

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 29 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 水口 雅

平成 30(2018)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

水口 雅

## II. 分担研究報告

1. 重積型脳症と熱性けいれん重積の早期鑑別に関する研究.

前垣 義弘

2. ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態の調査に関する研究

山内 秀雄

3. 興奮毒性型軽症急性脳症の研究

高梨 潤一

4. MERS 病変で発症した小脳炎に関する研究

山形 崇倫

5. 炎症性神経疾患の鑑別における髄液中サイトカイン測定の有用性に関する研究

佐久間 啓

6. 可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症の遺伝子解析に関する研究

奥村 彰久

7. 遺伝子異常によるてんかん性脳症に関する研究

齋藤 伸治

8. 多数の日本人の SCN1A 変異陽性者での遺伝型と表現型に関する研究

廣瀬 伸一

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表

# 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

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

急性脳症は生涯にわたる神経症状を呈しうる難病であるとともに、発症早期には感染症を誘因とした急性疾患としての側面を有する。近年の感染症の動向の変化が急性脳症の発症に影響していないかを検討するため、最近の3年間（2014年4月～2017年10月）における急性脳症の全国疫学調査を実施した。全国から1,255症例が報告され、前回（2010年度）の調査結果との比較検討できるデータベースが構築された。

### 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 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

小児慢性特定疾患や指定難病としての要件を満たす。急性期の病理はびまん性ないし広範囲の非炎症性脳浮腫であり、頭部画像検索（CT、MRI など）により描出される。急性脳症の分類には先行感染の病原によるウイルス学的分類（インフルエンザ脳症、HHV-6/7脳症、ロタウイルス脳症など）と臨床所見や頭部画像所見に基づく症候群分類（けいれん重積型（二相性）急性脳症（AESD）、急性壊死性脳症（ANE）、難治頻回部分発作群発型急性脳炎（AERRPS）など）とがある。急性脳症は1980年以降に日本で認識され始め、今世紀初め（2007年まで）に症候群が提唱、確立された。これを受けて2010年度には厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）重症・難治性急性脳症の病因解明と診療確立に向けた研究班（研究代表者・水口雅）が発足し、急性脳症の疫学に関する全国アンケート調査を実施した。その結果、調査期間（2007年4月～2010年6月）における日本における急性脳症の罹病率は年間400～700人と推定され、致死率は6%であること、病原別ではインフルエンザ、HHV-6/7、ロタウイルスの順、症候群別ではAESD、脳梁膨大部脳症（MERS）、ANEの順であることが判明した。また病原ウイルスと症候群との関係、症候群別の年齢分布や予後なども明らかとなった。

急性脳症は複雑疾患（多因子遺伝疾患）であり、複数の遺伝要因（遺伝子の多型や変異）と環境要因（感染症の他、薬物・毒物、栄養など）が関与して発症する。このうち環境要因とりわけ感染症の動向については、前回調査（2010年）以降に大きな変化が生じた。例えば(1)2009年

### A. 研究目的

急性脳症は感染症を契機に発症する脳疾患であり、高度かつ長時間の意識障害（昏睡）を主徴とし、重積、遷延するけいれん発作をしばしば伴う。小児期に多く、臨床経過は発症直後には急性であるものの、その後、重症例では特徴的な神経症状を呈しつつ慢性に推移するため、

に新型インフルエンザとして生じたパンデミック A/H1N1 が、季節性インフルエンザに変わった、(2)突発性発疹 (HHV-6/7 初感染) 罹患の高年齢化が報じられた、(3)ロタウイルスワクチンが日本に導入され、接種を受けた乳児数が増加した、などは急性脳症の3大病原ウイルスに関する変化であり、急性脳症の罹患率や予後に影響を及ぼす可能性が推測された。そこで本年度、当研究班では急性脳症の疫学に関する再調査を実施し、7年前の前回調査から変化が生じたか否かの検討を開始した。

## B . 研究方法

今回調査の結果を前回調査 (2010年度) の結果と比較するため、調査方法については可能な限り前回と揃えるように努めた。

症候群 (ANE、AESD、MERS) に関する診断基準は前回調査で用いたのと同じものを、今回調査でもアンケートの添付資料として用いた。2017年11月、小児科入院病床を有する日本全国の小児科専門医研修病院 (507機関) を対象として、簡易なアンケート調査を実施した。調査項目は以下のとおりである。

- I. 2014年4月以降の3年間に於いて診療した急性脳症の症例数。
- II. 各症例の発症年月、年齢、性別、病型、病原ウイルス、予後
- III. 急性脳症の既往があり、18歳以上に達しても小児科で診療を続けている患者数
- IV. 過去に成人に達した急性脳症の患者で、フォローを成人診療科 (内科等) に依頼した患者数

項目I, IIは前回調査と同じである。項目III, IVは難病研究班として、成人期移行の実態を把握するために、今回調査で新たに追加した。

(倫理面への配慮)

研究課題「急性脳症の全国疫学調査」は東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会 (疫学・観察等研究倫理委員会) における審査を経て、2017年9月21日に承認された (審査番号11585)。

## C . 研究結果

全国の小児科専門医研修病院507施設にアンケートを送付し、2018年3月までに267機関から回答を得た。回収率は52.7%であった。調査対象時期 (症例の発症日) は2014年4月から2017年10月までの3年7月とした。回答を整理、集計したところ、同時期における急性脳症の症例数は1255症例であった。

今回調査の現時点における集計結果を、前回調査と比較する形で表1に示す。

## D . 考察

前回調査 (2010年度) から7年の年月を経て今回調査 (2017年度) を実施したところ、前回とほぼ同等の回収率でアンケートを実施することができた。多くの項目について前回調査と今回調査で類似の数値が出ていることから、本調査の結果には再現性があること、前回調査と今回調査の間で結果を比較検討できることが推測された。なお今回調査の結果の詳細な解析および成人期移行の実態の把握は、2011年度に発足する厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 良質なエビデンスに基づく急性脳症の診療に向けた体制整備研究班 (研究代表者・水口雅) において進める予定である。

## E . 結論

急性脳症の疫学に関する2回目の全国調査を実施した。日本全国の小児科専門医研修病院267機関から回答を得た。集計された急性脳症の患者数は2014年4月～2017年10月の3年7月間に1,255人であった。

## F . 健康危険情報

なし。

## G . 研究発表

### 1. 論文発表

Iizuka I, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Fukushi S, Ogata M, Morikawa S, Hasegawa H, Mizuguchi M, Kurane I, Saijo M. A single vaccination of nonhuman primates with highly attenuated smallpox vaccine, LC16m8, provides long-term protection against monkeypox. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2017; 70(4): 408-415.

Kakiuchi S, Tsuji M, Nishimura H, Yoshikawa T, Wang L, Takayama-Ito M, Kinoshita H, Lim CK, Fujii H, Yamada S, Harada S, Oka A, Mizuguchi M, Taniguchi S, Saijo M.

Association of the emergence of acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 with prognosis in hematopoietic stem cell transplantation patients. *The Journal of Infectious Diseases* 2017; 215(6): 865-873.

Takanashi S, Thongprachum A, Okitsu S, Nishimura S, Kobayashi M, Kikuta H, Yamamoto A, Sugita K, Baba T, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Molecular epidemiological traits of group A rotavirus in Japanese children during transitional period of rotavirus implementation, 2011-2014. *Clinical Laboratory* 2017; 63(5): 961-970.

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.

Kaneko M, Takanashi S, Thongprachum A, Hanaoka N, Fujimoto T, Nagasawa K, Kimura H, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H.

Identification of vaccine-derived rotavirus strains in children with acute gastroenteritis in Japan, 2012-2015. *PLoS One*. 2017;12(9): e0184067.

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.

Khandoker N, Thongprachum A, Takanashi S, Okitsu S, Nishimura S, Kikuta H, Yamamoto A, Sugita K, Baba T, Kobayashi M, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis in Japan during 2014-2015: Characterization of re-emerging G2P[4] after rotavirus vaccine introduction. *Journal of Medical Virology* 2018; 90(6): 1040-1046.

水口雅. 急性脳症・脳炎. 猿田享男, 北村惣一郎 (監修) 1336 専門家による私の治療, 2017-18 版, 日本医事新報社, 東京, 2017, pp. 1592-1593.

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.

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.

水口雅. 小児急性脳症. 門脇孝, 小室一成, 宮地良樹 (監修) 日常診療に活かす診療ガイドライン UP-TO-DATE 2018-2019, メディカルレビュー社, 東京, 2018, pp. 951-953.

## 2. 学会発表

Saitoh M, Hishino A, Oka A, Mizuguchi M. Cytokine related genes polymorphism in AESD

and ANE. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Fukuoka 2017 年 5 月 11 日

Saitoh M, Hoshino A, Nishiyama S, Anzai Y, Kubota M, Takanshi J-I, Oka A, Mizuguchi M. Analysis of RANBP2 gene variants in acute necrotizing encephalopathy. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Fukuoka 2017 年 5 月 11 日

Hoshino A, Saitoh M, Kubota M, Takanshi J-I, Oka A, Mizuguchi M. Association of COX gene polymorphism with acute necrotizing encephalopathy. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Fukuoka 2017 年 5 月 11 日

Tearshima H, Anzai M, Kumagai T, Takenaka S, Kasai M, Watanabe Y, Saito M, Mizuguchi M, Kubota M. Six cases of mild acute encephalitis/encephalopathy showing paradoxical arousal responses in the electroencephalogram. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. Fukuoka 2017 年 5 月 12 日

Saitoh M, Hoshino A, Kikuchi K, Yamanaka G, Kubota M, Takanashi J, Goto T, Oka A, Mizuguchi M. NLRP3 polymorphism and risk of acute encephalopathy with status epilepticus. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 大阪, 2017 年 6 月 16 日

Hoshino A, Nishiyama S, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J, Oka A, Mizuguchi M. TLR3 gene variants in acute necrotizing encephalopathy. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 大阪, 2017 年 6 月 16 日

山崎佐和子, 大橋伯, 川島英志, 遠山潤, 齋藤真木子, 星野愛, 岡明, 水口雅. AESD と熱性けいれん症例における感受性遺伝子の比較検討. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 大阪, 2017 年 6 月 17 日

水口雅: 急性脳症の診療: 新しいガイドラインの解説. 第 106 回日本小児科学会山形地方会, 山形, 2017 年 8 月 26 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。

表 1 急性脳症の全国疫学調査

	前回（2010年度）	今回（2017年度）
調査対象期間	2007年4月～2010年6月	2014年4月～2017年10月
アンケート発送	520 機関	507 機関
アンケート回収	265 機関	267 機関
回収率	51.0%	52.7%
症例数	983	1255
男：女	497：477	673：568
年齢（中央値）	3	2
<b>【病型別】</b>		
AESD	282	432
MERS	153	230
ANE	39	32
AERRPS	6	9
分類不能	431	466
<b>【病原別】</b>		
HHV6/7	174	207
インフルエンザ	263	199
ロタ	40	47
RS	17	34
アデノ	7	22
マイコプラズマ	9	15
ムンプス	9	17
<b>【予後】</b>		
治癒	552	708
後遺症（軽/中）	218	302
後遺症（重）	133	146
死亡	55	62

## アンケート用紙

急性脳症 全国実態調査 調査票 記載年月日：2017/ /

郵送（同封の封筒）でご返送ください。

7 症例以上で書ききれない場合は、お手数ですがこの用紙をコピーしてご記入ください。

施設名： \_\_\_\_\_

I. 過去3年間（2014年4月以降）に急性脳症の患者を診療されましたか？

1) はい（人数\_\_人） 2) いいえ

II. 「はい」の場合、下の表に症例の概要の記入をお願いいたします。

No	発症年月	発症年齢	性別	病型 <sup>注1</sup>	病原ウイルス	予後 <sup>注2</sup>
1	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡
2	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡
3	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡
4	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡
5	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡
6	__年__月	__歳	男・女	ANE・AESD・MERS・ 他(_____)・分類不能	インフル・HHV6・ロタ 他(_____)・不明	治癒・後遺症(軽/中)・ 後遺症(重)・死亡

注1：ANE = 急性壊死性脳症， AESD = けいれん重積型（二相性）脳症， MERS = 脳梁膨大部脳症

注2：後遺症（重）とは歩行不能、言語不能のいずれかをきたしたものの。

III. 急性脳症の既往があり、18歳以上に達しても小児科で診療を続けている患者さまは現在、いらっしゃるでしょうか

1) はい（人数\_\_人） 2) いいえ

IV. 過去に、成人に達した急性脳症の患者さまのフォローを成人診療科（内科等）へ依頼したことはありますか。

1) はい（人数\_\_人）

病型、病原ウイルスが判明していればご記入下さい。

( \_\_\_\_\_ )

2) いいえ

ご協力ありがとうございました。



2017年10月

小児科 責任者様

平成29年度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」研究班

## 「急性脳症の疫学に関する全国調査」へのご協力をお願い

このたび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」研究班により、急性脳症の疫学を把握するためのアンケート調査を実施することとなりました。

今回の調査では日本全国における急性脳症の実態を、

病原ウイルス別：インフルエンザ、HHV-6 など

病型（症候群）別：急性壊死性脳症（ANE）、けいれん重積型（二相性）急性脳症（AESD）、

可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症（MERS）など

に分類して把握し、過去（平成22年度実施）の調査結果と比較して最近の動向を明らかにして、「小児急性脳症診療ガイドライン」の改定に向けたエビデンスを蓄積することを主目的としております。

つきましては過去3年間（2014年（平成26年）4月以降）に貴施設で診療された急性脳症の症例について、同封のアンケート用紙にご記入の上、郵送（同封の封筒）でご返送ください。

カルテを見なくても記入可能な、簡単な内容です。また、該当症例がない場合も、ぜひご返送をお願いいたします。

別紙にANE、AESD、MERSの診断基準をお示しいたします。

この調査の詳細につきましては、東大発達医科学 HP をご覧ください。またご不明の点がございましたら、下記までお問い合わせください。

ご協力のほど、よろしくお願いいたします。

急性脳症研究班 研究代表者

東京大学医学部 発達医科学 水口 雅

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

電話 03-5841-3515 FAX 03-5841-3628

Eメール mizuguchi-ky@umin.net

教室 HP <http://www.development.m.u-tokyo.ac.jp/>

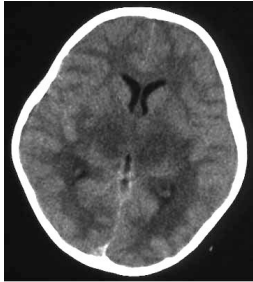
## I. 急性壊死性脳症

Acute necrotizing encephalopathy (ANE)

発熱をともなうウイルス性疾患に続発した急性脳症：意識レベルの急速な低下、痙攣。

髄液：細胞増多なし、蛋白しばしば上昇。

頭部CT、MRIによる両側対称性、多発性脳病変の証明：両側視床病変。しばしば大脳側脳室周囲白質、内包、被殻、上部脳幹被蓋、小脳髄質にも病変あり。他の脳領域に病変なし。



CT

血清トランスアミナーゼの上昇（程度はさまざま）。血中アンモニアの上昇なし。

類似疾患の除外：

A．臨床的見地からの鑑別診断：重症の細菌・ウイルス感染症、劇症肝炎。中毒性ショック、溶血性尿毒症症候群などの毒素に起因する疾患。Reye症候群、hemorrhagic shock and encephalopathy症候群、熱中症。

B．放射線学的（病理学的）見地からの鑑別診断：Leigh脳症などのミトコンドリア異常症。グルタール酸血症、メチルマロン酸血症、乳児両側線条体壊死。Wernicke脳症、一酸化炭素中毒。急性散在性脳脊髄炎、急性出血性白質脳炎などの脳炎、脳血管炎。動脈性・静脈性の梗塞、低酸素症・頭部外傷の影響。

## II. けいれん重積型（二相性）急性脳症

Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD)

[臨床像]

発熱24時間以内にけいれん（多くはけいれん重積）で発症。

意識障害はいったん改善傾向。

4～6病日にけいれん（多くは焦点発作の群発）の再発、意識障害の増悪。

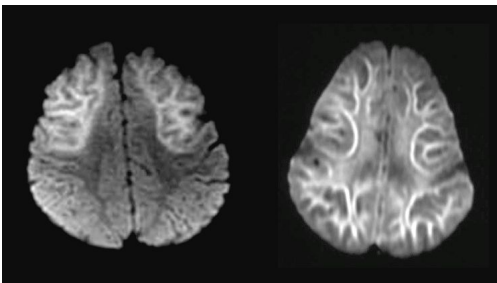
原因病原体としてインフルエンザウイルス、HHV-6,7 の頻度が高い。

軽度精神発達遅滞（発語の低下、自発性の低下）から重度の精神運動障害まで予後は様々。

[画像所見]

1,2病日に施行された MRI は正常。

3～9病日に拡散強調画像で皮質下白質高信号を認める。T2強調画像、FLAIR画像ではU fiber に沿った高信号を認めうる。



MRI拡散強調画像

## III. 可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症

Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS)

[臨床像]

発熱後1週以内に異常言動・行動、意識障害、けいれんなどで発症する。

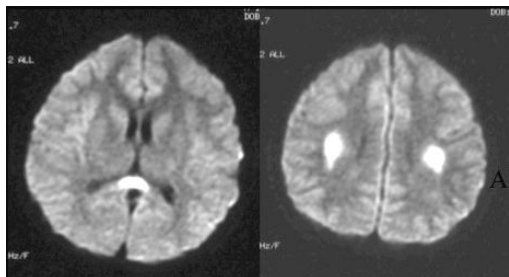
多くは神経症状発症後10日以内に後遺症なく回復する。

[画像所見]

急性期に脳梁膨大部に拡散強調画像で高信号を呈する。T1, T2信号異常は比較的軽度。

病変は脳梁全体、対称性白質に拡大しうる。

病変は1週間以内に消失し、信号異常、萎縮は残さない。



MRI 拡散強調画像

## II. 分担研究報告

## けいれん重積型急性脳症と熱性けいれん重積の早期鑑別に関する研究

研究分担者 前垣義弘 鳥取大学医学部脳神経小児科

### 研究要旨

けいれん重積型（二相性）急性脳症（AESD）と熱性けいれん（FS）の発症早期の鑑別のために脳波コヒーレンス解析を行った。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が左半球内の複数の脳部位間でコヒーレンス値が有意に低値であった。この結果から、視覚的には類似しているAESDとFSの脳波においてもコヒーレンスには違いがあり、鑑別法に利用できる可能性が示唆された。

### A．研究目的

けいれん重積型（二相性）急性脳症（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。

### B．研究方法

全国7施設からAESD8例とFS14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。  
（倫理面への配慮）  
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。

### C．研究結果

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が左半球内の複数の脳部位間でコヒーレンス値が有意に低値であった。

### D．考察

視覚的には類似しているAESDとFSの脳波においてもコヒーレンス値で違いがあり、診断法に利用できる可能性が示唆された。今回の解析は、グループ間の有意差検定であり、今後は個人の判定が可能となる解析法を開発を目指して研究を行う予定である。

### E．結論

AESDでは発症後急性期より脳の機能的結合性が低下していることが示唆された。

けいれん重積症例に対して脳波コヒーレンス解析を行うことで発症早期に、診断と予後予測を行うことが可能になる可能性がある。

### F．研究発表

#### 1. 論文発表

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.

Kuya K, Fujii S, Miyoshi F, Ohno K, Shinohara Y, Maegaki Y, Ogawa T. A case of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion: Utility of arterial spin labeling sequence. Brain Dev. 2017 ;39(1):84-88.

Hirayama Y, Saito Y, Maegaki Y; Status Epilepticus Study Group. "Symptomatic" infection-associated acute encephalopathy in children with underlying neurological disorders. Brain Dev. 39(3):243-247. 2017

小児けいれん重積 治療ガイドライン 2017 小児けいれん重積治療策定委員会編集 診断と治療社

2. 学会発表

大栗聖由, 斎藤義朗, 廣岡保明, 前垣義弘. けいれん重積型脳症と熱性けいれん重積の早期鑑別. 第 59 回日本小児神経学会総会. 平成 29 年 6 月 15-17 日. 大阪

#### **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



## ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態の調査に関する研究

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

日本におけるパレコウイルス3型（HPEV3）脳炎・脳症の実態調査をおこなった。HPEV3感染症の患者241例中35名で中枢神経感染症の診断がなされ、2次調査結果を行った結果、32名の新生児及び乳児患者についての臨床結果が得られた。MRI検査で何らかの所見を認めた症例が17例（MRI陽性群）、MRI検査実施も所見を認めなかった症例が6例（MRI陰性群）、MRI検査が行われなかった症例（MRI未実施群）が9例であった。MRI陽性群では4例で後遺症を認め、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。血清フェリチン・尿中 2ミクログロブリン上昇は炎症性サイトカインの上昇を強い関連のあることが知られていること、髄液中細胞増多を認めなかったことなどから、HPEV3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。

### 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脳炎・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

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施設及び日本小児科学会研修施設及び支援施設（合計837施設）に対して、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1次調査をおこない、該当症例が存在している場合にさらに詳細な2次調査をおこなった。  
（倫理面への配慮）

2次調査については個人情報を連結可能な状態での匿名化処理された情報を集計し取り扱った。分担研究者施設では病院IRB審査を受けて承認を受けた（承認番号16-060-2）

### C．研究結果

合計837の日本小児科学会認定研修施設及び日本周産期新生児学会認定研修施設に対して2段階のアンケート調査を行ったところ456施設（54.5%）からの回答が得られ、241症例のHPEV3感染症の患者を確認、更にそのうちの35名で中枢神経感染症の診断がなされ、そのうちの32名の新生児及び乳児患者についての2次調査結果が得られた。MRI検査で何らかの所見を認めた症例が17例（MRI陽性群）MRI検査実施も所見を認めなかった症例が6例（MRI陰性群）MRI検査が行われなかった症例（MRI未実施群）が9例であった。身体所見上はMRI陽性群では他の2群との比較でけいれん症状が多い傾向を認めた。特徴的な皮疹は3群で認められたが、陽性率は高くはなかった（22-50%）。髄液細胞



数増多は3群すべてでほとんどみられない傾向にあった。血液検査ではMRI陽性群と陰性群で類似の傾向を認め、特に肝逸脱酵素上昇、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を認めた。脳波検査ではMRI陽性群で異常所見が多く認められた。MRI陽性群の特徴として、両側性、深部白質領域にT2延長もしくは拡散強調画像で拡散低下を認める症例が多く、発症後0.5から24ヶ月後のフォローアップの画像検査でも17例中10例で所見の残存が認められた。後遺症の評価は4から33ヶ月後の評価において4例で神経学的な後遺症を認めていた。その他MRI未実施群の1例で難聴を認めた。

#### D. 考察

HPeV3感染症の診断はウイルス学的な結果によってなされるために早期の診断は困難であるが、乳児期早期以前の発熱性疾患において身体所見上特徴的な皮疹を認めた場合には流行も踏まえてHPeV3の感染症を念頭に入れる必要がある。MRI所見の有無には中枢神経感染症状としてはいれんが判断に有用な可能性がある。また意識障害は年齢的に判断が困難であるため、脳波の異常を参考にMRI検査を考慮すべきである。MRI陽性群と陰性群を問わず、肝逸脱酵素上昇、血液凝固異常、血清フェリチン高値、尿中2ミクログロブリン高値を認めていたが、これらの検査データはTNFやインターフェロンといった炎症性サイトカインの上昇を示唆することが知られており、髄液細胞数増多がないことや、血液から髄液にウイルスが漏出するという報告からも、これら炎症性サイトカインの上昇は新生児期および乳児期早期のMRI所見を呈さないHPeV3重症感染症だけでなくMRI画像で特徴付けられるHPeV3脳炎/脳症の病態にも共通して関与している可能性が考えられた。

#### E. 結論

高サイトカイン血症が新生児期および乳児期早期のMRI所見を呈さないHPeV3重症感染症だけでなくMRI画像で特徴付けられるHPeV3脳炎/脳症の病態にも共通して関与している可能性があり、直接的なサイトカイン測定をおこない確認していく必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

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 2017,2:1(DOI:10.4172/2472-100X.1000119).

##### 2. 学会発表

Yuichi Abe, Hiroko Kakei, Keisuke Okada, Kaori Sassa, Yuki Shimizu, Sanae Machida, Hideo Yamanouchi. Human parechovirus type 3 (HPeV3) causes acute encephalopathy in neonatal and early infantile periods? A report of two cases. 14th Asian and Oceania Congress of Child Neurology (AOCCN 2017), Fukuoka, 2017.11-14.

Yuichi Abe, Kaori Sassa, Hideo Yamanouchi. Nationwide survey on Human Parechovirus type 3-associated acute encephalitis /encephalopathy in Japan. 第59回日本小児神経学会学術集会, 大阪, 2017.6.15-17.

#### 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  
該当事項なし



## 興奮毒性型軽症急性脳症の研究

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15症例の脳代謝を、MR spectroscopyで後方視的に検討した。7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り、いずれの症例も後遺症を残さなかった。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をclinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity(MEEX)として提唱した。

### 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2017年3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 15 症例のうち、7 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異常を求めず、神経学的後遺症を残さなかった。

### 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 7 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(MEEX)を提唱する。

### 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おり、興奮毒性型軽症急性脳症(MEEX)を提唱する。

### F．研究発表

1. 論文発表

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.

10.1016/j.jns.2017.06.045

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 in press.

福嶋直弥, 鈴木美紀, 小川諒, 林北見, 高梨潤一, 大橋高志. 片側大脳皮質脳炎を生じた抗 MOG 抗体陽性多相性散在性脳脊髄炎の 1 例. 臨床神経学 2017; 57(11): 723-728

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.

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

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

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.

高梨潤一: ここがポイント 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

2. 学会発表

高梨潤一: 熱性けいれんと小児急性脳症 第 19 回成田小児救急勉強会 2017.2.24.

Takanashi Jun-ichi: Neuroimaging: How to

interpret brain MRI. 14th Asian Oceanian Congress of Child Neurology, Fukuoka, Japan, 2017.5.10.

高梨潤一: Up to date neuroimaging in leukoencephalopathy. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 大阪, 2017.6.14.

高梨潤一: 小児急性脳症の臨床・画像・診療ガイドライン. 第 14 回京都小児救急疾患研究会, 2017.5.20

高梨潤一: Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) の画像診断. 京都府立医科大学放射線科診療学講座カンファレンス, 京都, 2017.7.6.

高梨潤一: 興奮毒性型急性脳症 up to date. 第 72 回 神経放射線カンファレンス, 東京, 2017.8.7.

高梨潤一: 小児救急における神経画像診断. 第 3 回秋田小児神経診療研究会, 秋田, 2017.10.27.

平井希, 高梨潤一, ほか. 興奮毒性の関与する小児軽症急性脳症 第 22 回日本神経感染症学会総会 2017.10.13

高梨潤一: 小児けいれん性疾患と八千代医療センターにおける医療連携. 第 45 回東葛北部小児科臨床談話会, 柏市, 2017.12.7.

## 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



## MERS病変で発症した小脳炎に関する研究

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

MRI で脳梁膨大部の拡散低下と小脳炎を呈した例について、自験例2例と文献上確認出来た13例について、病因、経過、治療と予後を検討した。病因は、ロタウィルス胃腸炎に合併した例が10/15例と最も多かった。後遺症を残した例が11/15例と多く、程度はさまざまである。長期経過で予後が改善する例もある。当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おり、早期に治療が有効である可能性も考えられ、有効性の検証が必要である。ロタウィルスワクチン普及により減少することが期待されるが、他の病因でも発症しており、病態の解明が必要である。

### A．研究目的

我々は、急性脳症の病因・病態解明研究として、以下の研究を実施している。

(1) 早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

てんかん重積状態後、意識障害が遷延している児に対し、早期にステロイドパルス療法を実施し、二相目の意識障害・けいれんの発症予防効果を確認している。

(2) 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

二相性の脳症を発症した患者の一相目のてんかん重積状態後早期の髄液で、二相目を起こさなかった児との比較によるプロテオーム解析により、けいれん重積型急性脳症のバイオマーカーの同定を試みる。

(3) MERS病変で発症した小脳炎の検討

病初期は、意識障害とMRIで脳梁膨大部の拡散低下を呈し、数日後に小脳症状とMRIで小脳白質内側の拡散低下を呈した小脳炎症例を2例経験した。脳梁膨大部の拡散低下を呈する場合、可逆性の脳梁膨大部病変を有する脳炎脳症(MERS)として予後良好なことが多いが、本例は2例とも後遺症を残した。同様の症例が近年報告されており、MERS病変を呈する脳症の中でも注意すべき病態であり、既報告例を含め、治療・経過について検討した。

### B．研究方法

(1) 早期ステロイドパルス療法によるけいれん

重積型急性脳症発症予防効果の検討

けいれん後の意識障害が8時間以上遷延した例に、ステロイドパルス療法(mPSL 30mg/kg/dose (max 1g/dose))を1日1回、3日間点滴静注した。

(2) 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

昨年度までに、AESD3例と一相性脳症3例で、初回痙攣後10時間以内の髄液で2-Dimensional Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (2D-DIGE)で蛋白分離し、発現量に差がある蛋白をmass spectrum (MS/MS analysis)で同定した。AESDで発現増加していたスポット6か所、発現低下していたスポット4か所の蛋白を同定し、他の患者髄液でWestern blotでの確認を継続した。

(3) MERS病変で発症した小脳炎の検討

脳炎を伴った脳梁膨大部病変を有する脳炎脳症の自験例2例と既報告例において、病因、経過、治療と予後について検討した。

(倫理面への配慮)

「急性脳症のプロテオーム解析を主体とした病因・病態解析」として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、ステロイド治療については、リスク等を説明して、またサンプル収集等の実施にあたっては、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

(1) 早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

初回痙攣後のステロイドパルス療法実施を継続した。1例は、ステロイドパルス療法実施したが、二相性の脳症を発症した。

(2) 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

髄液プロテオーム解析で検出された蛋白について、+他の患者の髄液でWestern blotで確認した結果、両群間で発現の有意差は検出されず、有意なバイオマーカーは同定されなかった。

(3) MERS病変で発症した小脳炎の検討

(症例1) 2歳の女児。発熱(39)と咳嗽が出現し、翌日(第一病日)左顔面強直し一点凝視、四肢を屈曲する複雑部分発作を群発した。発作間歇期の意識は清明だった。第2病日に発作群発と意識障害があり、入院した。入院時、体温 39.1、GCS: E2V2M4、JCS: -3。傾眠傾向で痛み刺激で開眼した。頂部硬直なし。対光反射迅速で左右差なし。深部腱反射正常で病的反射なし。検査所見上、WBC 14300/ $\mu$ l、CRP 2.57mg/dl、AST 23 mU/ml、ALT 6 mU/ml、CPK 86 mU/ml、BS 87 mg/dl、フェリチン 78ng/ml、髄液細胞数 231/mm<sup>3</sup>(単核 28/mm<sup>3</sup>、多核 203/mm<sup>3</sup>)、蛋白 39mg/dl、糖 66mg/dl。脳波上、3-4Hzの全般性高振幅徐波で、時折4Hzの波burstを認めた。けいれん群発に対し、ミダゾラム(MDZ)とフォスフェニトイン静注し、ステロイドパルス療法開始。第3病日に頭部MRI上、脳梁膨大部病変あり。第4病日に複雑部分発作の重積出現。頭部MRIで小脳病変あり。IVIg 1g/kg/dose静注。第5病日から、徐々に意識改善してきたが、第6病日には複雑部分発作出現し、MDZ持続静注を要した。第7病日から覚醒し座位保持可で、発語あり。第9病日から失調歩行開始。その後、徐々に発語、運動機能の改善を認めた。第12病日のMRIで小脳白質内側にDWI低下が残存していた。発症3か月後で、会話は2語文。運動は、病前は走れていたが、小走りが可能な状態で、活動性は低く、全身性强直発作1回あり。

(症例2) 5歳の女児。嘔吐と下痢が出現し、第2病日から間歇的な手の震えを繰り返す様になった。ロタウイルス陽性。第4病日に意識障害あり、下肢の強直を繰り返すため、当院転院。入院時、体温 38.0、GCS: E2V2M4、JCS: -200。頂部硬直なし。両下肢に軽度の筋緊張亢進があるが、深部腱反射正常で病的反射なし。WBC 6700/ $\mu$ l、CRP 0.84mg/dl、AST 45mU/ml、ALT 16mU/ml、CPK 280 mU/ml、BS 141mg/dl、フェリチン 42ng/ml、髄液細胞数 145/mm<sup>3</sup>(単核 10/mm<sup>3</sup>、多核 135/mm<sup>3</sup>)、蛋白 44mg/dl、糖 81mg/dl。脳波上、側頭~後頭に高振幅徐波あり。第5病日からステロイドパルス療法開始。頭部MRI上、脳梁膨大部病変あり。

以後もJCS -3の意識障害遷延。IVIg 1g/kg/dose静注。第9病日、MRI上小脳病変あり。ステロイドパルス療法は3クール実施。第

33病日に座位保持、第48病日に伝い歩き可。第58病日から失調歩行。企図振戦あり。発症1年3か月後(6歳)で、知的レベルは境界域、運動機能正常。

(既報告例のまとめ) MERS + 小脳炎は、2003~2017年で、13例の報告あり。発症年齢 平均3.3歳(2-7歳)で男女比3:10。全例基礎疾患なし。発熱の病原体は、ロタウイルス 9例、ムンプスウイルス 1例、アデノウイルス 1例、HHV6ウイルス 1例、RSウイルス 1例。感染症発症第1-4病日に意識障害(12/13)、痙攣(9/13)で発症。第3-12病日に無言、体幹失調、構音障害、測定障害、flutter-like oscillationなど小脳症状を呈していた。病初期(Day1-5)のMRIでMERS+白質病変、小脳病変が検出されていたが、小脳病変はMERS病変出現0日から6日で、遅れて出現することもあった。後遺症として、MRI上小脳萎縮(6/13例)、構音障害(7/13例)、体幹失調(2/13例)、なし(4/13例)。後遺症なしは、ロタ(1/10)、ムンプス、HHV6、RS感染例。後遺症なし例におけるステロイドパルス療法開始時期は、小脳炎症状出現前2例、小脳炎症状出現後1例、治療時期不明1例であった。

## D. 考察

(1) 早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

昨年までのデータでは、ステロイドパルス療法が二相性の脳症発症予防に有効であると考えられていた。本年度、1例発症しており、有効性については、さらに継続しての解析が必要である。

(2) 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

これまでの解析で、有意なバイオマーカーは検出されなかった。さらに検体数を増やし、プロテオームの再検が必要であり、検体収集を継続する。

(3) MERS病変で発症した小脳炎の検討

MERS+小脳炎は、ロ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)。ロタウイルス胃腸炎の2-5%で何らかの神経症状(痙攣~脳症)を呈すると報告されており、ロタウイルス関連脳症では、病初期MRIではMERS病変のみでも小脳炎等の後遺症を残す合併症に注意が必要である。自験例を含め、11/15例と多くの例で後遺症を残しているが、程度はさまざま、また、長期経過で予後が改善する例もある。当科の症例2は、2か月以上失調症状が残存したが、1年後には運動面は正常になり、知的レベルも境界域になった。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おり、

早期に治療すれば有効である可能性も考えられ、有効性の検証が必要である。ロタウィルスワクチン普及により減少することが期待されるが、他の病因でも発症しており、病態の解明が必要であり、また、小脳炎を来すリスク因子の同定と、早期診断のバイオマーカー検出が必要である。

#### **E . 結論**

( 1 ) 早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

ステロイドパルス療法の二相性脳症発症予防効果は、さらに継続しての解析が必要である。

( 3 ) MERS病変で発症した小脳炎の検討

MERS+小脳炎は、ロタウィルス胃腸炎に合併することが多く、また、小脳炎所見は遅れることも多いため、ロタウィルス胃腸炎では、脳梁膨大部病変出現時も注意が必要である。ロタウィ

ルスワクチン普及により減少することが期待されるが、他の病因でも発症しており、病態の解明と対応法が求められる。

#### **F . 研究発表**

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

小林 瑞、池田尚広、宮内彰彦、長嶋雅子、門田行史、小坂 仁、山形崇倫 早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討. 第 59 回日本小児神経学会総会 2017 年 6 月 15 日大阪

#### **G . 知的財産権の出願・登録状況**

( 予定を含む。 )

なし。



## 炎症性神経疾患の鑑別における髄液中サイトカイン測定の有用性に関する研究

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

急性脳症を含む炎症性神経疾患においては炎症性サイトカインが病態に深く関与することが示唆されているが、これらを疾患得的なバイオマーカーとして活用できるかどうかは不明である。本研究では様々な炎症性神経疾患における髄液中サイトカインプロファイルを解析し、疾患毎の比較を行った。炎症性サイトカインの増加は急性脳炎とFIRES/AERRPSで最も顕著であり、またIL-6, IL-8, CXCL1, CXCL10, CXCL13は非炎症性神経疾患と比べて有意差をもって増加していた。複数の項目を同時に測定することにより、炎症性サイトカインは急性脳症等の疾患特異的バイオマーカーとして利用できる可能性が示唆された。

### A．研究目的

急性脳症の多くは感染症、特にウイルス感染に伴い発症する。発症の詳細なメカニズムは未だ不明であるが、ウイルスの中枢神経系への直接浸潤は一般に認められないことから、ウイルスに対する異常な免疫反応の賦活が発症に影響すると考えられている。炎症性サイトカインは免疫反応の比較的早い段階で産生され、炎症反応を誘導することで免疫細胞の炎症局所への遊走を促す働きがある。例えば急性壊死性脳症や出血性ショック脳症症候群はサイトカインストーム型脳症とも称されるように、血脳中炎症性サイトカインの著増を特徴とする。難治頻回部分発作重積型急性脳炎においては髄液中の炎症性サイトカイン・ケモカインが著増している。さらに様々な急性脳症の発症にサイトカインまたはその受容体の遺伝子多型が関与するという報告がある。このように炎症性サイトカインは急性脳症の key molecule であり、同時に疾患のバイオマーカーとしても重要であると推定される。しかし炎症性サイトカインの増加は急性脳症のみならず他の様々な炎症性神経疾患においても認められる。そこで炎症性サイトカインを急性脳症のマーカーとして活用するためには、他疾患も含めて複数の項目を同時測定し、疾患得的なサイトカインプロファイルを明らかにする必要がある。そこで本研究では様々な炎症性神経疾患において髄液中の炎症性サイトカインを測定し、疾患毎の特徴を明らかにすることを試みた。

### B．研究方法

2対象は2014～2017年に抗神経抗体解析等の目的で、共同研究機関から東京都医学総合研究所へ送付された髄液179検体である。疾患の内訳は急性脳炎(8)、HSES等サイトカインストーム型脳症(3)、AESD(2)、FIRES/AERRPS(25)、ADEM(4)、脱髄性疾患(5)、MOG抗体関連脱髄性疾患(12)、NMDAR脳炎(13)、辺縁系脳炎(2)、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+)(14)、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(-)(23)、大脳基底核脳炎(6)、小舞蹈病(6)、橋本脳症(4)、その他炎症性神経疾患 OIND(13)、非炎症性神経疾患 NIND(39)であった。髄液中炎症性サイトカインはBead-based multiplex assay (Bio-Plex, Bio-Rad)による多項目同時解析によりIL-1, IL-6, IL-8, CCL2, CXCL1, CXCL10, CXCL13の7項目を測定した。統計学的解析はKruskal-Wallis法およびSteel-Dwass post-hoc testを用い、 $P < 0.05$ を有意水準とした。

(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得た。研究への参加にあたり患者または家族より文書による同意を取得した。

### C．研究結果

#### A. 各種サイトカインの疾患間比較

##### 1) IL-6

急性脳炎、FIRES/AERRPS、抗MOG抗体関連脱髄性疾患、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+)  
では非炎症

性神経疾患と比較して有意に高値を示した。またHSES, ADEM, 橋本脳症でもやや高い傾向を示した。

#### 2) IL-8

急性脳炎、FIRES/AERRPS、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+)では有意に高値を示した。またHSES, ADEM, 抗MOG抗体関連脱髄性疾患、橋本脳症でもやや高い傾向を示した。

#### 3) CXCL1

急性脳炎、FIRES/AERRPSでは有意に高値を示した。また抗MOG抗体関連脱髄性疾患、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+), 橋本脳症でもやや高い傾向を示した。

#### 4) CXCL10

急性脳炎、FIRES/AERRPS、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+)では有意に高値を示した。またADEM, 抗NMDAR脳炎、抗MOG抗体関連脱髄性疾患、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(-)、大脳基底核脳炎、橋本脳症でもやや高い傾向を示した。

#### 5) CCL2

有意に高値を示した疾患はなかったが、HSES, FIRES/AERRPS、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+)でやや高い傾向を示した。

#### 6) IL-1

いずれの疾患でも上昇はほとんど見られなかった。

#### 7) CXCL13

FIRES/AERRPS、抗MOG抗体関連脱髄性疾患では有意に高値を示した。また急性脳炎、抗NMDAR脳炎、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(-)でやや高い傾向を示した。

### B. 疾患別のサイトカインプロファイル

急性脳炎、FIRES/AERRPS、抗MOG抗体関連脱髄性疾患、自己免疫性脳炎：髄液細胞増加(+), 橋本脳症では多くの炎症性サイトカインが上昇していた。

### D. 考察

疾患ごとの特徴としては

- 1) 急性脳炎・FIRESでは軒並み高値を示す
- 2) 自己抗体が関与する疾患の中で、抗MOG抗体関連疾患では炎症の関与が強いが、NMDAR脳炎では弱く、自己抗体の種類によっても傾向が異なる
- 3) 自己免疫性脳炎では髄液細胞増加の有無によってプロファイルが大きく異なる
- 4) 髄液細胞増加が見られる群には急性脳炎が含まれている可能性がある
- 5) ADEM、橋本脳症でもある程度上昇が認められる
- 6) 脱髄性疾患、小舞蹈病では上昇がほとんど見られない

また測定項目ごとの特徴としては

- 1) IL-6、IL-8、CXCL1は比較的似た動態を示し、炎症の程度を反映すると考えられる

2) CXCL1はIL-6、IL-8と比べ感度がやや劣る

3) CXCL10は最も多くの疾患で変動が見られる感度の高いマーカーで、炎症に加えインターフェロンの効果も反映すると考えられる

4) CCL2上昇の意義は不明

5) IL-1 はほとんど変化が見られない

6) CXCL13は炎症性疾患に加えて自己抗体が関与する疾患において高値となる傾向がある等の傾向が明らかになった。

### E. 結論

髄液中サイトカイン・ケモカインの著しい上昇は、急性脳炎およびFIRESで認められることが多い。疾患ごとにサイトカインプロファイルは異なり、複数の項目を測定することにより診断の補助としての役割が期待できる。髄液中サイトカイン・ケモカインの中では、IL-6、IL-8、CXCL10、CXCL13が優れたバイオマーカーである。感染症とそれ以外の疾患(特にFIRES)を鑑別するためのバイオマーカーの同定が必要である。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

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]

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]

3) 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.

4) Ishida S, Yasukawa K, Koizumi M, Abe K, Hirai N, Honda T, Sakuma H, Tada H, Takanashi JI. Excitotoxicity in encephalopathy associated with STEC O-157 infection. *Brain Dev.* 2017 40: 357-360.

Saika R, \*Sakuma H, Noto D, Yamaguchi S, Yamamura T, Miyake S. MicroRNA-101a regulates microglial morphology and inflammation. *J Neuroinflammation.* 2017 14:109

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.

## 2. 学会発表

Sakuma H. Neurological complications of viral infection in children. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017.5.11-14 (5.13), Fukuoka, Japan

佐久間啓．てんかんとグリア細胞．Epilepsy Expert Symposium for Pediatrician. 2017.11.11. 東京

佐久間啓．脳炎脳症に対する分子標的治療の可能性：シンポジウム「脳炎脳症の治療戦略」．第59回日本小児神経学会学術集会 2017.6.15-17 (6.17)．大阪

## G . 知的財産権の出願・登録状況

( 予定を含む。 )

### 1. 特許取得

特記事項なし

### 2. 実用新案登録

特記事項なし

### 3. その他

特記事項なし

## 可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳症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拡散強調画像において脳梁膨大部に一過性の拡散能低下を認める急性脳症のサブタイプである。現在までMERSの発症機序は解明されていない。我々は、昨年度までに2家系のMERS家族例に対し全エクソーム解析を用いた遺伝子解析を施行した。その結果、2家系のMERS患者にMYRF遺伝子の同一のミスセンス変異を同定した。HEK細胞にミスセンス変異を導入したMYRF蛋白を発現させてルシフェラーゼアッセイにて転写活性を測定したところ、変異を導入した蛋白は野生型に比べて機能低下を示した。33例のMERS孤発例に対しMYRF遺伝子の変異の有無を解析したところ、変異を認めた症例は無かった。これらの結果からMYRF遺伝子は家族性MERSの原因遺伝子であり、その機能低下がMERSの発症と関連する可能性が示唆された。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拡散強調画像において脳梁膨大部に一過性の拡散能低下を認める急性脳症のサブタイプである。症例によっては、拡散能低下をが脳梁全体や半卵円中心にも認めることがある。一般にMERSの脳病変は数日～1週間以内に消失し、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考えられている。現在までMERSの病態は十分に明らかになっていない。これまでに、SIADHや自然免疫反応炎症の関与が示唆されているが、それらの因子と病変や神経症状との関係は未解明である。

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。我々は昨年度までに、2家系の家族性MERS症例においてエクソーム解析を行い、MYRF 遺伝子に2家系に共通するミスセンス変異を認め、MERSの責任遺伝子である可能性が濃厚であると考えた。今年度は、MERS孤発例においてMYRF遺伝子変異の有無を解析するとともに、ルシフェラーゼアッセイを用いて我々が同定した遺伝子変異がMYRF蛋白に与える影響を解析した。

### B．研究方法

#### I．MERS 孤発例の遺伝子解析

対象は、MERS 孤発例 33 例である。MERS の診断は、以下の全てを満たすものとした。

- 1) 軽度意識障害 and/or 異常言動が 24 時間以上持続する。
  - 2) 頭部 MRI で脳梁膨大部に一過性の拡散低下を認める。脳梁全体および半卵円中心に同様の異常を認めることもある。
  - 3) 1 週間以内に後障害なく回復し、頭部 MRI 異常も消失する
  - 4) 他の神経疾患が除外できる
- MYRF 遺伝子解析はサンガー法にて行った。

## II . 遺伝子変異による MYRF 蛋白の機能への影響の解析

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、ルシフェラーゼアッセイにて MYRF 遺伝子の c.1208A>G 変異による転写活性変化を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究については、愛知医科大学医学部、東京大学医学部、名古屋大学医学部の倫理委員会の承認を得て施行した。

## C . 研究結果

### I . MERS 孤発例の遺伝子解析

33 例の MERS 孤発例において MYRF 遺伝子の変異を認めなかった。

### II . 遺伝子変異による MYRF 蛋白の機能への影響の解析

ルシフェラーゼアッセイの結果を図 1

に示す。我々が同定した c.1208A>G 変異を MYRF 蛋白に導入することにより、ラット *Rffl* 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。

## D . 考察

昨年度までの研究で、我々は MYRF 遺伝子に 2 家系の MERS 家族例に同一のミスセンス変異を同定した。この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。これらのことから MYRF 遺伝子の変異が MERS の原因であると推定していたが、その裏づけは不十分であった。

本年度の研究では、ルシフェラーゼアッセイを用いて変異の導入による MYRF 蛋白の機能変化を解析した。その結果、我々が同定した c.1208A>G 変異を導入することによってその活性が明らかに減少することが示された。この結果は、MYRF 遺伝子の変異が MERS の原因であることを支持するものである。現在まで MYRF 遺伝子と関連する疾患の報告はなく、MYRF 遺伝子がヒトの疾患に関与することが初めて証明されたと考える。MYRF 遺伝子は脳白質の髄鞘の維持に重要な役割を果たすと推定されており、MERS の発症機序を考察する上でも重要な知見が得られたと考える。

一方、MERS 孤発例では MYRF 遺伝子の変異を認めず、その関与を証明することはできなかった。この結果は、MERS 全体の中では MYRF 遺伝子の関与はそれほど大きなものはない可能性を示唆する。MERS 家族

例は、孤発例に比較して発症時の年齢がやや高く、画像異常が広範である傾向がある。家族性 MERS は、MERS の中でもやや特異な位置を占める可能性がある。しかし、*MYRF* 遺伝子変異の関与の発見は、孤発性 MERS の病因を考える上でも大きな手がかりを与えらると思われる。すなわち、髄鞘の維持の障害が MERS の原因であるとするならば、孤発性 MERS の原因も髄鞘の維持に関連した遺伝子にある可能性がある。現在 MERS 孤発例について全エクソーム解析を試行しており、今後も研究を継続しその原因の解明を試みる。

## E . 結論

MERS 孤発例では *MYRF* 遺伝子の解析を行ったが変異を認められた症例は無く、現時点では *MYRF* 遺伝子が孤発性の MERS に関与している証拠は得られなかった。

一方、我々が同定したミスセンス変異は *MYRF* 蛋白の転写活性を明らかに低下させることが判明し、病的意義を持つことが明らかになった。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。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

Ikeno M, Abe S, Kurahashi H, Takasu M, Shimizu T, Okumura A. Gastric perforation and critical illness polyneuropathy after steroid treatment in a patient with encephalitis/encephalopathy with transient splenic lesion. *Brain Dev* 2017;39(4):356-360.

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.

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.

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.

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. Ann Neurol 2018; 83(1): 98-106.

Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T; Committee on Pediatric Nutrition of the Child Health Consortium of Japan. Vitamin B1 Deficiency Related to Excessive Soft Drink Consumption in Japan. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2018 in press.

Muto T, Nago N, Kurahashi H, Minagawa H, Okumura A. A One-Month-Old Boy With a Seizure During a Febrile Illness. Clin Pediatr 2018;57(3):355-357.

Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; AFM collaborative study investigators. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 2018;66(5):653-664.

## 2. 学会発表

Akihisa Okumura. Neuophysiological Aspects of Brain Injuries in Neonates. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Fukuoka, 2017.5.12.

奥村彰久、森壘 . 急性弛緩性脊髄炎の MRI

所見 . 第 59 回日本小児神経学会学術集会、大阪、2017.6.16

奥村彰久 . 急性発作の診療: 新生児と小児 . 第10回日本てんかん学会東海・北陸地方会、岐阜、2017.7.8.

Akihisa Okumura. Neonatal Seizures: from Bench to Incubator: When, How, and What to Treat? The 32nd International Epilepsy Congress, Barcelona, Spain, 2017.9.4.

奥村彰久 . 急性脳症診療ガイドラインを読み解く . 第 11 回東海地区小児神経セミナー、名古屋、2017.9.9

奥村彰久、森壘 . 小児の急性弛緩性脊髄炎の MRI 所見 . 第 22 回日本神経感染症学会学術大会、北九州、2017.10.14

奥村彰久 . 急性脳症における脳波の意義と後障害としてのてんかん: インフルエンザ脳症を中心に . 第 51 回日本てんかん学会学術集荷、京都、2017.11.4

## 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

## 遺伝子異常によるてんかん性脳症に関する研究

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

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た。てんかん重積を示す脳炎脳症症候群の基礎疾患として遺伝性てんかん性脳症は重要な位置を占める。原因となる遺伝子は多数あるが、機能的に分類することができる。その中で、治療法に関連する一群が注目されている。私たちはmTOR経路の機能亢進により引き起こされるてんかん性脳症に注目した。mTOR経路の機能亢進は巨脳症を示すことが多いので、巨脳症をターゲットとして遺伝子解析および生化学的解析を実施し、そのてんかんの特徴を明らかにすることで、将来のmTOR阻害剤による臨床研究の基礎データを得た。

### A．研究目的

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、mTOR経路に注目した。mTOR経路は神経細胞の増殖に必須の経路であり、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。このようにmTOR経路の変異はてんかんの原因として重要である。さらに、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。しかし、mTOR経路に注目した網羅的遺伝学的研究は少ない。そこで、私たちはmTOR経路に関連する15遺伝子を搭載した遺伝子パネルを構築し、巨脳症患者を対象として遺伝学的解析を実施した。さらに生化学的解析を行った。

### B．研究方法

+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。（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。

### C．研究結果

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。SHOC2はパネルに搭載されていないが、全エキソーム解析で同定された。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経路の活性亢進が確認された。変異陰性の中にもリン酸化S6の亢進例が存在した。

原因遺伝子と表現型との関連は巨脳症、発達の遅れは共通して存在する。顔貌特徴での区別も難



しい。一方、MRIの所見はPTEN変異例では皮質形成異常が見られないことが特徴と考えられる。

てんかん発作は6例(21.4%)に合併していた。合併率は多くないが、てんかん発症例は難治性に経過している。特に、モザイクである片側巨脳症例は外科手術が必要となっている。また、AKT3変異例はけいれん重積後脳症のために死亡している。また、PTEN変異例6例にはてんかん合併例はいなかった。

#### D . 考察

mTOR経路の15遺伝子を搭載した遺伝子パネル解析は遺伝性巨脳症の診断に有用であった。臨床的には互いに重なり合っているために、区別することは困難である。そのため、遺伝子診断は正確な診断のために、有用である。

生化学的解析を加えることで、変異の意義を明らかにすることが可能になる。機能亢進型変異はミスセンス変異が多いため、多型との区別が難しい。そのため、生化学的解析との組み合わせは、正確な遺伝子診断のために有用と考えられる。本研究ではリンパ芽球様細胞を使用したために、全例での検査ができなかった。今後は白血球から直接蛋白を抽出し、簡便に検査ができるかどうか課題である。

てんかんの合併は21.4%と多くなかった。PTEN変異例はてんかんを合併した例がなく、その影響も考えられる。一方、片側巨脳症例は難治性のために、外科手術が行われていた。片側巨脳症は難治性てんかんの合併が多いが、遺伝性巨脳症では必ずしも多くない。原因遺伝子は同じであるので、変異の種類が関連している可能性がある。今後の検討課題と考えられる。少ないとはいえ、AKT3変異例はてんかん重積の後に脳症から死亡に至っていた。本例以外にもAKT3変異例のてんかん死亡例が報告されている。このように、発作回数は少なくとも、ひとたびてんかん発作が起こると重症化する可能性があり、十分な認識が必要である。

mTOR 経路には阻害剤が存在し、結節性硬化症などにすでに保険適応が認められている。AKT3 変異の死亡例などの重症例に対しては、mTOR 阻害剤が救命的な意義を有する可能性がある。さらに、片側巨脳症や限局性皮質形成障害などの mTOR 経路のモザイクで発症する疾患は極めててんかん原生が高く、mTOR 阻害剤が抗てんかん薬やてんかん重積の薬物として意義がある可能性がある。mTOR 阻害剤を適切に使用するためには、患者の遺伝学的背景が示されていることが必要である。今回の研究は、そのために基礎的データを提供することが出来たと考える。

#### E . 結論

遺伝性巨脳症 28 例に対して mTOR 経路をターゲ

ットとした網羅的遺伝子パネル解析を開発した。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、将来の mTOR 阻害剤の適応を考える上で重要である。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

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.  
Kato K, Miya F, Hori I, Ieda D, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. A novel missense mutation in the HECT domain of NEDD4L identified in a girl with periventricular nodular heterotopia, polymicrogyria and cleft palate. *J Hum Genet.* 62:861-863, 2017.

##### 2. 学会発表

Negishi Y, Ieda D, Miyamoto T, Hori I, Hattori A, Nozaki Y, Komaki H, Tohyama J, Nagasaki K, Tada H, Oishi H, Saitoh S. Truncating MAGEL2 mutations produce fetal lethality in mice and may recapitulate pathogenesis of Schaaf-Yang syndrome. 67th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. 2017/10/18-21. (Orland, USA)  
Nakamura Y, Togawa Y, Okuno Y, Muramatsu H, Ieda D, Hori I, Negishi Y, Hattori A, Saitoh S. A patient with compound heterozygous mutations in SZT2 represents a discernible clinical entity with developmental delay, macrocephaly and dysmorphic corpus callosum. 第59回日本小児神経学会学術集会(大阪) 2017/6/16-18.

#### 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

## 多数の日本人のSCN1A変異陽性者での遺伝型と表現型に関する研究

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

SCN1A遺伝子は中枢神経発現の電位依存性Na<sup>+</sup>チャンネルNa<sub>v</sub>1.1の 1サブユニットをコードする遺伝子である。その変異は難治性のてんかんのDravet症候群を引き起こすばかりでなく、その変異や多型はワクチン脳症を初めとする急性脳症・脳炎にも関係していることが先行研究で明らかになっている。今回SCN1Aに遺伝子変異の遺伝子型とその表現型を明らかにする目的で、SCN1A遺伝子を持つ多数の日本人を対象に遺伝子情報と臨床情報を比較検討した。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。その結果同じDravet症候群を引き起こすSCN1A遺伝子の変異でありながら、トランケーション群とミスセンス群では遺伝子内の分布、集積に差異があることが明らかとなり、特にミスセンスが病的か否かの判定の際の一助となると思われた。また、トランケーション群の変異は知的退行への影響が、ミスセンス群に比して顕著であり、遺伝子型より病状の進展をある程度予想することが可能であった。さらに、トランケーション群の変異とミスセンス群で、抗てんかん薬への反応性が異なっており、遺伝子型により、抗てんかん薬の選択が可能であることが示された。以上のように、診療に寄与する知見が得られた。

### A．研究目的

SCN1A 遺伝子は中枢神経発現の電位依存性 Na<sup>+</sup>チャンネル Na<sub>v</sub>1.1 の 1サブユニットをコードする遺伝子である。その変異は難治性のてんかんのDravet 症候群を引き起こすことが知られている。さらに、Dravet 症候群患者では脳症を来す危険性が高く、その変異や多型はワクチン脳症を初めとする急性脳症・脳炎にも関係していることが先行研究で明らかになっている。今回 SCN1A に遺伝子変異の遺伝子型とその表現型を明らかにする目的で、SCN1A 遺伝子を持つ多数の日本人を対象に遺伝子情報と臨床情報を比較検討した。

### B．研究方法

SCN1A 遺伝子に変異を持つ、Dravet 症候群の患者日本人 285 人（男性 144 人と女性 141 人）を対象とした。変異が 1 サブユニットにトランケーションを来す群（トランケーション群）とアミノ酸置換を来す（ミスセンス群）に分類した。両群の臨床像とくに、Dravet 症候群の発症時期、精神運動発達障害及び、投与された抗てんかん薬の種

類とその効果について、比較検討した。  
（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

トランケーション群の変異は、SCN1A遺伝子に一樣に分布しているのに対して、ミスセンス群の変異は分布に偏りがあった。すなわち、ミスセンス群は、健常日本人のデータベースで認められる、ミスセンスのバリエーションとは明らかに異なり、S4 voltage sensor and pore loopsに集簇している

ことがわかった。

トランケーション群の知的退行に及ぼす影響は、ミスセンス群のそれに比べて著しかった。一方、トランケーション群は発症の時期にかかわらず、知的退行が強く、ミスセンス群では発症時期が早いほど知的退行の進行が早いことがわかった。トランケーション群とミスセンス群で、抗てんかん薬に対する反応性の違いがあることが明らかとなった。すなわち、トランケーション群で効果が認められた薬剤の、スチリペントール (STM) トピラマート (TPM) プロマイド (Br) レベチラセタム (LEV) フェノバルビタール (PB) の順であるのに対して、ミスセンス群はクロナゼパム (CZP) Br、TPM、PB、STP の順であった。

#### D . 考察

同じDravet症候群を引き起こすSCN1A遺伝子の変異でありながら、トランケーション群とミスセンス群では遺伝子内の分布、集積に差異があることが明らかとなり、特にミスセンスが病的か否かの判定の際の一助となると思われた。

また、トランケーション群の変異とミスセンス群で、知的退行への影響に差があり、病状の進展をある程度予想することが可能であり、臨床に寄与する情報となった。

さらに、トランケーション群の変異とミスセンス群で、抗てんかん薬への反応性が異なっており、遺伝子型により、抗てんかん薬の選択が可能であることが示され、上記と同様に診療に役立つ知見と思われた。

#### E . 結論

Dravet症候群を引き起こすSCN1A遺伝子の変異でありながら、トランケーション群とミスセンス群に知的退行への影響、抗てんかん薬への反応などの表現型の差があることがあきらかとなった。臨床・診療に寄与する知見が得られた。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

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.

Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, Nasu H, Shimojima 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

Ishii A, Hirose S. New Genes for Epilepsy - Autism Comorbidity. *J Pediatr Neurol.* 2017;15:105-14.

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.

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.

##### 2. 学会発表

Voltage-Gated sodium Ion Channels in Epileptic Encephalopathy /Hirose S /AOCCN 2017/2017.5/4-5/7 日本  
Status epilepticus in genetic epilepsies/

Hirose S, Ishii A/Joint CNSP-PLAE Symposium on Status Epilepticus & 9th National Epilepsy Congress (2017.7/17-7/19 Cebu, Philippines)  
The potential of stem cells in precision medicine/ Hirose S/ 32nd International Epilepsy Congress(2017.9.2-6Barcelona, Spain)  
Pediatric Research in Japan : Past and present / Hirose S. / 大韓小児科学会 (2017.10.26-27 韓国)  
Genetics of epileptic encephalopathy / Hirose S, Souvenir, 4<sup>th</sup> National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics (SIAMG) (2017.12.8-10.インド)  
Cme in management of genetic disorders Newborn

screening for LSD / Hirose S, Souvenir, 4<sup>th</sup> National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics (SIAMG) (2017.12.8-10.インド)

#### **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

### **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, Kimura N, 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	東京大学医学部附属病院小児科	特任助教
	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学	教 授
研究協力者	星野 愛	東京大学大学院医学系研究科発達医科学	助 教
	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 29 年度 総括・分担研究報告書

発行：平成 30 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

TEL 03-5841-3515 FAX 03-5841-3628