

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 27～29 年度 総合研究報告書

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. けいれん重積の予後関連因子に関する研究

本邦における小児けいれん重積診療ガイドラインの策定

脳波によるけいれん重積型（二相性）急性脳症と熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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. けいれん重積型脳症の早期診断のためのバイオマーカー検索と早期ステロイド治療の有効性に関する研究

山形 崇倫

5. 難治頻回部分発作重積型脳炎。抗 NMDA 受容体脳炎の臨床・病態に関する研究

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. 小児の急性脳症・けいれん重積状態に関係する遺伝子異常に関する研究

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に関する研究

研究代表者 水口 雅 東京大学大学院医学系研究科発達医科学教授
研究協力者 星野 愛 東京大学大学院医学系研究科小児科学

研究要旨

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

研究分担者

水口 雅	東京大学大学院医学系研究科 発達医科学教授
前垣義弘	鳥取大学医学部脳神経小児科 教授
齋藤真木子	東京大学大学院医学系研究科 発達医科学助教
山内秀雄	埼玉医科大学医学部小児科教 授
高梨潤一	東京女子医科大学八千代医療 センター小児科教授
山形崇倫	自治医科大学医学部 小児科 教授
佐久間浩	東京都医学総合研究所脳発 達・再生研究分野プロジェク

リーダー

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

A. 研究目的

1. **急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究**

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

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

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

3. AESDの早期診断と治療の検討

AESDの早期診断と治療介入法の検討として、以下の項目の研究を実施した。

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

b. 難治頻回部分発作重積型急性脳炎(AERRPS)に関する研究

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

c. その他の急性脳症に関する研究

1. 可逆性の脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症(MERS)の遺伝子解析

MERSは、軽度意識障害 and/or 異常言動を主徴とし、頭部MRI拡散強調画像において脳梁膨大部に一過性の拡散能低下を認めることを特徴とする急性脳症のサブタイプである。症例によっては、拡散能低下を脳梁全体や半卵円中心にも認めることがある。神経症状やMRI異常は数日から1週間以内に消失し、後障害を認めることは原則としてない。

現在までMERSの病態は十分に明らかになっていない。近年、遺伝子変異やバリエーションと急性脳症との関係が注目されている。二相性脳症ではSCN1Aなどの遺伝子変異やバリエーションの報告がなされている。しかし、MERSにおいては遺伝学的背景の研究は進んでいない。我々は、3世代にわたってMERSおよびそれに類似した神経症状脳症を認める家族例に遭遇した。この家族例を手がかりとしてMERSの遺伝学的解析を行った

2. MERS病変で発症した小脳炎の検討

3. 急性壊死性脳症(ANE)発症の遺伝的背景

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

4. ヒトパレコウイルス3型脳症の実態調査

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

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

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

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

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

に資することは厚生労働行政にとって重要な課題の一つである。小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子が関係することが示唆されている。このため、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするため網羅的な遺伝子解析を実施する。さらにその情報を利用して、Dravet 症候群を引き起こす変異が同定され、また急性脳症との関係が示唆される *SCN1A* 遺伝子変異での遺伝子型と表現型の関係を明らかにする。

B. 研究方法

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

a. 急性脳症に関する研究

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

b. けいれん重積状態に関する研究

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

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

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

3. AESD の早期診断と治療の検討

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

法を行い、けいれん重積型脳症の予防効果を検証した。

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

b. AERRPS に関する研究

佐久間（研究分担者）が担当した。

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

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERS の遺伝子解析

奥村（研究分担者）が担当した。

MERS 家族例の遺伝子解析では、まず家系Aに対して次世代シーケンサーを用いて全エクソーム解析を行った。この家系では常染色体優性遺伝であると想定し、以下の条件を満たすSNVを抽出した：1)5例に共通する、2)heterozygous SNVである、3)エクソン中に存在するまたはsplicingに影響する、4)アミノ酸変異を伴う、5) NHLBI Exome Sequencing Project・1000 G genomes・HGVD・ExACの全てで頻度が1%未満。さらに、家系Aと血縁がない既報告のMERS家族例（家系B）において家系Aで同定した遺伝子変異の有無につき、サンガー法で解析を行った。ルシフェラーゼアッセイは、*MYRF* 遺伝子のN末端フラグメントを組み込んだpRBG4-MYRF-Nベクターと、*MYRF* 蛋白によって転写が促進されるラット *Rffl* 遺伝子のエンハンサー部分をルシフェラーゼの上流に組み込んだpGL3P-RfflベクターをHEK293細胞に導入し、*MYRF* 遺伝子のc.1208A>G変異による転写活性変化を解析した。MERS 孤発例の *MYRF* 遺伝子解析は、サンガー法を用いて33例に施行した。

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

山形（研究分担者）が担当した。平成29年度に解析を実施した。

3. ANE 発症の遺伝的背景

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

4. ヒトパレコウイルス3型脳症の実態調査

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

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

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

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

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

C. 研究結果

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

a. 急性脳症に関する研究

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

Introduction, CQ・推奨一覧, 略語一覧

I 急性脳症の概念と疫学(1 急性脳症の定義, 2

急性脳症の疫学, 3 急性脳症の予後)

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

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

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

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

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

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

b. けいれん重積状態に関する研究

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

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

II 各論

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

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

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

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

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

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波によるAESDと熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

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

3. AESDの早期診断と治療の検討

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

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

(2) 2D-DIGE解析結果、AESDで発現が増加していたスポット6か所、発現が低下していたスポット4か所で、蛋白を抽出して同定した。AESDで発現が増加していたスポット6か所中、5か所は免疫グロブリン系で、もう一つの蛋白も、免疫系に関連する抗原で2.5倍上昇しており、早期診断のバイオマーカーとして有望と考えられたが、他の患者の髄液でWestern blotで解析結果、有意差は検出されなかった。AESDで発現が低下していたスポットは、免疫系、アポトーシスに関連する蛋白、グリア細胞から分泌される神経修復に関与する蛋白等で、一相性脳症では1.3倍から3.6倍増加していた。これらの蛋白に関しても、他の患者の髄液で解析した結果、両群間で発現の有意差は検出されなかった。

b. AERRPS に関する研究

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

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERSの遺伝子解析

家族性MERSの2家系に対し全エクソーム解析を施行し、MYRF遺伝子に有症状者が共有するc.1208A>G変異を確認した。c.1208A>G変異はアミノ酸のグルタミンからアルギニンへの変異を伴い、頻度データベースに同バリエーションの登録は認めなかった。変異部位のアミノ酸(グルタミン)は種間で非常に高い配列保存性を呈していた。各種prediction toolsではこのバリエーションはdisease causingと予測された。ルシフェラーゼアッセイによって、c.1208A>G変異を導入することにより作成した変異MYRFは、ラットRf1f1遺伝子のエンハンサー部分を介した転写活性がMYRF野生型に比べて約40%低下した。33例のMERS孤発例においては、MYRF遺伝子の変異

を認めなかった。

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

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

3. ANE 発症の遺伝的背景

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

4. ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態調査

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

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

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

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

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

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

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

D. 考察

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

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

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

a. AESD に関する研究

1. 脳波による AESD と熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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

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

2. 新たな疾患概念「興奮毒性型急性脳症」

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

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

3. AESD の早期診断と治療の検討

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

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

b. AERRPS に関する研究

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

c. その他の急性脳症に関する研究

1. MERS の遺伝子解析

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

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

2. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

早期治療が有効である可能性も考えられ、検証が必要である。

3. ANE 発症の遺伝的背景

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

4. ヒトパレコウイルス 3 型脳症の実態調査

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

本邦での HPeV3 脳症の臨床像の一部が解明されたと考えられた。

5. 遺伝性てんかん性脳症の研究

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

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

6. ドラベ症候群に伴う急性脳症の研究

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

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

E. 結論

I. 急性脳症・けいれん重積状態に関する総論的研究

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

II. 急性脳症・けいれん重積状態に関する各論的研究

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

F. 研究発表

1. 書籍

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

2. 論文

- 1) Yamamoto H, Okumura A, Natsume J, Kojima S, Mizuguchi M. A severity score for acute necrotizing encephalopathy. *Brain and Development* 2015; 37(3): 322-327.
- 2) Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M. Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline. *Brain and Development* 2015; 37(3): 463-470.
- 3) Takanashi JI, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenial lesion (MERS) after mumps vaccination. *Journal of the Neurological Sciences* 2015; 349(1-2): 226-228.

- 4) Nakano Y, Monden Y, Mizuguchi M, Nagashima M, Koike Y, Gunji Y, Takahashi N, Sugie H, Momoi, M.Y. Acute encephalopathy with callosal, subcortical and thalamic lesions. *Neurology Asia* 2015; 20(1): 85- 89.
- 5) Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Saitoh M, Mizuguchi M, Ihara Y, Ishii A, Hirose S. A case of recurrent encephalopathy with *SCN2A* missense mutation. *Brain and Development* 2015; 37(6): 631-634.
- 6) Saitoh M, Ishii A, Ihara Y, Hoshino A, Terashima H, Kubota M, Kikuchi K, Yamanaka G, Amemiya K, Hirose S, Mizuguchi M. Missense mutations in sodium channel *SCN1A* and *SCN2A* predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures. *Epilepsy Research* 2015; 117: 1-6.
- 7) Takanashi JI, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ. Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Neuroradiology* 2015; 57(11): 1163-1168.
- 8) Tada H, Takanashi JI, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano SI, Hirose SI, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). *Journal of Neurological Sciences* 2015; 358(1-2): 62-65.
- 9) 水口雅. 病態と輸液・栄養管理—脳炎・脳症・髄膜炎. *小児科診療* 2015; 78(6): 771-774.
- 10) Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano SI, Hirano K, Kikuchi K, Kubota M, Lee S, Maegaki Y, Sanefuji M, Shimozato S, Suzuki M, Suzuki Y, Takahashi M, Watanabe K, Mizuguchi M, Yamanouchi H. Manifestations and characteristics of congenital adrenal hyperplasia-associated encephalopathy. *Brain and Development* 38: 638-647, 2016.
- 11) Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi J, Takahashi Y, Tamai H, Natsume J, Hamano S, Hirabayashi S, Maegaki Y, Mizuguchi M, Minagawa K, Yoshikawa H, Kira J, Kusunoki S, Hara T. A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan. *Neurology* 87: 2006-2015, 2016.
- 12) Saitoh M, Kobayashi K, Ohmori I, Tanaka Y, Tanaka K, Inoue T, Horino A, Ohmura K, Kumakura A, Takei Y, Hirabayashi S, Kajimoto M, Uchida T, Yamazaki S, Shiihara T, Kumagai T, Kasai M, Terashima H, Kubota M, Mizuguchi M. Cytokine-related and sodium channel polymorphism as candidate predisposing factors for childhood encephalopathy FIRES/AERRPS. *Journal of Neurological Sciences* 368: 272-276, 2016.
- 13) Hoshino A, Saitoh M, Miyagawa T, Kubota M, Takanashi JI, Miyamoto A, Tokunaga K, Oka A, Mizuguchi M. Specific HLA genotypes confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. *Genes and Immunity* 17: 367-369, 2016.
- 14) Nishimura N, Higuchi Y, Kimura N, Nozaki F, Kumada T, Hoshino A, Saitoh M, Mizuguchi M. Familial acute necrotizing encephalopathy without RANBP2 mutation: Poor outcome. *Pediatrics International* 58: 1215-1218, 2016.
- 15) Shimoda K, Mimaki M, Fujino S, Takeuchi M, Hino R, Uozaki H, Hayashi M, Oka A, Mizuguchi M. Brain edema with clasmotodendrosis complicating ataxia telangiectasia. *Brain and Development* 2017; 39(7): 629-632.
- 16) Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A, Okuno T, Nakahara E, Imamura T, Saitoh M, Mizuguchi M, Shimizu T, Ohno K, Okumura A. *MYRF* is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization. *Annals of Neurology* 2018; 83(1): 98-106.
- 17) Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Classification and epidemiology of acute encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A(Eds) *Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders*. Elsevier, St. Louis, 2018, pp. 5-10.
- 18) Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Acute necrotizing encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A(Eds) *Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders*. Elsevier, St. Louis, 2018, pp. 87-92.
- 19) Maegaki Y, Kurozawa Y, Tamasaki A, Togawa M, Tamura A, Hirao M, Nagao A, Kouda T, Okada T, Hayashibara H, Harada Y, Urushibara M, Sugiura C, Sejima H, Tanaka Y, Matsuda-Ohtahara H, Kasai T, Kishi K,

- Kaji S, Toyoshima M, Kanzaki S, Ohno K; Status Epilepticus Study Group. Early predictors of status epilepticus-associated mortality and morbidity in children. *Brain Dev* 2015;37(5):478-86. Status Epilepticus Study Group. *Brain Dev* 2015;37(5):478-486
- 20) Ueda R, Saito Y, Ohno K, Maruta K, Matsunami K, Saiki Y, Sokota T, Sugihara S, Nishimura Y, Tamasaki A, Narita A, Imamura A, Maegaki Y. Effect of levetiracetam in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures during acute and chronic phase. *Brain Dev*. 2015;37(5):471-7.
- 21) Natsume J, Hamano SI, Iyoda K, Kanemura H, Kubota M, Mimaki M, Niijima S, Tanabe T, Yoshinaga H, Kojimahara N, Komaki H, Sugai K, Fukuda T, Maegaki Y, Sugie H. New guidelines for management of febrile seizures in Japan. *Brain Dev*. 2017;39(1):2-9.
- 22) Tsubouchi Y, Itamura S, Saito Y, Yamashita E, Shinohara Y, Okazaki T, Ohno K, Nishimura Y, Oguri M, Maegaki Y. Use of high b value diffusion-weighted magnetic resonance imaging in acute encephalopathy/encephalitis during childhood. *Brain Dev*. 2018;40(2):116-125.
- 23) Abe Y, Machida S, Sassa K, Okada K, Yamanouchi H. Cytokine storm may play a role in the pathogenesis of human parechovirus type 3-associated acute encephalopathy in neonates: a case report. *J Pediatr Neurol Med* 2017, 2:119.
- 24) Omata T, Fujii K, Takanashi J, Murayama K, Takayanagi M, Muta K, Kodama K, Iida Y, Watanabe Y, Shimojo N. Drugs indicated for mitochondrial dysfunction as treatments for acute encephalopathy. *J Neurol Sci* 2016; 360: 57-60.
- 25) Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kutota M, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K, Itomi S, Ohno K, Takanashi J, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. *Brain Dev* 2015; 37: 423-431.
- 26) Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2015; 37: 418-422.
- 27) 高梨潤一: 脳症. 疾患から見る画像診断の進め方・読み方 小児科診療 2015 増大号 診断と治療社 2015, 81-86.
- 28) Fujita Y, Takanashi J, Takei H, Ota S, Fujii K, Sakuma H, Hayashi M. Activated microglia in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *J Neurol Sci* 2016; 366: 91-93.
- 29) Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Honda T, Yasukawa K, Takanashi J. Clinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity. *J Neurol Sci* 2017; 373: 138-141.
- 30) Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Yasukawa K, Takanashi J. A new infectious encephalopathy syndrome, clinically mild encephalopathy associated with excitotoxicity (MEEX). *J Neurol Sci* 2017; 380: 27-30.
- 31) Ishida S, Yasukawa K, Koizumi M, Abe K, Hirai N, Honda T, Sakuma S, Tada H, Takanashi J. Excitotoxicity in encephalopathy associated with STEC O-157 infection. *Brain Dev* 2018; 40(4): 357-360.
- 32) 勝又薫、田上幸治、松井潔、藤井裕太、相田典子、高梨潤一、矢島秀起：脳海綿状血管奇形の出血後に可逆性脳梁膨大部病変を呈した一例。 *脳と発達* 2017; 49: 343-344.
- 33) 高梨潤一：急性脳症：小児急性脳症診療ガイドラインをふまえて。 *小児科診療* 2017; 81: 39-46
- 34) 高梨潤一：脳炎・脳症の臨床経過と神経放射線診断。 *臨床とウイルス* 2018; 45: 241-248
- 35) 安部昌宏、前田泰宏、本多隆文、安川久美、武藤順子、高梨潤一。脳梁膨大部病変を MR spectroscopy で経時的に観察し得た可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳症 (MERS) の 2 例。 *脳と発達* 2017; 49: 275-278.
- 36) 高梨潤一：ここがポイントー小児診療ガイドラインの使い方 小児急性脳症診療ガイドライン 2017。 *小児科臨床* 70 : 763-772
- 37) Shima T, Sakuma H, Suzuki T, Kohyama K, Matsuoka T, Hayashi M, Okumura A, Shimizu T. Effects of antiepileptic drugs on microglial properties. *Epilepsy Sisure* 2018 in press
- 38) Igarashi A, Sakuma H, Hayashi M, Noto D, Miyake S, Okumura A, Shimizu T. Cytokine-induced differentiation of

- hematopoietic cells into microglia-like cells in vitro. *Clin Exp Neuroimmunol* 2018 in press
- 39) Omae T, Saito Y, Tsuchie H, Ohno K, Maegaki Y, Sakuma H. Cytokine/chemokine elevation during the transition phase from HSV encephalitis to autoimmune anti-NMDA receptor encephalitis. *Brain Dev* 2017;40: 361-365.
- 40) Saika R, Sakuma H, Noto D, Yamaguchi S, Yamamura T, Miyake S. MicroRNA-101a regulates microglial morphology and inflammation. *J Neuroinflammation*. 2017 14:109
- 41) Omata T, Kodama K, Watanabe Y, Iida Y, Furusawa Y, Takashima A, Takahashi Y, Sakuma H, Tanaka K, Fujii K, Shimojo N. Ovarian teratoma development after anti-NMDA receptor encephalitis treatment. *Brain Dev*. 2017;39:448-451.
- 42) Takasawa K, Takeda S, Nishioka M, Sakuma H, Morio T, Shimohira M. Steroid-responsive status epilepticus caused by human parvovirus B19 encephalitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2016; 35:227-8.
- 43) Nakahara E, Sakuma H, Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M. A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol* 2015;285:150-5.
- 44) Sakuma H, Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M. Intrathecal overproduction of proinflammatory cytokines and chemokines in febrile infection-related refractory status epilepticus. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2015;86:820-2.
- 45) Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Azuma Y, Tsuji T, Okumura A, Kubota T, Ando N, Saitoh S, Miura K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S. Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Epilepsia* 2015; 56(8): 1286-1293.
- 46) Yamamoto H, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Suzuki M, Tsuji T, Kubota T, Yamada A, Ozeki M, Kato Z, Kawamura Y, Yoshikawa T, Okumura A, Ando N, Saitoh S, Takahashi Y, Watanabe K, Kojima S. Clinical and neuroimaging findings in children with posterior reversible encephalopathy syndrome. *Eur J Paediatr Neurol* 2015; 19(6): 672-678.
- 47) Okumura A, Nakahara E, Ikeno M, Abe S, Igarashi A, Nakazawa M, Takasu M, Shimizu T. Efficacy and tolerability of high-dose phenobarbital in children with focal seizures. *Brain Dev* 2016; 38(4): 414-8.
- 48) Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, Watanabe K, Okumura A. The semiology of febrile seizures: Focal features are frequent. *Epilepsy Behav* 2017; 73: 59-63.
- 49) Fukushima W, Ozasa K, Okumura A, Mori M, Hosoya M, Nakano T, Tanabe T, Yamaguchi N, Suzuki H, Mori M, Hatayama H, Ochiai H, Kondo K, Ito K, Ohfuji S, Nakamura Y, Hirota Y. Oseltamivir use and severe abnormal behavior in Japanese children and adolescents with influenza: Is a self-controlled case series study applicable? *Vaccine* 2017;35(36):4817-4824.
- 50) Kidokoro H, de Vries LS, Ogawa C, Ito Y, Ohno A, Groenendaal F, Saitoh S, Okumura A, Ito Y, Natsume J. Predominant area of brain lesions in neonates with herpes simplex encephalitis. *J Perinatol* 2017; 37(11): 1210-1214.
- 51) Saitoh S. Clinical, molecular, and neurophysiological features in Angelman syndrome. *J Pediatr Epilepsy* 4:17-22, 2015.
- 52) Negishi Y, Miya F, Hattori A, Johmura Y, Nakagawa M, Ando N, Hori I, Togawa T, Aoyama K, Ohashi K, Fukumura S, Mizuno S, Umemura A, Kishimoto Y, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Nakanishi M, Saitoh S. A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly. *BMC Med Genet* 18:4, 2017.
- 53) Tanaka Y, Sone T, Higurashi N, Sakuma T, Suzuki S, Ishikawa M, Yamamoto T, Mitsui J, Tsuji H, Okano H, Hirose S. Generation of D1-1 TALEN isogenic control cell line from Dravet syndrome patient iPSCs using TALEN-mediated editing of the SCN1A gene. *Stem Cell Res*.2018;28:100-4.
- 54) Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, Nasu H,

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

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録

該当なし
3. その他
該当なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
（総合）分担研究報告書

- けいれん重積の予後関連因子に関する研究
- 本邦における小児けいれん重積診療ガイドラインの策定
- 脳波によるけいれん重積型（二相性）急性脳症と熱性けいれん重積の鑑別法の開発

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。

けいれん重積状態の予後関連因子に関する研究

A．研究目的

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

B．研究方法

鳥取県内の全ての病院小児科と県外病院を受診したSE小児例を対象に調査を実施した。2006.1.1-2009.12.31の4年間に生じた初発のSEを調査対象とした。調査内容：臨床症状や検査データを前方視的に統一した調査票に匿名化して記載した。SE定義：30分以上持続する発作、あるいは発作が30分以上にわたり反復し、意識障害を伴う場合とした。年齢：1ヶ月～16歳。（倫理面への配慮）倫理委員会の承認を得たうえで実施した。

C．研究結果

初発のてんかん重積状態の発生頻度は小児10万あたり年間43.4人であり、欧米に比べ高かった。本邦では、熱性けいれん重積と急性脳症が多いのがその理由である。病因分類では、熱性けいれん、慢性症候性、急性症候性、特発性の順に多かった。後遺症はすべて急性症候性であり、急性脳症が最も多かった。急性脳症では、二相性脳症が半数以上を占め、高率に脳障害を来した。

予後関連因子：多変量解析による予後関連因子は、年齢（2y）、難治性発作、血糖異常（<61 or >250 mg/dL）、AST>56U/L、CRP>2.0mg/dlであった。

D．考察

本邦のけいれん重積で予後不良の原因は急性脳症であることが判明した。早期の確定診断は困難であるが、予後関連因子による早期の予測は可能であることが示唆された。

E．結論

本邦のけいれん重積の発生頻度は欧米よりも高く、予後不良は急性脳症が最大の原因である。

F．研究発表

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

Brain Dev. 37(5). Effect of levetiracetam in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures during acute and chronic phase. 2015 May;471-7. Ueda R, Saito Y, Ohno K, Maruta K, Matsunami K, Saiki Y, Sokota T, Sugihara S, Nishimura Y, Tamasaki A, Narita A, Imamura A, Maegaki Y.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

II 本邦における小児けいれん重積診療ガイドラインの策定

本邦における小児けいれん重積診療ガイドラインを日本小児神経学会小児けいれん重積診療ガイドライン策定委員会と共同で策定を行った。平成27年度にクリニカル・クエスチョンを設定し、エビデンス(論文)の収集と評価を行った。28年度に推奨文作成を行った。関連学会や患者団体へ外部評価を、ならびに小児神経学会の有識者へ査読を実施した。平成29年度に、公開した。

III. 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

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)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、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の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

1. 特許取得
なし
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

小児の急性脳症・けいれん重積状態の診療指針の策定を行うため、小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理についての文献検索を行った。全身管理では適切なモニター装置を使用し、全身状態を出来る限り改善・維持するための支持療法を行うべきことが示された。急性脳症の早期診断には意識レベル評価が必須であり、けいれん重積状態に対する抗けいれん薬の投与は最小限にとどめることが推奨された。一方、日本におけるパレコウイルス3型 (HPeV3) 脳症の実態調査をおこなった。HPeV3感染症の患者241例中、中枢神経関連疾患合併例は35名であった。頭部MRI検査異常所見陽性例は17例 (MRI陽性群) であった。このうち4例で神経学的後遺症の合併を認め、またけいれんと脳波異常頻度の高いことが示された。MRI異常所見の有無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ことは、炎症性サイトカインが誘導されたことを示唆し、髄液中細胞増多を認めなかったことを合わせて、HPeV3脳症はサイトカインの嵐によって惹起されることが示唆された。

A．研究目的

- 1．小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理に対する指針を策定すること
- 2．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こと。

B．研究方法

- 1．小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理に関する文献検索を 1992 年 1 月～2012 年 8 月までの期間における英文雑誌 (PubMed) と邦文雑誌 (医学中央雑誌) 掲載について行った。
- 2．新生児研修施設及び日本小児科学会研修施設を対象とし、ヒトパレコウイルス3型による感染症、脳炎・脳症についての全国調査をおこなった。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

- 1．全身管理では適切なモニター装置を使用し、

全身状態を出来る限り改善・維持するための支持療法を行うべきことが示された。けいれん重積状態の管理ではけいれん遷延状態・重積状態治療は全身管理を行いながら、けいれん持続時間に応じた適切な薬物治療の選択を行い、

2 .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。

D．考察

1. 急性脳症の早期診断には意識レベル評価が必須であり、けいれん重積状態に対する抗けいれん薬の投与は最小限にとどめることが推奨された。なし

2. 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、HPeV 3 による神経症状は高サイトカイン血症に関連する急性脳症であることが示唆された。

E. 結論

1. 小児急性脳症の全身管理とけいれん重積状態の管理は基本的な支持療法と迅速適格はけいれん重積に対する対処が必要である。

2. 国内における HPeV 3 脳症は高サイトカイン血症関連脳症と考えられる。

F. 研究発表

1. 書籍出版

Yamanouchi H, Moshé LS, Okumura A (Eds.)
Acute Encephalopathy and Encephalitis in
Infancy and Its Related Disorders.1st Ed.
Elsevier, 2017. ISBN-13: 978-0323530880

2. 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).

3. 学会発表

1) Yuichi Abe, Hiroko Kakei, Keisuke Okada, Kaori Sassa, Yuki Shimizu, Sanae Machida, Hideo Yamanouchi. Human parecovirus 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.

2) 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

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

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 of 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

Omata T, Fujii K, Takanashi J, Murayama K,

- Takayanagi M, Muta K, Kodama K, Iida Y, Watanabe Y, Shimojo N. Drugs indicated for mitochondrial dysfunction as treatments for acute encephalopathy. *J Neurol Sci* 2016; 360: 57-60.
- Takanashi J, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ. Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Neuroradiology* 2015; 57: 1163-1168
- Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). *J Neurol Sci* 2015; 358: 62-65.
- Takanashi J, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenic lesion (MERS) after mumps vaccination. *J Neurol Sci* 2015; 349: 226-228
- Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kutota M, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K, Itomi S, Ohno K, Takanashi J, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. *Brain Dev* 2015; 37: 423-431.
- Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2015; 37: 418-422.
- 高梨潤一: 脳症. 疾患から見る画像診断の進め方・読み方 小児科診療2015増大号 診断と治療社 2015, 81-86.
- 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.
- 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* 2016; 87: 2006-2015.
- 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.
- 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.
- 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

Takanashi J.: Neuroimaging findings in children with acute encephalopathy. 13th Asian Oceanian Congress of Child Neurology (AOCCN) 2015.5.13-17.

高梨潤一: 二相性脳症 (acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion; AESD) up to date. 第 201 回日本小児科学会千葉地方会 2015.6.21.

3.その他
なし

高梨潤一：小児急性脳症。第51回日本医学放射線学会秋季臨床大会 2015.10.2.

Takanashi J: Neuroimaging in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). 10th AOCNR 2015.11.6.

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 スペクトルスコーピーで診る急性期脳病態。第35回日本蘇生学会 2016.11.11-12.

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断治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

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

けいれん重積型脳症の早期診断のためのバイオマーカー検索と早期ステロイド治療の有効性に関する研究

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 講師
研究協力者：池田 尚広 自治医科大学医学部小児科学 助教

研究要旨

1. 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。
2. けいれん重積型脳症の早期診断と早期治療法開発のため、以下を実施した。
初回けいれん後 8 時間以上意識障害が遷延した例にステロイドパルス療法を、2011 年 6 月以降実施した。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り、さらに解析継続中である。
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 で発現増加 6 蛋白、発現低下 4 蛋白を抽出し同定した。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で、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 で解析したが、有意差なものは検出されなかった。
3. MRI で脳梁膨大部の拡散低下と小脳炎は、ロタウィルス胃腸炎に合併した例が 10/15 例と多かった。後遺症も 11/15 例と多い。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、有効である可能性も考えられる。

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。

III. 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

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。

III. 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)

研究実施にあたっては、「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

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。

さらに症例を蓄積しており、29 年度にはパルス実施例でけいれん重積型脳症を発症した例もあった。一定数蓄積後に再度解析し、有効性を確認して行く。

(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た。また、AESD で発現が低下していたスポットは、免疫系、アポトーシスに関連する蛋白、グリア細胞から分泌され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。これらの蛋白について、他の患者の髄液での発現の差を解析した結果、両群間で発現の有意差は検出されなかった。

III. MERS 病変で発症した小脳炎の検討

当科の例

（症例 1）2 歳の女兒。発熱（39）翌日（第一病日）複雑部分発作を群発し、意識障害も出現し入院した。GCS: E2V2M4、JCS: -3。髄液細胞数 231/mm³（単核 28/mm³、多核 203/mm³）、蛋白 39mg/dl、糖 66mg/dl。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。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。第 7 病日から徐々に発語、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、軽度の運動機能の低下あり。

（症例 2）5 歳の女兒。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 病日に意識障害と下肢の強直反復し、当院転院。体温 38.0、GCS: E2V2M4、JCS: -200。髄液細胞数 145/mm³（単核 10/mm³、多核 135/mm³）、蛋白 44mg/dl、糖 81mg/dl。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。JCS -3 の意識障害が遷延。第 9 病日、頭部 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 病日以降、徐々に軽快。失調歩行と企図振戦があったが、発症 1 年 3 か月後（6 歳）で、知的レベルは境界域で、運動機能は正常。

（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 ウィルス 1 例、RS ウィルス 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、測定障害等の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

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。

(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、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されなかった。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。

III. 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、程度はさまざままで、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。ロタウイ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

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。

MERS+小脳炎は、ロタウイルス胃腸炎の合併が多く、小脳炎所見は遅れることも多いため、ロタウイルス胃腸炎では、脳梁膨大部病変出現時も注意が必要である。ロタウイ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

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

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

2. 学会発表

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

2) 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

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

難治頻回部分発作重積型脳炎。抗NMDA受容体脳炎の臨床・病態に関する研究

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

研究要旨

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

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かった。また髄液ではケモカインCXCL10、CXCL13の上昇が認められ、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。

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。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

- 1) 難治頻回部分発作重積型急性脳炎（acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures；AERRPS）は発熱に伴い極めて難治かつ頻回の部分発作を呈する原因不明の脳炎で予後不良である。我が国におけるAERRPS症例の臨床情報を集積・解析し、本疾患の特徴を明らかにすることを目的とした
- 2) 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。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。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た。
- 3) 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。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。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

- 1) 2010年以降にAERRPSと暫定診断され、本調査に登録された症例の各主治医にアンケートを送付して臨床情報を収集し、解析を行った。
- 2) 2013～2016年の4年間に東京都医学総合研究所に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。抗NMDAR脳炎症例では、臨床的特徴・検査所見・神経画像所見に加え、髄液中のCXCL13、CXCL10、CCL2、IL-6、IL-1 β 、IL-8をbead-based multiplex assayにより測定した。

3) 2014~2017年に東京都医学総合研究所へ送付された髄液179検体を対象とした。髄液中のIL-1, IL-6, IL-8, CCL2, CXCL1, CXCL10, CXCL13をBead-based multiplex assayにより測定した。

(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

1) 26症例を解析対象とした。対象の年齢は2歳6か月-12歳4か月(平均7.5歳)、性別は男19例、女7例であった。25例で先行感染を認め、けいれん発症までの潜伏期間は2-7日(平均4.5日)だった。急性期のけいれんは、全般強直間代発作を38%、焦点発作を100%で認めた。発作型は眼球偏位、顔面間代、片側四肢間代発作を多く認めた。髄液検査では、細胞数($/\mu\text{l}$) 20.0 ± 19.8 (1-68, 76%で細胞数上昇($>5/\mu\text{l}$)あり)、蛋白(mg/dl) 35.3 ± 20.4 (4-104)であった。急性期脳波所見は全例で何らかの異常を認め、焦点性、多焦点性のてんかん性異常波を最も多く認められた。頭部MRIは65%で急性期に信号異常を認め、部位は海馬・扁桃体が最も多く、大脳皮質、基底核、視床が続いた。治療は、急性期にバルビツール酸持続静注が92%で施行され、平均投与期間、平均最大投与量はそれぞれ 26.5 ± 27.7 (2-113)日、 9.1 ± 4.1 (3-20)mg/kg/hrであった。免疫調整療法としてはステロイドパルス療法が24例(92%)、免疫グロブリン療法が19例(73%で行われていた。その他にアシクロビルが19例、エダラボンが7例で使用され、脳低(平)温療法が6例、ケトン食療法が4例で実施された。予後はpediatric cerebral performance category (PCPC) scaleにて評価し、良好例が9例、中間例が11例、不良例が6例であった。慢性期のてんかん発作は多くの例で認めたが、5例では発作は消失していた。

2) 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。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($P = 0.054$)。

3) IL-6は急性脳炎、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。IL-8は急性脳炎、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。CXCL10は急性脳炎、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。IL-1はいずれの疾患でも上昇はほとんど見られなかった。CXCL13はFIRES/AERRPS、抗MOG抗体関連脱髄性疾患では有意に高値を示した。疾患別では急性脳炎、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

1) 本検討は既報告と比べ、髄液細胞数増多や急性期MRIで異常所見を認める症例が多かった。過去の症例と比較し、本検討では予後不良例は減少傾向であった。慢性期のてんかん発作はコントロール良好例も認められ、レベチラセタムをはじめとする新規抗てんかん薬の関与も推測される。バルビツール酸持続静注期間が長いと予後不良の傾向が認められたが、長期間必要なのはそれだけ重症であるとも考えられる。バルビツール酸持続静注から離脱を図るためケトン食療法やレベチラセタム等の新規抗てんかん薬を早期に試す価値があると考えられる。

2) 本研究では既報告と同様に、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かった。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。

3) 髄液中サイトカインは急性脳炎・FIRESでは軒並み高値を示し、自己抗体が関与する疾患の中では抗MOG抗体関連疾患では高い傾向が見られた。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った。ADEM、橋本脳症でもある程度上昇が認められたが、脱髄性疾患、小舞蹈病では上昇がほとんど見られなかった。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、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た。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った。

E . 結論

1) AERRPSの多くで先行感染を認め、急性期のけいれん発作は全例で焦点発作を認め、眼球偏位、顔面間代、片側四肢間代発作が多かった。髄液細胞増加は76%、急性期の頭部MRIの信号異常は65%に認めた。治療の中心は高用量バルビツール酸で、24例でステロイドパルス療法が、19例で免疫グロブリン療法が実施されていた。予後は全体的に改善している傾向が見られた。

2) 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。

3) 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。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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]
- 2) 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.
- 5) Saika R, Sakuma H, Noto D, Yamaguchi S,

Yamamura T, Miyake S. MicroRNA-101a regulates microglial morphology and inflammation. *J Neuroinflammation.* 2017 14:109

- 6) 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.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) Nakahara E, Sakuma H, Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M. A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol* 2015:285:150-5.
 - 11) Sakuma H, Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M. Intrathecal overproduction of proinflammatory cytokines and chemokines in febrile infection-related refractory status epilepticus. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2015;86:820-2.
 - 12) Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A, Sugawara Y, Sakuma H, et al. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure* 2015 27:1-5.
- ### 2. 学会発表
- 1) 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
 - 2) 佐久間啓. てんかんとグリア細胞 . *Epilepsy Expert Symposium for Pediatrician.* 2017.11.11. 東京
 - 3) 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
- 4) Sakuma H. Light FIRES 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
 - 5) 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.
 - 6) 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 .
 - 7) 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
 - 8) 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
 - 9) 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
 - 10) 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
 - 11) 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
 - 12) 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
 - 13) 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
 - 14) 佐久間啓 . けいれん重積・てんかんと神経炎症 . 第49回日本てんかん学会学術集会 . 2015.10.31. 長崎
 - 15) 佐久間啓 . 急性脳炎・脳症とサイトカイン：シンポジウム「急性脳炎・脳症の理解を深めるために」第57回日本小児神経学会学術集会 . 2015.5.29. 大阪 .
 - 16) Sakuma H, Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M. Intrathecal overproduction of pro-inflammatory cytokines and chemokines in acute encephalitis with refractory, repetitive

partial seizures. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. 2015.5.14-16, Taipei, Taiwan.

G . 知的財産権の出願・登録状況

(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
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、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、MERS患者に2家系に共通するMYRF遺伝子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た。

A．研究目的

可逆膨大部病変を伴う急性脳症（MERS）は、軽度意識障害and/or異常言動を主徴とし、頭部MRI拡散強調画像において脳梁膨大部に一過性の拡散能低下を認めることを特徴とする急性脳症のサブタイプである。症例によっては、拡散能低下を脳梁全体や半卵円中心にも認めることがある。神経症状やMRI異常は数日から1週間以内に消失し、後障害を認めることは原則としてない。

現在までMERSの病態は十分に明らかになっていない。MERSでは急性期に低Na血症を伴うため、SIADHが関与していることが示唆されている。また、MERSは時に川崎病や上部尿路感染症に合併することが報告されており、自然免疫による炎症に伴うサイトカインなどの液性因子の関与も考え

られる。実際にMERSの症例では、その一部に髄液や血清中においてIL-6などのサイトカイン値の上昇も報告されている。

近年、遺伝子変異やバリエーションと急性脳症との関係が注目されている。二相性脳症ではSCN1Aなどの遺伝子変異やバリエーションの報告がなされている。しかし、MERSにおいては遺伝学的背景の研究は進んでいない。我々は、3世代にわたってMERSおよびそれに類似した神経症状を認める家族例に遭遇した。この家族例を手がかりとしてMERSの遺伝学的解析を行った。

B．研究方法

I. MERS 家族例の遺伝子解析

発端者は6歳女児である（図1）。2歳時に発熱に伴ってけいれんを認め、意識減損が遷延したため入院した。3歳時にも同様

のイベントがあり入院した。その際に頭部 MRI を施行したところ、脳梁および半卵円中心に拡散能低下を認め MERS と診断された (図 2)。特に治療を行わなかったが、神経学的後障害なく回復した。それ以降も発熱に伴って異常言動を認めることがあり、時に入院加療が必要である。現在までの発達は正常で、神経学的所見にも異常を認めない。

発端者の家系 (家系 A) には、以下のように同様の症状を認めるものが複数認められた (図 1)。

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

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

母の妹: 8 歳時に発熱に伴って、けいれん・軽度意識障害・異常言動を認めた。

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

母方曾祖母: 発熱時に急に話せなくなり、身体も動かなくなることがあった。

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

さらに、家系 A と血縁がない既報告の MERS 家族例 (家系 B、図 1・2) において家系 A で同定した遺伝子変異の有無につき、サンガー法で解析を行った。

II . 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。

III . 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 *Rf11* 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-Rf11 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 家族例の遺伝子解析

家系 A において、前述のフィルターで 102 個の SNV が判明した。これらの SNV を 39 個の遺伝子に絞り込んで解析したところ、中枢神経系に特異的に発現する *MYRF* 遺伝子に 5 人が共有する c.1208A>G 変異を確認した。c.1208A>G 変異はアミノ酸のグルタミンからアルギニンへの変異を伴い、頻度データベースに同バリエーションの登録は認めなかった。変異部位のアミノ酸 (グルタミン) は種間で非常に高い配列保存性を呈していた。各種 prediction tools ではこのバリエーションは disease causing と予測された。さらに、5 症例すべてにおいてサンガー法で c.1208A>G 変異の存在を確認した (図 1)。

家系 B において *MYRF* 遺伝子の解析を行ったところ、MERS または発熱に伴う異常言動の既往を持つものに c.1208A>G 変異の存在を確認した。

II . 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。

III . 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 3 に示す。我々が同定した c.1208A>G 変異を導入することにより作成した変異 *MYRF* は、ラット *Rfl1* 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%低下していた

D . 考察

本研究では、MERS 家系例について全エクソーム解析を施行し、*MYRF* 遺伝子とその発

症に關与する可能性があることを示すことができた。この結果は、MERS の発症には遺伝学的な因子が關与することを示唆するとともに、MERS および発熱時の異常言動の発症機序を解明する手がかりとなると思われる。

MYRF 遺伝子の機能は現在まで十分に解明されていないが、大脳白質の髓鞘の維持に重要な役割を果たすと推定されている。現在まで *MYRF* 遺伝子と關連する疾患の報告はなく、*MYRF* 遺伝子がヒトの疾患に關与することが初めて証明されたと考える。

MYRF 遺伝子のノックアウトマウスでは、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關連が示唆されている。したがって、*MYRF* 遺伝子の変異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 c.1208A>G 変異は、*MYRF* 遺伝子の 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。したがって、c.1208A>G 変異が *MYRF* 遺伝子の機能に影響することが強く示唆されていた。ルシフェラーゼアッセイにて、c.1208A>G 変異をもつ *MYRF* 蛋白はその転写活性が野生型に比べて低下していることが確認された。これらのことから、*MYRF* 遺伝子の変異によって機能低下を起こすことが、MERS および発熱時の異常言動の発症に關与していると推測される。

一方、MERS 孤発例では *MYRF* 遺伝子の変異を認めず、その關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* 遺伝子の關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

MYRF 遺伝子の同一ミスセンス変異を2家系の MERS 家族例に同定し、*MYRF* 遺伝子が家族性 MERS の発症に関与していることを明らかにした。一方、MERS 孤発例では *MYRF* 遺伝子の変異を認めなかった。

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

Okumura A, Nakazawa M, Igarashi A, Abe S, Ikeno M, Nakahara E, Yamashiro Y, Shimizu T, Takahashi T. Anti-aquaporin 4 antibody-positive acute disseminated encephalomyelitis. *Brain Dev* 2015; 37(3): 339-343.

Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Azuma Y, Tsuji T, Okumura A, Kubota T, Ando N, Saitoh S, Miura K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S. Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Epilepsia* 2015; 56(8): 1286-1293.

Nakahara E, Sakuma H, Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M. A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis. *J Neuroimmunol* 2015; 285: 150-155.

Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi J, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2015; 37(4): 418-422.

Nakazawa M, Toda S, Abe S, Ikeno M, Igarashi A, Nakahara E, Yamashita S, Niijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for benign convulsions with mild gastroenteritis. *Brain Dev* 2015; 37(9): 864-867.

Okanishi T, Yamamoto H, Hosokawa T, Ando N, Nagayama Y, Hashimoto Y, Maihara T, Goto T, Kubota T, Kawaguchi C, Yoshida H, Sugiura K, Itomi S, Ohno K, Takanashi J, Hayakawa M, Otsubo H, Okumura A. Diffusion-weighted MRI for early diagnosis of neonatal herpes simplex encephalitis. *Brain Dev* 2015; 37(4): 423-431.

- Takanashi J, Shiihara T, Hasegawa T, Takayanagi M, Hara M, Okumura A, Mizuguchi M. Clinically mild encephalitis with a reversible splenic lesion (MERS) after mumps vaccination. *J Neurol Sci* 2015; 349(1-2): 226-228.
- Yamamoto H, Okumura A, Natsume J, Kojima S, Mizuguchi M. A severity score for acute necrotizing encephalopathy. *Brain Dev* 2015; 37(3): 322-327.
- Yamamoto H, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Suzuki M, Tsuji T, Kubota T, Yamada A, Ozeki M, Kato Z, Kawamura Y, Yoshikawa T, Okumura A, Ando N, Saitoh S, Takahashi Y, Watanabe K, Kojima S. Clinical and neuroimaging findings in children with posterior reversible encephalopathy syndrome. *Eur J Paediatr Neurol* 2015; 19(6): 672-678.
- 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): 414-418.
- 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: 206-211.
- 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): 452-453.
- 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): 638-647.
- 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): 723-730.
- 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.
- 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 splenial 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, Ohfujii 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. 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. 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

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

Akihisa Okumura, Shinpei Abe, Mika Nakazawa, Michihiko Takasu, Hirokazu Kurahashi, Toshiaki Shimizu. Were attitude toward epilepsy and driving license affected by media coverage? 第 118 回日本小児科学会学術集会、大阪、2015.4.16.

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

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

Akihisa Okumura, Eisuke Arai, Yuri Kitamura, Shinpei Abe, Mitsuru Ikeno,

Michihiko Takasu, Hirokazu Kurahashi, Takuro Fujimaki, Toshiyuki Yamamoto, Toshiaki Shimizu. Epilepsy Phenotypes in Siblings with Norrie Disease. 第 49 回日本てんかん学会学術集会、長崎、2015.10.30.

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 . 愛知県の EVD68 感染症の現状 . 第 5 回愛知県小児臨床研究会、名古屋、2016.1.15.

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.

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. 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

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

てんかん重積を来す疾患のなかで遺伝子異常により起こる遺伝性疾患は重要である。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。原因となる遺伝子は多数あるが、私たちはAngelman症候群とmTOR経路が関連する疾患に注目した。Angelman症候群はてんかんと脳波異常を特徴とする疾患であり、遺伝学的診断が可能である。mTOR経路の機能亢進は巨脳症を示すことが多く、治療薬が存在する。遺伝学的解析としては、体系的解析に加えて、複数の候補遺伝子を搭載した遺伝子パネルを構築し、次世代シーケンサーで網羅的な解析を実施した。mTOR経路の異常には生化学的解析を追加した。てんかん重積を示す種々の基礎疾患に対する診断の道筋を示すことができた。

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、Angelman症候群（AS）とmTOR経路に注目した。ASはてんかん、知的障害、失調様運動障害を特徴とする疾患であり、小児神経領域では広く認識されている。広汎性棘徐波複合を示す脳波異常を示すてんかんでは、しばしば鑑別診断に上げられる。一方、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。ASについては系統的な遺伝学的解析を実施した。mTOR経路については、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、さらに生化学的解析を行った。

B．研究方法

AS解析については、臨床的にASが疑われた86例を当初の対象とした。商業的に診断が可能である母性欠失例は今回の解析からは除外した。遺伝学的診断は、SNRPM遺伝子のDNAメチル化テスト、両親の検体を用いた15番染色体の多型解析、15q11-q13刷り込み中心の欠失解析のためのMLPA法、UBE3A遺伝子のサンガー法による塩基配列決定を実施した。これらの方法にて原因が同定されなかった時は、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。

mTOR経路関連疾患では、+2SD以上の頭囲拡大があり、発達の遅れもしくはてんかんがある児28名を対象とした。27名にはmTOR経路に関連する15個の遺伝子を搭載した遺伝子パネルを用いて、Ion PGMにてエクソン領域をシーケンシングした。3例に全エキソーム解析を実施し、内1例は最初から全エキソーム解析を行った。27例は末梢白血球からゲノム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

AS解析では、15番染色体父性片親性ダイソミー3例、刷り込み変異3例、*UBE3A*変異19例を同定した。刷り込み変異3例のうち1例に刷り込み中心の微細欠失を同定した。残り2例はエピソード変異と判断した。従って、25/84(29%)がASと確定診断できた。これらの解析で原因が同定できなかった例に加えて、その後、同様の例を集積し、最終的には76名がAS次世代解析に進んだ。76例中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、既報の変異か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産生されないことが確認された。

巨脳症患者においては、病因変異は*PTEN* 6例、*AKT3* 3例、*PIK3R2* 3例、*PIK3CA* 1例、*SHOC2* 1例の計14例(50%)に同定した。*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

ASでは体系的な遺伝学的診断においてAS疑い例86例中25例(29%)が遺伝学的にASと確定診断をすることができた。このことは臨床的にASが疑われる例の大部分はASではなく、類似疾患であること

を示す。このようなAS類似疾患については、次世代解析を実施することで、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。

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が課題である。

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性が高く、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

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

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Negishi Y*, Miya F*, Hattori A, Mizuno

- K, Hori I, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Truncating mutation in *NF1A* causes brain malformation and urinary tract defects. *Hum Genome Var* 2:15007, 2015.
* Equal contribution.
- 2) Miya F, Kato M, Shiohama T, Okamoto N, Saitoh S, Yamasaki M, Shigemizu D, Abe T, Morizono T, Boroevich KA, Kosaki K, Kanemura Y, Tsunoda T. A combination of targeted enrichment methodologies for whole-exome sequencing reveals novel pathogenic mutations. *Sci Rep* 5:9331, 2015.
 - 3) Yokoi S, Ishihara N, Miya F, Tsutsumi M, Yanagihara I, Fujita N, Yamamoto H, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Kojima S, Saitoh S, Kurahashi H, Natsume J. TUBA1A mutation can cause a hydranencephaly-like severe form of cortical dysgenesis. *Sci Rep* 5:15165, 2015.
 - 4) Saitoh S. Clinical, molecular, and neurophysiological features in Angelman syndrome. *J Pediatr Epilepsy* 4:17-22, 2015.
 - 5) 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.
 - 6) 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.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) 2. 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
 - 1) 齋藤伸治. 小児神経科医に必要な遺伝学的検査の解釈. 日本小児神経学会学術集会(大阪) 2015年5月29日
 - 2) Negishi Y, Miya F, Hattori A, Hori I, Ando N, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Saitoh S. Truncating mutation in *NF1A* causes brain malformation and urinary tract defects. 日本小児神経学会学術集会(大阪) 2015年5月29日
 - 3) 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
 - 4) 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
 - 5) 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
 - 6) 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

- 7) 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年10月18-21日 (Orland, USA)
- 8) 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年6月16-18日

G . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

小児の急性脳症・けいれん重積状態に関係する遺伝子異常に関する研究

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

小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子が関係することが示唆されていた。このため、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするため、小児の急性脳症の症例とけいれん重積を来しうるてんかんで遺伝子解析を実施した。当初はサンガーシークエンサーを用いての解析であったが、その後ターゲットキャプチャーシークエンス法を実施して網羅的な遺伝子解析を行った。患者遺伝子変異解析は福岡大学病院倫理委員会で改定認可された方法で実施した。600例以上の主に難治性てんかんの症例で、多くのてんかん遺伝子に様々な遺伝子異常を見いだした。さらに、小児の急性脳症とNa⁺チャネルの 1 と 2 サブユニットをコードするそれぞれSCN1AとSCN2A遺伝子の遺伝子多型との関係を明らかとした。すなわち、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を裏づけた。また、その遺伝子情報を基にSCN1A遺伝子の変異での遺伝子型と表現型の関係を多数の日本人Dravet症候群で明らかにした。これら成果により、診療並びに、厚生労働行政に資する所見が得られた。

A．研究目的

小児の急性脳症・けいれん重積状態は患児に重大な精神運動発達障害を来すことが多い。その病態を明らかにして、予防、治療などの診療に資することは厚生労働行政にとって重要な課題の一つである。

小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子が関係することが示唆されている。このため、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするため網羅的な遺伝子解析を実施する。さらにその情報を利用して、Dravet 症候群を引き起こす変異が同定され、また急性脳症との関係が示唆される SCN1A 遺伝子変異での遺伝子型と表現型の関係を明らかにする。

B．研究方法

民族差による遺伝子的多様性を少なくするため、多数の日本人の小児の急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例から、できう

る限り両親を含むトリオ検体として DNA を収集した。

研究開始当初はサンガーシークエンサーを用いて、主にイオンチャネルをコードする遺伝子を対象に遺伝子解析を行った。その後、次世代シークエンサーを利用したキャプチャードシークエンスを行い、てんかんで遺伝子変異が報告されている遺伝子に対して網羅的に解析を行った。

対象とした急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかん症例の詳細な臨床症状を併せて収集し、得られた遺伝子変異との関係を明らかにした。

（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

全国から収集された症例の600例以上で様々な遺伝子異常が見いだされた。最も多くの変異が見いだされた遺伝子は中枢神経の電位依存性Na⁺チャンネルNav1.1の1サブユニットをコードするSCN1Aであった。この他、同2サブユニットをコードするSCN2A遺伝子、K⁺チャンネルをコードするKCNQ2、プロトカドヘリンファミリー分子をコードするPCDH19等様々な遺伝子に遺伝子変異が同定された。

また、この中で、急性脳症の症例にSCN1AとSCN2A遺伝子多型が関係していることが明らかとなった。さらに、SCN1A遺伝子変異を有する多数の日本人Dravet症候群の患者で遺伝型と臨床型の調査から、その予後や抗てんかん薬に対する反応性が遺伝型で予想できることが明らかとなった。

D . 考察

多数の日本人の急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例での、網羅的遺伝子解析とその臨床像の比較検討により、急性脳症の発症にSCN1A遺伝子やSCN2A遺伝子が関与していることが裏付けられた。また、SCN1A遺伝子変異を有する多数の日本人Dravet症候群の患者の解析から、遺伝子型からDravet症候群の予後や抗けいれん薬への反応性が予想できることが明らかになり、遺伝子型が診療に寄与することが示された。以上より、急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例で、臨床に還元可能な知見が得られた。

E . 結論

三年間を通じて、急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例での遺伝子解析を行い、急性脳症の発症に関する遺伝子多型とけいれん重積を来し得るてんかんのDravet症候群で遺伝子型が、予後や抗てんかん薬への反応などの予測に役立つことが示された。以上の結果は小児の急性脳症・けいれん重積状態の厚生労働行政にとっても資するものと思われた。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. 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.
3. 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.

4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
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.
9. 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.
10. 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.
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.
12. Ishii A, Hirose S. New Genes for Epilepsy - Autism Comorbidity. J Pediatr Neurol.

- 2017;15:105-14.
13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
 16. 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.
 17. 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.
 18. 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.
 19. Yamamoto T, Shimojima K, Sangu N, Komoike Y, Ishii A, Abe S, Yamashita S, Imai K, Kubota T, Fukasawa T, Okanishi T, Enoki H, Tanabe T, Saito A, Furukawa T, Shimizu T, Milligan CJ, Petrou S, Heron SE, Dibbens LM, Hirose S, Okumura A. Single Nucleotide Variations in CLCN6 Identified in Patients with Benign Partial Epilepsies in Infancy and/or Febrile Seizures. *PLoS ONE.* 2015;10(3):e0118946.
 20. Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). *J Neurol Sci* 2015;358(1-2):62-5.
 21. Shi XY, Yang XF, Tomonoh Y, Hu LY, Ju J, Hirose S, Zou LP. Development of a mouse model of infantile spasms induced by N-methyl-d-aspartate. *Epilepsy Res.* 2015;118:29-33.
 22. Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M. Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline. *Brain Dev.* 2015;37:463-70.
 23. Saitoh M, Ishii A, Ihara Y, Hoshino A, Terashima H, Kubota M, Kikuchi K, Yamanaka G, Amemiya K, Hirose S, Mizuguchi M. Missense mutations in sodium channel SCN1A and SCN2A predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures. *Epilepsy Res.* 2015;117:1-6.
 24. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. *Brain Dev.* 2015;37(2):243-9.
 25. Kano S, Yuan M, Cardarelli RA, Maegawa G, Higurashi N, Gaval-Cruz M, Wilson AM, Tristan C, Kondo MA, Chen Y, Koga M, Obie C, Ishizuka K, Seshadri S, Srivastava R, Kato TA, Horiuchi Y, Sedlak TW, Lee Y, Rapoport JL, Hirose S, Okano H, Valle D, O'Donnell P, Sawa A, Kai M. Clinical utility of neuronal cells directly converted from fibroblasts of patients for neuropsychiatric disorders: studies of lysosomal storage diseases and channelopathy. *Curr Mol Med.* 2015;15(2):138-45.
 26. Ishii A, Hirose S. Ring Chromosome 20 Syndrome and Epilepsy. *J Pediatr Epilepsy.* 2015;4:47-52.
 27. Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A,

- Sugawara Y, Sakuma H, Tomonoh Y, Inoue T, Hoshina M, Satomi R, Ohfu M, Itomi K, Takano K, Kirino T, Hirose S. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure*. 2015;27:1-5.
28. Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Saitoh M, Mizuguchi M, Ihara Y, Ishii A, Hirose S. A case of recurrent encephalopathy with SCN2A missense mutation. *Brain Dev*. 2015;37(6):631-4.
2. 学会発表
1. Voltage-Gated sodium Ion Channels in Epileptic Encephalopathy Hirose S AOCCN 2017, 2017.5/4-5/7 日本
 2. 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)
 3. The potential of stem cells in precision medicine Hirose S. 32nd International Epilepsy Congress (2017.9.2-6Barcelona, Spain)
 4. Pediatric Research in Japan : Past and present Hirose S. 大韓小児科学会 (2017.10.26-27 韓国)
 5. Genetics of epileptic encephalopathy Hirose S, Souvenir, 4th National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics(SIAMG)(2017.12.8-10.インド)
 6. Cme in management of genetic disorders Newborn screening for LSD Hirose S, Souvenir, 4th National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics (SIAMG) (2017.12.8-10.インド)
 7. "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
 8. How to interpret the results of a genetic test for epilepsy, Hirose S. 11th Asian & Oceanian epilepsy congress, Hong Kong 2016. 5/13-16
 9. Channelopathy in Early- life Seizures. Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, Tipei, Taiwan, 2015.5.14-17 , Tipei, Taiwan
 10. Identification of a De Novo KCNT1 Mutaion in a Girl with Infantile Spasms, Inoue T, Ishii A, Tsurusawa R, Nakamura N, Kanaumi T, Saitu H, Kato M, Hirose S, Ogawa A. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17, Taipei, Taiwan
 11. Retigabine, a Kv7.2 Channel Opener, Attenuated Drug-induced Seizures in Knock-in Mice Harboring KCNQ2 Mutations. Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 12. A Case of Hashimoto Encephalopathy with Grave's Disease. Yamaguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Yoshimura K, Ideguchi H, Inoue T, Takahashi Y, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan
 13. Peripheral Neuropathy and Orthostatic Dysregulation Associated with Multiple Autoantibodies. Kawatani E, Fujita T, Onozawa K, Tomonoh Y, Ideguchi H, Inoue T, Shimono M, Koike H, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17Taipei, Taiwan
 14. Neurological Complications of in-patients with Exanthem Subitum. Fujita T, Ideguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Ihara Y, Kanaumi T, Inoue T, Takahashi Y, Hirose S, Yasumoto S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 15. A KCNQ2 Mutation Enhances Firing and GABA Release of GABAergic Interneurons in the Neonatal Hippocampus. Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 16. Immediate Suppression of Seizure Clusters by Corticosteroids in PCDH19 Female Epilepsy. Higurashi N, Takahashi Y, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 17. Genome Editing of SCN1A in iPS Cells to Study the Pahomechanisms of Dravet Syndorome. Tanaka Y, Sone T, Uchida T, Higurashi N, Ishikawa M, Okano H, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan,
 18. A Kcnq2 mutation facilitates firing and GABA release of GABAergic interneurons in the neonatal hippocampus , Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. AMERICAN EPILEPSY Society ,69th Annual meeting , 2015.12.4-8, Philadelphia, America
- G . 知的財産権の出願・登録状況**
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, 他		小児急性脳症診療ガイドライン策定ワーキンググループ	小児急性脳症診療ガイドライン2016	診断と治療社	東京	2016	
前垣義弘, 他		小児けいれん重症治療ガイドライン策定ワーキンググループ	小児けいれん重症治療ガイドライン2017	診断と治療社	東京	2017	
山内秀雄, 他		Yamanouchi H, Moshé LS, Okumura A	Acute Encephalopathy and Encephalitis in Infancy and Its Related Disorders.1st Ed.	Elsevier	St. Louis	2017	

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
Yamamoto H, Okumura A, Natsume J, Kojima S, Mizuguchi M.	A severity score for acute necrotizing encephalopathy.	Brain and Development	37(3)	322-327	2015
Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M.	Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline.	Brain and Development	37(3)	463-470	2015
Saitoh M, Ishii A, Ihara Y, Hoshino A, Terashima H, Kubota M, Kikuchi K, Yamanaka G, Amemiya K, Hirose S, Mizuguchi M.	Missense mutations in sodium channel <i>SCN1A</i> and <i>CN2A</i> predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures.	Epilepsy Research	117	1-6	2015
Takanashi JI, Mizuguchi M, Terai M, Barkovich AJ.	Disrupted glutamate-glutamine cycle in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Neuroradiology	57(11)	1163-1168	2015

Tada H, <u>Takanashi JI</u> , Okuno H, <u>Kubota M</u> , <u>Yamagata T</u> , Kawano G, Shiihara T, Hamano SI, <u>Hirose SI</u> , Hayashi T, Osaka H, <u>Mizuguchi M</u> .	Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD).	Journal of the Neurological Sciences	358(1-2)	62-65	2015
Abe Y, Sakai T, <u>Okumura A</u> , Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano SI, Hirano K, Kikuchi K, <u>Kubota M</u> , Lee S, <u>Maegaki Y</u> , Sanefuji M, Shimozato S, Suzuki M, Suzuki Y, Takahashi M, Watanabe K, <u>Mizuguchi M</u> , <u>Yamanouchi H</u> .	Manifestations and characteristics of congenital adrenal hyperplasia-associated encephalopathy.	Brain and Development	38(7)	638-647	2016
<u>Saitoh M</u> , 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, <u>Kubota M</u> , <u>Mizuguchi M</u> .	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
Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A, Okuno T, Nakahara E, Imamura T, <u>Saitoh M</u> , <u>Mizuguchi M</u> , Shimizu T, Ohno K, <u>Okumura A</u> .	<i>MYRF</i> is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization.	Annals of Neurology	83(1)	98-106	2018
<u>Maegaki Y</u> , Kurozawa Y, Tamasaki A, Toqawa M, Tamura A, Hirao M, Naqao A, Kouda T, Okada T, Hayashibara H, Harada Y, Urushibara M, Sugiura C, Seijima H, Tanaka Y, Matsuda-Ohtahara H, Kasai T, Kishi K, Kai S, Toyoshima M, Kanazaki S, Ohno K; Status Epilepticus Study Group.	Early predictors of status epilepticus-associated mortality and morbidity in children.	Brain and Development	37(5)	478-486	2015
Ueda R, Saito Y, Ohno K, Maruta K, Matsunami K, Saito Y, Sokota T, Sugihara S, Nishimura Y, Tamasaki A, Narita A, Imamura A, <u>Maegaki Y</u> .	Effect of levetiracetam in acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures during acute and chronic phase.	Brain and Development	37(5)	478-486	2015

Tsubouchi Y, Itamura S, Saito Y, Yamashita E, Shinohara Y, Okazaki T, Ohno K, Nishimura Y, Oguri M, Maegaki Y.	Use of high b value diffusion-weighted magnetic resonance imaging in acute encephalopathy/encephalitis during childhood.	Brain and Development	40(2)	116-125	2018
Omata T, Fujii K, <u>Takanashi J</u> , Murayama K, Takayanagi M, Muta K, Kodama K, Iida Y, Watanabe Y, Shimomoto N.	Drugs indicated for mitochondrial dysfunction as treatments for acute encephalopathy.	Journal of the Neurological Sciences	360	57-60	2016
Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shimada T, <u>Takanashi J</u> , Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Niiijima S, Shimizu T, Okumura A.	Efficacy of antiepileptic drugs for the treatment of Dravet syndrome with different genotypes.	Brain and Development	37(9)	418-422	2015
Fujita Y, <u>Takanashi J</u> , 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, <u>Takanashi J</u> .	Clinically mild infantile encephalopathy associated with excitotoxicity.	Journal of the Neurological Sciences	373	138-141	2017
Hirai N, Yoshimaru D, Moriyama Y, Yasukawa K, <u>Takanashi J</u> .	A new infectious encephalopathy syndrome, clinically mild encephalopathy associated with excitotoxicity (MEEX).	Journal of the Neurological Sciences	380	27-30	2017
Ishida S, Yasukawa K, Koizumi M, Abe K, Hirai N, Honda T, Sakuma S, Tada H, <u>Takanashi J</u> .	Excitotoxicity in encephalopathy associated with STEC O-157 infection.	Brain and Development	40(4)	357-360	2018
Nakahara E, <u>Sakuma H</u> , Kimura-Kuroda J, Shimizu T, Okumura A, Hayashi M.	A diagnostic approach for identifying anti-neuronal antibodies in children with suspected autoimmune encephalitis.	Journal of Neuroimmunology	285	150-155	2015
<u>Sakuma H</u> , Tanuma N, Kuki I, Takahashi Y, Shiomi M, Hayashi M.	Intrathecal overproduction of proinflammatory cytokines and chemokines in febrile infection-related refractory status epilepticus.	Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry	86(7)	820-822	2015

Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Azuma Y, Tsuji T, <u>Okumura A</u> , Kubota T, Ando N, <u>Saitoh S</u> , Miura K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S.	Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Epilepsia	56(8)	1286-1293	2015
Yamamoto H, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Suzuki M, Tsuji T, Kubota T, Yamada A, Ozeki M, Kato Z, Kawamura Y, Yoshikawa T, <u>Okumura A</u> , Ando N, Saitoh S, Takahashi Y, Watanabe K, Kojima S.	Clinical and neuroimaging findings in children with posterior reversible encephalopathy syndrome.	European Journal of Pediatrics	19(6)	672-678	2015
<u>Saitoh S</u>	Clinical, molecular, and neurophysiological features in Angelman syndrome.	Journal of Pediatric Epilepsy	4	17-22	2015
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, <u>Saitoh S</u> .	A combination of genetic and biochemical analyses for the diagnosis of PI3K-AKT-mTOR pathway-associated megalencephaly.	BMC Medical Genetics	18	4	2017
Ishii A, Watkins JC, Chen D, <u>Hirose S</u> , Hammer MF.	Clinical implications of SCN1A missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome.	Epilepsia	58(2)	282-290	2017

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
	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	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