

令和元年5月10日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04872

研究課題名(和文)急性脳症における神経・免疫・代謝のインターフェース

研究課題名(英文)Interface of neural activity, immunity and metabolism in acute encephalopathy

研究代表者

水口 雅(MIZUGUCHI, Masashi)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授

研究者番号：20209753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：急性壊死性脳症(ANE)やけいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)に代表される急性脳症の病態の解明を目的とし、神経、免疫、代謝のクロストークに関する遺伝子解析と機能解析を行った。ANEについては、日本人の孤発性ANEの遺伝的背景としてサイトカイン多型とHLA型を同定し、欧米人の家族性ANEの原因遺伝子であるRANBP2の機能を解析した。AESDについては、自然免疫抑制因子であるCTLA4の多型がAESD発症に関連することを示した。また複数の症候群におけるナトリウムチャネルの変異の関与、また急性脳症全般におけるミトコンドリア酵素CPT2の熱感受性多型の関与を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

急性脳症の多因子疾患としての本質が解明され、免疫、神経、代謝の全てが関連する複雑な病態の理解が進んだ。遺伝的背景の解明により、急性脳症の遺伝相談の道が開かれるとともに、自然免疫、神経興奮、エネルギー代謝に関わる新しい治療の標的分子が見つかった。

研究成果の概要(英文)：To explore abnormal intracellular signal transduction in acute encephalopathy including acute necrotizing encephalopathy (ANE) and acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD), we conducted gene and functional analyses of factors associated with the crosstalk between neural activity, immunity and metabolism. We identified cytokine and HLA polymorphisms as genetic predisposition in Japanese patients with sporadic ANE. We elucidated the association of RANBP2, the causative gene of familial ANE in Caucasians, with mitochondrial metabolism. We identified a polymorphism of CTLA4, a suppressor of innate immunity, as a risk factor for AESD. We also found the association of mutations of sodium channels, SCN1A and SCN2A, with multiple syndromes, and that of thermolabile variation of a mitochondrial enzyme, CPT2, with overall acute encephalopathy.

研究分野：小児神経学

キーワード：急性脳症 急性壊死性脳症 けいれん重積型(二相性)急性脳症 イオンチャネル 自然免疫 ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 急性脳症は感染症に伴い高度の意識障害を呈する病態の総称であり、急性壊死性脳症 (ANE)、けいれん重積型 (二相性) 急性脳症 (AESD)、脳梁膨大部脳症 (MERS)、難治頻回部分発作重積型急性脳炎 (AERRPS/FIRES) など複数の症候群に分類される。これらの症候群の間には相違点と共通点が見られるが、その分子機序は不明であった。

(2) 急性脳症では非炎症性脳浮腫が生じ、その機序として神経の過興奮、過剰な炎症反応、代謝異常によるエネルギー枯渇が推定される。候補遺伝子アプローチにより神経、炎症、代謝に関連するいくつかの変異や多型が見つかり始めていたが、どの症候群と関連するか詳細は不明だった。

2. 研究の目的

(1) 急性脳症の各症候群における発症の遺伝的背景を、候補遺伝子アプローチと網羅的遺伝子解析を組み合わせて進め、新たなリスク遺伝子を同定するとともに、症候群との関連を明確にする。

(2) 見出された多くの発症因子 (遺伝、環境) の相互関係を *in vitro* で解析することにより、神経、免疫、代謝のクロストークを解明する。これにより急性脳症の病態をシグナル伝達の一連の異常として把握する。

3. 研究の方法

(1) AESD については、自然免疫抑制因子である CTLA4 の多型の頻度を AESD (87 例)、熱性けいれん (54 例)、健常者 (186 例) を対象として解析した。また AESD の中で単一遺伝子変異による遺伝病を基礎疾患として持つ例の多い亜群 HHE 症候群を対象にエクソーム解析を実施し、見出された変異が AESD 一般におけるリスク遺伝子であるか否かを SKAT 法などで解析した。

(2) ANE については、欧米人に多い家族性 (再発性) ANE の病因である *RANBP2* 遺伝子変異が日本人の孤発性 ANE で認められるか、同遺伝子の全エクソンを解析して調べた。孤発性 ANE はサイトカインストームが主な病態であるため、HLA 型やサイトカイン多型の関与があるか検討した。*RANBP2* 変異については野生型と変異型タンパクのミトコンドリア酵素 COX11 との結合能を、サイトカイン多型については PMA 刺激によるサイトカイン産生量を *in vitro* で検討した。

(3) 急性脳症全般については、ナトリウムチャンネル *SCN1A/SCN2A* の変異、ミトコンドリア酵素 CPT2 の熱感受性多型が関与するかを検討した。

4. 研究成果

(1) *CTLA4* の 3'末端の 1 塩基多型 CT60 について AESD と他の 2 群との間にアレル頻度の有意差を認めた。熱性けいれんと異なる AESD の病態として、自然免疫系の過剰反応が示唆された。HHE 症候群 30 例の遺伝子解析で見出された複数のチャンネル遺伝子の rare variant について、AESD174 例で解析したところ、*SCN1A* の variant が AESD で有意に多いという予備的な結果を得た。

(2) 家族性 ANE の機能解析においては、*RANBP2* タンパクの変異により COX11 との結合能が変化することを示す結果が得られ、病態における代謝異常の関与が示唆された。一方、日本人 ANE 32 症例では *RANBP2* の病的な変異は 1 例も見出されず、家族性 ANE とは遺伝的背景が異なることが明らかとなった。*HLA* 遺伝子タイピングを行い、疾患感受性遺伝子素因として *HLA-DRB1*09:01*、*DQB1*03:03* 及び *A*31:01* を同定した。サイトカイン遺伝子解析では *IL6* と *IL10* の両遺伝子のプロモーター領域の特定の多型の頻度が ANE 患者群と日本人対照群とで有意に異なること、さらに機能解析では、リスク多型で *IL10* 産生が低下することが判明した。日本人 ANE では予想どおり免疫系のリスク因子の関与が主であった。

(3) AESD、AERRPS を含む複数の症候群で *SCN1A/SCN2A* の変異を症例の 6%に見出した。また *CPT2* の熱感受性多型 rs2229291 のアレル頻度が MERS、AESD および急性脳症全般において日本人対照群より有意に高いことを示した。ナトリウムチャンネルの変異 (神経の過興奮) と *CPT2* 熱感受性変異 (エネルギー代謝の低下) は複数の症候群に共通するリスク因子であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件)

Kobayashi Y, Kanazawa H, Hoshino A, Takamatsu R, Watanabe R, Hoshi K, Ishii W, Yahikozawa H, Mizuguchi M, Sato S. Acute necrotizing encephalopathy and a carnitine palmitoyltransferase 2 variant in an adult. *Journal of Clinical Neuroscience* 2019; 61: 264-266. 査読有

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. 査読有

Shimoda K, Mimaki M, Fujino S, Takeuchi M, Hino R, Uozaki H, Hayashi M, Oka A, Mizuguchi M. Brain edema with clasmatodendrosis complicating ataxia telangiectasia. *Brain and Development* 2017; 39(7): 629-632. 査読有

齋藤真木子, 水口雅. けいれん重積型(二相性)急性脳症の病因・病態. *Neuroinfection* 2017; 22(1): 51-56. 査読無

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* 2016; 58(11): 1215-1218. 査読有

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* 2016; 17(6): 367-369. 査読有

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 the Neurological Sciences* 2016; 368: 272-276. 査読有

水口雅. 小児の症候群 Reye 症候群. *小児科診療* 2016; 79(Suppl): 123. 査読無

Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi JI, 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(19): 2006-2015. 査読有

眞下英明, 三浦健一郎, 高梨さやか, 井上茉南, 張田豊, 竹内正人, 磯島豪, 荒木聡, 植田千里, 遠藤明史, 川村眞智子, 水口雅, 岡明. 急速な下痢の進行により循環血液減少性ショックを呈し、RT-PCR でロタウイルス感染症と診断された1例. *小児科臨床* 2015; 68(1): 59-64. 査読有

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. 査読有

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. 査読有

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. 査読無

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. 査読有

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. 査読有

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. 査読有

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. 査読有

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. 査読有

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. 査読有

[学会発表](計31件)

柴田明子, 齋藤真木子, 松本浩, 山崎佐和子, 星野愛, 石井敦士, 廣瀬伸一, 岡明, 水口雅. けいれん重積型急性脳症における *KCNQ2* 遺伝子の解析. 第60回日本小児神経学会学術集会, 2018

水口雅. 急性脳症 overview 最新の疫学調査を踏まえて. 第60回日本小児神経学会学術集会, 2018

星野愛, 齋藤真木子, 久保田雅也, 高梨潤一, 岡明, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝

- 的リスクファクター. 第 121 回日本小児科学会学術集会, 2018
- 水口雅. 急性脳症の診断と治療～小児急性脳症診療ガイドラインから～. 第 217 回大阪小児科学会, 2018
- 水口雅: 急性脳症の診療: 新しいガイドラインの解説. 第 106 回日本小児科学会山形地方会, 2017
- 山崎佐和子, 大橋伯, 川島英志, 遠山潤, 齋藤真木子, 星野愛, 岡明, 水口雅. AESD と熱性けいれん症例における感受性遺伝子の比較検討. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 2017
- Saitoh M, Hoshino A, Kikuchi K, Yamanaka G, Kubota M, Takanashi J, Goto T, Oka A, Mizuguchi M. NLRP3 polymorphism and risk of acute encephalopathy with status epilepticus. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 2017
- Hoshino A, Nishiyama S, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J, Oka A, Mizuguchi M. TLR3 gene variants in acute necrotizing encephalopathy. 第 59 回日本小児神経学会学術集会, 2017
- Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Recent advances in the research of acute encephalopathy. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017
- Terashima H, Anzai M, Kumagai T, Takenaka S, Kasai M, Watanabe Y, Saito M, Mizuguchi M, Kubota M. Six cases of mild acute encephalitis/encephalopathy showing paradoxical arousal responses in the electroencephalogram. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017
- Saitoh M, Hishino A, Oka A, Mizuguchi M. Cytokine related genes polymorphism in AESD and ANE. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017
- Saitoh M, Hoshino A, Nishiyama S, Anzai Y, Kubota M, Takanashi J-I, Oka A, Mizuguchi M. Analysis of RANBP2 gene variants in acute necrotizing encephalopathy. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017
- Hoshino A, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J-I, Oka A, Mizuguchi M. Association of COX gene polymorphism with acute necrotizing encephalopathy, 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2017
- 星野愛, 齋藤真木子, 西山里美, 久保田雅也, 高梨潤一, 宮本晶恵, 岡明, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因—HLA 及び TLR3 遺伝子解析—. 第 120 回日本小児科学会学術集会, 2017
- 上田有里子, 下田木の実, 葛西真梨子, 竹中暁, 太田さやか, 佐藤敦志, 水口雅, 岡明. 結節性硬化症を基礎疾患として有する急性脳症の 2 例. 第 65 回日本小児神経学会関東地方会, 2016
- Mizuguchi M. Complications of influenza: Neurological complications. Options IX for the Control of Influenza, 2016
- Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Acute necrotizing encephalopathy: Clinical, pathologic and genetic studies. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders, 2016
- Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Definition, classification and epidemiology of acute encephalopathy. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders, 2016
- Matsumoto H, Zaha K, Nakamura Y, Saitoh M, Mizuguchi M, Nonoyama S. Biochemical and genetic prognostic factors in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders, 2016
- Saitoh M, Hoshino A, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Mizuguchi M. Genetic predisposition to acute encephalopathy with status epilepticus. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders, 2016
- 21 Hoshino A, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J-i, Oka A, Mizuguchi M. Gene polymorphisms confer susceptibility to acute necrotizing encephalopathy. The 18th annual meeting of Infantile Seizure Society. International symposium on acute encephalopathy in infancy and its related disorders, 2016
- 22 Saitoh M, Kobayashi K, Hoshino A, Mizuguchi M. Polymorphism of cytokine-related and sodium channel genes in AERRPS. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 2016 年
- 23 水口雅. [急性脳症—小児神経学会によるガイドラインの策定]急性脳症—疫学と診療の現状—. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 2016
- 24 寺嶋宙, 熊谷淳之, 竹中暁, 安西真衣, 葛西真梨子, 渡邊優, 齋藤真木子, 水口雅, 久保田雅也. 覚醒障害を主徴とする軽症急性脳症 6 症例の検討. 第 58 回日本小児神経学会学術

- 集会、2016
- 25 齋藤真木子, 星野愛, 石井敦士, 井原由紀子, 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 CTL4 遺伝子多型の比較. 第 119 回日本小児科学会学術集会, 2016
 - 26 Mizuguchi, M.: Acute encephalopathy associated with viral infections of infancy and childhood. The 15th Annual Meeting of Asian & Oceanic Society of Pediatric Radiology/ The 51st Annual Meeting of Japanese Society of Pediatric Radiology, 2015
 - 27 Saitoh M, Kou S, Hoshino A, Kikuchi K, Yamanaka G, Kuobta M, Takanashi J, Goto T, Mizuguchi M. Cytokine genes and risk of acute encephalopathy with status epilepticus. 第 57 回日本小児神経学会学術集会, 2015
 - 28 Hoshino A, Saitoh M, Kuobta M, Takanashi J, Oka A, Mizuguchi M. Genetic background in Japanese acute necrotizing encephalopathy: cytokine gene polymorphism analysis. 第 57 回日本小児神経学会学術集会, 2015
 - 29 星野愛, 齋藤真木子, 安西有紀, 久保田雅也, 高梨潤一, 岡明, 水口雅. 日本人急性壊死性脳症における RANBP2 遺伝子解析. 第 118 回日本小児科学会学術集会, 2015
 - 30 松本浩, 座波清誉, 中村康子, 齋藤真木子, 水口雅, 野々山恵章. 当院における急性脳症 10 例における遺伝子解析と神経学的予後. 第 118 回日本小児科学会学術集会, 2015
 - 31 齋藤真木子, 星野愛, 菊池健二郎, 山中岳, 久保田雅也, 石井敦士, 井原由紀子, 廣瀬伸一, 水口雅. HHE 症候群の遺伝的素因. 第 118 回日本小児科学会学術集会, 2015

〔図書〕(計 6 件)

- 水口雅. 小児急性脳症. 門脇孝, 小室一成, 宮地良樹 (監修) 日常診療に活かす診療ガイドライン UP-TO-DATE 2018-2019, メディカルレビュー社, 2018, pp. 951-953.
- 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, 2018, pp. 5-10.
- Mizuguchi M, Hoshino A, Saitoh M. Acute necrotizing encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A (Eds) Acute encephalopathy and encephalitis in infancy and its related disorders. Elsevier, 2018, pp. 87-92.
- 水口雅. 急性脳症・脳炎. 猿田享男, 北村惣一郎 (監修) 1336 専門家による私の治療, 2017-18 版, 日本医事新報社, 2017, pp. 1592-1593.
- 水口雅. 急性脳症. 「小児内科」「小児外科」編集委員会 (編), 小児疾患診療のための病態生理 3, 改訂第 5 版, 東京医学社, 2016, pp. 299-304.
- 水口雅. 薬物療法—副作用. Reye 症候群. 兼本浩祐, 丸英一, 小国弘量, 池田昭夫, 川合謙介 (編) 臨床てんかん学, 医学書院, 2015, pp. 485-486

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

東京大学発達医科学ホームページ
<http://www.development.m.u-tokyo.ac.jp>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：高梨 潤一

ローマ字氏名：(TAKANASHI, jun-ichi)

所属研究機関名：東京女子医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：0 0 3 0 2 5 5 5

研究分担者氏名：齋藤 真木子

ローマ字氏名：(SAITOH, makiko)

所属研究機関名：東京大学

部局名：医学部附属病院

職名：特任助教

研究者番号(8桁): 20225733

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。