

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

炎症を介した発作重積状態を伴う急性脳症の病態にもとづく治療法開発

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）

研究要旨

遅発性拡散低下を呈する急性脳症(AESD)や難治頻回部分発作重積型急性脳炎（AERRPS）など、炎症を介した発作重積状態を伴う急性脳症（AEIMSE）の臨床、遺伝、病態を解明するための研究を行った。テオフィリン関連脳症について、全国から症例を集積して臨床的・遺伝学的に検討し、そのほとんどが AESD の臨床像を呈すること、AESD のリスクファクターである遺伝子変異・多型を有することを明らかにした。腸管出血性大腸菌脳症について、2011 年の O-111 集団感染事例における臨床疫学的研究を行い、頭部 CT・MRI 所見の特徴を明確にするとともに、メチルプレドニゾロン・パルス療法の有効性を示唆した。

研究分担者

奥村 彰久（順天堂大学医学部准教授）
齋藤 真木子（東京大学大学院医学系研究科助教）
佐久間 啓（東京都医学総合研究所主席研究員）
高梨 潤一（亀田総合病院部長）
廣瀬 伸一（福岡大学医学部教授）
山内 秀雄（埼玉医科大学医学部教授）

研究協力者

後藤 正英（東京都立小児総合医療センター 医長）
種市 尋宙（富山大学医学部助教）
三牧 正和（東京大学医学部附属病院講師）

A. 研究の目的

炎症を介した発作重積状態を伴う急性脳症（acute encephalopathy with inflammation-mediated status epilepticus, AEIMSE）(Nabbout et al.: Lancet Neurol 2011; 10: 99)は有熱時に発症し、けいれん重積状態の後に意識障害（昏睡）をきたし、後遺症としててんかんや知的障害・運動障害を残す病態の総称である。日本人小児では遅発性拡散低下を呈する急性脳症（acute encephalopathy with biphasic seizures and late diffused diffusion, AESD）と難治頻回部分発作重積型急性脳炎（acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures,

AERRPS)の2つが、AEIMSEの代表的症候群である。AESDは、塩見ら(2000)が提唱した「けいれん重積型急性脳症」とほぼ同義で、高梨ら(2006)により国際的に通用する疾患概念とされた(Takanashi et al.: Neurology 2006; 66: 1304)。急性脳症に関する水口班の全国調査(平成22年度)によると、日本におけるAESDの罹病率は1年あたり100~200人で、急性脳症の症候群中で最も高頻度に見られた(Hoshino et al.: Brain Dev 2012; 34: 337)。これに対しAERRPSは、はじめ福山・粟屋が提唱し、佐久間が再定義・確立した症候群であり(佐久間啓: 脳と発達 2001;33:385)、欧州で後から提唱されたFIRESなる疾患概念とほぼ同義である。水口班調査により1年当たり数人と稀な症候群であることが確認された(Hoshino et al.: Brain Dev 2012; 34: 337)。AESD、AERRPSとも急性期には抗てんかん薬大量静注や脳低体温など、慢性期には抗てんかん薬内服による治療が試みられるが、現状では確立した方法がなく、治療成績も不良で、革新的治療法が待望されている。

平成22~24年度の難治性疾患克服研究で水口班はAESDについて、佐久間班はAERRPSについて、疫学的・遺伝学的研究を行った。その成果として、中枢神経系のイオンチャネル遺伝子SCN1AやSCN2Aの変異がAESDおよびAERRPSの危険因子、ミトコンドリア酵素CPT2やアデノシン受容体ADORA2Aの多型がAESDの危険因子として同定された。また炎症性サイ

トカインIL-1βとそのアンタゴニストIL-1RAの多型も危険因子である可能性が指摘された。

平成25年度、水口班と佐久間班は統合して、遺伝子解析(ヒト症例の試料)と機能解析(in vitro細胞レベル)に集中して研究を推進することとした。本研究はAESDとAERRPSの概念確立に貢献した日本の小児神経学研究者が結集して、日本小児神経学会の支援する全国共同研究として展開された。本年度は、下記のような役割分担にもとづいて、研究を遂行した。

- ・ 研究の統括: 水口雅(研究代表者)
- ・ AESD、テオフィリン関連脳症: 齋藤真木子、高梨潤一(研究分担者)
- ・ AERRPS: 佐久間啓(研究分担者)
- ・ 急性壊死性脳症: 齋藤真木子、奥村彰久(研究分担者)
- ・ SCN1A 遺伝子変異にもとづく急性脳症: 齋藤真木子、廣瀬伸一(研究分担者)
- ・ 腸管出血性大腸菌脳症: 高梨潤一(研究分担者)、種市尋宙(研究協力者)
- ・ 急性脳症の後遺症: 山内秀雄(研究分担者)
- ・ 急性脳症の症例登録: 後藤知英(研究協力者)

この総括研究報告書では、今年度に成果のまとめができた2疾患、テオフィリン関連脳症と腸管出血性大腸菌脳症に関する研究に関して報告する。他の疾患に関する研究については、分担研究報告書を参照されたい。

ア. テオフィリン関連脳症

テオフィリンは気管支拡張作用を有するメチルキサンチンで、日本では小児の気管支喘息治療薬として 2005 年まで広く使用されてきた。テオフィリンの副作用として、血中濃度が有効範囲内にある場合でも有熱時痙攣を遷延、難治化することがあり、テオフィリン関連けいれんと呼ばれる。テオフィリン関連けいれんの重症例では急性期に発作後昏睡が数日から数週にわたり遷延して急性脳症の診断基準を満たし、回復期に知的障害、運動障害、てんかんなどの神経学的後遺症が出現することが多い。テオフィリン関連脳症が多くの場合 AESD の経過を辿ることは、2000 年にけいれん重積型が提唱されて以来繰り返し指摘されてきた事実である。しかしこれらの指摘は単一施設の経験にもとづいたものであり、全国規模の多施設共同研究は行われていなかった。また従来、テオフィリン関連脳症の遺伝的背景に関する研究もなかった。そこで本研究では、日本全国の施設の共同研究によりテオフィリン関連脳症の症例を集積し、その臨床経過、画像所見を検討して AESD と比較した。また遺伝子解析を行って、テオフィリン関連脳症における AESD 関連遺伝子変異・多型の有無を検討した。

イ. 腸管出血性大腸菌脳症

腸管出血性大腸菌（志賀毒素産生性大腸菌）には O-157、O-111、O-26 などの菌株があり、下痢ないし出血性大腸炎を生じる。重症化すると溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome、HUS）、さらには急性脳症を生じる。腸管出血性大腸

菌は汚染された食品や水を通じて集団感染を起こすことが多く、日本でも浦和市（1990 年）、邑久町、堺市（1996 年）などで O-157 感染患者が多発した。現在、HUS に対しては血液透析その他の治療があり救命可能であるが、脳症に対しては確立した治療がない。このため腸管出血性大腸菌による死亡例の大多数で、脳症が直接死因となっている。2011 年 4～5 月にかけて、ある焼肉チェーン店が出した生肉が原因となり O-111 の集団感染事例が富山県を中心に発生した。そこで当研究班は厚生労働科学研究特別研究（平成 23 年度）EHEC/0111 食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究（佐多班）の研究を引き継ぎ、脳症に的を絞った臨床的研究を行って腸管出血性大腸菌脳症の臨床像を明らかにし、治療の効果を検討した。

B. 研究方法

ア. テオフィリン関連脳症

テオフィリン内服またはアミノフィリン静注から数時間以内にてんかん重積状態で発症した急性脳症の症例を対象とした。日本小児神経学会の支援する共同研究として指定を受け、2008～2012 年、日本各地の小児神経専門医から 16 症例の提供を受けた。症例の臨床経過については、家族歴、既往歴、先行感染、テオフィリン血中濃度、てんかん重積状態の持続時間、二相性けいれんの有無、頭部 CT・MRI 所見、治療、予後に関する情報を得た。AESD の診断は、臨床経過と頭部 CT・MRI 所見の両方に

AESD の特徴がある場合は「確実」、一方にある場合は「ほぼ確実」、非特異的所見のみだが他疾患に合わない場合は「可能性あり」とした。

症例の遺伝的背景に関しては、症例の末梢血からゲノム DNA を抽出し、従来の水口班研究で AESD との関連が明らかにされた数種類の変化、すなわち(1) carnitine palmitoyltransferase 2 (*CPT2*)の熱感受性多型(F352C)、(2) adenosine A2A receptor (*ADORA2A*)の機能亢進をきたす多型の組み合わせ (haplotype A)、(3) sodium channel 1A (*SCN1A*)および 2A (*SCN2A*) 遺伝子変異に的を絞った候補遺伝子解析を行った。

本研究は、東京大学医学部倫理委員会の審査、承認を受け、患者の保護者に十分な説明を行い、文書による承諾を得たうえで施行した。

イ. 腸管出血性大腸菌脳症

2011 年 4～5 月、富山県を中心として発生した腸管出血性大腸菌 O-111 感染症の 86 症例 (小児 21 例、成人 65 例) の臨床的・細菌学的データを得て、臨床的検討を加えた。このうち 21 症例 (小児 10 例、成人 11 例) が急性脳症を合併したので、治療を行った各施設の協力を得て、臨床および頭部 CT・MRI のデータを収集し、後方視的に解析した。

本研究は、亀田メディカルセンターと国立感染症研究所の倫理委員会の審査、承認を受けたうえで施行した。

C. 研究結果

ア. テオフィリン関連脳症

16 例の日本人患者 (男：女 = 11：5、年齢 6 か月～4 歳) が集積された。臨床データは患者間で似通っていた。家族歴は 2 例に熱性けいれん、既往歴も 2 例に熱性けいれんがあったが、他には特記すべきものがなかった。全例が気管支喘息発作または急性気管支炎の治療目的で一時的なテオフィリンないしアミノフィリン投与を受けていた。テオフィリン血中濃度は 5 例で測定され、いずれも治療域内(3.9～11.8 $\mu\text{g/ml}$)であった。全例が気道感染により発熱していた。初発のけいれんは発熱から 24 時間以内に生じ、ほとんどの例で重積状態であった。けいれんが 15 分以上続いた 13 例のうち、7 例がバルビツール薬の持続静注 (2～11 日間) 2 例が脳低体温療法を受けた。11 例は AESD の特徴である二相性けいれんを呈した。

急性期～亜急性期の頭部 CT・MRI 所見は 15 症例で得られた。10 症例は AESD の特徴である遅発性大脳皮質浮腫、脳葉ないし半球におよぶ病変分布、bright tree appearance (皮質下白質の樹枝状の拡散低下) の少なくともひとつを呈した。残る 5 例中 1 例は回復期に、AESD のもうひとつの特徴である「病変の Roland 周囲領域回避」を呈した。回復期の CT・MRI では 11 症例に広汎な脳萎縮が見られた。

遺伝子解析では 16 症例中 8 例に *CPT2* 遺伝子の F352C 多型があった。*ADORA2A* 遺伝子の haplotype A は 3 例でホモ接合、

11 例でヘテロ接合であった。*SCN1A* 遺伝子変異 (V982L) と *SCN2A* 遺伝子変異 (F328V) が各々 1 例に見いだされた。

イ. 腸管出血性大腸菌脳症

急性脳症 21 例の全例が HUS を発症していた。HUS の小児 11 例中では 10 例が、成人 23 例中では 11 例が脳症を発症した。生肉喫食から脳症発症までは 7～15 日、HUS 診断から脳症発症までは 0～7 日であった。治療として体液・電解質管理、輸血、降圧剤などの支持療法に加え、血液透析 (17 例)、血漿交換 (12 例) などの血液浄化療法が行われた。脳症に対する治療として、2011 年 4 月中は支持療法のみであったが、5 月に入ってメチルプレドニゾロン・パルス療法 (11 例)、免疫グロブリン静注 (13 例)、脳低体温 (1 例) などインフルエンザ脳症に準じた治療が導入された。脳症の予後は死亡が 5 例 (うち 4 例は脳症の 1～5 病日)、神経学的後遺症 (知的障害) が 1 例、治癒が 15 例であった。生存 16 例全例において、腎機能はほぼ正常まで回復した。

頭部 CT ないし MRI が、脳症の急性期に 21 症例全例で撮像された。死亡した 5 例中 4 例でびまん性脳浮腫が急速かつ高度に進行した。15 例に脳実質内の病変が認められ、その分布は両側性で、視床、大脳基底核 (被殻または淡蒼球)、外包、脳幹被蓋、小脳など症例により異なった。脳症の 6～27 病日に 5 症例の大脳白質や基底核にラクナ梗塞が出現した。

予後不良 (死亡ないし神経学的後遺症) の 6 症例と予後良好 (治癒) の 15 症例を比

較すると、HUS から脳症までの時間間隔、血清クレアチニン値、メチルプレドニゾロン・パルス療法の施行に関して有意差があったが、他の属性については差がなかった。

D. 考察

ア. テオフィリン関連脳症

テオフィリン関連脳症 16 例のうち、AESD の診断は 11 例において確実、1 例においてほぼ確実、3 例において可能性ありで、否定的なのは 1 例のみだった。このようにテオフィリン関連脳症の症例の大半は、予想どおり AESD の臨床像を呈していた。

テオフィリン関連脳症の症例の大多数は、従来から AESD の遺伝的素因として知られている遺伝子型、すなわち *CPT2* 遺伝子の熱感受性多型、*ADORA2A* 遺伝子の haplotype A、*SCN1A* 遺伝子変異または *SCN2A* 遺伝子変異のうちひとつ以上を有していた。テオフィリン関連脳症が AESD と共通の遺伝的背景を有していることが明らかとなった。

イ. 腸管出血性大腸菌脳症

2011 年の O-111 集団感染事例では、HUS 患者の中で脳症を発症する率が高いことが特徴的であった。ことに小児では 11 例中 10 例ときわめて高かった。脳症 21 例の予後は死亡 5 例、治癒 15 例と両極端に二分した。予後良好例には予後不良例に比し、メチルプレドニゾロン・パルス療法を施行した例が有意に多く、本治療法の有効性が示唆された。ただし両者間には HUS から脳症までの時間間隔、血清クレアチニン値に

についても有意差があり、予後不良例の方が元々、より重症であったことは疑いない。このため本研究の結果のみにもとづいて、メチルプレドニゾロン・パルス療法の有効性が確実とまで結論することはできない。

頭部 CT・MRI 所見は、病変分布について患者間に差が見られたが、患者全体を見るとひとつのスペクトラムに収まるものと考えられた。死亡例ではびまん性脳浮腫が急速かつ高度に進行することが特徴的であった。

E. 結論

テオフィリン関連脳症は、臨床的にも遺伝学的にも、AESD と高度にオーバーラップする。腸管出血性大腸菌脳症では脳浮腫の急速な進行が死亡に直結する。メチルプレドニゾロン・パルス療法は脳症の治療法として有望である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakai E, Yamanaka G, Kawashima H, Morishima Y, Ishida Y, Oana S, Miyajima T, Shinohara M, Saitoh M, Mizuguchi M. A case of recurrent acute encephalopathy with febrile convulsive status epilepticus with carnitine palmitoyltransferase II variation. *Neuropediatrics* 2013; 44(4): 218-221.
- 2) Tumurkhuu M, Saitoh M, Takita J, Mizuno Y, Mizuguchi M. A novel *SOS1* mutation in Costello/CFC syndrome affects signaling in both RAS and PI3K pathways. *J Recept Sig Transd Res* 2013; 33(2): 124-128.
- 3) Iwasa M, Yamagata T, Mizuguchi M, Itoh M, Matsumoto A, Hironaka M, Honda A, Momoi MY, Shimozawa N. Contiguous *ABCD1 DXS1357E* deletion syndrome: Report of an autopsy case. *Neuropathology* 2013; 33(3): 292-298.
- 4) Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, Ikeda K, Hirose S, Takanashi JI, Takita J, Kikuchi K, Kubota M, Yamanaka G, Shiihara T, Kumakura A, Kikuchi M, Toyoshima M, Goto T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. *ADORA2A* polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology* 2013; 80(17): 1571-1576.
- 5) Okitsu S, Khamrin P, Thongprachum A, Kongkaew A, Maneekarn N, Mizuguchi M, Hayakawa S, Ushijima H. Whole-genomic analysis of G3P[23], G9P[23] and G3P[13] rotavirus strains isolated from piglets with diarrhea in

- Thailand, 2006-2008. *Infection, Genet Evol* 2013; 18C: 74-86.
- 6) Thongprachum A, Khamrin P, Chan-It W, Malasao R, Chaimongkol N, Okitsu S, Mizuguchi M, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Emergence of norovirus GII/4 2006a and 2006b variants in hospitalized children with acute gastroenteritis in Thailand. *Clin Lab* 2013; 59(3-4): 271-276.
- 7) Miyazaki C, Saitoh M, Itoh M, Yamashita S, Miyagishi M, Takashima S, Moser AB, Iwamori M, Mizuguchi M. Altered phospholipid molecular species and glycolipid composition in brain, liver and fibroblasts of Zellweger syndrome. *Neurosci Lett* 2013; 552(1): 71-75.
- 8) Mizuguchi M. Influenza encephalopathy and related neuropsychiatric syndromes. *Influenza Other Resp Virus* 2013; 7(Suppl3): 67-71.
- 9) Chan-It W, Thongprachum A, Okitsu S, Mizuguchi M, Ushijima H. Genetic analysis and homology modeling of capsid protein of norovirus GII.14. *J Med Virol* 2014; 86(2):329-324.
- 10) Tran DN, Nguyen TQ, Nguyen TA, Hayakawa S, Mizuguchi M, Ushijima H. Human bocavirus in children with acute respiratory infections in Vietnam. *J Med Virol* 2013 Oct 12. doi: 10.1002/jmv.23789.
- 11) Takanashi JI, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida YI, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M. Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 E coli O111 outbreak in Japan. *Neurology* 2014; 82(7): 564-572.
- 12) Thongprachum A, Chan-It W, Khamrin P, Saparpakorn P, Okitsu S, Takanashi S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Molecular epidemiology of norovirus associated with gastroenteritis and emergence of norovirus GII.4 variant 2012 in Japanese pediatric patients. *Infect Genet Evol* in press.
- 13) 水口雅. 急性脳症—発症の遺伝的背景—。 *Neuroinfection* 2013; 18(1): 54-59.
- 14) 水口雅. [感染症症候群]急性脳症, ライ症候群. 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 25, 感染症症候群(第2版) 症候群から感染性単一疾患までを含めて, 日本臨牀社, 東京, 2013; pp. 148-152.

- 15) 水口雅. [感染性疾患]ウイルス性脳炎・脊髄炎・髄膜炎概論. 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 26, 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて, 日本臨牀社, 東京, 2013; pp. 529-535.
- 16) 水口雅. [感染性疾患]大腸菌. 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 26, 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて, 日本臨牀社, 大阪, 2013; pp. 774-778.
2. 学会発表
- 1) 高梨潤一, 水口雅, 奥村彰久, 種市尋宙, 田中朋美. 腸管出血性大腸菌(EHEC)O111 関連急性脳症の頭部画像所見の検討. 第117回日本小児科学会学術集会 広島, 2013年4月20日
- 2) 齋藤真木子, 篠原麻由, 高梨潤一, 菊池健二郎, 久保田雅也, 山中岳, 水口雅. けいれん重積型急性脳症の遺伝的素因. 第117回日本小児科学会学術集会 広島, 2013年4月20日
- 3) 星野愛, 齋藤真木子, 水口雅. 病原体及び症候群分類に基づいた急性脳症の全国実態調査. 第117回日本小児科学会学術集会 広島, 2013年4月19日
- 4) 多田弘子, 高梨潤一, 山形崇倫, 奥野英夫, 久保田雅也, 河野剛, 椎原隆, 浜野晋一郎, 廣瀬伸一, 水口雅. 二相性けいれんと遅発性拡散低下を呈する急性脳症(AESD)の予後予測に関する検討. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年5月30日
- 5) 齋藤真木子, 星野愛, 久保田雅也, 菊池健二郎, 山中岳, 廣瀬伸一, 水口雅. けいれん重積型急性脳症と熱性けいれんの遺伝的素因の比較—サイトカイン遺伝子多型解析—. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年5月30日
- 6) 座波清誉, 松本浩, 中村康子, 齋藤真木子, 水口雅. RS ウイルス関連脳症の2例: 発症機序についての考察. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年5月31日
- 7) 水口雅. [急性脳症をいかに理解するか: 今後の研究アプローチ]急性脳症の包括的遺伝子解析. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年6月1日
- 8) 西村尚子, 樋口嘉久, 井口牧子, 木村暢佑, 野崎章仁, 熊田知浩, 藤井達哉, 星野愛, 齋藤真木子, 水口雅. RANBP2, CPT-II 遺伝子変異を認めなかった急性脳症の兄弟例. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年6月1日
- 9) 星野愛, 齋藤真木子, 久保田雅也, 高梨潤一, 豊嶋光雄, 宮本晶恵, 奥村彰久, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因—HLA タイピング及びサイトカイン遺伝子多型解析—. 第55回日本小児神経学会学術集会, 大分, 2013年6月1日

- 10) Mizuguchi, M. Genetics of early onset epilepsy with encephalopathy. 12th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Riyadh, 2013 年 9 月 16 日
- 11) 水口雅. 急性脳症と遺伝子多型・変異. 第 18 回日本神経感染症学会学術集会, 宮崎, 2013 年 10 月 12 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
なし。