

急性壊死性脳症の遺伝的要因に関する研究

研究分担者 水口 雅 東京大学 大学院医学系研究科 研究員
心身障害児総合医療療育センター むらさき愛育園 園長
研究協力者 星野 愛 東京大学 大学院医学系研究科 研究員
東京都立神経病院 神経小児科 医師

研究要旨

急性壊死性脳症 (ANE) はサイトカインストームを主な病態とする激症型急性脳症で有効な治療法に乏しい。本研究ではサイトカイン遺伝子多型がANE発症の危険因子である可能性を検討した。症例・対照関連解析により日本人ANE患者におけるサイトカイン遺伝子プロモーター領域の多型を検討した結果、*IL6* rs1800796 Gアレルと *IL10* rs1800871/rs1800872 CC/CCディプロタイプの頻度が対照群より有意に高かった。後者については *in vitro* の機能解析でIL-10低産生との関連が認められた。ANEの発症にサイトカイン産生に関わる遺伝素因が関与していることが示された。

A. 研究目的

急性壊死性脳症 (acute necrotizing encephalopathy, 以下 ANE) はサイトカインストーム（自然免疫系の暴走）を主な病態とする急激・重篤な急性脳症であり、死亡や重度の神経学的後遺症をきたす率が高い。治療は困難で、現在広く行われる免疫抑制療法（副腎皮質ステロイド）の効果は限定的である。

ANE は複雑疾患（多因子病）であり、発症のリスク要因として複数の環境因子と遺伝因子がある。環境因子としては、従来の研究により感染症（インフルエンザ、突発性発疹、ロタウイルス胃腸炎、COVID-19 など）と薬物（COX2 阻害薬）が知られており、これに基づく ANE の予防対策（ワクチン接種や薬剤使用差し控え）が立てられている。一方、遺伝因子としては家族性再発性 ANE（欧米などに多く、日本では稀）における *RANBP2* 遺伝子変異、孤発性 ANE（日本人症例の大多数）では HLA 型 (*DRB1*09:01* と *DQB1*03:03*) の関与が知られているのみであり、ほとんどが未解明である。また遺伝子バリエーションから着想を得た ANE の分子標的治療は、海外におけるインターロイキン 6 (IL-6) 阻害薬の試みを除くと現在、ほぼ手つかずの状況にある。

本研究の目的は ANE の遺伝的要因のさらなる解明を通じ、新たな分子標的を探索することである。今年度は ANE 急性期に大多数の患者で著明な産生増加を示すサイトカイン (IL-6 と IL-10) をコードする遺伝子 (*IL6* と *IL10*) に注目し、産生量に影響を及ぼし得るプロモーター領域の多型が ANE 発症のリスク要因であるか否かを検討した。

B. 研究方法

東京大学発達医科学教室で管理している急性脳症レジストリ・レポジトリに登録されていた 31 人の日本人 ANE 患者を対象とした。すべて孤発例であり、*RANBP2* 遺伝子変異は無かった。症例・対照関連分析の対照例としては健康な日本人成人約 200 人のデータを用いた。

既に報告されていた遺伝子プロモーター領域の多型として *IL6* 遺伝子では rs1800797, rs1800796, rs2069829, rs1800795, *IL10* 遺伝子では rs1800896, rs1800871, rs1800872 の配列を決定した。なお rs1800871 と rs1800872 は日本人では完全相関していた。遺伝子多型の頻度を ANE 患者群と対照群の間で比較した。

遺伝子頻度に有意差の認められた *IL6* 遺伝子 rs1800796 G アレルと *IL10* 遺伝子 rs1800871/rs1800872 CC/CC ディプロタイプについては、*in vitro* の機能解析によりサイトカイン産生能に及ぼす影響を検証した。その方法として、健康な日本人成人 32 人の末梢血リンパ球から作成したリンパ芽球を培養、PMA 刺激前後の培養上清中 IL-6, IL-10 濃度を測定し、前後の比を rs1800796 アレル間ないし rs1800871/rs1800872 ディプロタイプ間で比較した。

（倫理的配慮）

本研究は東京大学大学院医学系研究科においてヒトを対象とする遺伝学的研究に関する倫理審査を受け、承認された。また患者の保護者から研究への参加に関する文書による承諾を得た。

C. 研究結果

遺伝子解析の結果、*IL6* 遺伝子 rs1800796 G アレルの頻度は ANE 患者群 (37.1%) において対照群 (21.0%) より有意に高かった (OR=2.221, $P=0.0069$, $P_c=0.048$)。 *IL10* 遺伝子 rs1800871/rs1800872 CC/CC ディプロタイプの頻度は ANE 患者群 (22.6%) において対照群 (8.4%) より有意に高かった (OR=3.193, $P=0.0137$)。

機能解析の結果、IL-10 濃度の PMA 刺激前後の比は *IL10* 遺伝子 rs1800871/rs1800872 CC/CC ディプロタイプが最も低く、TA/TA ディプロタイプが最も高く、両者の差は有意であった ($P=0.0396$)。は IL-10 低産生と関連していた。一方 IL-6 濃度の前後比は、*IL6* 遺伝子 rs1800796 のハプロタイプ (CC/CG/GG) 間で有意差がなかった。

D. 考察

本研究を通じて *IL6* 遺伝子 rs1800796 G アレルと *IL10* 遺伝子 rs1800871/rs1800872 CC/CC ディプロタイプは ANE の遺伝的リスク因子である可能性が判明した。特に後者 (*IL10* 遺伝子多型) の可能性は機能解析の結果によっても支持されており、確度が非常に高い。一方、前者 (*IL6* 遺伝子多型) の可能性については、機能解析をより生体内に近い条件で行うなど、さらなる検討が必要と考えられた。

インフルエンザなどの感染症に対する自然免疫系の応答において IL-6 は炎症を促進、IL-10 は炎症を抑制する機能を果たす。したがって IL-6 の高レベル産生、IL-10 の低レベル産生に関連する遺伝子多型は感染刺激に対する自然免疫系の過剰な応答、サイトカインストームを通じて ANE 発症につながりやすいという仮説が考えられる。

本研究の結果は IL-10、IL-6 などのサイトカインを分子標的とした ANE の新しい治療に対する理論的な根拠を与えると考えられる。

E. 結論

ANE 発症リスクとなり得る遺伝要因として、サイトカイン遺伝子プロモーター領域の多型が新たに見出された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hoshino A, Takahashi N, Oka A, Mizuguchi M. Association of *IL6* and *IL10* gene promotor polymorphisms with susceptibility to acute

necrotizing encephalopathy *Frontiers in Neuroscience* 2023; 17: 1231957.

安西真衣, 大澤麻記, 水口雅. Canadian Occupational Performance Measure を用いた親子リハビリテーション入園の評価. *The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine* 2023; 60(2): 152-158.

Kasai M, Sakuma H, Abe Y, Kuki I, Maegaki Y, Murayama K, Murofushi Y, Nagase H, Nishiyama M, Okumura A, Sakai Y, Tada H, Mizuguchi M, Takanashi JI; Japanese Pediatric Neuro-COVID-19 Study Group. Clinical characteristics of SARS-CoV-2-associated encephalopathy in children: Nationwide epidemiological study. *Journal of the Neurological Sciences* 2024; 457: 122867.

水口雅. [小児科学レビュー-最新主要文献とガイドライン-]脳炎・脳症. *小児科臨床* 2023; 76(3): 331-336.

水口雅. 脳炎・脳症. 長谷川泰延, 加藤元浩 (監修) 最新主要文献とガイドラインでみる小児科学レビュー2023. 総合医学社, 東京, 2023, pp. 56-61.

2. 学会発表

高須倫彦, 中澤友幸, 椎原隆, 清水俊明, 水口雅, 安西真衣. 一相目の直後から大脳皮質局所症状を認めた痙攣重積型急性脳症の1例. 第64回日本小児神経学会学術集会, 岡山, 2023年5月26日

水口雅. 熱性けいれん (発作)、てんかん (けいれん) 重積状態、急性脳症の診療ガイドライン改訂のポイント. 第127回日本小児科学会学術集会、福岡、2024年4月21日

H. 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