

I. 総括研究報告

小児の急性脳症・けいれん重積状態の診療指針の確立に関する研究

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
研究協力者 星野 愛 東京大学大学院医学系研究科小児科学

研究要旨

小児期には、感染症による発熱を契機に重度で遷延する意識障害を生じたり、長時間持続するけいれん発作を生じる病態が多い。前者は急性脳症、後者はけいれん重積状態と称される。急性脳症はけいれん重積状態として発症することがしばしばあり、両者は密接に関連した病態である。急性脳症は小児の死亡や神経学的後遺症の主要な原因であり、神経症状は生涯に亘って持続する例も多い。急性脳症は複数の症候群の集合体であり、そのうちけいれん重積型（二相性）急性脳症(AESD)と難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)は指定難病および小児慢性特定疾病に指定されている。本研究では小児の急性脳症およびけいれん重積状態の診療の向上及び標準化を目的に、日本小児神経学会と連携して両者のガイドラインを作成するとともに、急性脳症の各症候群の病因、診断、治療に関するエビデンスを蓄積した。本研究の期間中、急性脳症のガイドラインは平成28年度、けいれん重積のガイドラインは平成29年度に完成し、刊行された。各症候群の病因、診断、治療に関する研究も進み、AESD類縁の新型軽症脳症の認識、早期診断と治療の検討、AERRPSにおける脳内サイトカイン変動の解明、可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症(MERS)や急性壊死性脳症(ANE)の遺伝的背景の解明、ヒトパレコウイルス3型脳症の実態調査、遺伝子変異によるけいれん重積とてんかん性脳症の解析などの成果を挙げ、ガイドライン改定に向けた基盤を構築した。

研究分担者

水口 雅	東京大学大学院医学系研究科 発達医科学教授
前垣義弘	鳥取大学医学部脳神経小児科 教授
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
山内秀雄	埼玉医科大学医学部小児科教 授
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
山形崇倫	自治医科大学医学部 小児科 教授
佐久間浩	東京都医学総合研究所脳発 達・再生研究分野プロジェク

リーダー

奥村彰久	愛知医科大学医学部 小児科 教授
齋藤伸治	名古屋市立大学医学部小児科 教授
廣瀬伸一	福岡大学医学部小児科教授
芳賀信彦	東京大学医学部附属病院リハ ビリテーション科教授
久保田雅也	国立成育医療研究センター神 経内科医長

A. 研究目的

1. **急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究**

小児の重症けいれん発作はしばしば発達期の脳を傷害し、知的障害・発達障害・てんかん等の後遺症を生じて、生涯にわたる生活の不自由をもたらす。重症けいれんの代表的な臨床経過として、発作が長時間続くけいれん重積状態(てんかん重積状態)と、発作後に意識障害(昏睡)に陥る急性脳症とがある。両者は小児救急でしばしば遭遇する病態であり、日本の実態に即したガイドライン策定が求められていた。本研究は日本小児神経学会による小児急性脳症診療ガイドライン、小児のけいれん重積状態治療ガイドラインの策定を支援し、必要なエビデンスを供給することを目的として実施した。

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

AESDは、けいれん重積で発症することが多く、発症初期には頭部MRIを含めて診断に特異的な検査所見がないため、熱性けいれん重積(FS)との鑑別が困難である。本研究では、発症初期のAESDとFSの脳波をコンピュータにて定量的に解析し、客観的で信頼性の高い解析法を開発することを目的とする。

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

けいれん重積型(二相性)脳症(AESD)は興奮毒性が関与する脳症と考えられる。興奮毒性の関与する軽症脳炎を興奮毒性型急性脳症(mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity [MEEX])という新たな疾患概念として確立する。

3. AESDの早期診断と治療の検討

AESDの早期診断と治療介入法の検討として、以下の項目の研究を実施した。

- (1) AESDに対する早期ステロイドパルス療法の発症予防効果の検討
- (2) AESDの早期診断マーカー同定と病態解明のための髄液プロテオーム解析

b. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)に関する研究

難治頻回部分発作重積型脳炎(AERRPS)ならびに抗NMDA受容体脳炎の臨床的特徴について調査し、髄液中炎症性サイトカインの測定により免疫学的病態の解析を行う。

c. その他の急性脳症に関する研究

1. 可逆性の脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症(MERS)の遺伝子解析

MERSは、軽度意識障害 and/or 異常言動を主徴とし、頭部MRI拡散強調画像において脳梁膨大部に一過性の拡散能低下を認めること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。神経症状やMRI異常は数日から1週間以内に消失し、後障害を認めることは原則としてない。

現在までMERSの病態は十分に明らかになっていない。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脳症を認める家族例に遭遇した。この家族例を手がかりとしてMERSの遺伝学的解析を行った

2. MERS病変で発症した小脳炎の検討

3. 急性壊死性脳症(ANE)発症の遺伝的背景

ANEが日本人など東アジア民族に多いことから、発症の背景に遺伝的要因があると疑われる。その解明を目指す。

4. ヒトパレコウイルス3型脳症の実態調査

ヒトパレコウイルス3型脳症の実態解明のために日本におけるパレコウイルス3型(HPeV3)脳炎・脳症の全国調査をおこなった

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

てんかん重積を示す脳炎脳症の基礎疾患として遺伝性てんかん性脳症は重要である。近年の全エキソーム解析に代表される網羅的遺伝子解析技術の発展により、遺伝子異常が原因となるてんかん性脳症の存在が明らかとなっている。てんかん性脳症の原因遺伝子は多数報告されている。私たちはその中で、Angelman症候群(AS)とmTOR経路に注目した。ASはてんかん、知的障害、失調様運動障害を特徴とする疾患であり、mTOR経路は神経細胞の増殖に必須の経路で、結節性硬化症の病態として知られている。mTOR経路の機能亢進を示す生殖細胞性変異は遺伝性巨脳症の原因として知られている。また、体細胞突然変異は皮質形成異常の主要な原因である。mTOR経路にはシロリムスやエベロリムスなどの阻害剤が存在し、新しい治療薬として注目されている。ASの体系的診断、および、mTOR経路に関連する次世代シーケンシングと生化学的解析を行うことで、てんかんに関連する遺伝性疾患の診断方法の開発を目的とする。

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

小児の急性脳症・けいれん重積状態は患児に重大な精神運動発達障害を来すことがあり、その病態を明らかにして、予防、治療などの診療

に資することは厚生労働行政にとって重要な課題の一つである。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示唆されている。このため、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網羅的な遺伝子解析を実施する。さらにその情報を利用して、Dravet 症候群を引き起こす変異が同定され、また急性脳症との関係が示唆される *SCN1A* 遺伝子変異での遺伝子型と表現型の関係を明らかにする。

B. 研究方法

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

a. 急性脳症に関する研究

小児急性脳症診療ガイドライン策定ワーキンググループは2014年3月に発足し、2年間あまりの策定作業を行った。当研究班からは水口（研究代表者）が委員長として、高梨、山内、山形、佐久間、奥村（研究分担者）が委員として、前垣（研究分担者）がガイドライン統括委員長として策定を進めた。

b. けいれん重積状態に関する研究

小児のけいれん重積治療ガイドライン策定委員会ワーキンググループは2014年3月に発足し、3年間あまりの策定作業を行った。当研究班からは前垣（研究分担者）が委員さらにガイドライン統括委員長として策定に関わった。

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

前垣（研究分担者）が担当した。鳥取大学を研究代表施設とする倫理委員会の承認を得たうえで、連携施設の倫理委員会の承認を得た。各施設の症例の臨床情報とデジタル脳波（CD-ROM）を匿名化した状態で集積し、鳥取大学において解析を行った。

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

高梨（研究分担者）が担当した。2015年1月から2017年3月に八千代医療センター小児科に入院した急性脳症のうち分類不能症例15症例を後方視的に検討した。

3. AESD の早期診断と治療の検討

山形（研究分担者）が担当した。
(1)けいれん重積後に意識障害が8時間以上遷延する症例を中心に、早期ステロイドパルス療

法を行い、けいれん重積型脳症の予防効果を検証した。

(2)対象は、AESD 3例と一相性脳症 3例（年齢：11か月～2歳0か月）で、初回痙攣後10時間以内の髄液で2-Dimensional Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (2D-DIGE)で蛋白を分離し、両群で発現量に差がある蛋白をmass spectrum (MS/MS analysis)で同定し、それらの蛋白について、他のAESD患者3名を追加し、髄液での発現をWestern blot法で確認した。

b. AERRPS に関する研究

佐久間（研究分担者）が担当した。

1年目はAERRPS、2年目は抗NMDA受容体脳炎を主な対象とし、臨床的特徴を集計したほか、一部サイトカイン解析も実施した。3年目は様々な炎症性神経疾患についてサイトカインを網羅的に解析し、研究のまとめを行った。

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERS の遺伝子解析

奥村（研究分担者）が担当した。

MERS 家族例の遺伝子解析では、まず家系A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 G genomes・HGVD・ExACの全てで頻度が1%未満。さらに、家系Aと血縁がない既報告のMERS家族例（家系B）において家系Aで同定した遺伝子変異の有無につき、サンガー法で解析を行った。ルシフェラーゼアッセイは、*MYRF* 遺伝子のN末端フラグメントを組み込んだpRBG4-MYRF-Nベクターと、*MYRF* 蛋白によって転写が促進されるラット *Rffl* 遺伝子のエンハンサー部分をルシフェラーゼの上流に組み込んだpGL3P-RfflベクターをHEK293細胞に導入し、*MYRF* 遺伝子のc.1208A>G変異による転写活性変化を解析した。MERS 孤発例の *MYRF* 遺伝子解析は、サンガー法を用いて33例に施行した。

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

山形（研究分担者）が担当した。平成29年度に解析を実施した。

3. ANE 発症の遺伝的背景

齋藤（真）（研究分担者）及び水口（研究代表者）が担当した。日本人ANE患者31例について遺伝子変異(*RANBP2*)、多型(*COX10*、*IL10*など)とHLA型を検討した。

4. ヒトパレコウイルス3型脳症の実態調査

山内(研究分担者)が担当した。ヒトパレコウイルス 3 型による感染症、脳炎・脳症についての全国調査を施行しその結果を集積し日本の HPeV3 脳症の特徴を解析した。

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

齋藤(伸)(研究分担者)が担当した。AS 解析については、臨床的に AS が疑われた 86 例を当初の対象として体系的な解析を行った。母性欠失例は今回の解析からは除外した。遺伝学的に AS が否定された例を対象として 6 個の遺伝子を含む遺伝子パネル解析を実施した。巨脳症では、+2SD 以上の頭囲拡大があり、発達の遅れもしくはてんかんがある児 28 名を対象とした。27 名には mTOR 経路に関連する 15 個の遺伝子を搭載した遺伝子パネルを用いて、Ion PGM にてエクソン領域をシーケンシングした。3 例に全エキソーム解析を実施し、内 1 例は最初から全エキソーム解析を行った。27 例は末梢血白血球からゲノム DNA を抽出し、1 例では手術検体として得られた脳組織からゲノム DNA を抽出した。生化学的解析としては患者由来リンパ芽球を樹立し、mTOR 経路の下流に存在するリン酸化 S6 蛋白をウエスタンブロットにて測定し、対照である GAPDH と比較した。本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科および名古屋市立大学病院倫理審査委員会で承認され、患者もしくは代諾者から書面による同意を得た。

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

廣瀬(研究分担者)が担当した。民族差による遺伝的多様性を少なくするため、多数の日本人の小児の急性脳症の症例とけいれん重積を来しうるてんかんの症例から、できうる限り両親を含むトリオ検体として DNA を収集した。研究開始当初はサンガーシークエンサーを用いて、主にイオンチャネルをコードする遺伝子を対象に遺伝子解析を行った。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

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

a. 急性脳症に関する研究

小児急性脳症診療ガイドラインが平成 28 年度に完成し、2016 年 7 月に出版された(ガイドライン策定委員長:水口雅・研究代表者)。Minds による評価を受けた上で Minds の掲載対象ガイドラインとして選ばれた。本ガイドラインの章立ては以下のとおりであった。

Introduction, CQ・推奨一覧, 略語一覧

I 急性脳症の概念と疫学(1 急性脳症の定義, 2

急性脳症の疫学, 3 急性脳症の予後)

II 急性脳症の診断と検査(1 急性脳症の診断に必要な診察と検査、タイミング, 2 急性脳症の鑑別診断, 3 急性脳症の画像診断, 4 急性脳症の脳波検査)

III 全身管理と脳低温・平温療法(1 けいれん重積・遷延状態への対応, 2 急性脳症の全身管理, 3 脳低温・平温療法)

IV 代謝異常による急性脳症(1 先天代謝異常症による急性脳症の特徴, 2 先天代謝異常症の診断と検査, 3 ミトコンドリア救済の治療)

V 全身炎症反応による急性脳症(1 炎症のマーカー, 2 副腎皮質ステロイドの意義、適応、方法, 3 ガンマグロブリンと血液浄化の意義、適応、方法, 4 急性壊死性脳症(ANE)の診断と治療)

VI けいれん重積をともなう急性脳症(1 けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)の診断と治療, 2 難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)の診断と治療)

VII その他の急性脳症(1 Dravet 症候群に合併する脳症の診断と治療, 2 副腎不全に合併する脳症の診断と治療, 3 可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症(MERS)の診断と治療, 4 腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症に併発する脳症の診断と治療)

b. けいれん重積状態に関する研究

小児のけいれん重積状態治療ガイドラインについては、平成 27 年度にクリニカルクエスチョンの設定とエビデンス(論文)の収集と評価、平成 28 年度に推奨文の作成を行った(ガイドライン統括委員会担当理事:前垣義弘・研究分担者)。関連学会や患者団体へ外部評価、ならびに小児神経学会の有識者へ査読を依頼し、ガイドラインの最終決定を行った。平成 29 年度に完成し、同年 6 月に出版された。本ガイドラインの章立ては以下のとおりであった。

I 総論(1 ガイドラインの対象, 2 定義と分類, 3 疫学, 4 海外の治療ガイドライン)

II 各論

CQ1: けいれん発作に対して重積化を防ぐために早期に治療介入することは必要ですか?

CQ2: 医療機関受診時にけいれん発作が続いている場合、最初に試みるべき治療は何ですか?

CQ3: けいれん発作が持続しているが、静脈ルートがとれなかった場合、どのような対処ができますか?

CQ4: けいれん発作を起こした小児で、入院(入院可能な病院への搬送)の適応はどう判断しますか?

- CQ5: ベンゾジアゼピン系薬剤の静注で発作が消失しない場合、次の選択肢はありますか？
 CQ6: ベンゾジアゼピン系薬剤で発作が消失した場合、発作再発予防のための薬剤追加は有効ですか？
 CQ7: けいれん重積状態において、ICU入院を考慮する目安は何ですか？
 CQ8: 難治性けいれん重積状態に対して昏睡療法は有用ですか？
 CQ9: 超難治性けいれん重積状態に対する介入はありますか？
 CQ10: 難治性けいれん重積状態に脳低温療法を行うと行わない場合に比べて神経学的予後を改善しますか？
 CQ11: けいれん重積状態で、どのような検査が必要ですか？
 CQ12: けいれん重積状態で、持続脳波モニタリングは有用ですか？
 CQ13: けいれん重積状態で緊急画像検査（CT、MRI）は役立ちますか？
 CQ14: けいれん重積状態の予後不良因子には何がありますか？

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

全国7施設からAESD 8例とFS 14例のデジタル保存脳波を解析した(年齢1歳1か月~5歳2か月)。症例ごとに、アーチファクトを認めない10秒(1エポック)の脳波を6エポック合計して解析した。AESD群とFS群で以下の解析結果を認めた。大脳半球間の解析:側頭部間で波のコヒーレンス値がAESD群で優位に低値であった。大脳半球内:右前頭極部 右前頭部間および右前頭極部 右後頭部間、右前頭極部 右側頭部間で波のコヒーレンス値が有意に低値であった。AESDにおいて、後遺症群は非後遺症群に比べて波は左半球内の複数の脳部位間でのコヒーレンス値が有意に低値であった。

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

15例中7例で、頭部MRIに異常なく、MRSで一過性にGluないしGlnが高値であった。いずれも後遺症を残さず軽症であった。

3. AESDの早期診断と治療の検討

(1) 2008年1月~2016年7月までの8年6か月に、早期ステロイドパルス療法を計51例に実施した。パルス療法実施例の最終診断は、軽度急性脳症47例、AESD4例であった。全期間を通し、パルス実施したがAESDを発症した例は4例で、パルス非実施でAESDになったのは11例で

あった。AESD症例は2011年6月以前が125例中9例(7.2%)に対し、2011年6月以降は257例中6例(パルス未実施も含む)(2.3%)と統計学的有意差を認めた(p=0.024)。早期ステロイドパルス療法(24時間以内)施行後、AESDを発症した4例中2例に重度の後遺症を認めた。発症12時間以内の超早期ステロイドパルス療法施行例は、AESD発症は1例のみで後遺障害はなかった。

(2) 2D-DIGE解析結果、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か所で、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か所は免疫グロブリン系で、もう一つの蛋白も、免疫系に関連する抗原で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たが、他の患者の髄液でWestern blotで解析結果、有意差は検出されなかった。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る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。これらの蛋白に関しても、他の患者の髄液で解析した結果、両群間で発現の有意差は検出されなかった。

b. AERRPS に関する研究

AERRPSならびに抗NMDA受容体脳炎の臨床的特徴は既報告と概ね一致したが、AERRPSでは過去の報告と比較して予後の改善傾向が認められるなどの違いもあった。髄液中炎症性サイトカインはAERRPSでは脳炎と並んで異常高値を示すが、抗NMDA受容体脳炎では比較的变化が小さく、病態の違いを鋭敏に反映するサイトカインとしてIL-6, IL-8, CXCL10などが有用であることが明らかとなった。

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERSの遺伝子解析

家族性MERSの2家系に対し全エクソーム解析を施行し、MYRF遺伝子に有症状者が共有するc.1208A>G変異を確認した。c.1208A>G変異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ーション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ではこのバリエーションはdisease causingと予測された。ルシフェラーゼアッセイによって、c.1208A>G変異を導入することにより作成した変異MYRFは、ラットRf1f1遺伝子のエンハンサー部分を介した転写活性がMYRF野生型に比べて約40%低下した。33例のMERS孤発例においては、MYRF遺伝子の変異

を認めなかった。

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

自験例と既報告を合わせ、MERS+小脳炎は口タウイルス胃腸炎に合併した報告が最も多かった(10/15 例)。11/15 例と多くの例で後遺症を残していた。ステロイドパルス療法の効果は明らかでないが、後遺症なし 4 例中 2 例は早期にステロイドパルス療法を実施していた。

3. ANE 発症の遺伝的背景

RANBP2 変異に起因する症例はなかった。COX10 rs2230351 のアリル T、HLA 型の A*31:01、DRB1*09:01、DQB1*03:03、さらに IL10 プロモーター領域の SNP を同定した。

4. ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態調査

MRI 異常所見を認めた群では神経学的後遺症を認め、けいれんと脳波異常頻度の高いことが特徴的であった。また MRI 陽性群、陰性群に関わらず肝逸脱酵素上昇、血液凝固能の異常、血清フェリチンの上昇、尿中 2 ミクログロブリン上昇が認められた。患者髄液の細胞増多を認めなかったことなどから、HPEV 3 による神経症状は高サイトカイン血症に関連する急性脳症であることが示唆された。

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

欠失例を除いた AS 疑い例の 29% に AS としての診断が確定できた。AS が疑われたが遺伝学的に否定された 76 例に次世代パネル解析を行い、6 名(7.9%)に病因と考えられる変異を同定した。MECP2 が 3 名、TCF4 が 2 名、SLC9A6 が 1 名であった。巨脳症においては、病因変異は PTEN 6 例、AKT3 3 例、PIK3R2 3 例、PIK3CA 1 例、SHOC2 1 例の計 14 例(50%)に同定した。PIK3CA の 1 例は片側巨脳症の児で、血液では変異は同定されず、罹患脳組織でのみ変異が同定され、モザイクであった。病因変異が同定された児で生化学的解析が可能であった児はすべてリン酸化 S6 蛋白の発現が増加しており、mTOR 経路の活性化亢進が確認された。

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

全国から収集された症例より 600 例で様々な遺伝子異常が見いだされた。最も多くの変異が見いだされたのは中枢神経の電位依存性 Na⁺チャンネルの 1 サブユニットをコードする SCN1A であった。この他、同 2 サブユニットをコードする SCN2A 遺伝子、K チャンネルをコードする KCNQ2、プロトカドヘリンファミリー分子をコードする PCDH19 等様々な遺伝子に遺伝子変異が同定された。また、急性脳症の症例に SCN1A と SCN2A 遺伝子多型が関係していることが明らかとなった。

さらに、SCN1A 遺伝子変異を有する多数の日本人 Dravet 症候群の患者で遺伝型と臨床型の

調査から、その予後や抗てんかん薬に対する反応性が遺伝型で予想できることが明らかとなった。

D. 考察

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

本研究の期間内に小児の急性脳症とけいれん重積ガイドラインがともに発刊されたこと、本研究の関与により両者の内容に整合性が取れたことの意義は大きい。

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波による AESD と熱性けいれん重積の鑑別法の開発

視覚的には類似している AESD と FS の脳波にはコヒーレンスに違いがあり、診断法に利用できる可能性が示唆された。

本研究で得られた研究成果は、AESD 群と FS 群の比較であり、今後は個人の診断レベルまで精度を上げるように発展させる予定である。

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

急性脳症の 40% は分類不能とされている。MEEX を新たな脳症症候群として認識することで、急性脳症の理解、治療法の確立に益することが期待される。

AESD の診断基準に当てはまらない、より軽症の興奮毒性型急性脳症 (mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity [MEEX]) の存在を提唱した。

3. AESD の早期診断と治療の検討

(1) 平成 28 年度に、これまでのパルス実施例の解析を行い、早期のステロイドパルスはけいれん重積型脳症を予防する可能性があるという結果であった。さらに症例を蓄積している。

(2) 平成 27 年度にプロテオーム解析を行い、平成 28-29 年度で同定された蛋白を他の患者の髄液で解析したが、有意な結果は得られなかった。検体収集を継続する。

b. AERRPS に関する研究

本研究で明らかとなった AERRPS ならびに抗 NMDA 受容体脳炎の臨床的特徴を元に、今後の診断基準の策定ならびに診療ガイドラインの策定/改訂に生かしたい。また炎症性サイトカインをバイオマーカーとして臨床で実用化することを目指す。

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERS の遺伝子解析

家族性 MERS の 2 家系で *MYRF* 遺伝子のミスセンス変異 c.1208A>G 変異を見出し、病原となる変異であることを確認した。

今後は *MYRF* 遺伝子の変異による機能の変化を様々な方法で研究する予定である。温度などの環境やサイトカインなどの液性因子による *MYRF* 蛋白の機能への影響を、試験管内や動物モデルの作成によって検討する準備を開始している。また、MERS や発熱に伴う異常言動の孤発例に対し全エクソーム解析を行い、*MYRF* 以外の遺伝子の関与を検討中である。これらの研究成果は、発熱に伴う異常言動や MERS の原因を明らかにし、その病態や治療法の解明に有用である可能性がある。また、薬物と発熱に伴う異常言動との関係が明らかになり、その使用の適否を科学的な根拠によって示すことが可能になることが期待される。

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

早期治療が有効である可能性も考えられ、検証が必要である。

3. ANE 発症の遺伝的背景

ANE のリスク遺伝子型として日本人で頻度の高い多型が見つかり、日本で疾患の頻度が高い理由のひとつと考えられた。*HLA* 型、*IL10*、*COX10* に関する結果から、自然免疫系のバランスの乱れに加え、ミトコンドリア代謝の異常も関与していることが示唆された。

4. ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態調査

限られた施設からの後方視的研究であり、今後は前方視的研究によってより臨床像が明確に解明できる可能性があり、また臨床的に追跡調査ができれば、最終的な神経学的予後や放射線学的な変化についても判明することができるかもしれない。

本邦での HPeV3 脳症の臨床像の一部が解明されたと考えられた。

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

AS および mTOR 経路が関連する巨脳症の次世代シーケンシングを用いた遺伝学的解析方法を確立した。網羅的遺伝子解析を行うことで、表現型と遺伝型が必ずしも一致しない実態が明らかになった。遺伝性疾患の診断には網羅的遺伝学的診断が必要であり、さらに、生化学的解析などを加えることで診断率が上昇する。

てんかん性脳症のなかで重要な役割を果たしている mTOR 経路の遺伝学的診断法を確立した。生化学的解析と組み合わせることで病態の評価に重要であり、けいれん重積における mTOR 阻害剤の適応を考えるための仕組みを構築できた。

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

遺伝子型、表現型との関係は今後、患者の予後予想、抗てんかん薬の選択などに役立てられ

ると思われる。現在、得られた遺伝子変異情報をもとに、データベースを構築しており、公開して情報を臨床に還元予定である。

E. 結論

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

小児急性脳症診療ガイドラインを平成 28 年度に、小児のけいれん重積状態治療ガイドラインを同 29 年度に完成することができた。

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

小児急性脳症診療ガイドラインの策定、改定の基盤を形成するため、診断（遺伝子、脳波、バイオマーカー）と治療（ステロイド、分子標的薬）の研究が進められた。

F. 研究発表

1. 書籍

- 1) 小児急性脳症診療ガイドライン策定ワーキンググループ（編）小児急性脳症診療ガイドライン 2016. 診断と治療社，東京，2016.
- 2) 小児けいれん重積治療ガイドライン策定ワーキンググループ（編）小児けいれん重積治療ガイドライン 2017. 診断と治療社，東京，2017.
- 3) Yamanouchi H, Moshé LS, Okumura A (eds.) Acute Encephalopathy and Encephalitis in Infancy and Its Related Disorders. 1st Ed. Elsevier, St. Louis, 2017.

2. 論文

- 1) Yamamoto H, Okumura A, Natsume J, Kojima S, Mizuguchi M. A severity score for acute necrotizing encephalopathy. *Brain and Development* 2015; 37(3): 322-327.
- 2) 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 and Development* 2015; 37(3): 463-470.
- 3) Takanashi JI, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenial lesion (MERS) after mumps vaccination. *Journal of the Neurological Sciences* 2015; 349(1-2): 226-228.

- 4) Nakano Y, Monden Y, Mizuguchi M, Nagashima M, Koike Y, Gunji Y, Takahashi N, Sugie H, Momoi, M.Y. Acute encephalopathy with callosal, subcortical and thalamic lesions. *Neurology Asia* 2015; 20(1): 85- 89.
- 5) 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 and Development* 2015; 37(6): 631-634.
- 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 Research* 2015; 117: 1-6.
- 7) Takanashi JI, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ. Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Neuroradiology* 2015; 57(11): 1163-1168.
- 8) Tada H, Takanashi JI, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano SI, Hirose SI, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). *Journal of Neurological Sciences* 2015; 358(1-2): 62-65.
- 9) 水口雅. 病態と輸液・栄養管理—脳炎・脳症・髄膜炎. *小児科診療* 2015; 78(6): 771-774.
- 10) Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano SI, Hirano K, Kikuchi K, Kubota M, Lee S, Maegaki Y, Sanefuji M, Shimozato S, Suzuki M, Suzuki Y, Takahashi M, Watanabe K, Mizuguchi M, Yamanouchi H. Manifestations and characteristics of congenital adrenal hyperplasia-associated encephalopathy. *Brain and Development* 38: 638-647, 2016.
- 11) Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi J, Takahashi Y, Tamai H, Natsume J, Hamano S, Hirabayashi S, Maegaki Y, Mizuguchi M, Minagawa K, Yoshikawa H, Kira J, Kusunoki S, Hara T. A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan. *Neurology* 87: 2006-2015, 2016.
- 12) Saitoh M, Kobayashi K, Ohmori I, Tanaka Y, Tanaka K, Inoue T, Horino A, Ohmura K, Kumakura A, Takei Y, Hirabayashi S, Kajimoto M, Uchida T, Yamazaki S, Shiihara T, Kumagai T, Kasai M, Terashima H, Kubota M, Mizuguchi M. Cytokine-related and sodium channel polymorphism as candidate predisposing factors for childhood encephalopathy FIRES/AERRPS. *Journal of Neurological Sciences* 368: 272-276, 2016.
- 13) Hoshino A, Saitoh M, Miyagawa T, Kubota M, Takanashi JI, Miyamoto A, Tokunaga K, Oka A, Mizuguchi M. Specific HLA genotypes confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. *Genes and Immunity* 17: 367-369, 2016.
- 14) Nishimura N, Higuchi Y, Kimura N, Nozaki F, Kumada T, Hoshino A, Saitoh M, Mizuguchi M. Familial acute necrotizing encephalopathy without RANBP2 mutation: Poor outcome. *Pediatrics International* 58: 1215-1218, 2016.
- 15) Shimoda K, Mimaki M, Fujino S, Takeuchi M, Hino R, Uozaki H, Hayashi M, Oka A, Mizuguchi M. Brain edema with clasmotodendrosis complicating ataxia telangiectasia. *Brain and Development* 2017; 39(7): 629-632.
- 16) Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A, Okuno T, Nakahara E, Imamura T, Saitoh M, Mizuguchi M, Shimizu T, Ohno K, Okumura A. *MYRF* is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization. *Annals of Neurology* 2018; 83(1): 98-106.
- 17) Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Classification and epidemiology of acute encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A(Eds) *Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders*. Elsevier, St. Louis, 2018, pp. 5-10.
- 18) Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Acute necrotizing encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A(Eds) *Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders*. Elsevier, St. Louis, 2018, pp. 87-92.
- 19) Maegaki Y, Kurozawa Y, Tamasaki A, Togawa M, Tamura A, Hirao M, Nagao A, Kouda T, Okada T, Hayashibara H, Harada Y, Urushibara M, Sugiura C, Sejima H, Tanaka Y, Matsuda-Ohtahara H, Kasai T, Kishi K,

- Kaji S, Toyoshima M, Kanzaki S, Ohno K; Status Epilepticus Study Group. Early predictors of status epilepticus-associated mortality and morbidity in children. *Brain Dev* 2015;37(5):478-86. Status Epilepticus Study Group. *Brain Dev* 2015;37(5):478-486
- 20) 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. Effect of levetiracetam in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures during acute and chronic phase. *Brain Dev*. 2015;37(5):471-7.
- 21) Natsume J, Hamano SI, Iyoda K, Kanemura H, Kubota M, Mimaki M, Niijima S, Tanabe T, Yoshinaga H, Kojimahara N, Komaki H, Sugai K, Fukuda T, Maegaki Y, Sugie H. New guidelines for management of febrile seizures in Japan. *Brain Dev*. 2017;39(1):2-9.
- 22) Tsubouchi Y, Itamura S, Saito Y, Yamashita E, Shinohara Y, Okazaki T, Ohno K, Nishimura Y, Oguri M, Maegaki Y. Use of high b value diffusion-weighted magnetic resonance imaging in acute encephalopathy/encephalitis during childhood. *Brain Dev*. 2018;40(2):116-125.
- 23) Abe Y, Machida S, Sassa K, Okada K, Yamanouchi H. Cytokine storm may play a role in the pathogenesis of human parechovirus type 3-associated acute encephalopathy in neonates: a case report. *J Pediatr Neurol Med* 2017, 2:119.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2015; 37: 418-422.
- 27) 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.
- 28) Fujita Y, Takanashi J, Takei H, Ota S, Fujii K, Sakuma H, Hayashi M. Activated microglia in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *J Neurol Sci* 2016; 366: 91-93.
- 29) Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Honda T, Yasukawa K, Takanashi J. Clinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity. *J Neurol Sci* 2017; 373: 138-141.
- 30) Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Yasukawa K, Takanashi J. A new infectious encephalopathy syndrome, clinically mild encephalopathy associated with excitotoxicity (MEEX). *J Neurol Sci* 2017; 380: 27-30.
- 31) Ishida S, Yasukawa K, Koizumi M, Abe K, Hirai N, Honda T, Sakuma S, Tada H, Takanashi J. Excitotoxicity in encephalopathy associated with STEC O-157 infection. *Brain Dev* 2018; 40(4): 357-360.
- 32) 勝又薫、田上幸治、松井潔、藤井裕太、相田典子、高梨潤一、矢島秀起：脳海綿状血管奇形の出血後に可逆性脳梁膨大部病変を呈した一例。 *脳と発達* 2017; 49: 343-344.
- 33) 高梨潤一：急性脳症：小児急性脳症診療ガイドラインをふまえて。 *小児科診療* 2017; 81: 39-46
- 34) 高梨潤一：脳炎・脳症の臨床経過と神経放射線診断。 *臨床とウイルス* 2018; 45: 241-248
- 35) 安部昌宏、前田泰宏、本多隆文、安川久美、武藤順子、高梨潤一。脳梁膨大部病変を MR spectroscopy で経時的に観察し得た可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳症 (MERS) の 2 例。 *脳と発達* 2017; 49: 275-278.
- 36) 高梨潤一：ここがポイントー小児診療ガイドラインの使い方 小児急性脳症診療ガイドライン 2017。 *小児科臨床* 70 : 763-772
- 37) Shima T, Sakuma H, Suzuki T, Kohyama K, Matsuoka T, Hayashi M, Okumura A, Shimizu T. Effects of antiepileptic drugs on microglial properties. *Epilepsy Sisure* 2018 in press
- 38) Igarashi A, Sakuma H, Hayashi M, Noto D, Miyake S, Okumura A, Shimizu T. Cytokine-induced differentiation of

- hematopoietic cells into microglia-like cells in vitro. *Clin Exp Neuroimmunol* 2018 in press
- 39) Omae T, Saito Y, Tsuchie H, Ohno K, Maegaki Y, Sakuma H. Cytokine/chemokine elevation during the transition phase from HSV encephalitis to autoimmune anti-NMDA receptor encephalitis. *Brain Dev* 2017;40: 361-365.
- 40) Saika R, Sakuma H, Noto D, Yamaguchi S, Yamamura T, Miyake S. MicroRNA-101a regulates microglial morphology and inflammation. *J Neuroinflammation*. 2017 14:109
- 41) Omata T, Kodama K, Watanabe Y, Iida Y, Furusawa Y, Takashima A, Takahashi Y, Sakuma H, Tanaka K, Fujii K, Shimojo N. Ovarian teratoma development after anti-NMDA receptor encephalitis treatment. *Brain Dev*. 2017;39:448-451.
- 42) 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.
- 43) 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.
- 44) 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.
- 45) 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): 1286-1293.
- 46) 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): 672-678.
- 47) Okumura A, Nakahara E, Ikeno M, Abe S, Igarashi A, Nakazawa M, Takasu M, Shimizu T. Efficacy and tolerability of high-dose phenobarbital in children with focal seizures. *Brain Dev* 2016; 38(4): 414-8.
- 48) Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, Watanabe K, Okumura A. The semiology of febrile seizures: Focal features are frequent. *Epilepsy Behav* 2017; 73: 59-63.
- 49) Fukushima W, Ozasa K, Okumura A, Mori M, Hosoya M, Nakano T, Tanabe T, Yamaguchi N, Suzuki H, Mori M, Hatayama H, Ochiai H, Kondo K, Ito K, Ohfuji S, Nakamura Y, Hirota Y. Oseltamivir use and severe abnormal behavior in Japanese children and adolescents with influenza: Is a self-controlled case series study applicable? *Vaccine* 2017;35(36):4817-4824.
- 50) Kidokoro H, de Vries LS, Ogawa C, Ito Y, Ohno A, Groenendaal F, Saitoh S, Okumura A, Ito Y, Natsume J. Predominant area of brain lesions in neonates with herpes simplex encephalitis. *J Perinatol* 2017; 37(11): 1210-1214.
- 51) Saitoh S. Clinical, molecular, and neurophysiological features in Angelman syndrome. *J Pediatr Epilepsy* 4:17-22, 2015.
- 52) Negishi Y, Miya F, Hattori A, Johmura Y, Nakagawa M, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Nakanishi M, Saitoh S. A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. *BMC Med Genet* 18:4, 2017.
- 53) Tanaka Y, Sone T, Higurashi N, Sakuma T, Suzuki S, Ishikawa M, Yamamoto T, Mitsui J, Tsuji H, Okano H, Hirose S. Generation of D1-1 TALEN isogenic control cell line from Dravet syndrome patient iPSCs using TALEN-mediated editing of the SCN1A gene. *Stem Cell Res*.2018;28:100-4.
- 54) Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, Nasu H,

- Shimajima K, Yamamoto T, Kure S, Hirose S. Somatic mosaic deletions involving *SCN1A* cause Dravet syndrome. *Am J Med Genet A*. 2018;176(3):657-62.
- 55) Hayashida T, Saito Y, Ishii A, Yamada H, Itakura A, Minato T, Fukuyama T, Maegaki Y, Hirose S. *CACNA1A*-related early-onset encephalopathy with myoclonic epilepsy: A case report. *Brain Dev*. 2018;40(2):130-3.
- 56) Uchida T, Lossin C, Ihara Y, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. Abnormal gamma-aminobutyric acid neurotransmission in a *Kcnq2* model of early onset epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58(8):1430-9.
- 57) Takaori T, Kumakura A, Ishii A, Hirose S, Hata D. Two mild cases of Dravet syndrome with truncating mutation of *SCN1A*. *Brain Dev*. 2017;39(1):72-4.
- 58) Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF. Clinical implications of *SCN1A* missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2017;58(2):282-90.
- 59) Ishii A, Hirose S. Genetic Background of Encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe L S, Okumura A, editors. *Acute Encephalopathy and Encephalitis in Infancy and Its Related Disorders*. Elsevier: USA; 2017. p. 45-52.
- 60) Tanaka Y, Sone T, Higurashi N, Sakuma T, Suzuki S, Ishikawa M, Yamamoto T, Mitsui J, Tsuji H, Okano H, Hirose S. Generation of D1-1 TALEN isogenic control cell line from Dravet syndrome patient iPSCs using TALEN-mediated editing of the *SCN1A* gene. *Stem Cell Res*. 2018;28:100-4.
- 61) Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, Nasu H, Shimajima K, Yamamoto T, Kure S, Hirose S. Somatic mosaic deletions involving *SCN1A* cause Dravet syndrome. *Am J Med Genet A*. 2018;176(3):657-62.
- 62) Ito T, Narugami M, Egawa K, Yamamoto H, Asahina N, Kohsaka S, Ishii A, Hirose S, Shiraishi H. Long-term follow up of an adult with alternating hemiplegia of childhood and a p.Gly755Ser mutation in the *ATP1A3* gene. *Brain Dev*. 2018;40(3):226-8.
- 63) Takaori T, Kumakura A, Ishii A, Hirose S, Hata D. Two mild cases of Dravet syndrome with truncating mutation of *SCN1A*. *Brain Dev*. 2017;39(1):72-4.
- 64) Saito T, Ishii A, Sugai K, Sasaki M, Hirose S. A de novo missense mutation in *SLC12A5* found in a compound heterozygote patient with epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Clin Genet*. 2017;92(6):654-8.
- 65) Numata T, Tsumoto K, Yamada K, Kurokawa T, Hirose S, Nomura H, Kawano M, Kurachi Y, Inoue R, Mori Y. Integrative approach with electrophysiological and theoretical methods reveals a new role of S4 positively charged residues in PKD2L1 channel voltage-sensing. *Sci Rep*. 2017;7(1):9760.
- 66) Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF. Clinical implications of *SCN1A* missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2017;58(2):282-90.
- 67) Ishii A, Kang JQ, Schornak CC, Hernandez CC, Shen W, Watkins JC, Macdonald RL, Hirose S. A de novo missense mutation of *GABRB2* causes early myoclonic encephalopathy. *J Med Genet*. 2017;54(3):202-11.
- 68) Ishii A, Hirose S. Genetic background of encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe L S, Okumura A, editors. *Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders*. Elsevier: USA; 2017. p. 45-52.
- 69) Ishii A, Hirose S. New genes for epilepsy-autism comorbidity. *J Pediatr Neurol*. 2017;15:105-14.
- 70) Hanaya R, Niantiarno FH, Kashida Y, Hosoyama H, Maruyama S, Otsubo T, Tanaka K, Ishii A, Hirose S, Arita K. Vagus nerve stimulation for genetic epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) accompanying seizures with impaired consciousness. *Epilepsy Behav Case Rep*. 2017;7:16-9.
- 71) Hammer MF, Ishii A, Johnstone L, Tchourbanov A, Lau B, Sprissler R, Hallmark B, Zhang M, Zhou J, Watkins J, Hirose S. Rare variants of small effect size in neuronal excitability genes influence clinical outcome in Japanese cases of *SCN1A* truncation-positive Dravet syndrome. *PLoS ONE*. 2017;12(7):e0180485.

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録

該当なし
3.その他
該当なし