攣後 10 時間以内の髄液を用い、二次元電気泳動(2D-DIGE法)により蛋白質を展開し、AESDで発現が有意に増加していたスポット 6か所、有意に発現が低下していたスポット 4か所の蛋白を抽出して、質量分析を行い同定した。AESDで発現が増加していたスポット 6か所中、5か所は免疫グロブリン系であった。もう一つの蛋白も、免疫系に関連する蛋白で 2.5 倍上昇しており、早期診断のバイオマーカーとして有望と考えられ、他の患者の髄液を集積して解析予定である。AESDで発現が低下していたスポットは、免疫系、アポトーシスに関連、神経修復に関与する蛋白等で、これらの蛋白は、病態に関連している可能性が考えられ、他の患者の髄液で確認する予定である。AESDにも炎症や抗原抗体反応などの免疫反応が関与している可能性が示唆された。また、神経修復に関連する蛋白の発現が低下していたことなどからは、細胞興奮毒性による細胞障害からの回復過程に異常があるために発症する可能性も考えられる。

研究協力者

小島華林 自治医科大学医学部小児科学
助教

A. 研究目的

けいれん重積型脳症(AESD)は、発熱に伴い、けいれん重積を起こした後に、一時的に意識状態が改善した後、2-4 日後に、再度けいれん発作や意識障害を起こす 2 相性の経過を取り、麻痺、知的障害やてんかんなどの後遺症を残すことが多い疾患である。現時点では、二相性の経過を見ない

と診断が困難である。2 回目のけいれん・意識障害の発症後に治療しても、予後の改善は得られず、1 回目のけいれんの後、早期に診断し、早期治療を行うことで、予後の改善が得られる可能性がある。そのために、初回けいれん後、早期に二相性の脳症を発症するリスクを判定するバイオマーカーが必要である。その、バイオマーカーの候補として、初回けいれん発症後早期の、髄液内で発現が変化している分子の同定

が考えられる。

また、発症機序と病態を解明するためにも、髄液内で変化している分子を同定することは重要である。

よって、初回けいれん後早期の髄液で、AESD 発症した患者で変化している蛋白の同定を試みた。

B. 研究方法

対象は、AESD 3 例（年齢：11 か月～1 歳 3 か月）で、比較対照として、一相性脳症 3 例（年齢：11 か月～2 歳 0 か月）、初回痙攣後、10 時間以内（2 時間～10 時間）の髄液を用い、二次元電気泳動（2D-DIGE 法）により蛋白質を展開し、両者（AESD と一相性脳症）の間で有意に増減したスポットを、質量分析を行い同定した。（倫理面への配慮）

研究実施にあたっては、自治医科大学遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て実施した。また、実施にあたっては、患者の親権者のインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

AESD で発現が増加していたスポット 6 か所、発現が低下していたスポット 4 か所の蛋白を抽出して同定した。

AESD で発現が増加していたスポット 6 か所中、5 か所は、Ig-λ2 chain C region (1.3x)、Ig-γ2 chain C region (1.4x)、Ig-γ1 chain C region (1.5x)、Ig-κ chain V- region(1.3x)、Ig-κ chain V- region(1.3x)などの、免疫グロブリン系であった。もう一つの蛋白も、免疫系に関連する蛋白で 2.5 倍上昇しており、早期診断のバイオマーカーとして有望と考えられ、他の患者の髄液を集積して解析予定であ

る。

AESD で発現が低下していたスポットは、免疫系、アポトーシスに関連する蛋白、グリア細胞から分泌され神経修復に関与する蛋白等で、一相性脳症では 1.3 倍から 3.6 倍増加していた。これらの蛋白は、病態に関連している可能性が考えられ、これらに関しても、他の患者の髄液で解析し、確認する予定である。

これまで、AESD の中心病態は細胞興奮毒性と考えられていたが、上記結果から、AESD にも炎症や抗原抗体反応などの免疫反応が関与している可能性が示唆された。よって、治療としては炎症を抑制するステロイド等の治療が妥当である。

また、神経修復に関連する蛋白の発現が低下していたことなどからは、細胞興奮毒性による細胞障害からの回復過程に異常があるために発症する可能性もあり、さらに解析を継続する。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyauchi A, Monden Y, Osaka H, Takahashi Y, Yamagata T. A case of anti-NMDAR encephalitis presented hypotensive shock during plasma exchange. Brain Dev. 2015 [Epub ahead of print]
- 2) Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). J Neurol Sci.

2015;358:62-5.

3) Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M. Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline. Brain Dev.

2015;37:463-70.

2 . 学会発表

桑島真理 長嶋雅子 中野祐子 門田行史、小坂仁、山形崇倫：急性脳症を反復した Sotos 症候群の 2 症例．第 57 回日本小児神経学会学術集会 2015 年 5 月 28 日

我が国における難治頻回部分発作重積型急性脳炎の実態に関する研究

研究分担者 佐久間 啓 公益財団法人東京都医学総合研究所
脳発達・神経再生研究分野 副参事研究員

研究要旨

我が国における難治頻回部分発作重積型急性脳炎の実態を把握するため、該当する症例を前方視的に集積・解析した。対象症例は26例で、平均7.5歳、男女比は19:7であった。25例で先行感染を認め、潜伏期間は平均4.5日。急性期のけいれん発作は全例で焦点発作を認め、眼球偏位、顔面間代、片側四肢間代発作が多かった。髄液細胞増加は76%、急性期の頭部MRIの信号異常は65%に認め、いずれも欧米からの報告よりも多い数字であった。治療の中心は高用量バルビツール酸であったが、24例でステロイドパルス療法が、19例で免疫グロブリン療法が実施され、我が国からの過去の報告と比較してその頻度は増加していた。予後は良好例が9例、中間例が11例、不良例が6例であり、全体的に予後が改善している傾向が見られた。

研究協力者

水野朋子 公益財団法人東京都医学総合研究所脳発達・神経再生研究分野

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；AERRPS）は発熱に伴い極めて難治かつ頻回の部分発作を呈する原因不明の脳炎で予後不良である。治療には高用量バルビツール酸が用いられることが多いが、長期使用の弊害も指摘されており有効な治療法ははまだ確立されていない。

本研究は我が国におけるAERRPS症例の臨床情報を集積・解析し、本疾患の特徴を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

2010年より厚生労働科学研究・難治性疾患克服研究事業として前方視的に全国調査を行った。AERRPSと暫定診断され、本調査に登録された症例の各主治医にアンケートを送付して臨床情報を収集し、解析を行った。

（倫理面への配慮）本研究は東京都医学総合研究所倫理委員会の承認を受け、患者家族には主治医から同意を得た。

2010年10月から2014年2月までに、28症例の登録があった。けいれん重積型脳症の既往がある1例と、短期間のミダゾラム持続投与でけいれんが抑制された1例を除く、26症例を解析対象とした。

C. 研究結果

対象の年齢は2歳6か月-12歳4か月（平均7.5歳）、性別は男19例、女7例であった。25例で先行感染を認め、けいれん発

症までの潜伏期間は2-7日(平均4.5日)だった。

急性期のけいれんは,全般強直間代発作を38%,焦点発作を100%で認めた。発作型は眼球偏位,顔面間代,片側四肢間代発作を多く認めた。

髄液検査では,細胞数(/ μ l) 20.0 ± 19.8 (1-68,76%で細胞数上昇($>5/\mu$ l)あり),蛋白(mg/dl) 35.3 ± 20.4 (4-104)であった。26例中1例で抗NMDA受容体抗体が陽性だったが,他に自己抗体陽性例は認めなかった。急性期脳波所見は全例で何らかの異常を認め,焦点性,多焦点性のてんかん性異常波を最も多く認められた。頭部MRIは65%で急性期に信号異常を認め,部位は海馬・扁桃体が最も多く,大脳皮質,基底核,視床が続いた。慢性期に脳萎縮を認めたのは73%で,このうち37%では急性期に異常所見を認めなかった。

治療は,急性期にバルビツール酸持続静注が92%で施行され,平均投与期間,平均最大投与量はそれぞれ 26.5 ± 27.7 (2-113)日, 9.1 ± 4.1 (3-20) mg/kg/hr であった。免疫調整療法としてはステロイドパルス療法が24例(92%),免疫グロブリン療法が19例(73%),デキサメサゾン髄注が2例で行われていた。その他にアシクロビルが19例,エダラポンが7例で使用され,脳低(平)温療法が6例,ケトン食療法が4例で実施された。

予後は pediatric cerebral performance category (PCPC) scale にて評価し,1-2を良好例,3を中間例,4-5を不良例とした。良好例が9例,中間例が11例,不良例が6例であった。慢性期のてんかん発作は多くの例で認めたが,5例では発作は消失していた。

D. 考察

本検討では髄液細胞数増多を76%の症例で認め,海外の報告よりも多い傾向にあった。また急性期MRIで異常所見を認める症例も多く,視床病変で予後不良の傾向があった。一方で急性期に異常を認めず慢性期に脳萎縮をきたす例もあった。

過去の症例と比較し,本検討では予後不良例は減少傾向であった。その理由として,本疾患が認知され,早期から積極的なけいれんコントロール,免疫調整療法が行われるようになったことが影響している可能性があるが,多数例での多変量解析が必要である。慢性期のてんかん発作はコントロール良好例も認められ,レベチラセタムをはじめとする新規抗てんかん薬の関与も推測される。バルビツール酸持続静注期間が長いと予後不良の傾向が認められた点は既報告と同様であったが,長期間必要なのはそれだけ重症であるとも考えられる。しかしバルビツール酸持続静注から離脱を図るためケトン食療法やレベチラセタム等の新規抗てんかん薬を早期に試す価値があると考えられる。

さらにバルビツール酸持続静注からの離脱が困難な例では,より強力に炎症を抑制する治療として今後免疫抑制剤の使用なども検討していく必要がある。

E. 健康危険情報

該当事項なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takasawa K, Takeda S, Nishioka M, Sakuma H, Morio T, Shimohira M. Steroid-responsive status epilepticus caused by human

- parvovirus B19 encephalitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35:227-8.
- 2) Nakahara E, Sakuma H, Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M. A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol* 2015;285:150-5.
- 3) Sakuma H, Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M. Intrathecal overproduction of proinflammatory cytokines and chemokines in febrile infection-related refractory status epilepticus. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2015;86:820-2.
- 4) Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A, Sugawara Y, Sakuma H, et al. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure* 2015 27:1-5.

2 . 学会発表

- 1) 佐久間啓 . けいれん重積・てんかんと神経炎症 . 第 49 回日本てんかん学会学術集会 . 2015.10.31. 長崎
- 2) 佐久間啓 . 急性脳炎・脳症とサイトカイン : シンポジウム「急性脳炎・脳症の理解を深めるために」第 57 回日本小児神経学会学術集会 . 2015.5.29. 大阪 .
- 3) Sakuma H, Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M. Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. 2015.5.14-16, Taipei, Taiwan.

G . 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
- その他 : なし

可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症家族例の遺伝子解析に関する研究

研究分担者 奥村彰久 愛知医科大学医学部小児科教授

研究要旨

可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症（MERS）は、頭部 MRI 拡散強調画像における脳梁膨大部の一過性の拡散能低下を特徴とする急性脳症のサブタイプである。MERS の発症機序は未だ十分に解明されておらず、遺伝学的背景の研究は進んでいない。本研究では、3 世代にわたって MERS およびそれに類似した神経症状を呈した家族例 5 例について遺伝学的解析を行った。5 例について全エクソーム解析を行ったところ遺伝子 A に 5 例に共通し、アミノ酸変異を伴うバリエーションを同定した。遺伝子 A は中枢神経に発現しており、中枢神経内の炎症と関連があることが判明しており MERS との関係が否定できない。本研究の成果は急性脳症の遺伝学的背景を明らかにするのみならず、発熱に伴う異常言動のリスク因子の同定にも有用である可能性があらわれられた。

A. 研究目的

可逆性脳梁膨大部病変を伴う急性脳症（MERS）は、頭部 MRI 拡散強調画像における脳梁膨大部の一過性の拡散能低下を特徴とする急性脳症のサブタイプである。症例によっては、拡散能低下を脳梁全体や半卵円中心にも認めることがある。これらの病変は一般に数日以内に消失し、原則として不可逆性の病変を認めることはない。MERS の臨床症状は、異常言動や軽度の意識障害にとどまることが多く、その持続も数日以内である。神経学的予後も良好であり、特に治療をしなくても後障害なく回復するとされている。

現在まで MERS の病態は十分に明らかになっていない。MERS では急性期に低 Na 血症を伴うため、SIADH が関与していることが示唆されている。また、MERS は時に川崎病や上部尿路感染症に合併することが

報告されており、サイトカインなどの自然免疫反応の関与も考えられる。実際に MERS の症例では、その一部に髄液や血清中において IL-6 などのサイトカイン値の上昇も報告されている。

近年、遺伝子変異やバリエーションと急性脳症との関係が注目されている。二相性脳症では *SCN1A* などの遺伝子変異やバリエーションの報告がなされている。しかし、MERS においては遺伝学的背景の研究は進んでいない。我々は、3 世代にわたって MERS およびそれに類似した神経症状を認める家族例において、その遺伝学的背景を検討した。

B. 研究方法

発端者は現在 6 歳の女兒である。2 歳時に発熱に伴ってけいれんを認め、意識減損が遷延したため入院した。3 歳時にも同

様のイベントがあり入院した。その際に頭部 MRI を施行したところ、脳梁および半卵円中心に拡散能低下を認め MERS と診断された。特に治療を行わなかったが、神経学的後障害なく回復した。それ以降も発熱に伴って異常言動を認めることがあり、時に入院加療が必要である。現在までの発達は正常で、神経学的所見にも異常を認めない。

発端者の家系には、以下のように同様の症状を認めるものが複数認められた。

母：11 歳時に発熱した際に急に話せなくなり、体も動かなくなった。2-3 日で回復した。

母の弟：6 歳時に授業中に発熱した際に動けなくなり、寝たきりの状態が 2~3 日続いたが、自然に回復した。

母の妹：8 歳時に発熱に伴って、けいれん・軽度意識障害・異常限度を認めた。

母方祖母：幼児期に発熱に伴って急に話せなくなり、身体も動かなくなることが 2 回あった。

母方曾祖母：発熱時に急に話せなくなり、身体も動かなくなることがあった。

この家系のうち、母方曾祖母を除いた 5 例についてインフォームドコンセントを得た後に採血し遺伝子解析を行った。遺伝子解析は、次世代シーケンサーを用いて全エクソーム解析を行った。この家系では常染色体優性遺伝であると想定し、以下の条件を満たす SNV を抽出した：1) 5 例に共通する、2) heterozygous SNV である、3) エクソン中に存在するまたは splicing に影響する、4) アミノ酸変異を伴う、5) NHLBI Exome Sequencing Project・1000 Genomes・HGVD・ExAC の全てで頻度が 1% 未満。

C. 研究結果

前述のフィルターで 102 個の SNV が判明した。これらの SNV を 39 個の遺伝子に絞り込んで解析したところ、中枢神経系に特異的に発現する遺伝子 A に 5 人が共有するミスセンスバリエントを確認した。このバリエントはアミノ酸のグルタミンからアルギニンへの変異を伴い、頻度データベースに同バリエントの登録は認めなかった。変異部位のアミノ酸（グルタミン）は種間で非常に高い配列保存性を呈していた。各種 prediction tools ではこのバリエントは disease causing と予測された。さらに、5 症例すべてにおいてサンガー法で同バリエントの存在を確認した。

D. 考察

本研究では、MERS 家系例について全エクソーム解析を施行し、その発症に関与する可能性がある候補遺伝子 A を同定することができた。この結果は、MERS の発症には遺伝学的な因子が関与する可能性を示唆する。

本研究で同定された遺伝子 A については、ノックアウトモデルマウスで中枢神経系の炎症を起こすことが確認されている。これまでの研究の結果から MERS ではサイトカインなどの自然免疫反応との関連が示唆されている。したがって、遺伝子 A のバリエントにより感染によって何らかのトリガーがかかり中枢神経内で過剰な炎症反応が起きる可能性は否定できない。また、今回の同定されたバリエントは、遺伝子 A の DNA 結合ドメインとして機能予測されている箇所に存在する。このことは、今回同定されたバリエントが遺伝子 A の機能に影響する可能性を示唆する。今回の研究では 1 家系での解析に留まったため、遺伝子 A が MERS の孤発例に関与している

か否かは不明である。今後、MERS 孤発例についても遺伝子 A の解析を施行し、その関与の有無を解明する必要がある。

また、MERSの神経症状は、明らかな画像異常を伴わない発熱時の異常言動と類似しており、一つの疾患スペクトラムである可能性がある。発熱時の異常言動は家族集積性があることが知られており、何らかの遺伝学的因子の関与が示唆される。したがって、今回同定された遺伝子Aは発熱に伴う異常言動にも関与している可能性がある。遺伝子Aが発熱時の異常言動に関与していることが判明した場合、予め遺伝子Aのバリエーションの有無を調べることによりその発症予測ができる可能性がある。それが可能になった場合には、発熱時の監視を十分に行うことなどにより異常言動によって惹起される二次障害の予防に有用であることが期待される。

E. 結論

3世代にわたってMERSおよびその類似の神経症状を認めた5家族例について、全エクソーム解析を施行し候補遺伝子Aを同定した。MERS孤発例における遺伝子Aのバリエーションの有無を検討することにより、MERSの遺伝学的背景を明らかにすることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okumura A, Nakazawa M, Igarashi A, Abe S, Ikeno M, Nakahara E, Yamashiro Y, Shimizu T, Takahashi T. Anti-aquaporin 4 antibody-positive acute disseminated encephalomyelitis. *Brain Dev* 2015; 37(3): 339-43.

Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Azuma Y, Tsuji T, Okumura A, Kubota T, Ando N, Saitoh S, Miura K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S. Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Epilepsia* 2015; 56(8): 1286-93.

Nakahara E, Sakuma H, Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M. A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol* 2015; 285: 150-5.

Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Nijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2015; 37(4): 418-22.

Nakazawa M, Toda S, Abe S, Ikeno M, Igarashi A, Nakahara E, Yamashita S, Nijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for benign convulsions with mild gastroenteritis. *Brain Dev* 2015;37(9): 864-7.

Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kubota T, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K, Itomi S, Ohno K, Takanashi J, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A.

Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. Brain Dev 2015; 37(4): 423-31.

Takanashi J, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenic lesion (MERS) after mumps vaccination. J Neurol Sci 2015; 349(1-2): 226-8.

Yamamoto H, Okumura A, Natsume J, Kojima S, Mizuguchi M. A severity score for acute necrotizing encephalopathy. Brain Dev 2015; 37(3): 322-7.

Yamamoto H, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Suzuki M, Tsuji T, Kubota T, Yamada A, Ozeki M, Kato Z, Kawamura Y, Yoshikawa T, Okumura A, Ando N, Saitoh S, Takahashi Y, Watanabe K, Kojima S. Clinical and neuroimaging findings in children with posterior reversible encephalopathy syndrome. Eur J Paediatr Neurol 2015; 19(6): 672-8.

2 . 学会発表

奥村彰久 . 小児の急性脳炎・脳症 . 第 263 回日本小児科学会東海地方会、名古屋、2015.2.1.

Akihisa Okumura, Shinpei Abe, Mika Nakazawa, Michihiko Takasu, Hirokazu Kurahashi, Toshiaki Shimizu. Were attitude toward epilepsy and driving license affected by media coverage? 第

118 回日本小児科学会学術集会、大阪、2015.4.16.

Akihisa Okumura, Toshiyuki Yamamoto, Masakazu Miyajima, Keiko Shimojima, Satoshi Kondo, Shinpei Abe, Mitsuru Ikeno, Hirokazu Kurahashi, Michihiko Takasu, Toshiaki Shimizu. 3p Interstitial Deletion Including PRICKLE2 in Identical Twins with Autistic Features. 第 57 回日本小児神経学会学術集会、大阪、2015.5.29.

奥村彰久、辻健司、久保田哲夫、安藤直樹、夏目淳、齋藤伸治、東海小児神経研究 . 09-10 シーズン以降の小児のインフルエンザ脳症の実態 . 第 20 回日本神経感染症学会学術集会、長野、2015.10.23.

Akihisa Okumura, Eisuke Arai, Yuri Kitamura, Shinpei Abe, Mitsuru Ikeno, Michihiko Takasu, Hirokazu Kurahashi, Takuro Fujimaki, Toshiyuki Yamamoto, Toshiaki Shimizu. Epilepsy Phenotypes in Siblings with Norrie Disease. 第 49 回日本てんかん学会学術集会、長崎、2015.10.30.

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Angelman 症候群および関連疾患に関する研究

研究分担者 齋藤伸治 名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野教授

研究要旨

てんかんを主要な症候とする先天性遺伝性疾患 Angelman 症候群 (AS) を対象として、発症原因ごとの分類を試みた。商業的解析が可能な欠失例は場外した。解析した 86 例中、片親性ダイソミー 3 例、刷り込み変異 3 例、UBE3A 変異陽性 19 例であった。変異が陰性であった 45 例中、1 例に MECP2 変異を同定した。AS の原因は多彩であり、また、疑い例のなかに、AS 以外の疾患も存在する。

A. 研究目的

Angelman 症候群 (AS) はてんかんを主要な症候とする症候群である。原因は 15q11-q13 に存在する UBE3A の機能喪失であり、その原因として 15q11-q13 の母性欠失、15 番染色体の父性片親性ダイソミー、刷り込み変異、UBE3A の変異が存在する。そのため、診断には体系的な遺伝学的診断が必要である。AS に合併するてんかんは全般発作が中心であり、時に非けいれん性てんかん重積を起こすことが知られている。そのため、AS はてんかん重積を研究するための重要なモデルである。しかし、臨床的診断では正確な診断はできず、また、遺伝学的分類を行わなければ、解析の基盤を築くことができない。そこで、私たちは、臨床的に AS が疑われた患児の発症原因ごとの分類を行うことを目的とした。

B. 研究方法

臨床的に AS が疑われた 86 例を対象とした。商業的に診断が可能である、母性欠失例は今回の解析からは除外した。遺伝学的

診断は、SNRPN 遺伝子の DNA メチル化テスト、両親の検体を用いた 15 番染色体の多型解析、15q11-q13 刷り込み中心の欠失解析のための MLPA 法、UBE3A 遺伝子のサンガー法による塩基配列決定を実施した。これらの方法にて原因が同定されなかった時は、S と表現型が似ていることが報告されている、6 個の遺伝子 (SLC9A6、TCF4、MBD5、CDKL5、MECP2、FOXG1) のコーディング領域を対象とするシーケンスパネルを AmpliSeq (Life technologies) により作成し、Ion PGM を用いて解析した。

C. 研究結果

15 番染色体父性片親性ダイソミー 3 例、刷り込み変異 3 例、UBE3A 変異 19 例を同定した。刷り込み変異 3 例のうち 1 例に刷り込み中心の微細欠失を同定した。残り 2 例はエピ変異と判断した。これらの解析で原因が同定できなかった 45 例中 1 例に MECP2 遺伝子のナンセンス変異を同定し、この例は Rett 症候群であることが明らか

になった。

体系的な遺伝学的診断において AS 疑い例 86 例中 25 例 (29%) が遺伝学的に AS と確定診断をすることができた。確定診断できなかったなかの 1 例は遺伝学的解析の結果 AS ではなく Rett 症候群であることが明らかになった。AS と Rett 症候群は臨床的に重なる症状が多く、特に乳児期に区別することは困難である。正確な診断には遺伝学的診断が重要であることが示されたと考える。AS の 10% は原因が不明とされているが、今回の解析ではむしろ診断がつかない例が多く見られた。このことは、臨床現場においては必ずしも典型的でなくても診断を否定したいとの要求が多いため、疑い例に対して広く遺伝学的診断を行っている実態を反映していると思われる。

てんかん重積に対する適切な治療法を考察するためには、確実な診断が欠かせない。そのために、体系的な遺伝学的診断が保険診療として位置づけられることが必要であると考えられる。

D . 健康危険情報

なし

E . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Negishi Y*, Miya F*, Hattori A, Mizuno K, Hori I, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Truncating mutation in *NF1A* causes brain malformation and urinary tract defects. *Hum Genome Var* 2:15007, 2015.
* Equal contribution.

- 2) Miya F, Kato M, Shiohama T, Okamoto N, Saitoh S, Yamasaki M, Shigemizu D, Abe T, Morizono T, Boroevich KA, Kosaki K, Kanemura Y, Tsunoda T. A combination of targeted enrichment methodologies for whole-exome sequencing reveals novel pathogenic mutations. *Sci Rep* 5:9331, 2015.
- 3) Yokoi S, Ishihara N, Miya F, Tsutsumi M, Yanagihara I, Fujita N, Yamamoto H, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Kojima S, Saitoh S, Kurahashi H, Natsume J. TUBA1A mutation can cause a hydranencephaly-like severe form of cortical dysgenesis. *Sci Rep* 5:15165, 2015.
- 4) Saitoh S. Clinical, molecular, and neurophysiological features in Angelman syndrome. *J Pediatr Epilepsy* 4:17-22, 2015.

2 . 学会発表

- 1) 齋藤伸治. 小児神経科医に必要な遺伝学的検査の解釈. 日本小児神経学会学術集会 (大阪) 2015 年 5 月 29 日
- 2) Negishi Y, Miya F, Hattori A, Hori I, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Truncating mutation in *NF1A* causes brain malformation and urinary tract defects. 日本小児神経学会学術集会 (大阪) 2015 年 5 月 29 日

F . 知的財産権の出願・登録状況

なし

難治性てんかんの遺伝子解析

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

小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子が関係することが、報告されている。難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするためには、今後網羅的な遺伝子解析が必要である。これに先立つ基礎研究として、日本人の難治性てんかんのうち、走性焦点発作を伴う乳児てんかん、Dravet 症候群（乳児重症ミオクロニーてんかん）、片側痙攣片麻痺てんかん症候群、PCDH19 関連てんかんおよび KCNQ2 関連乳児早期てんかん性脳症についての遺伝子解析を行った。いずれの難治性てんかんでも遺伝子異常を発見できた。今後はこの情報をもとに、次世代シーケンサーにより、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態を明らかにする予定である。

A. 研究目的

小児の急性脳症・けいれん重積状態の関連遺伝子の網羅的な検索に備え、パイロットスタディーとして、日本人における難治性てんかんで、その遺伝子異常の探索を行った。いままでに、難治性てんかんの原因遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の関連が示唆されている。

B. 研究方法

今回対象の難治性てんかんとして遊走性焦点発作を伴う乳児てんかん、Dravet 症候群（乳児重症ミオクロニーてんかん）、片側痙攣片麻痺てんかん症候群、PCDH19 関連てんかんおよび KCNQ2 関連乳児早期てんかん性脳症についての遺伝子解析を行った。遊走性焦点発作を伴う乳児てんかんでは主に KCNT1 遺伝子、Dravet 症候群

では *SCN1A*, *2A*, *1B* 等の Na⁺チャネル遺伝子の他、*GABRG2* 等の GABA_A 受容体関連の遺伝子、片側痙攣片麻痺てんかん症候群に対しては、*CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A* and *PRRT2*, *PCDH19* 関連てんかんでは *PCDH19* を、*KCNQ2* 関連乳児早期てんかん性脳症については、*KCNQ2* のほか *KCNQ3* などの候補遺伝子に関して、サンガー法を用いて直接シーケンス法のほか、一部の遺伝子に対しては、MLPA 法を用いて関連遺伝子を含む、染色体の微小欠失を検索した。

（倫理面への配慮）

患者遺伝子変異解析を行うにあたり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成25年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）」に基づき、施設間の譲渡書の作成、同意書の改定、説明文

書の準備および遺伝カウンセラーの設置などをバンク参加施設で統一し、さらに「個人情報の保護に関する法律」(平成15年5月30日法律第57号)を受け、同意書の整備、匿名化の再評価を実施した。以上の指針・法律に基づき、患者遺伝子変異解析は福岡大学病院倫理委員会で改定認可された方法で実施した。

C. 研究結果

遊走性焦点発作を伴う乳児てんかんは12例のうち3例にKCNT1遺伝子異常を見いだした。Dravet症候群は755例解析し318例にSCN1Aの遺伝子異常を17例に微小欠失を見いだしGABRG2等のGABA_A受容体関連の遺伝子には変異はなかった。片側痙攣片麻痺てんかん症候群では、CACNA1Aに異常を1例に見いだした。PCDH19関連てんかんは80例収集して、内17例にPCDH19の異常を見いだした。乳児早期てんかん性脳症では、KCNQ2の遺伝子の異常は見いだせなかった。

今後、小児の急性脳症・けいれん重積状態を来した患者の検体を利用して、難治性てんかん関連遺伝子を中心としたパネルを用いた次世代シーケンスにより、網羅的に遺伝子異常を検索予定である。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Shi XY, Tomonoh Y, Wang WZ, Ishii A, Higurashi N, Kurahashi H, Kaneko S, Hirose S, Epilepsy Genetic Study Group J. Efficacy of antiepileptic drugs for the treatment of Dravet syndrome with different genotypes. Brain Dev. 2016;38(1):40-6.
2. Yamamoto T, Shimojima K, Sangu N,

Komoike Y, Ishii A, Abe S, Yamashita S, Imai K, Kubota T, Fukasawa T, Okanishi T, Enoki H, Tanabe T, Saito A, Furukawa T, Shimizu T, Milligan CJ, Petrou S, Heron SE, Dibbens LM, Hirose S, Okumura A. Single Nucleotide Variations in CLCN6 Identified in Patients with Benign Partial Epilepsies in Infancy and/or Febrile Seizures. PLoS ONE. 2015;10(3):e0118946.

3. Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). J Neurol Sci. 2015;358(1-2):62-5.

4. Shi XY, Yang XF, Tomonoh Y, Hu LY, Ju J, Hirose S, Zou LP. Development of a mouse model of infantile spasms induced by N-methyl-D-aspartate. Epilepsy Res. 2015;118:29-33.

5. Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M. Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline. Brain Dev. 2015;37:463-70.

6. Saitoh M, Ishii A, Ihara Y, Hoshino A, Terashima H, Kubota M, Kikuchi K, Yamanaka G, Amemiya K, Hirose S, Mizuguchi M. Missense mutations in sodium channel SCN1A and SCN2A predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures. Epilepsy Res. 2015;117:1-6.

7. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. Brain Dev. 2015;37(2):243-9.

8. Kano S, Yuan M, Cardarelli RA, Maegawa G, Higurashi N, Gaval-Cruz M,

Wilson AM, Tristan C, Kondo MA, Chen Y, Koga M, Obie C, Ishizuka K, Seshadri S, Srivastava R, Kato TA, Horiuchi Y, Sedlak TW, Lee Y, Rapoport JL, Hirose S, Okano H, Valle D, O'Donnell P, Sawa A, Kai M. Clinical utility of neuronal cells directly converted from fibroblasts of patients for neuropsychiatric disorders: studies of lysosomal storage diseases and channelopathy. *Curr Mol Med.* 2015;15(2):138-45.

9. Ishii A, Hirose S. Ring Chromosome 20 Syndrome and Epilepsy. *J Pediatr Epilepsy.* 2015;4:47-52.

10. Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A, Sugawara Y, Sakuma H, Tomonoh Y, Inoue T, Hoshina M, Satomi R, Ohfu M, Itomi K, Takano K, Kirino T, Hirose S. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure.* 2015;27:1-5.

11. Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Saitoh M, Mizuguchi M, Ihara Y, Ishii A, Hirose S. A case of recurrent encephalopathy with SCN2A missense mutation. *Brain Dev.* 2015;37(6):631-4.

2 . 学会発表

1. MChannelopathy in Early- life Seizures. Hirose S, The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Taipei, Taiwan, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

2. Genetic Analysis for Hemiplegic Migraine Identified A Novel ATP1A2 Splicing Mutation Causing Bilateral Hemispheric Involvement . Ishii A, The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5. 14-17, Taipei, Taiwan

3. Identification of a De Novo KCNT1 Mutation in a Girl with Infantile Spasms, Inoue T, Ishii A, Tsurusawa R, Nakamura N, Kanaumi T, Saito H, Kato M, Hirose S, Ogawa A. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17, Taipei, Taiwan

4. Retigabine, a Kv7.2 Channel Opener, Attenuated Drug-induced Seizures in

Knock-in Mice Harboring KCNQ2 Mutations. Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

5. A Case of Hashimoto Encephalopathy with Grave's Disease. Yamaguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Yoshimura K, Ideguchi H, Inoue T, Takahashi Y, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

6. Peripheral Neuropathy and Orthostatic Dysregulation Associated with Multiple Autoantibodies. Kawatani E, Fujita T, Onozawa K, Tomonoh Y, Ideguchi H, Inoue T, Shimono M, Koike H, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 Taipei, Taiwan

7. Neurological Complications of in-patients with Exanthem Subitum. Fujita T, Ideguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Ihara Y, Kanaumi T, Inoue T, Takahashi Y, Hirose S, Yasumoto S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

8. A KCNQ2 Mutation Enhances Firing and GABA Release of GABAergic Interneurons in the Neonatal Hippocampus. Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

9. Immediate Suppression of Seizure Clusters by Corticosteroids in PCDH19 Female Epilepsy. Higurashi N, Takahashi Y, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan

10. Genome Editing of SCN1A in iPS Cells to Study the Pathomechanisms of Dravet Syndrome. Tanaka Y, Sone T, Uchida T, Higurashi N, Ishikawa M, Okano H, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan,

11. The identification and characterization of novel HCN2

mutation found in febrile seizure patients. Nakamura Y, 25th Meeting of The International Society for Neurochemistry, 2015.8.23-27, Cairns, Australia

12. A Kcnq2 mutation facilitates firing and GABA release of GABAergic interneurons in the neonatal hippocampus, Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. AMERICAN EPILEPSY Society, 69th Annual meeting, 2015.12.4-8, Philadelphia, America

F. 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

