

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患政策研究事業

小児の急性脳症・けいれん重積状態の
診療指針の確立

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 水口 雅

平成 29(2017)年 5 月

目次

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	2
水口 雅	
II. 分担研究報告	
1. 脳波解析を用いたけいれん重積型脳症と熱性けいれん重積の鑑別	8
前垣 義弘	
2. AERRPS の遺伝的素因	10
齋藤 真木子	
3. 我が国におけるヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態に関する臨床的研究	12
山内 秀雄	
4. 興奮毒性が関与する小児軽症急性脳症：新たな脳症サブタイプの提唱	14
高梨 潤一	
5. 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	16
山形 崇倫	
6. 小児期の抗 NMDA 受容体脳炎の臨床的特徴と髄液中サイトカインプロファイル	20
佐久間 啓	
7. 可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症の関連遺伝子の解明に関する研究	23
奥村 彰久	
8. Angelman 症候群および関連疾患に関する研究	27
齋藤 伸治	
9. 次世代シーケンサーを用いた急性脳症・けいれん重積状態の遺伝子解析	29
廣瀬 伸一	
10. 先天性無痛症に伴う骨関節感染症に関する研究	31
芳賀 信彦	
11. けいれん重積型脳症を発症した無痛無汗症の一例	34
久保田 雅也	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	36

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。これを受けて日本小児神経学会（ガイドライン統括委員会）は2012年度、両者を新規ガイドライン策定疾患として選択した。このうち急性脳症のガイドラインが2016年度に完成した。

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 トリーダー
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

急性脳症は小児の感染症の最も重篤な合併症である。インフルエンザ、突発性発疹、ロタウイルス胃腸炎などありふれた感染症の経過中に、けいれんや意識障害が急に出現する。救急外来や小児病棟、集中治療室における懸命の治療にも関わらず、死亡や神経学的後遺症に至る例も多い。

厚生労働科学研究インフルエンザ脳症研究班（森島班）により、インフルエンザ脳症ガイドラインが策定され、初版が2005年に、改訂版が2009年に発表された。同ガイドラインはインフルエンザ脳症の診療の向上と予後の改善に大きく寄与した。しかしインフルエンザ以外の感染症に続発した急性脳症に関しては指針が存在しなかったことから、それらを含めた急性脳症全体に関するガイドラインが求められていた。また2009年以降も急性脳症の研究は進歩を続けたので、新しい内容を取り込んだガイドラインの必要性が次第に増してきた。

このような事情から、日本小児神経学会は小児急性脳症全般に関するガイドライン策定を進め、本研究班は調査・研究を通じてそれを支援した。

B．研究方法

本ガイドラインの作成は日本小児神経学会の

ガイドライン統括委員会によって決定され、ガイドライン策定委員会が組織された。ガイドライン策定委員会は主に小児神経と先天代謝異常の専門医によって構成された。ガイドライン作成の方法論の専門家をアドバイザーとして加えることにより、科学的で客観的なガイドラインを作成する組織を構成した。委員長（水口雅）を含む 10 名の委員がクリニカルクエスチョン (CQ) の選定、文献の一次・二次スクリーニング、推奨文、解説文の案の作成を行った。推奨文、解説文の案を日本集中治療医学会に送付して同学会による査読を受け、指摘に沿って内容に修正を加えた。ガイドライン策定委員会では取り扱うクリニカルクエスチョン (CQ) を決定し、各 CQ において文献検索するキーワードを検討した。文献検索は日本医学図書館協会に依頼し、2014 年 5 月に検索した。PubMed および医学中央雑誌から網羅的、系統的に検索を行った。検索期間には年限を設けなかった。また必要に応じてハンドサーチも行った。検索された文献についての一次スクリーニングは、文献検索においてガイドラインで扱う急性脳症とは無関係の論文がきわめて多数紛れ込んだため、その削除が主であった。一次スクリーニングで選択された論文についてはフルテキストを手配し、二次スクリーニングを行った。ここでは少数例の症例報告や日本で実施できない検査や治療に関する文献の多くが除外された。二次スクリーニングで採用された論文についてエビデンスレベルを評価した。そのうえで、各 CQ を担当した委員が推奨文、解説文の案を作成した。推奨文はガイドラインを使用する医師が CQ についての推奨を短時間でわかるように簡潔に作成し、解説文では推奨文の根拠となる論文の紹介や考察を記載した。急性脳症の診断・治療には現時点で保険適応外とされている検査や治療を用いることがありうるため、それらについては適応外であることを注釈に加えて、それらを用いることの益と害のバランスについて慎重に検討し、記述した。推奨文、解説文の案は、執筆者以外の委員による内部査読および日本集中治療学会による外部査読を受けたうえで、修正を加えた。各委員が推奨、解説についてプレゼンテーションを行い、委員会で検討、修正した。

ガイドライン策定委員会による推奨文、推奨グレード、解説文、論文のエビデンスレベルが完成してから、日本小児科学会、日本小児感染症学会、日本小児救急学会および患者保護者の会（小さないのち）に外部評価を依頼した。パブリックコメントは日本小児科学会ホームページ上で学会員から収集し、ガイドライン案を修正した。AGREE II に沿った外部評価を依頼し、

その結果にもとづいて最終的な修正を加えた。（倫理面への配慮）

ガイドライン作成に関わる全委員は「役員・委員長・倫理委員・COI 委員の COI 自己申告書」を日本小児神経学会理事長に提出した。日本小児神経学会の基準にて経済的 COI は、ガイドライン統括委員会、本ガイドライン策定委員会、外部評価委員全員において認められず、推奨決定を含めたガイドライン作成過程において特別の配慮は必要なかった。

C . 研究結果

ガイドライン委員会は 2014 年 3 月に発足し、2 年間あまりの策定作業を経て、本年度に「小児急性脳症診療ガイドライン」を完成した。本ガイドラインは 2016 年 7 月に診断と治療社より出版された。また 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

- I-1 急性脳症の定義
- I-2 急性脳症の疫学
- I-3 急性脳症の予後

II 急性脳症の診断と検査

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

III 全身管理と脳低温・平温療法

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

IV 代謝異常による急性脳症

- IV-1 先天代謝異常症による急性脳症の特徴
- IV-2 先天代謝異常症の診断と検査
- IV-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

- V-1 炎症のマーカー
- V-2 副腎皮質ステロイドの意義、適応、方法
- V-3 ガンマグロブリンと血液浄化の意義、適応、

方法

V-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

VI-1 けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)の診断と治療

VI-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

VII-1 Dravet 症候群に合併する脳症の診断と治療

VII-2 副腎不全に合併する脳症の診断と治療

VII-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

VII-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

D . 考察

急性脳症は日本国内での発症が年に千人弱であり、さほど多くはない。しかしインフルエンザや出血性大腸炎の流行を契機に多発して、地域の救急医療を危機に陥らせることがあり、医学的、社会的な問題は大きい。国際的に見ると日本では欧米にくらべ、急性脳症の罹病率が断然多い。日本では1980年代から急性脳症が注目され始め、研究が活発になった。1990年代から2000年代にかけて急性壊死性脳症(ANE)、けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)、脳梁膨大部脳症(MERS)、難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)などの新しい症候群が日本から相次いで提唱され、確立された。このうちAESDとAERRPSは国により難病として指定された。

日本は急性脳症の研究において世界をリードしており、その診療においても先頭を走っている。しかし何ぶんにも研究の歴史が浅く、患者数も少ないため、エビデンスの蓄積は乏しい。その一方、急激な経過や重篤な症状に対して遅滞なく最良の診療を提供するためのガイドラインを日本から出して欲しいという要望は強かった。この要望に応える形で今回、新しいガイドラインが刊行されたことの意義は大きい。

E . 結論

小児急性脳症ガイドラインを策定するための委員会が2014年3月、日本小児神経学会のもとに発足し、2年あまりの活動を経て2016年7月に「小児急性脳症診療ガイドライン」を刊行した。

F . 健康危険情報なし。

G . 研究発表

1. 論文発表

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.

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.

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.

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.

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.

水口雅. Reye 症候群. 小児科診療 2016 年増刊号 小児の症候群, 診断と治療社, 東京, 2016, p. 123.

水口雅. 急性脳症. 「小児内科」「小児外科」編集委員会(編), 小児疾患診療のための病態生理 3, 改訂第5版, 東京医学社, 東京, 2016, pp. 299-304.

2. 学会発表

齋藤真木子, 星野愛, 石井敦士, 井原由紀子, 廣瀬伸一, 水口雅. けいれん重積型急性脳症と熱

性けいれんの CTL4 遺伝子多型の比較. 第 119 回日本小児科学会学術集会, 札幌, 2016 年 5 月 15 日

寺嶋宙, 熊谷淳之, 竹中暁, 安西真衣, 葛西真梨子, 渡邊優, 齋藤真木子, 水口雅, 久保田雅也. 覚醒障害を主徴とする軽症急性脳症 6 症例の検討. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 東京, 2016 年 6 月 3 日

水口雅. 急性脳症—疫学と診療の現状—. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 東京, 2016 年 6 月 3 日

葛西真梨子, 太田さやか, 水野葉子, 下田木の実, 佐藤敦志, 岡明, 水口雅. ガンマグロブリン大量療法が一定の効果を認めた急性弛緩性麻痺の 1 例. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 東京, 2016 年 6 月 4 日

Saitoh M, Kobayashi K, Hoshino A, Mizuguchi M. Polymorphism of cytokine-related and sodium channel genes in AERRPS. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 東京, 2016 年 6 月 4 日
Mizuguchi M. Acute encephalopathy associated with viral infections of infancy and childhood. The 15th Annual Meeting of Asian & Oceanic Society of Pediatric Radiology/ The 51st Annual Meeting of Japanese Society of Pediatric Radiology. Tokyo, 2015 年 6 月 11 日

水口雅. 小児のウイルス感染症と意識障害. 第 55 回日本臨床ウイルス学会モーニングセミナー, 札幌, 2014 年 6 月 15 日

Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Definition, classification and epidemiology of acute encephalopathy. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders. Tokyo, 2016 年 7 月 1 日

Saitoh M, Hoshino A, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Mizuguchi M. Genetic predisposition to acute encephalopathy with status epilepticus. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy

and its related disorders. Tokyo, 2016 年 7 月 1 日

Hoshino A, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J-i, Oka A, Mizuguchi M. Gene polymorphisms confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders. Tokyo, 2016 年 7 月 1 日 (Abstracts p. 116)

Matsumoto H, Zaha K, Nakamura Y, Saitoh M, Mizuguchi M, Nonoyama S. Biochemical and genetic prognostic factors in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders. Tokyo, 2016 年 7 月 2 日

Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Acute necrotizing encephalopathy: Clinical, pathologic and genetic studies. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders. Tokyo, 2016 年 7 月 2 日

Mizuguchi M. Complications of influenza: Neurological complications. Options IX for the Control of Influenza. Chicago, 2016 年 8 月 27 日

上田有里子, 下田木の実, 葛西真梨子, 竹中暁, 太田さやか, 佐藤敦志, 水口雅, 岡明. 結節性硬化症を基礎疾患として有する急性脳症の 2 例. 第 65 回日本小児神経学会関東地方会, 東京, 2016 年 9 月 24 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

いずれもなし。

II. 分担研究報告

脳波解析を用いたけいれん重積型脳症と熱性けいれん重積の鑑別

研究分担者 前垣義弘 鳥取大学医学部脳神経小児科

研究要旨

けいれん重積型急性脳症(AESD)と熱性けいれん重積(FS)を定量的脳波解析で鑑別可能かどうかを2群間で統計学的に検討した。AESD群は多くの脳部位でFS群に比べ、波や波、波で脳波パワー値が有意に低いことが確認された。この有意差は発症から24時間以内に記録した脳波でも確認された。以上より、定量的脳波解析で、急性脳症の早期診断が可能である可能性が示唆された。

A．研究目的

けいれん重積型急性脳症(AESD)は、けいれん重積で発症するが、画像所見が顕在化するのに3-5日を要する。血液や髄液検査で、診断を確定することはできない。従って、AESDを発症早期に熱性けいれん重積(FS)と鑑別することは困難である。以上から、脳波解析を用いて、AESDとFSの早期鑑別が可能かどうかを検討する。

B．研究方法

鳥取大学医学部附属病院を含めた多施設にて、けいれん重積で受診した患者のうち最終的にAESDとFSと診断された患者の急性期（発症から5日以内）に記録した脳波を解析に用いた。デジタル記録した脳波をパワースペクトル解析し、AESD群とFS群で有意差を検定した。

本研究は、鳥取大学医学部および参加施設の倫理委員会の承認を得て行った。

C．研究結果

AESD17例（ 3.5 ± 1.3 歳）とFS20例（ 3.5 ± 3.3 歳）を対象とした。

1)発症から5日以内に記録した脳波の解析

頭皮上の全ての脳部位で波、波、波、波のパワー値は、AESD群がFS群に比べ有意に低値であった。また、後遺症が重症であるほどパワー値が低い傾向を認めた。

2)発症から24時間以内の症例の検討

AESD7例、FS15例を解析した。前頭部を除くすべての脳部位で、波、波、波においてAESD群はFS群にくらべて有意にパワー値が低値

であった。

D．考察

脳波は簡便で非侵襲的な検査であり、従来から急性脳症診断に利用されてきた。徐波の増加や速波の消失などを認める場合には、急性脳症の可能性があることが、視覚的脳波診断でも指摘されていた。一方で脳波診断は客観性がなく、判読者の習熟度に左右されるため、一般化しにくい。今回、脳波の定量的評価でAESDとFSを判別することが可能である可能性が示唆された。今回の解析は2群間の有意差検定であり、個人の診断には直ちには利用できない。今後症例を増やすことと、個人の診断に利用できる方法を開発する必要がある。

E．結論

定量的脳波解析は、急性脳症診断に利用できる可能性がある。

F．研究発表

1. 論文発表

Oguri M, Saito Y, Fukuda C, Kishi K, Yokoyama A, Lee S, Torisu H, Toyoshima M, Sejima H, Kaji S, Hamano S, Okanishi T, Tomita Y, Maegaki Y. Distinguishing Acute Encephalopathy with Biphasic Seizures and Late Reduced Diffusion from Prolonged Febrile Seizures by Acute Phase EEG Spectrum Analysis. *Yonago Acta Med.* 2016;59(1):1-14.

Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda

M, Haginoya K, Hamano S, 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 Dev. 2016;38(7):638-47
小児急性脳症 診療ガイドライン 2016 日本小児神経学会監修 小児急性脳症診療ガイドライン策定委員会編集 診断と治療社
西山正志、臼井愛美、岩井儀雄、大栗聖由、前垣義弘. 相関ヒストグラムを用いた小児急性脳症の判別. 電子情報通信学会論文誌
2016;J99-D(12),1132-41.

2. 学会発表

Oguri M, Fukuda C, Saito Y, Maegaki Y.
Distinguishing acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion from prolonged febrile seizures by acute phase EEG spectrum analysis. 18th ISS meeting "International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders (ISAE2016)". Tokyo

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 急性脳症診断のための脳波解析装置、発明者
(鳥取大学、前垣義弘、大栗聖由、岩井儀雄、西山正志、臼井愛美)、出願番号：特願2016-103942

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

AERRPSの遺伝的素因

研究分担者 齋藤 真木子 東京大学発達医科学

研究要旨

難治性頻回部分発作重積型急性脳炎（以下AERRPS）は、「特異な脳炎・脳症後てんかんの一群」として1986年に栗屋・福山により提唱された疾患概念である。それまで健康であった幼児-学童に何らかの先行感染後、発症し、家族内発症の報告はない。疾患関連性のある多型の報告はまだない。候補遺伝子アプローチを行い、インターロイキン1受容体アンタゴニスト遺伝子およびナトリウムチャンネル遺伝子多型に疾患関連性を見出した。AERRPSの背景に免疫系、神経興奮性の双方の遺伝的素因が関与する可能性を示した。

A. 研究目的

難治性頻回部分発作重積型急性脳炎、（以下 AERRPS）は、「特異な脳炎・脳症後てんかんの一群」として 1986 年に栗屋・福山により提唱された疾患概念である。年間 10 例程度の発症が報告されている。それまで健康であった幼児-学童に何らかの先行感染後、発症し、家族内発症の報告はない。病因については不明で発熱時のけいれんをきっかけとすることから類似する genetic epilepsy の原因となる遺伝子を候補とした解析の報告がある。SCN1A や PCDH19 および POLG のレアバリエーションの検出がこころみられたが、negative study であった。疾患関連性のある多型の報告はまだなく、病態から推測される候補遺伝子について多型・変異解析を行い、疾患感受性の有無を検討した。

B. 研究方法

全国より収集した急性脳症検体のうち、AERRPS診断基準を満たす症例19例（平均発

症年齢6歳）を抽出した。サイトカイン関連遺伝子はインターロイキン1、インターロイキン1受容体アンタゴニスト遺伝子であるIL1RN、IL6、IL10、またTNFA一のプロモーター領域の一塩基多型を解析した。ナトリウムチャンネル遺伝子SCN1A/2Aは全長塩基配列解析を行った。得られた結果と正常対照日本人のSNPデータを比較検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は東京大学において倫理委員会の承認を得て行われた(G3504-(14))。研究に参加する患者の保護者に説明を行い、文書による同意を得た。

C. 研究結果

インターロイキン1受容体アンタゴニストIL1RNの繰り返し配列数の多型について400bpの長さのアリルをRN1、繰り返し数が少なく、200bpのものをRN2アリルとして、患者群では19例中7例がヘテロ接合でRN2アリルを有していた。正常コントロールとの比較をカイ2乗検定により行い有意に患

者群でRN2アリル頻度が高いことがわかった。他の5カ所5カ所のSNPの遺伝子型解析を行い3つのハプロタイプを同定した。これらのうち、RN2アリルを含むハプロタイプCが患者群で高く分布頻度に有意差を認めた($p = 0.021$)。またハプロタイプCのオッズ比は3.88であった (95%CI: 1.40-10.7, $p = 0.0057$)。

SCN1A点変異(R1575C)を2例見出した。2つのSCN2AのSNPアリル頻度で正常群との違いがあった。

D. 考察

IL1シグナルは中枢神経系で神経細胞の易興奮性をもたらすとされている。本研究で疾患感受性を示したIL1RN多型は、IL1

シグナルを抑制するIL1受容体アンタゴニスト産生と関連することが報告されている。従って疾患感受性IL1RN多型を有すると、神経興奮性が亢進することが推測される。

ナトリウムチャンネル遺伝子SCN1Aの

変異は他の急性脳症の病型でも報告があり、単一遺伝疾患における原因遺伝子とは異なり、リスクファクターのひとつと考えられた。疾患感受性を示した2つのSCN2AのSNPはスプライシングに関わる保存的なシーケンズモチーフに含まれており、機能的な関連が示唆された。

E. 結論

AERRPSの病態には免疫・過興奮性双方の遺伝的素因が関わると考えられた。治療に関して、免疫系、特にIL1Bシグナルの抑制や、ナトリウムチャンネルを標的とした易興奮性制御が有効である可能性を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

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

J Neurol Sci. 2016 Sep 15; 368: 272-6. doi: 10.1016/j.jns.2016.07.040.

2. 学会発表

Saitoh M, Kobayashi K, Hoshino A, Mizuguchi M. Polymorphism of cytokine-related and sodium channel genes in AERRPS (第58回日本小児神経学会学術集会 2016年6月4日、東京) 脳と発達48巻Suppl; s239

齋藤真木子、星野 愛、石井敦士、井原由紀子、廣瀬伸一、水口 雅. けいれん重積型急性脳症と熱性けいれんのCTLA4遺伝子多型の比較(第119回 日本小児科学会学術集会 2016年5月15日、札幌) 日本小児科学会雑誌120巻2号521頁

齋藤真木子、星野 愛、廣瀬伸一、高梨潤一、菊池健二郎、久保田雅也、山中 岳、椎原 隆、熊倉 啓、後藤知英、山内秀雄、水口 雅. けいれん重積型(二相性)急性脳症の病因・病態 (第21回日本神経感染症学会総会・学術大会 2016年10月22日、金沢)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

我が国におけるヒトパレコウイルス3型脳症の実態に関する臨床的研究

研究分担者 山内秀雄 埼玉医科大学小児科教授
研究協力者 阿部裕一 埼玉医科大学小児科講師

研究要旨

諸外国で報告されているパレコウイルス3型感染症にともなう脳症のわが国における実態を明らかにするために、全国調査を行った。この脳症はパレコウイルス3型感染後にけいれん・意識障害で発症するもので、早期乳児期に発症する傾向があることがわかっているが、その臨床的全貌と予後についてが不明のままである。対象期間を2014年1月1日～2016年9月30日までとして新生児研修基幹施設142施設、指定施設144施設、および補完施設184施設（合計470施設を予定）及び日本小児科学会研修施設及び支援施設（合計515施設）に対して、ヒトパレコウイルス3型による脳炎・脳症についての郵送による1次調査をおこなった。

A．研究目的

近年、数年毎の周期でヒトパレコウイルス感染症（特に3型：HPeV3）の国内流行がみられる。文献上はあらゆる年齢で感染症状を認めるが、特に新生児および乳児期早期の罹患では全身性の感染に伴って急性脳炎/急性脳症を発症することが知られており、感染後に頭部MRI画像上の変化および後遺症を呈するといった報告が散見される。そこで今回我々は日本におけるHPeV3脳症の実態調査をおこない、臨床的および画像的特徴、発達予後等を明らかにする。

B．研究方法

方法は多施設後方視的調査である。

対象調査期間は2014年1月1日～2016年9月30日(仮)までのおよそ3年間である。実施期間は2次調査も含めてIRB承認後より2017年12月31日までに調査自体は完了する予定である。調査対象は日本周産期・新生児医学会において登録されている新生児研修基幹施設142施設、指定施設144施設、および補完施設184施設（合計470施設を予定）及び日本小児科学会研修施設及び支援施設（合計515施設）に対して、HPeV3による脳症についての1次調査をおこなった。締め切りは2017年1月31日とした。その結果を元に詳細な2次調査をおこなう予定である。

1次調査についてはHPeV3による脳症患者数の

概算を把握する。2次調査では該当機関にてあらかじめ連結可能匿名化処理の上で症例一人一人の背景から症状まで詳細に調査する。詳細については、いずれも添付の調査用紙の項目で実施の予定である。2次調査内容の概要は、家族情報、母体情報、画像所見、合併症・身体的特徴等の臨床データについて行う。

（倫理的配慮）

2次調査については個人情報連結可能な状態での匿名化処理された情報を集計する予定である。

C．研究結果

2次調査を準備中であり、その集計は行われていない。

D．考察

2次調査によってわが国のHPeV3感染症に伴う脳症の全容が明らかになる可能性がある。

E．結論

平成27年度に2次調査を施行しその結果によって結論が導かれる予定である。

F．研究発表

1. 論文発表

Abe Y, Machida S, Sassa K, Okada K, Yamanouchi

H. Roles of cytokines in the pathogenesis of human parechovirus type 3-associated acute encephalopathy in neonates: A case report. (submitted)

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

興奮毒性が関与する小児軽症急性脳症；新たな脳症サブタイプの提唱

研究代表者 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

けいれん重積型（二相性）脳症（AESD）は、二相性のけいれん発作と遅発性拡散能低下を特徴とする急性脳症のサブタイプである。日本の小児急性脳症の30%と最も頻度が高い。一方で、急性脳症と診断されたもののいずれのサブタイプにも分類されない症例が全体の40%以上をしめている。

既知の脳症症候群に分類不能な11症例の脳代謝を、MR spectroscopyで後方視的に検討した。3症例で一過性の Glutamine (Gln) の上昇を認めた。NAA, Cr, Cho, mIns はいずれも正常範囲であった。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の存在が示唆された。

A．研究目的

けいれん重積型（二相性）脳症（AESD）は、二相性のけいれん発作と遅発性拡散能低下を特徴とする急性脳症のサブタイプである。日本の小児急性脳症の30%と最も頻度が高い。一方で、急性脳症と診断されたもののいずれのサブタイプにも分類されない症例が全体の40%以上をしめている。本研究目的は、分類不能な脳症症例の脳代謝を MR spectroscopy を用い検討し病態に迫ることである。

B．研究方法

症例；2015年1月から2016年5月にかけて、発熱に伴うけいれん重積もしくは群発、その後の意識障害から急性脳症と診断され、既知の脳症症候群に分類不能な症例を後方視的に検討した。
方法；MRスペクトルスコピーは、PRESS法；TR/TE= 5000/30；ROI, frontal WM で施行、代謝物質はLCModelを用いて定量解析した。
（倫理面への配慮）本研究は東京女子医科大学の倫理委員会の承認を得て施行された。

C．研究結果

分類不能 11 症例のうち、3 症例で一過性の Glutamine (Gln) の上昇を認めた。
NAA, Cr, Cho, mIns はいずれも正常範囲であった。

すべての症例で MRI 異常を求めなかった。
代表症例の提示

11 か月歳男児。発熱翌日にけいれん重積を呈し、意識障害遷延。脳波で徐波傾向を認め、HHV-6（PCR 陽性）脳症と診断し mPSL パルス療法を施行した。4 病日に解熱し、発疹は出現しなかった。Late seizure は認めず、4 病日の MRI では bright tree appearance も認めなかった。17 病日、後遺症なく退院。

MR spectroscopy は D4 (図 A) に Glutamine (Gln, 3.7mM) が高値、Glutamate (Glu, 7.5mM) は正常であり、D16 (図 B) には Gln (2.1mM) が高値、Glu (6.0mM) いずれも正常化した。

図 A

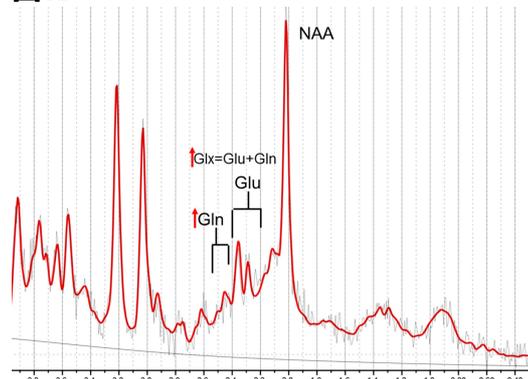
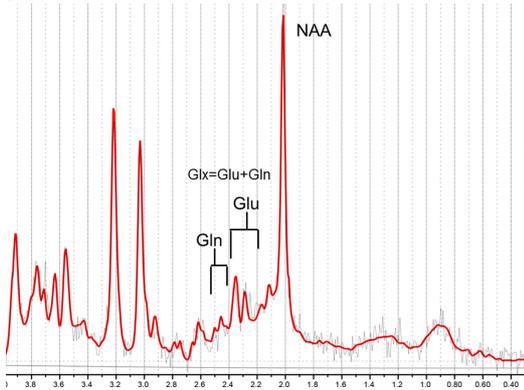


図 B



D. 考察

1.5 テスラ MR 装置による MR スペクトルスコピーの報告 (Takanashi J, et al. AJNR 2009) では、熱性けいれん重積では Glx (病日 2~5) は正常とされており、Glx 上昇はけいれん重積自体の結果とは考えにくい。

AESD では、急性期に MR スペクトルスコピーで、Glx (Glu+Gln) が高値であり、病態として興奮毒性による遅発性神経細胞障害が想定されている (Takanashi J, et al. AJNR 2009)。

3T MR 装置による検討で、Glx 高値は、ES 期から LS 期にかけては Glu 高値が、LS 期以降は Gln 高値が主体と推測されている (Takanashi J, et al. Neuroradiology 2015)。

AESD の診断は、臨床像 (二相性けいれん) と画像所見 (bright tree appearance) によってなされる。本 3 症例はいずれをも認めないが、AESD 同様に一過性の Gln 高値を呈した。

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の存在を示唆すると思われる。

E. 結論

従来の脳症分類で分類不能とされる軽症脳症例の発症機序として、興奮毒性が関与している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hoshino A, Saitoh M, Miyagawa T, Kubota M, Takanashi J, Miyamoto A, Tokunaga K, Oka A, Mizuguchi M. Specific HLA genotypes confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. *Genes Immun* 2016; 17: 367-9.

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.

高梨潤一. ウイルス性脳炎. 小児疾患診療のための病態生理 3. 「小児内科」「小児外科」編集委

員会共集. 東京医学社 2016; 295-298.

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.

2. 学会発表

高梨潤一: 小児急性脳症画像診断 up-to-date. 第 58 回日本小児神経学会学術集会 2016.6.2-5.

高梨潤一: 2009 H1N1 インフルエンザに伴う遅発性・持続性異常言動: 抗 NMDA 受容体脳炎との関連 第 58 回日本小児神経学会学術集会 2016.6.2-5.

Takanashi J. Neuroimaging in encephalopathy in Japan. International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders (ISAE 2016). 2016.7.2.

高梨潤一: 小児神経救急診療に役立つ画像検査. 第 65 回日本小児神経学会関東地方会 2016.9.24.

高梨潤一: MR スペクトルスコピーで診る急性期脳病態. 第 35 回 日本蘇生学会 2016.11.11-12.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 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
研究協力者 村山 圭 千葉県こども病院代謝科 部長
研究協力者 小島 華林 自治医科大学医学部小児科学 助教
研究協力者 池田 尚広 自治医科大学医学部小児科学 病院助教

研究要旨

先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針を作成した。

AESD に対する早期治療介入の可能性の検討のため、初回けいれん後意識障害遷延例に対するステロイドパルス療法の効果を確認した。2011年6月以降、けいれん後意識障害遷延例にステロイドパルス療法を実施した結果、AESD 症例は2011年6月以前が7.2%に対し、2011年6月以降は2.3%と有意に低下していた ($p=0.024$)。早期ステロイドパルス療法によって AESD の予防及び脳障害を軽減できる可能性がある。

また、早期診断のバイオマーカー同定のため、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。AESD で発現が増加していた6蛋白、発現が低下していた4蛋白を抽出して同定した。発現増加蛋白のうち5つは免疫グロブリン系だった。発現低下したのは、神経修復に関与する蛋白等だった。これらの分子は、早期診断のバイオマーカーとして有望と考えられ、他の患者の髄液で Western blot で解析中であるが、現時点で、有意差は検出されていない。

両者とも、さらに解析継続予定である。

A. 研究目的

I. 先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針

アミノ酸・有機酸代謝異常やミトコンドリア異常症などでは、感染などのストレスや基質となる物質の過量摂取などにより、代謝機構が破綻して、アシドーシス、低血糖、高乳酸血症や高アンモニア血症などを来し、意識障害を呈することがある。アスピリン等の薬剤も関連し、一部は Reye 症候群として、急激な脳症を発症する。これらの診断の手順を作成し、診断体制を確立することは重要な課題である。

II. けいれん重積型脳症の早期診断と治療介入法の検討

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の発症を予測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に、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、我々は、早期治療介入の可能性として、初回けいれん後意識障害遷延例に対するステロイドパルス療法の効果を確認すると共に、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。

(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

2011 年 6 月以降、自治医大小児科では AESD の発症予防と予後の改善を目的に、発熱に伴うけいれん後、意識障害が遷延した例に早期ステロイドパルス療法を実施することとした。実施前後で熱性けいれん、軽度急性脳症、AESD の発症数を検討し、AESD に対する早期ステロイドパルス療法の効果を検討した。

(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

以前、AESD の早期診断バイオマーカーの検索目的に、発症早期の髄液プロテオーム解析により網羅的蛋白発現解析を行った。今年度は、さらに解析を進め、他の患者で候補分子の発現解析を行った。

B . 研究方法

I . 先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針

先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群について、各疾患毎の診断方法と治療法について、文献検索等から診療指針を作成する。

II . けいれん重積型脳症の早期診断と治療介入法の検討

(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

(対象) 2008 年 1 月～2016 年 7 月までの 8 年 6 か月に、発熱に伴うてんかん重積状態（もしくは群発）のため当院に入院した 382 例（8 か月～8 歳 平均 1.9 歳、男：女 220 人：162 人）を解析対象とした。明らかな脳浮腫、高サイトカイン血症を伴う症例、ADEM 他、脳炎を示唆する明らかな画像所見、髄液所見のある症例は除外した。

(方法) 2011 年 6 月以降、以下の導入基準で早期ステロイドパルス療法を施行した。

来院時、JCS 20 以上の意識障害を呈する症例
けいれん後の意識障害が 8 時間以上遷延する症例

意識障害が改善傾向のときは、12 時間後に清明でない症例

ステロイドパルス療法は、mPSL 30mg/kg/dose (max 1g/dose) を 1 日 1 回、3 日間点滴静注した。ヘパリン持続静注（100-150 万単位/日）と H₂ blocker を併用した。明らかに意識清明になった場合は途中で中止した。

最終診断を以下の 3 群に分類し、解析した。

熱性けいれん複雑型：発症から 24 時間以内に意識清明を確認。

軽度急性脳症：発症から 24 時間以上、意識障害遷延したが、二相性の発作、脳 MRI 異常を認めない。

AESD：二相性の発作が出現し、脳 MRI で典型的な皮質下白質の高信号を認める。

(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

(対象) 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）を用いた。初回痙攣後、10 時間以内（2 時間～10 時間）の髄液を用い、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) で同定した。1 回目は、AESD 2 例を混合し赤に、一相性脳症 2 例を混合して緑とし、2 回目は逆に、AESD 1 例を緑、一相性脳症 1 例を赤にして泳動した。

今回、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。

(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

I . 先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針

先天代謝異常症やミトコンドリア異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群について、診療指針を作成して、「小児急性脳症診療ガイドライン 2016」に記載した。

II . けいれん重積型脳症の早期診断と治療介入法の検討

(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

解析対象になった全 382 例中、最終診断として熱性けいれん複雑型 273 例、軽度急性脳症 94 例、AESD 15 例であった。

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、AESD 4 例であった。パルス療法の開始時間はけいれん後 24 時間以内で、8～12 時間が 32 例、12～24 時間が 19 例であった。明らかな副作用はなかった。

熱性けいれんは毎年、30 例前後（22 例から 45

例)で、パルス施行前後で入院患者数に大きな差は無かった。軽度急性脳症発症数は、毎年 10 例前後であるが、パルス施行後に 17 例、21 例と多かった年があった。

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) 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

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、Ig- 2 chain C region (1.3x)、Ig- 2 chain C region (1.4x)、Ig- 1 chain C region (1.5x)、Ig- chain V- region (1.3x)、Ig- 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、他の患者の髄液で Western blot で解析中であるが、現時点で、有意差は検出されていない。

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。これらの蛋白に関しても、他の患者の髄液で解析しているが、現時点では、両群間で発現の有意差は検出されていない。

D. 考察

I. 先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針

先天代謝異常症は多彩な疾患があり、食事療法や薬物療法などの治療法が開発されているものも多い。今後は、早期診断と治療介入のために、生化学的および遺伝学的診断体制の整備が重要である。

II. けいれん重積型脳症の早期診断と治療介入法の検討

(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

早期ステロイドパルス療法実施後、熱性けいれ

ん及び、軽度急性脳症例数は減少せず、AESD の発症頻度は統計学的有意差を持って減少した。さらに早期 (12 時間以内) にステロイドパルス療法を行った症例で AESD を発症したのは 1 例のみで、かつ後遺症がなかった。早期ステロイドパルス療法によって AESD の予防及び脳障害を軽減できる可能性がある。

ただし、本研究は、二重盲検比較試験ではなく、一定の時期の前後で比較した解析であり、AESD 数の推移については全国的な症例数の推移との関連を確認する必要がある。今後、全国的な解析も必要である。

(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

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、最初のプロテオーム解析で同定された、Immunoglobulins などの AESD で発現が変化している蛋白から、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、Microglia の機能や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る。

しかし、現時点で、プロテオーム解析で検出された各蛋白に関して、他の患者で有意な変化は確認できていない。その理由の一つとして、AESD の病因は多様で、同じカスケードの幾つかの分子の関与や、複数の分子機構が関与する可能性が推定される。

また、実験方法の問題として、プロテオーム解析は、髄液を濃縮し、蛋白量を合わせて実施したため、結果は、他の蛋白との相対的なものになった可能性がある。髄液をそのまま使用することは難しく、基準は、全サンプルを混合したものであり、基準をどうするかなど、方法を再検討の上、症例を追加し実施する。

E. 結論

先天代謝異常症に併発する急性脳症、Reye 症候群の診療指針を作成した。

AESD において、初回けいれん後の早期にステロイドパルス療法を実施することは、発症予防と軽症化に有効な可能性がある。また、初回けいれん後の髄液プロテオーム解析で、炎症の関与や神経修復機構の低下が示唆されたが、バイオマーカーとして有意な物質は確立できなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Miyauchi A, Monden Y, Osaka H, Takahashi Y,

Yamagata T. A case of anti-NMDAR encephalitis presented hypotensive shock during plasma exchange. Brain Dev. 2016; 38:427-30.

2. 学会発表
なし。

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
なし。

小児期の抗NMDA受容体脳炎の臨床的特徴と髄液中サイトカインプロファイル

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

小児期の抗NMDA受容体脳炎の臨床的特徴を明らかにするとともに、髄液中のサイトカインプロファイルを解析して臨床像との関連を調べることを目的とした。11例について検討を行い、臨床的特徴については精神症状・不随意運動が最も多く、小児例の特徴として言語障害とけいれんが多い一方で自律神経症状は少ないという結果で、過去の報告と概ね一致する結果が得られた。また髄液ではケモカインCXCL10, CXCL13の上昇が認められ、これらの高値は髄液中における抗体産生の亢進を示唆する所見と考えられた。

A．研究目的

抗 NMDA 受容体脳炎（以下抗 NMDAR 脳炎）は、NMDA 型グルタミン酸受容体に対する自己抗体が原因で発症する自己免疫性脳炎である。症状としては精神症状、不随意運動、けいれん重積、自律神経症状などが特徴的である。若年女性に多いが患者の半数近くは小児であり、自己免疫性脳炎の中では最も頻度の高い疾患とされている。抗 NMDAR 脳炎の臨床的特徴に関しては成人では数多くの報告があるが、わが国における小児期の抗 NMDAR 脳炎に関するデータはない。また自己抗体が原因であることから髄液中の液性免疫に関するメディエーターが疾患のバイオマーカーとなる可能性があるが、これについても十分な研究は行われていない。そこで我々は抗体解析を行った小児期の抗 NMDAR 脳炎の臨床的特徴を明らかにし、さらに髄液中サイトカイン・ケモカインを測定して臨床像との関連を調べることを目的として本研究を実施した。

B．研究方法

2013～2016年の4年間に全国の医療機関より東京都医学総合研究所に、自己免疫性または炎症性

中枢神経疾患を疑われ抗神経抗体の解析依頼があった、18歳未満の症例計200例を対象とした。抗 NMDAR抗体はNMDA受容体を遺伝子導入した HEK293細胞を用いた cell-based assayにより解析した。ルーチン検査として市販キット（Autoimmune Encephalitis Mosaic 1, Euroimmun）を使用して免疫細胞化学法により判定し、陽性例に対してはNMDA受容体のNR1およびNR2Bサブユニットを安定発現するHEK293細胞を用いてフローサイトメトリー法により解析した。抗NMDAR脳炎と診断確定した症例については、臨床的特徴・検査所見・神経画像所見をまとめたほか、髄液中のCXCL13, CXCL10, CCL2, IL-6, IL-1 β , IL-8をbead-based multiplex assayにより測定し、非炎症性神経疾患と比較した。統計学的解析は Student t test ならびに Mann-Whitney U testを使用し、有意水準0.05として検定した。

（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

認を受けて行った（「免疫性神経疾患における自己抗体の系統的測定と昨日解析」承認番号 15-3）。研究参加にあたっては患者本人または家族より文書による同意を取得した。

C . 研究結果

200 例中 11 例で抗 NMDAR 抗体が陽性であり、抗 NMDAR 脳炎と診断した。平均年齢は 7.18 歳（2～14 歳）男性：女性 = 2:9 であった。5 例で先行感染を認め、2 例で卵巣奇形種が同定された。頻度の高い臨床症状としては精神症状（91%）、意識障害（73%）、不随意運動（73%）、けいれん（64%）が挙げられた。けいれんの多くは焦点発作であり、不随意運動としては後部ジスキネジアが多く認められた。その他の症状としては行動異常、高次脳機能障害、常同運動、自律神経障害、記憶障害、睡眠障害等が認められた。検査所見では髄液細胞増加を 7 例に認め、脳波異常は 8 例に認められた。頭部 MRI で異常を認めたのは 2 例にとどまった。11 例を 7 歳未満（5 例）と 7 歳以上（6 例）の 2 群に分けて比較したところ、言語障害は年少群でのみ認めたのに対し、常同運動は年長群でのみ認めた点が最も大きな相違点であった。髄液中サイトカイン・ケモカインの中では CXCL10 が抗 NMDAR 脳炎では対照群と比較して優位に高値（ $P = 0.018$ ）であったほか、CXCL13 も有意ではないものの抗 NMDAR 脳炎群でのみ上昇が認められた（ $P = 0.054$ ）。

D . 考察

小児期の抗 NMDAR 脳炎の臨床的特徴に関する報告は限られているが、それらと比較すると本研究では概ね一致した結果が得られた。臨床的には精神症状・不随意運動が最も多く、小児例の特徴として言語障害とけいれんが多い一方で自律神経症状は少ないという点も過去の報告の通りであった。髄液中 CXCL10 と CXCL13 が抗 NMDAR 脳炎で高値を示す傾向が見られたが、CXCL13 は B 細胞の濾胞形成に関わるケモカインであり、また CXCL10 は同じ自己抗体関連疾患である SLE との関連が示唆されていることから、これらの高値は髄液中における抗体産生の亢進

を示唆する所見と考えられた、これらは抗 NMDAR 脳炎のバイオマーカーとして有用である可能性がある。

E . 結論

わが国における小児期の抗 NMDAR 脳炎の臨床的特徴を解析し、既報告と概ね一致する結果が得られた。また髄液では抗体産生と関連があるケモカイン CXCL10, CXCL13 の上昇が認められた。

F . 研究発表

1. 論文発表

Omata T, Takahashi Y, Sakuma H, Tanaka K, Fujii K, Shimojo N, et al. Ovarian teratoma development after anti-NMDA receptor encephalitis treatment. Brain Dev. 2016 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.braindev.2016.12.003

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; 366:91-3. doi: 10.1016/j.jns.2016.04.050.

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. doi: 10.1097/INF.0000000000000979.

佐久間啓. 急性散在性脳脊髄炎．小児疾患診療のための病態生理．小児内科 2016: 48 増刊号; 358-61.

2. 学会発表

Sakuma H. Light FRES in the Brain: Does neuroinflammation trigger refractory status epilepticus? International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders, 2016.7.1-3 (7.3), Tokyo, Japan

Sakuma H. The clinical spectrum of febrile infection-related epilepsy syndrome. The 14th International Child Neurology Congress. 2016.5.1-5 (5.2), Amsterdam, the Netherlands.

佐久間啓. 小児の脱髄性疾患：臨床と研究の最前線．塩原セミナー2017．2017.1.14. 那須塩原．

佐久間啓. 「小児急性脳症診療ガイドライン」を読み解く．第13回お茶の水子ども医療総合ネットワーク研究会．2016.10.23. 青梅

佐久間啓. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎：シンポジウム「小児急性脳症の分子病態と診断・治療」．第21回日本神経感染症学会学術集会．2016.10.21-22 (10.22). 金沢

佐久間啓．脳炎・てんかんと神経炎症．第24回信州小児神経研究会．2016.7.23．松本

佐久間啓．てんかんと神経炎症：トランスレーショナル・リサーチから見えてきたてんかんと炎症の知られざる関係．第45回山陰てんかん懇話会．2016.6.24．米子

佐久間啓．難治頻回部分発作重積型急性脳炎：30年間の軌跡：「Young Investigator's Session」．第58回日本小児神経学会学術集会．2016.6.3-5 (6.4)．東京

佐久間啓．難治頻回部分発作重積型急性脳炎とけいれん重積を主徴とする急性脳症：シンポジウム「神経系の自己免疫疾患；Up to date」．第119回日本小児科学会学術集会．2016.5.13-15 (5.13)．札幌

佐久間啓．こどもの脳を守るために研究者がしていること．平成 28 年度医学研第 1 回都民講座．2016.4.27．東京

G．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症の関連遺伝子の解明に関する研究

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に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。我々は、昨年度にMERSおよびそれに類似した神経症状を呈した家族例5例について全エクソーム解析を行い、遺伝子Aにアミノ酸変異を伴うバリエーションを同定した。本年度は新たなMERS家系例について遺伝子Aの解析を行い、神経症状を認めた症例の遺伝子Aに昨年度に同定したものと同一ミスセンス変異を同定した。遺伝子Aの変異は神経症状を認めた症例にのみ存在した。これらの結果から、遺伝子AがMERSの責任遺伝子の一つである可能性がタイと思われた。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ると思われる。

A．研究目的

可逆性脳梁膨大部病変を伴う急性脳症（MERS）は、異常言動や軽度の意識障害と頭部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。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。神経学的予後は良好であり、ほとんどの例が後障害なく回復する。

我々は昨年度に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例について全エクソーム解析を行い、遺伝子Aに5例に共通したミスセンス変異を同定した。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。今年度は新たなMERS家族例4例に対し遺伝子Aの解析を施行し、MERSにおける遺伝子Aの関与について検討した。

B．研究方法

今回解析した家系について、以下のような症状を認めた。

発端者：6歳時に発熱と咽頭痛の出現の2日後に、けいれん群発と意識障害が出現した。頭部MRIにて広範な白質病変および脳梁全体の病変を認めMERSと診断された。第4病日に意識は完全回復し、第6病日のMRIでは病変は消失した。神経学的後障害を認めない

発端者の妹：2歳時に発熱の2日後にけいれん群発と意識障害とが出現した。頭部

MRI で白質および脳梁に病変を認め、MERS と診断した。第 6 病日までに改善し、現在まで神経学的後障害を認めていない。

発端者の母:6歳時に麻疹罹患した際に、発熱2日後にしゃべらなくなったあとけいれんした。その後長時間もうろう状態が続いた。

発端者の父:MERSを疑わせる病歴はない。これらの4例について遺伝子Aの解析をサンガー法による直接シーケンスにて施行した。

C . 研究結果

新たな家系4例のうち、発熱に伴う神経症状を認めた発端者・妹・母には、遺伝子Aに昨年度解析を施行した症例と同一のミスセンス変異を認めた。症状を認めなかった父には遺伝子Aの変異を認めなかった。問診上では、この昨年度に解析した家系と本年度に解析した家系には明らかな血縁関係を認めなかった。2家系に共通するミスセンス変異は、複数のデータベースに登録を認めなかった。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。

D . 考察

これまでの研究の結果から、2家系のMERS家族例について遺伝子Aの同一のミスセンス変異を見出すことができた。また、遺伝子Aの変異は、神経症状を認めた症例にのみ存在した。これらの結果は、遺伝子AがMERSの責任遺伝子である可能性を示唆する。

本研究で同定された遺伝子A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のバリエーション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ーションは、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が存在する。このことは、今回同定されたバリエーションが遺伝子Aの機能に影響する可能性を示唆する。

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で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。

今後は MERS や発熱に伴う異常言動を反復した症例を中心に、孤発例においても遺伝子Aの解析を行い遺伝子Aの役割を明らかにする予定である。また、遺伝子Aのノックアウトマウスを作成し、変異による機能変化などを解析することによって MERS の病態を明らかにすることを目指す。

E . 結論

遺伝子 A の同一のミスセンス変異を、

MERS や発熱に伴う異常言動の 2 家系に同定した。遺伝子 A が MERS の責任遺伝子の一つである可能性が高いと推測された。

F . 研究発表

1. 論文発表

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.

Okumura A, Abe S, Kurahashi H, Takasu M, Ikeno M, Nakazawa M, Igarashi A, Shimizu T. Worsening of attitudes toward epilepsy following less influential media coverage of epilepsy-related car accidents: An infodemiological approach. *Epilepsy Behav* 2016; 64: 206-11.

Kurahashi H, Okumura A, Kubota T, Kidokoro H, Maruyama K, Hayakawa M, Itakura A, Matsuzawa K, Yamamoto H, Kato T, Hayakawa F, Watanabe K. Increased fetal heart rate variability in periventricular leukomalacia. *Brain Dev* 2016; 38(2): 196-203.

Ikeno M, Okumura A, Abe S, Igarashi A, Hisata K, Shoji H, Shimizu T. Clinically silent seizures in a neonate with tuberous sclerosis. *Pediatr Int* 2016; 58(1): 58-61.

Yamakawa K, Yamagishi Y, Miyata K, Shimomura Y, Iwata A, Hori T, Mikamo H,

Okumura A. Bacteremia Caused by *Raoultella ornithinolytica* in Two Children. *Pediatr Infect Dis J* 2016; 35(4): 452-3.

Igarashi A, Okumura A, Shimojima K, Abe S, Ikeno M, Shimizu T, Yamamoto T. Focal seizures and epileptic spasms in a child with Down syndrome from a family with a PRRT2 mutation. *Brain Dev* 2016; 38(6): 597-600.

Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano S, 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 Dev* 2016; 38(7): 638-47.

Takeuchi T, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Yamamoto H, Azuma Y, Ito Y, Kurahashi N, Tsuji T, Suzuki M, Itomi K, Yamada K, Kurahashi H, Abe S, Okumura A, Maruyama K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S. The effects of co-medications on lamotrigine clearance in Japanese children with epilepsy. *Brain Dev* 2016; 38(8): 723-30.

Miyata K, Hori T, Yamakawa K, Takasu M, Hayakawa T, Shimomura Y, Iwata A, Okumura A, Nakura T, Jyoko M, Mori Y, Takahashi E, Hirato J. Medulloblastoma with epithelioid features in the

cerebellar vermis.
Pediatr Int 2016; 58(9): 908-12.

2. 学会発表

奥村彰久 . 急性脳症 Up to Date . 第624
回日本小児科学会東京都地方会講話会、東
京、2016.1.9.

奥村彰久 . 消化管感染症と重症合併症 . 脳
炎・脳症 . 第12回日本小児消化管感染症研
究会、東京、2016.2.6.

奥村彰久 . 小児の脳炎・脳症:現在と未来 .
第 90 回日本感染症学会総会、仙台、
2016.4.15.

Akihisa Okumura. Neonatal Monitoring.
The 12th International Child Neurology
Congress, Amsterdam, the Netherlands,
2016.5.2.

奥村彰久 . 急性脳症における脳波 . 第 58
回日本小児神経学会学術集会、東京、
2016.6.3.

Akihisa Okumura.
Electroencephalography in Children
with Acute Encephalopathy. The 18th
Annual Meeting of Infantile Seizure
Society, Tokyo, Japan, 2016.7.2.

奥村彰久 . 急性脳炎・脳症 : 最近の話題 .
第 27 回日本小児神経学会中国・四国地方
会、岡山、2016.7.16.

Akihisa Okumura, Shinpei Abe, Mitsuru
Ikeno, Hirokazu Kurahashi, Michihiko
Takasu, Toshiaki Shimizu. Changes in

attitude toward epilepsy after media
coverage of car accidents related to
persons with epilepsy in Japan. 第 50
回日本てんかん学会学術集会、静岡、
2016.10.7.

奥村彰久、池野充、安部信平、倉橋宏和、
高須倫彦、清水俊明 . ステロイド投与後に
胃穿孔と重症疾患ニューロパチーを来し
た可逆性膨大部病変を伴う軽症脳症の 1
例 . 第 21 回日本神経感染症学会学術大会、
金沢、2016.10.22.

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

研究要旨

てんかんを主要な症状とする先天性遺伝疾患Angelman症候群（AS）が疑われたが、遺伝学的解析でASが否定された患者76名を対象として6個の遺伝子を搭載する遺伝子パネルを作成し、次世代シーケンシングを行った。その結果、MECP2、TCF4、SLC9A6遺伝子に原因となる変異を同定し、それぞれ、Rett症候群3名、Pitt-Hopkins症候群2名、Christianson症候群1名の確定診断を行うことができた。臨床症状のみでは確定診断は困難であり、遺伝学的解析が重要であることが明らかになった。

A．研究目的

Angelman 症候群（AS）はてんかんを主要な症状とする症候群である。原因は15q11-q13に存在するUBE3A遺伝子の機能喪失であることが明らかにされている。体系的な遺伝学的解析によりASの90%の診断が可能である。一方、ASと臨床的に良く似た症状を示す別の疾患が存在する。ASは比較的頻度が高いため、これらの疾患はしばしば臨床的にASが疑われ、ASの遺伝学的診断が実施される。私たちは、長年にわたり、ASの遺伝学的診断を提供してきている。今回はASが疑われたなかに、他の遺伝病がどの程度含まれるかどうかを次世代シーケンシングで解析を行った。

B．研究方法

臨床的にASが疑われたが、SNRPN遺伝子DNAメチル化テストおよびUBE3A遺伝子のサンガー法解析で原因が同定されなかった76名を対象とした。遺伝学的解析はSLC9A6、TCF4、MBD5、CDKL5、MECP2、FOXG1の6個の遺伝子のコーディング領域を対象とするシーケンシングパネルをAmpliSeq（Life technologies）により作成し、Ion PGMにて解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子解析研究倫理審査委員会で承認された。両親から書面による同意を得た。

C．研究結果

6名中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。MECP2の変異は、p.Arg133Cys、p.Asp151Tyr、p.Arg148*であり、既報の変異がナンセンス変異であった。TCF4はVal581Glyとp.Gly496Serfs*10であり、いずれもde novo変異であった。SLC9A6の変異はc.1141-8C>Aのスプライシング変異であり、リンパ芽球を用いたRNAの解析で、正常なスプライシング産物が賛成されないことが確認された。

D．考察

今回の解析にてASが疑われたが遺伝学的にASが否定された患者の内、7.9%がRett症候群、Pitt-Hopkins症候群もしくはChristianson症候群であることが示された。今回搭載した6遺伝子はその変異がAS様の症状を示すことが知られている遺伝子である。実際に、これらの疾患がASと疑われる患者のなかに存在することが明らかになった。

これらの疾患は特に、乳児期から小児期早期には発達遅滞、てんかん、失調様運動を示し、ASと症状が重なっている。しかし、年齢が高くなるに従い、次第にそれぞれの特徴が現れる。ところが、遺伝学的診断はより早期に実施される傾向にあるため、臨床的に完全に区別することは困難であると思われる。

Christianson症候群はX連鎖劣性遺伝であり、母親が保因者の可能性があり、ASとは遺伝形式が全く異なる。このように、正確な遺伝学的診断は、

遺伝カウンセリングには必須の情報である。臨床的に完全に区別することが難しいことを考えると、今回用いたようなパネル解析などの網羅的診断は意義があると考えられる。

一方、今回搭載した遺伝子以外でも AS 様の症状を示す疾患が存在する。また、微細染色体コピー数異常も AS 様症状を示すことがある。従って、今回のパネルのみでは不十分であることは明らかである。全エキソーム解析などを用いることで、より網羅的な解析が可能になると思われる。

E . 結論

AS 様の症状を示した 76 例を解析し、6 名 7.9% に *MECP2*、*TCF4* もしくは *SLC9A6* に病因変異を同定した。AS が疑われる患者のなかに、他の遺伝性疾患が存在する。

F . 研究発表

1. 論文発表

Togawa T, Sugiura T, Ito K, Endo T, Aoyama K, Ohashi K, Negishi Y, Kudo T, Ito R, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Kure S, Saitoh S. Molecular genetic dissection and neonatal/infantile intrahepatic cholestasis using targeted next-generation sequencing. *J Pediatr* 171:171-177.e4, 2016.

Hori I, Miya F, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Novel splicing mutation in the *ASXL3* gene causing Bainbridge-Ropers syndrome. *Am J Med Genet A*. 170:1863-7, 2016.

Saito H, Watanabe M, Akita T, Ohba C, Sugai K, Ong WP, Shiraishi H, Yuasa S, Matsumoto H, Beng KT, Saitoh S, Miyatake S, Nakashima M, Miyake N, Kato M, Fukuda A, Matsumoto N. Impaired neuronal *KCC2* function by biallelic *SLC12A5* mutations in migrating focal seizures and severe developmental delay. *Sci Rep* 6:30072, 2016.

Tsutsumi M, Yokoi S, Miya F, Miyata M, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S, Kurahashi H. Novel compound heterozygous variants in *PLK4* identified in a patient with autosomal recessive microcephaly and chorioretinopathy. *Eur J Hum Genet* 24:1702-6, 2016.

2. 学会発表

堀いくみ、他. Vici症候群9例の臨床的および遺伝学的検討. 日本小児神経学会学術集会(東京)2016年6月3-5日

堀いくみ、他. CTCF遺伝子欠失を認めた2女児の臨床的および遺伝学的検討. 日本小児遺伝学会学術

集会(東京)2016年12月9-10日

Negishi Y et al. Combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway associated megalencephaly syndromes. International Congress of Human Genetics (Kyoto, Japan). 2016年4月4-7日

Hori I et al. Novel Splicing Mutation in the *ASXL3* gene causes Bainbridge-Ropers Syndrome. International Congress of Human Genetics (Kyoto, Japan). 2016年4月4-7日

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

次世代シーケンサーを用いた急性脳症・けいれん重積状態の遺伝子解析

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でも次世代シーケンサーにより遺伝子異常の解析を開始した。330例の主に難治性てんかんの症例に112個のてんかん遺伝子に対するターゲットキャプチャーシーケンス法を実施して169例に様々な遺伝子異常を見いだした。今後はこの手法と情報をもとに、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子背景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の検索探索を行った。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は 330 例で、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 関連てんかんなどであった。

次世代シーケンサー-Illumina Miseqを用いて、112個のてんかん遺伝子に対するターゲットキャプチャーシーケンス法によるエクソームシーケンスを行った。得られたバリエーションは健常者60000名超のエクソームデータで得られたバリエーション情報と比較した。この情報で極めて稀で、予測プログラムで有害性が疑われるバリエーションが見られた場合、臨床症状と照らし病原性のあるバリエーションを絞り込んだ。その後、PCRサンガー法で、両親でのバリエーションの有無を確認し、バリエーションが新生であるまたは、臨床症状と連鎖している場合は病的変異と判定した。

臨床症状から Dravet 症候群と PCDH19 関連てんかんに疑いながら、それぞれ SCN1A と PCDH19 にターゲットキャプチャーシーケンス法を用いて変異が同

定されなかった場合は、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

330 例に病的遺伝子変異を確定した症例は 169 例であった。変異が認められた主だった遺伝子は、SCN1A(43 例)、KCNQ2(15 例)、KCNT1(8 例)、PCDH19(8 例)、SCN2A(8 例)、SCN8A(8 例)であった。

D．考察

次世代シーケンサーを用いたターゲットキャプチャーシーケンス法によるエクソームシーケンスはてんかん、けいれんの遺伝子変異を網羅的に同定に有用であった。

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、本法を用いた網羅的遺伝子

検索が可能と思われた。

E . 結論

次世代シーケンサーを用いたターゲットキャプチャーシーケンス法によるエクソームシーケンスはてんかん、けいれんの遺伝子変異を網羅的に同定することが可能であった。本手法は小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝的背景の研究に有用と思われる。

F . 研究発表

1. 論文発表

Hanaya R, Niantiaro 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.

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.* 2016 in press.

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.

Meisler MH, Helman G, Hammer MF, Fureman BE, Gaillard WD, Goldin AL, Hirose S, Ishii A, Kroner BL, Lossin C, Mefford HC, Parent JM, Patel M, Schreiber J, Stewart R, Whittemore V, Wilcox K, Wagnon JL, Pearl PL, Vanderver A, Scheffer IE. SCN8A encephalopathy: Research progress and prospects. *Epilepsia.* 2016; 57(7):1027-35.

Ju J, Hirose S, Shi XY, Ishii A, Hu LY, Zou LP. Treatment with Oral ATP decreases alternating hemiplegia of childhood with de novo ATP1A3 Mutation. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11(1):55.

Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Zhang B, Uchida T, Ishii A, Hirose S. Retigabine, a Kv7.2/Kv7.3-Channel Opener, Attenuates Drug-Induced Seizures in Knock-In Mice Harboring Kcnq2 Mutations. *PLoS ONE.* 2016; 11(2):e0150095.

2. 学会発表

Kcnq2 変異マウスの薬剤誘発てんかん発作に対する K+チャネル開薬の有効性 Retigabine attenuated seizures in knock-in mice harboring Kcnq2 mutations 井原由紀子、友納優子、石井敦士、廣瀬伸一 第 119 回日本小児科学会学術集会 2016/5/13-15 札幌

How to interpret the results of a genetic test for epilepsy: What are the Limitations? / Hirose S. *Epilepsy Research Symposium, 韓国* 2016. 3/17

How to interpret the results of a genetic test for epilepsy, / Hirose S. 11th Asian & Oceanian Epilepsy Congress, Hong Kong 2016. 5/13-16

Genetic predisposition to acute encephalopathy with status epilepticus. / Saitoh M, Hoshino A, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Mizuguchi M The 18th annual meeting of infantile seizure society International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders (ISAE2016) 2016.7/1-7/3 東京

A case of dravet syndrome affected an acute encephalopathy. / Sokoda T, Nishizawa Y, Matsui J, Nishikura N, Takano T, Takeuchi Y, Ishii A, Hirose S The 18th annual meeting of infantile seizure society International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders (ISAE2016) 2016.7/1-7/3 東京

The effect of steroid pulse therapy on a case of dravet / Fujita T, Ideguchi H, Watanabe E, Tomonoh Y, Ihara Y, Inoue T, Takahashi Y, Hirose S The 18th annual meeting of infantile seizure society International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders (ISAE2016) 2016.7/1-7/3 東京
Characteristics of SCN1A Mutation locations in a Cohort of 285 Japanese Dravet Syndrome Patients Ishii A, Watkins J, Chen D, Hirose S, Hammer M AES Annual Meeting 2016.12/2-12/6 アメリカ

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

先天性無痛症に伴う骨関節感染症に関する研究

研究分担者 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
研究協力者 田中 弘志 心身障害児総合医療療育センター整形外科
研究協力者 田 啓樹 心身障害児総合医療療育センター整形外科

研究要旨

先天性無痛症患者における骨関節感染症と蜂窩織炎、更に骨関節の手術とそれに伴う感染に関する情報を収集することを目的に、東京大学医学部附属病院リハビリテーション科で診療歴のある先天性無痛症患者21名の診療録を調査した。先天性無痛無汗症20名中、6名には明らかな感染症や手術の既往がなかった。6名に感染症の治療歴があり、骨髄炎3回、蜂窩織炎3回であった。これ以外に感染と鑑別困難な関節炎が4名4回あった。手術を経験しているのは10名15回であったが、手術部位の感染はなかった。

A . 研究目的

先天性無痛症は、全身の温痛覚障害を示す遺伝性疾患で、遺伝性感覚・自律神経ニューロパシー（Hereditary Sensory and Autonomic Neuropathy: HSAN）に含まれる。発汗低下や知的障害を伴うHSAN4型と、発汗低下、知的障害を伴わないHSAN5型に分類される。日本人患者数はHSAN4型130-210名、5型30-60名と推定される希少疾患である（Haga: Am J Med Genet 2013）。

先天性無痛症、特に発汗低下を伴うHSAN4型では、発熱に引き続き脳炎を合併することがあるが、その病態は詳しく解明されていない（Haga: Pediatr Int 2015）。発熱の原因として感染症が挙げられ、骨関節系の感染も多い。日本における症例報告と診療中の患者91名の調査では、24件の骨髄炎、15件の関節炎があり、うち62%が下肢に生じ、治療法として手術が44%で行われていた（Zhang, Haga: J Orthop Sci

2014）。蜂窩織炎の合併も多いが、その頻度は不明である。さらに骨関節の手術に伴う感染を経験することがあるが、その頻度やメカニズムも不明である。

そこで本研究の目的は、先天性無痛症患者における骨関節感染症と蜂窩織炎、更に骨関節の手術とそれに伴う感染に関する情報を収集することである。

B . 研究方法

東京大学医学部附属病院リハビリテーション科で診療歴のある先天性無痛症患者21名（HSAN4型20名、5型1名、男性11名、女性10名）の診療録を調査した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従い、東京大学医学系研究科の倫理委員会の承認を得て行った。

C . 研究結果

HSAN5型の1名（3歳で診断、10歳で初

診、18歳で経過観察中の女性)は、これまでに複数回の骨折はあるが、骨関節感染症、蜂窩織炎、手術を経験していなかった。この1名を除き、HSAN4型の20名の結果を分析した結果を以下に記述する。

HSAN4型20名(男性11名、女性9名)には、姉妹1組、姉弟1組、同疾患の姉を持つ男性1名の計5名の家系例を含んでいた。初診時年齢は平均15歳(1~59歳、中央値11歳)、経過観察期間は平均4年(0~8年、中央値4年)であった。

20名中6名には明らかな感染症や手術の既往がなかった。6名に感染症の治療歴があり、骨髄炎3名3回(足趾2名2回、部位不明1名1回)、蜂窩織炎3名3回(膝周囲2名2回、部位不明1名1回)であった。これら以外に感染と鑑別困難な関節炎が4名4回(肘1回、膝2回、足関節1回)あった。手術の経験は10名15回にあり、手術部位は上肢2回(外傷後の神経縫合1回、肘部管症候群に対する手術1回)、下肢10回(骨折手術1回、変形矯正術6回、骨延長術1回、関節滑膜切除1回、感染に対する切開排膿術1回)、脊椎3回(Charcot spineに対する固定術2回、胸髄症に対する手術1回)であった。手術の合併症として、大腿骨骨折に対して用いた髄内釘のloosening1回、Charcot spineに対するinstrumentation failure1回があるが、手術部位の感染はなかった。

D. 考察

先天性無痛症、特にHSAN4型では発汗低下に伴い皮膚のバリア機能が低下し、蜂窩織炎を生じやすいとの考えがある。実際に今回の対象者20名中3名に蜂窩織炎の既往があった。また骨髄炎が3名に生じていたが、これが蜂窩織炎から波及したもののか、

それ以外の病態であるかは病歴からは不明であった。また感染と鑑別困難な関節炎を4名に認めたと、本疾患にはCharcot関節の合併が多く、化膿性関節炎とCharcot関節の鑑別は臨床的・X線学的には困難で、関節穿刺の細菌培養で起炎菌を同定できて初めて化膿性関節炎と診断可能である。両者を合併する可能性も否定できず、適切な治療につながる検査法の確立が必要である。

骨関節の手術は10名に対し15回行われていた。本疾患では痛覚低下のため、また特にHSAN4型では合併する知的障害のため手術後の安静を保つことが困難で、骨関節の病変に対する手術治療を避け、保存的治療を優先する傾向がある。これにはまた、骨関節の手術に伴い手術部位および周囲の感染を経験することも関係している。しかし本研究の結果、手術部位の感染は確認されなかったことから、強固な内固定などにより手術後の全身及び局所の安静の問題が回避できると判断すれば、手術を無理に回避する必要がない可能性が考えられる。これに関しては、今後症例数を増やして、詳細な情報を収集して判断する必要があり、複数施設での研究を検討している。

E. 結論

先天性無痛症患者における骨関節感染症や蜂窩織炎の合併は多いが、骨関節の手術に伴う感染は必ずしも多くない。

F. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

該当なし

けいれん重積型脳症を発症した無痛無汗症の一例

研究分担者 久保田雅也 国立成育医療研究センター神経内科

研究要旨

CIPAと診断された患者に三種混合ワクチン後のけいれん重積型脳症を認めた。予防接種後にけいれん重積、急性脳症を発症する疾患として乳児重症ミオクロニーてんかん(SMEI)があり、同疾患の原因遺伝子(SCN1A)についても検査したが陰性であった。その他脳症関連遺伝子も陰性であった。高体温・けいれんの持続は発症因子もしくは増悪因子と考えられ、筋弛緩薬なども用いた迅速な解熱、止痙が必要である。日頃の体温管理において環境温の調整が必要であると同時に、ダントロレンナトリウムなどが高体温予防になりうる可能性はある。

A．研究目的

先天性無痛無汗症(CIPA)では体温調整障害を認め、それに伴う高体温により急性脳症を発症し、死亡に至るケースもある。RosenbergらのCIPAのreviewでは3歳までに20%の児が高体温により死亡すると報告されている。

今回現在当科フォロー中で、CIPAと遺伝子診断されており、生後7か月時に三種混合ワクチン接種後に、高熱とけいれん発作から急性脳症を発症し、後遺症を残した児の経過を検証した。

B．研究方法

【周産期歴】在胎37週4日、2684gにて出生。

【既往歴】

3か月時 39.4 の発熱のエピソードあったが解熱。

6か月時 38 の発熱、口内炎あり
左母指を噛む自傷傾向あり。

体温は変動しやすく、汗をあまりかかず皮膚のびらんが多い、とのことであった。また体重増加不良を認めていた。

7か月時 入院前日に三種混合予防接種施行（泣かなかった）。臨床的にCIPAが疑われており、その精査と経管栄養導入目的に入院。入院翌日未明、病室が自宅より温かったことも関与したためか、体温42 で全身強直性けいれんを起こし、DZP/PHT投与するも痙攣は頓挫せず、ICU転棟。ICU

にてthiopentalを使用し痙攣は約2時間で頓挫した。筋弛緩薬を使用し体温コントロールしつつ、集中管理を行った。頭部CT上は第6病日に前頭部優位に脳浮腫著明、脳波上は第3日病日に最も活動低下所見を認めた。

後遺症として痙性四肢麻痺・重度の知的障害・症候性てんかんを残した。痙性に伴う筋緊張により体温の変動が激しくコントロールに難渋したが、ダントロレンナトリウムを導入し、緊張も緩和し体温の変動が抑えられた。

脳症後発汗テストを行い、発汗を認めず、臨床的にCIPAと診断。その後TRKA遺伝子変異も判明した。（倫理面への配慮）

患者の個人情報への配慮を行った。

C．研究結果

CIPAと診断された患者に三種混合ワクチン後のけいれん重積型脳症を認めた。

予防接種後にけいれん重積、急性脳症を発症する疾患として乳児重症ミオクロニーてんかん(SMEI)があり、同疾患の原因遺伝子(SCN1A)についても検査したが陰性であった。その他脳症関連遺伝子も陰性であった。

D．考察

CIPAに伴う急性脳症はheat stroke様の病態が想定されている。Heat strokeと類似の病態とし

てhemorrhagic shock and encephalopathy syndrome (HSES)が挙げられており、高熱に伴って急速に進行し、多臓器不全を来し高率に死に至る。本症例は42 という高熱を認め、治療抵抗性のけいれんを起こし、肝逸脱系酵素の上昇も認めしたが、脳波は第3病日に最増悪し、画像上の浮腫の進行も緩徐もしくは二相性に経過しており、典型的なHSESの経過に合致しない。

E . 結論

CIPAに伴う急性脳症の病態に関しては、まだ不明な点も多い。高体温・けいれんの持続は発症因子もしくは増悪因子と考えられ、筋弛緩薬なども用いた迅速な解熱、止痙が必要である。日頃の体温管理において環境温の調整が必要であると同時に、ダントロレンナトリウムなどが高体温予防になりうる可能性はある。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
水口雅	Reye症候群		小児科診療2016年増刊号 小児の症候群	診断と治療社	東京	2016	123
水口雅	急性脳症	「小児内科」 「小児外科」編 集委員会	小児疾患診療 のための病態 生理3, 改訂 第5版	東京医学社	東京	2016	299-304
高梨潤一	ウイルス性脳 炎	「小児内科」 「小児外科」編 集委員会	小児疾患診療 のための病態 生理3, 改訂 第5版	東京医学社	東京	2016	295-298
佐久間啓	急性散在性脳 脊髄炎	「小児内科」 「小児外科」編 集委員会	小児疾患診療 のための病態 生理3, 改訂 第5版	東京医学社	東京	2016	358-361
		小児急性脳症 診療ガイドラ イン策定委員 会	小児急性脳症 診療ガイドラ イン2016	診断と治療社	東京	2016	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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(7)	638-647	2016
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/AE RRPS.	Journal of the Neurological Sciences	368	272-276	2016
Hoshino A, Saitoh M, Miya-gawa T, Kubota M, Takana-shi JI, Miyamoto A, Tokuna-ga K, Oka A, Mizuguchi M.	Specific HLA genotypes confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy.	Genes and Immunity	17(6)	367-369	2016

Nishimura N, Higuchi Y, Kumada M, Nozaki F, Kumada T, Hoshino A, Saitoh M, Mizuguchi M.	Familial acute necrotizing encephalopathy without RANBP2 mutation: Poor outcome.	Pediatrics International	58(11)	1215-1218	2016
Oguri M, Saito Y, Fukuda C, Kishi K, Yokoyama A, Lee S, Torisu H, Toyoshima M, Sejima H, Kaji S, Hamano S, Okanishi T, Tomita Y, Maegaki Y.	Distinguishing acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion from prolonged febrile seizures by acute phase EEG spectrum analysis.	Yonago Acta Medica	59(1)	1-14	2016
西山正志、臼井愛美、岩井儀雄、大栗聖由、前垣義弘.	相関ヒストグラムを用いた小児急性脳症の判別.	電子情報通信学会論文誌	J99-D(12)	1132-1141	2016
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.	Journal of the Neurological Sciences	366	91-93	2016
Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Honda T, Yasukawa K, Takanashi J. Clinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity.	Clinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity.	Journal of the Neurological Sciences	373	138-141	2017
Miyauchi A, Monden Y, Osaka H, Takahashi Y, Yamagata T.	A case of anti-NMDAR encephalitis presented hypotensive shock during plasma exchange.	Brain and Development	38(4)	427-430	2016
Takasawa K, Takeda S, Nishioka M, Sakuma H, Morio T, Shimohira M.	Steroid-responsive status epilepticus caused by human parvovirus B19 encephalitis.	The Pediatric Infectious Disease Journal	35(2)	227-228	2016
Okumura A, Nakahara E, Ikemoto M, Abe S, Igarashi A, Nakazawa M, Takasu M, Shimizu T.	Efficacy and tolerability of high-dose phenobarbital in children with focal seizures.	Brain and Development	38(4)	414-418	2016
Hanaya R, Niantiarno FH, Kashida Y, Hosoyama H, Maruyama S, Otsubo T, Tanaka K, Ishii A, Hirose S, Arizono K.	Vagus nerve stimulation for genetic epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) accompanying seizures with impaired consciousness.	Epilepsy and Behavioral Neurology Case Reports	7	16-19	2017
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 and Development	38(1)	40-46	2016

研究者名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
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
研究分担者	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学	教 授
	佐久間 啓	東京都医学総合研究所脳発達・再生研究分野	プロジェ クチャー 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学	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病院神経内科	医 長
研究協力者	種市 尋宙	富山大学医学部小児科	助 教
	三牧 正和	帝京大学医学部小児科	教 授
	後藤 知英	神奈川県立こども医療センター神経内科	科 長

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業
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班
平成28年度 総括・分担研究報告書

発行：平成29年5月

発行者：水口 雅（研究代表者）

事務局：東京大学大学院医学系研究科 発達医科学教室

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

TEL03-5841-3515 FAX 03-5841-3628