

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591225

研究課題名（和文） 小児感染症関連脳症における新たなバイオマーカーの探索

研究課題名（英文） Research of new biomarkers of childhood acute encephalopathy associated with infection

研究代表者

鳥巢 浩幸（TORISU HIROYUKI）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：10398076

研究成果の概要（和文）：小児感染症関連脳症では、発症早期の的確な診断と集中的な治療の開始が予後改善に重要と考えられ、早期診断に有効で、簡便な指標が必要である。我々は、早期の尿中 $\beta 2$ ミクログロブリン補正值（cBMG）の異常高値患者が死亡または重度後遺症を残していたことに着目し、早期の尿中 cBMG と急性脳症の神経学的予後の検討を行い、死亡群＋重度後遺症群は回復群と比較して有意に高値を示すことを見出した。尿中 cBMG は急性脳症の重症度診断に利用できる簡便な指標と考えられる。

研究成果の概要（英文）：To improve the prognosis of childhood acute encephalopathy associated with infection, accurate assessments followed by intensive treatments are needed at the early stage of the disease. We noticed that all patients with remarkable elevation of urinary corrected  $\beta 2$ -microglobulin(cBMG) at the early stage had the severest neurological impairment or died. The research of the relationship between urinary cBMG at the early stage and neurological prognosis showed that the urinary cBMG of patients with the severest neurological impairment including death was statistically higher than that of recovered patients. Urinary cBMG could be a readily-measurable biomarker for the evaluation of childhood acute encephalopathy associated with infection.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：小児科学

キーワード：神経科学、免疫学、脳神経疾患、感染症、小児科学

## 1. 研究開始当初の背景

## (1) 現在の感染症関連脳症に対する治療

インフルエンザ脳症をはじめとする、感染症に関連して発症する急性脳症（感染症関連脳症）は、高率に後遺症を残す、小児期の重篤な急性神経疾患の一つである。しかし、現時点では、感染症関連脳症の病初期に患者の

重症度を迅速に判断し、予後を予測することは困難であるため、経過を観察しながらその病因・病型を推定し、治療を進めているのが現状である。

インフルエンザ脳症のガイドラインでは、意識障害の程度と頭部 CT 所見をもとに脳症の診断を行い、特異的治療（メチルプレドニゾン・パルス療法、ガンマグロブリン大量

療法)を行うことを勧めている。この際、重症度の判定において、血液・髄液所見は基準の中核に置かれず、脳症の予後不良因子として、「Hb:14g/dl以上、血小板:10万/ $\mu$ l未満、AST/ALT:100IU/l以上、CK:1,000IU/l以上、血糖:50mg/dl未満または150mg/dl以上、PT:70%未満、NH<sub>3</sub>:50 $\mu$ /dl以上」が付記として挙げられているにすぎない。

一般に感染症関連脳症の初期に患者の重症度を迅速に判断し、予後を予測することは困難で、経過を観察しながらその病因・病型を推定し、治療を進めているのが現状である。このため、感染症関連脳症に対し、より有効な治療を行うために、病初期に利用可能で、病態・病勢の情報を与える、新たなバイオマーカーを発見する必要がある。

## (2) 感染症関連脳症における免疫応答

急激に病状が進行する感染症関連脳症においては、早期の免疫応答が病態に深く関与すると考えられている。近年、免疫学的知見の集積により、感染早期の免疫応答における細胞間ネットワークが明らかになり、感染症関連脳症における早期の免疫応答の状態を、細胞表面マーカー解析による細胞集団のクラスタリングとサイトカイン測定を行うことで、推定することが可能になってきた。

## (3) CD69を用いた、末梢血白血球の活性化評価と神経合併症との関連

CD69は別名 early T cell activation antigen と呼ばれ、細胞の活性化にともないT細胞、B細胞、NK細胞他ほとんどの造血細胞で発現する。このため、CD69は様々な状態での白血球の subpopulation の活性化を知る上で有用な指標となる。われわれは、インフルエンザ患者において神経合併症と白血球の subpopulation の活性化の関連について検討を行い、インフルエンザ患者の神経症状合併例では ① CD16 陽性 NK 細胞が高率に活性化

され、② T細胞では  $\gamma\delta$  陽性T細胞が  $\gamma\delta$  陰性T細胞より高率に活性化されていることを示した。これらの細胞は感染早期における innate immunity を担う細胞群であり、この結果から、innate immunity がインフルエンザに伴う高サイトカイン血症、神経合併症に関与することを予想した。

## 2. 研究の目的

本研究では、小児感染症関連脳症患者データおよび非関連脳症患者データを集積し、両群の臨床像の相違を明らかにし、細胞表面マーカー、サイトカインなどの解析を行い、両群の比較検討を行い、感染関連脳症群に特徴的なバイオマーカーを見出す。また、感染症関連脳症群内の臨床病型と検査データとの検討により、病型診断あるいは病態解明のために役に立つ、バイオマーカーを見出す。さらに、感染症関連脳症の予後と検査データとの関連を解析することにより、治療方針決定に有用なバイオマーカーを見出す。

## 3. 研究の方法

我々は、2007年1月から九州大学病院に入院し、加療を受けた小児期の感染症関連脳症患者の集積を行い、臨床データの解析と発症初期の血液、髄液を用いた検査データの解析を行い、臨床症状との関連について統計学的検討を加えた。

## 4. 研究成果

### (1) 症例の内訳

7例のインフルエンザ脳症患者(1歳男3例、1歳女、4歳女、6歳男、9歳女)、3例のロタウイルス感染症関連脳症患者(0歳女、1歳男、2歳男)、1例のアデノウイルス感染症関連脳症感染症(0歳男)、原因不明の急性脳症患者8例(0歳女、1歳男、1歳女2例、2歳男、3歳男、7歳女、8歳男)を集積した。

病型は、ロタウイルス感染症関連脳症1例

は出血性ショック脳症を呈し、死亡した。重度の後遺症は、インフルエンザ脳症患者2例、ロタウイルス感染症関連脳症1例とその他の急性脳症患者1例にみられた。

(2) 生化学データ

生化学データの解析では、サイトカイン産生過程の副産物と考えられる、尿中β2ミクログロブリン補正值が、急性脳症患者の予後と関連する傾向が認められた。

(3) 白血球細胞表面マーカー

白血球細胞表面マーカーの解析では、感染に対する初期の免疫応答を反映すると考えられる、CD56陽性NK細胞のCD69陽性率はインフルエンザ脳症患者で高い傾向にあるが、予後との関連は明らかではなかった。

(4) サイトカイン解析

また、予後不良な出血性ショック脳症例と痙攣重積型脳症例の病初期における血液中、髄液中サイトカインの解析では、前者は病初期より著明な高サイトカイン血症を示したのに対し、後者では、軽度の上昇にとどまり、病態の違いを示唆した。

(5) 多施設研究

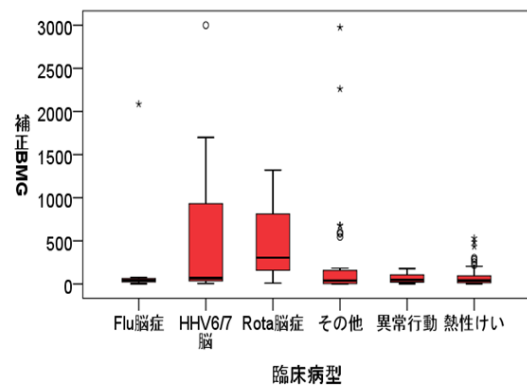
我々は、尿中β2-microglobulin(BMG)補正值が、急性脳症の神経学的予後に相関があることを踏まえ、他施設のデータと併せて、症例を増やし、尿中BMG補正值のウイルス関連脳症の病型による早期診断における有用性を検討した。

対象者は小児153名(男91名、女62名)。

疾患の内訳はインフルエンザ(Flu)脳症7名、HHV-6(7)脳症6名、Rota脳症3名、その他の脳症34名、複雑型熱性けいれん66名(内Flu22名、HHV-6/74名)、異常行動37名であった。

尿中BMG補正值(X100 μg/g Cr)中央値はFlu脳症43、HHV-6(7)脳症69、Rota脳症306、その他の脳症40、複雑型熱性けいれん

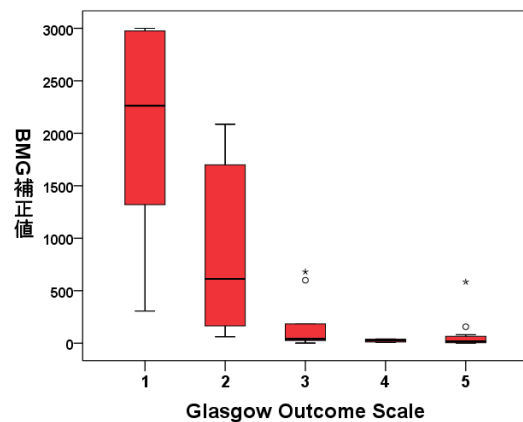
40、異常行動46であった。



尿中BMG補正值の異常高値患者はFlu脳症1例、HHV6脳症1例、急性壊死性脳症(HHV6脳症)1例、出血性ショック脳症3例(1例はRota脳症)の計6例で、死亡または重度の後遺症を残していた。

症例	年齢(か月)	性	分類	尿中BMG (X10 <sup>2</sup> μg/gCr)	予後
1	14	男	Flu脳症	2,086	重度後遺症
2	21	女	HHV-6脳症 (急性壊死性脳症)	3,000	死亡
3	20	男	HHV-6脳症	1,699	重度後遺症
4	12	女	Rota脳症 (出血性ショック脳症)	1,320	死亡
5	34	男	その他の脳症 (出血性ショック脳症)	2,975	死亡
6	29	女	その他の脳症 (出血性ショック脳症)	2,263	死亡

急性脳症患者の尿中BMG補正值を予後別に比較すると、死亡群+重度後遺症群は回復群と比較して有意に高値を示した(p<0.001)。



(6) 結論

早期の尿中BMG補正值は急性脳症患者で高

く、著増例は死亡あるいは重度の後遺症を残していたことから、早期の尿中 BMG 補正值の上昇は脳症の予後不良因子と考えられ、尿中 BMG 補正值は急性脳症の早期の重症度診断に利用できる簡便なマーカーと考えられ、積極的に抗サイトカイン療法を行う根拠となりうると考えられる。ただし、けいれん重積型脳症例に関しては尿中 BMG の低値例も重度の後遺症を残しており、予後判定には脳症病型も考慮する必要がある。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Torisu H, Kira R, et al. Clinical study of childhood acute disseminated encephalomyelitis, multiple sclerosis, and acute transverse myelitis in Fukuoka Prefecture, Japan. *Brain Dev* 32:453-462, 2010. (査読有)
- ② Kira R, Ishizaki Y, Torisu H, et al. Genetic susceptibility to febrile seizures: Case-control association studies. *Brain Dev* 32:57-63, 2010. (査読有)
- ③ Ishizaki Y, Yukaya N, Kusuhara K, Kira R, Torisu H, et al. PDI as a common candidate susceptibility gene of subacute sclerosing panencephalitis. *Hum Genet* 127:417-419, 2010. (査読有)
- ④ Sanefuji M, Takada Y, Kimura N, Torisu H, et al. Strategy in short-term memory for pictures in childhood: A near-infrared spectroscopy study. *Neuroimage* 54:2394-2400, 2011 (査読有)
- ⑤ Goto K, Sanefuji M, et al. Rhombencephalitis and coxsackievirus A16. *Emerg Infect Dis* 15:1689-1691, 2009. (査読有)
- ⑥ Ishizaki Y, Kira R, et al. Interleukin-10 is associated with resistance to febrile seizures: genetic association and experimental animal studies. *Epilepsia* 50:761-767, 2009. (査読有)
- ⑦ Yoshito Ishizaki, et al. Association of toll-like receptor 3 gene polymorphism with subacute sclerosing panencephalitis. *Journal of Neurovirology* 18:1-6, 2008. (査読有)

- ⑧ Shoichi Ohga, et al. Epstein-Barr virus load in cerebrospinal fluid of patients with chronic active Epstein-Barr virus infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 27: 1027-1030, 2008. (査読有)
- ⑨ Masafumi Sanefuji, et al. Epstein-Barr virus-associated meningoencephalomyelitis: intrathecal reactivation of the virus in an immunocompetent child. *Journal of Child Neurology* 23: 1072-1077, 2008 (査読有)
- ⑩ Takayuki Hoshina, et al. Sjogren's syndrome-associated meningoencephalomyelitis: cerebrospinal fluid cytokine levels and therapeutic utility of tacrolimus. *Journal of the Neurological Sciences* 267:182-186, 2008
- ⑪ 吉良龍太郎、小児急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) 小児例の臨床像と疫学、*Neuroinfection* 13: 64-67, 2008 (査読なし)

[学会発表] (計 10 件)

- ① 鳥巢浩幸、小児急性脳症における早期尿中  $\beta 2$  ミクログロブリン補正值は神経学的予後に関連する、第 52 回日本小児神経学会、2010 年 5 月 20-22 日、福岡国際会議場 (福岡市)
- ② 鳥巢浩幸、ウイルス関連脳症の早期診断に関する多施設共同研究 (第 3 報)、第 15 回日本神経感染症学会、2010 年 10 月 8-9 日、福島ビューホテル (福島市)
- ③ 鳥巢浩幸、小児の急性脳炎・脳症の臨床、第 462 回日本小児科学会福岡地方会、2010 年 12 月 12 日、九州大学百年講堂 (福岡市)
- ④ 鳥巢浩幸、ウイルス関連脳症の早期診断に関する多施設共同研究 (第 2 報)、第 14 回日本神経感染症学会学術集会、2009 年 10 月 17 日、宇都宮市
- ⑤ Ryutaro Kira. Genetic Susceptibility To Febrile Seizures: Case-Control Association Studies. The 11th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. Apr 10-11, 2008, Otsu, Japan
- ⑥ Yoshito Ishizaki. Lack of association between a polymorphism in SYN2 with genetic susceptibility to febrile seizures in Japanese. The 11th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. Apr 10-11, 2008. Otsu, Japan
- ⑦ Masafumi Sanefuji. NIRS studies on memory: establishment of the new analysis and research for development

of the memory system. The 19th Fukuoka International Symposium on Pediatric/Maternal-Child Health Research. Sept 6, 2008. Fukuoka, Japan

- ⑧ 實藤 雅文、コクサッキーウイルス A16 の手足口病に伴って菱脳炎を呈した一例、第 50 回日本小児神経学会総会、2008 年 5 月 29-31 日、東京都
- ⑨ 實藤 雅文、急性の経過で、Stiff person 症候群の有痛性筋痙攣と強迫行為を呈した小児の一例、第 21 回日本神経免疫学会学術集会、2009 年 3 月 12-13 日、大阪市
- ⑩ 吉良龍太郎、小児急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症の全国疫学調査（第 1 報）－疾患定義と一次調査－、第 21 回日本神経免疫学会学術集会、2009 年 3 月 12-13 日、大阪市

〔図書〕（計 1 件）

- ① 吉良龍太郎、新興医学出版社、多発性硬化症の診断と治療：小児の急性散在性脳脊髄炎、2008、

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鳥巢 浩幸 (TORISU HIROYUKI)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号：10398076

### (2) 研究分担者

吉良 龍太郎 (KIRA RYUTARO)  
九州大学・大学病院・特別教員  
研究者番号：70304805  
實藤 雅文 (SANEFUJI MASAFUMI)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号：50467940  
石崎 義人 (ISHIZAKI YOSHITO)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号：20572944

### (3) 連携研究者

なし