

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
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

研究分担者 柿田明美 新潟大学脳研究所教授

研究要旨

希少難治性てんかん患者のレジストリ構築に向けて、難治てんかん患者のてんかん原性焦点脳組織に対する病理組織学的診断を進めた。その診断対象組織は、全国各地のてんかんセンターで行われた外科手術によって摘出されたものである。従って、本事業が推進する希少難治性てんかんレジストリ登録症例が含まれており、個々の登録症例の病理組織学的情報を提供しうるものである。本事業開始以降、新規に病理診断した219例には、限局性皮質異形成40例など本事業が対象とする疾患群が多く含まれていた。病理診断は、希少難治性てんかん患者の病態を理解する上で重要である。本事業レジストリは、対象患者の診療や治療、あるいは医療行政や研究のために重要なものになると考えられた。

A. 目的

希少難治性てんかん患者の多くは乳幼児期あるいは小児期に発症し、重度の発達障害に至ることから、適切な診療体制の普及と新規治療法の開発およびその予防が重要な課題となっている。本総合的研究の目的は、全国規模の遺伝子診断と病理診断をリンクさせた症例レジストリシステムの構築を目指し、エビデンスを得て、診療・治療・ケアガイドラインの改定と策定を行うこと、行政に反映させること、および今後の研究推進を図ることにある。

本分担研究の目的は、本邦各地のてんかんセンターから送られてくる外科手術組織に対し、正確な病理組織診断を行うこと、ならびにその情報をレジストリに登録した臨床医に提供し、本研究事業を推進することにある。

B. 対象と方法

本研究事業開始以降、病理組織診断依頼を受けた219例を対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作製し、hematoxylin-eos

in染色、Klüver-Barrera染色、GFAP免疫染色、Neu-N免疫染色を全例に行い、また症例ごとに必要な追加染色を行った。

分子遺伝学的研究等に使用する目的から、それが可能な場合には、摘出された脳組織の一部を凍結保存した。またその一部を使って、FCD type IIの原因遺伝子を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究事業の内容を、新潟大学医学部倫理委員会に審査申請し、承認（番号2032：平成26年10月27日付）の答申を得ている。病理組織学的診断の内容を本研究事業のデータベースに登録すること、複数の研究者がデータ利用することも事業内容に含んでいる。

新潟大学利益相反マネジメント委員会に臨床研究（本研究事業）に係る利益相反自己申告書を提出し、利益相反回避の必要がない旨、答申を得ている（平成27年1月30日付）。

C. 結果

対象症例の多くが乳幼児期あるいは小児期

に発症例であった。病理組織学的に、本研究事業が対象とする疾患群：限局性皮質異形成 (FCD type II: 33例、FCD type I: 7例)、結節性硬化症8例、片側巨脳症1例、視床下部過誤腫21例、異形成性腫瘍(DNT: 1例、ganglioglioma: 14例などの神経グリア混合性腫瘍)28例、海馬硬化症50例、Sturge-Weber症候群1例などと診断した。その他、分類困難な皮質形成異常を示す症例や、炎症、瘢痕性脳症、血管奇形も認められた。

対象症例のうち、150例から凍結脳組織を保存した。

FCD type IIBの一部が、MTOR体細胞変異であることを見出した(業績欄: Ann Neurol)。

当該症例の組織診断情報を、データベースに登録するための手順や条件を検討した。

D. 考察

病理学的に診断が確定した症例数は順調に増え、本研究分担者が担当した症例は総数で1000例を超えた。その多くは、本研究事業が対象疾患としている多くの疾患群である。病因論的にも多彩な像を示していた。

本事業では、まず臨床情報から症例登録される。当該患者に手術が施行され組織診断が行われた場合、その情報を追加する形でデータベース登録を行うことになっている。その際、症例の取り違いや重複をきたすことなく正確に対象患者を特定する必要がある。本事業では、診療ID、イニシャル、性別、生年月日が登録され、重複症例候補は自動抽出されるシステムが構築されている。効率的な登録業務を行う方法を検討した。しかしながら、現実的に患者情報を保護しつつ、取り違いなく入力する方法論については、更に検討が必要であった。病理診断を依頼してくる臨床医の多くは、本事業のレジストリ登録を行っている。したがって、病理診断報告書の内容を、

登録医が追加入力するよう依頼した。

凍結脳組織を保存することにより、FCD type IIB患者脳病変がMTOR体細胞変異によることを明らかにした。この結果は、FCD患者を対象としたシロリムスの臨床研究・治験事業を展開するためのトランスレーショナル研究となった。正確な組織診断と分子遺伝学的研究資源が蓄積され、レジストリ登録されていることは、希少てんかん病態の病態解明に向けた今後の研究展開に有用であることが示された。

病理診断は、希少難治性てんかん患者の病態を理解する上で重要であり、その情報を含む本事業レジストリは、対象患者の診療や治療、あるいは医療行政や研究のために重要なものになると考えられた。

E. 結論

希少難治てんかんのレジストリ構築に向け、本研究事業開始後219例の新規手術症例を病理組織学的に診断した。それらは、限局性皮質異形成など、本研究事業が対象とする疾患群が多く認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kitaura H, Sonoda M, Teramoto S, Shirozu H, Shimizu H, Kimura M, Masuda H, Ito Y, Takahashi H, Kwak S, Kameyama S, Kakita A. Ca²⁺-permeable AMPA receptors associated with epileptogenesis of hypothalamic hamartoma. *Epilepsia*, in press.

2) Kitamura Y, Komori T, Shibuya M, Ohara K, Saito Y, Hayashi S, Sasaki A, Nakagawa E, Tomio R, Kakita A, Nakatsukasa M, Yoshida K, Sasaki H. Comprehensive genetic characterization of rosette-forming glioneuronal tumors: independent com

- ponent analysis by tissue microdissection. Brain Pathology, in press.
- 3) Miyake N, Fukai R, Ooba C, Chihara T, Miura M, Shimizu H, Kakita A, Imagawa E, Shiina M, Ogata K, Okuno-Yuguchi J, Fueki N, Ogiso Y, Suzumura H, Watabe Y, Imataka G, Leong HY, Fattal-Valevski A, Miyatake S, Kato M, Okamoto N, Sato Y, Kaneko N, Nishiyama A, Tamura T, Mizuguchi T, Nakashima M, Tanaka F, Saitsu H, Matsumoto N. Biallelic TBCD mutations cause early-onset progressing multiple system neurodegeneration. Am J Hum Genet 2016; 99: 950-961.
 - 4) Kimura T, Kitaura H, Masuda H, Kamayama S, Saito Y, Otsuki T, Nakazawa A, Morota N, Yamamoto T, Iida K, Takahashi H, Kakita A. Characteristic p57/Kip2 immunoreactivity of balloon cells in focal cortical dysplasia. Neuropathology 2015; 35 (5): 401-409.
 - 5) Nakashima M, Saitsu H, Tohyama J, Kato M, Shiina M, Takei N, Kitaura H, Shiroyu H, Masuda H, Watanabe K, Ohba C, Tsurusaki Y, Miyake N, Takebayashi H, Ogata K, Kameyama S, Kakita A, Matsumoto N. Somatic mutations in MTOR cause focal cortical dysplasia. Ann Neurol 2015; 78 (3): 375-386.
 - 6) Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Maruyama S, Honda R, Saito Y, Ito M, Kakita A, Sugai K, Otsuki T, Natsume J, Watanabe K. Two siblings with cortical dysplasias: focal cortical dysplasia and hemimegalencephaly: clinicoencephalographic features. Pediatr Int 2015; 57 (3): 472-475.
 - 7) Komoto D, Iida K, Higashi T, Kaichi Y, Takauchi K, Arihiro K, Kakita A, Hirokawa Y, Awai K. Diagnostic Performance of Positron Emission Tomography for Pre-surgical Evaluation of Patients with Non-lesional Intractable Partial Epilepsy: Comparison between 18F-FDG, 11C-Flumazenil and 11C-Flumazenil Binding Potential Imaging by Using Statistical Imaging Analysis. Hiroshima J Med Sci 2015; 64: 51-57.
 - 8) 柿田明美. 稀少てんかんの病理. 稀少てんかんの診療指針. 診断と治療社. 印刷中.
 - 9) 北浦弘樹, 武井延之, 中島光子, 松本直通, 柿田明美. mTORとてんかん. Epilepsy 2016; 10: 97-102.
 - 10) 柿田明美. 病理所見を理解する基礎. 特別企画シリーズ: てんかんをわかりやすく理解するための神経科学. てんかん研究 2016; 36 (1): 688-691.
 - 11) 北浦弘樹, 柿田明美. フラビン蛍光イメージングによるてんかん原性の解析. Epilepsy 2015; 9 (2): 82-84.
 - 12) 柿田明美. てんかんの病理学. 海馬硬化症. 臨床てんかん学 2015: 23-28.
 - 13) 柿田明美. てんかん外科病理: 最新の国際分類について. 最新医学 2015; 70 (6): 1031-1037.
 - 14) 清水宏, 柿田明美. 胚芽異型成性神経上皮腫瘍. Dysembryoplastic neuroepithelial tumor. 病理診断クイックリファレンス. 病理と臨床. 2015, p. 332.
 - 15) 柿田明美. ヒトてんかん病巣におけるグリア細胞の病理組織学的所見. 臨床神経 2014; 54(12): 1155-1157.
 - 16) 北浦弘樹, 柿田明美. 結節性硬化症. Epilepsy 2014; 8: 74-76.
 - 17) 柿田明美. 小児てんかん原性病巣の外科病理. 脳発達 2014; 46(6): 413-417.

2. 学会発表

- 1) 中山遥子, 柿田明美 他. 内側側頭葉てんかん患者における海馬硬化症と扁桃体の細胞脱落についての検討. 第57回日本神経病理学会. 2016年6月.
- 2) 古川絢子, 柿田明美 他. 内側側頭葉てんかん患者の海馬硬化における酸化損傷タンパク質の同定とタンパク質発現変動解析. 第57回日本神経病理学会. 2016年6月.
- 3) 北浦弘樹, 柿田明美 他. 海綿状血管腫におけるヘモジデリン沈着とてんかん原性の検討. 第57回日本神経病理学会. 2016年6月.
- 4) 清水宏, 柿田明美 他. Static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA) の一剖検例. 第57回日本神経病理学会. 2016年6月.
- 5) Komatsubara T, Kakita A, et al. Long-term outcome after surgery in pediatric patients with focal cortical dysplasia: a single center study. 12th European Congress on Epileptology, Prague, 2016年9月.
- 6) 中山遥子, 柿田明美 他. 内側側頭葉てんかん患者における海馬硬化症と扁桃体の細胞脱落についての検討. 第75回日本脳神経外科学会. 2016年9月.
- 7) 白水洋史, 柿田明美 他. FCD type IIaとtype IIbの臨床所見の差異. 第50回日本てんかん学会. 2016年10月.
- 8) 柿田明美. ヒトてんかん原性脳病巣の病態を知るための病理学的アプローチ. 第50回日本てんかん学会. 2016年10月.
- 9) 北浦弘樹, 柿田明美 他. 海馬硬化症におけるてんかん原性の病態生理学的解析: ヒト脳スライス標本を用いたex vivo imaging study. 第40回日本てんかん外科学会. 2017年1月.
- 10) 増田浩, 柿田明美 他. 腫瘍性病変による難治てんかんに対する手術戦略. 第40回日本てんかん外科学会. 2017年1月.
- 11) 清家尚彦, 柿田明美 他. 幼児のてんかん原性側頭葉嚢胞性病変: 血管周囲性に未分化細胞の配列を認めた3例の臨床病理像. 第56回日本神経病理学会. 2015年6月.
- 12) 北浦弘樹, 柿田明美 他. Epileptogenesis in mesial temporal lobe epilepsy: physiological and histological features. 第56回日本神経病理学会. 2015年6月.
- 13) 木村正志, 柿田明美 他. Characteristic p57/Kip2 expression in balloon cells in focal cortical dysplasia. 第56回日本神経病理学会. 2016年6月.
- 14) Seike N, Kakita A, et al. Clinicopathologic features of three juvenile patients with epilepsy: dysplastic temporal lobe lesions with an angiocentric arrangement of immature cells. The 17th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. International Symposium on Benign Infantile Seizures. 2015年9月.
- 15) Kitaura H, Shirozu H, Shimizu H, Sonoda M, Murakami H, Masuda H, Takahashi H, Kameyama S, Kakita A. Different mechanism of epileptogenesis in subiculum and dentate gyrus in mesial temporal lobe epilepsy: an in vitro optical imaging study of resected human hippocampus. Society for Neuroscience, 2014年11月.
- 16) 柿田明美. てんかん焦点の病理. 第48回日本てんかん学会. 2014年10月.
- 17) 園田真樹, 北浦弘樹, 伊藤陽祐, 白水洋史, 増田浩, 柿田明美, 亀山茂樹. 視床下部過誤腫の生検組織スライス標本を用いた生理学的・薬理学的研究. 第48回日本てんかん学会. 2014年10月.

18) 伊藤陽祐、増田浩、白水洋史、村上博淳、園田真樹、亀山茂樹、北浦弘樹、高橋均、柿田明美．視床下部過誤腫の生検組織スライス標本を用いた生理学的・薬理学的研究．第48回日本てんかん学会．2014年10月．

19) 跡部真人，須貝研司，石山昭彦，齋藤貴志，齋藤義朗，小牧宏文，中川栄二，佐々木征行，高橋章夫，大槻泰介，伊藤雅之，柿田明美．限局性皮質形成異常によるてんかん患者の発作頻度の特徴について．第56回日本小児神経学会．2014年5月．

20) 柿田明美．ヒトてんかん病巣におけるグリア細胞の病理組織学的所見．第55回日本神経学会．2014年5月．

21) 北浦弘樹、園田真樹、清水宏、白水洋史、伊藤陽祐、増田浩、高橋均、亀山茂樹、柿田明美．視床下部過誤腫におけるてんかん原性のin vitro 脳スライス標本を用いた検討．第55回日本神経病理学会．2014年6月．

22) 古川絢子、柿田明美、千葉陽一、樋口

善博、高橋均、亀山茂樹、島田厚良．内側側頭葉てんかん患者の海馬硬化組織特異的な酸化損傷タンパクの同定．第55回日本神経病理学会．2014年6月．

23) 塩谷彩子、大槻泰介、佐々木征行、佐藤典子、柿田明美、齊藤祐子．内側側頭葉てんかんにおける臨床病理学的研究．第55回日本神経病理学会．2014年6月．

24) 清水宏、花岡仁一、金村米博、山崎麻美、田澤立之、高橋均、柿田明美．L1CAM遺伝子変異を伴う伴性劣性遺伝性水頭症の胎児例．第55回日本神経病理学会．2014年6月．

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

3. その他

なし