

令和元年9月14日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670500

研究課題名(和文) けいれん重積型急性脳症モデルの確立と抗体療法の開発

研究課題名(英文) Development of a animal model of acute encephalopathy and an antibody therapy

研究代表者

大守 伊織 (Ohmori, Iori)

岡山大学・教育学研究科・教授

研究者番号：20403488

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：けいれん重積型急性脳症モデル動物の作製を試みた。高体温誘発けいれん感受性が高く、人では急性脳症の合併が報告されているSCN1A遺伝子変異を持つラットを使用した。Scn1a遺伝子変異ラットに様々な条件でけいれん誘発を行い、あるいは炎症薬剤投与による誘発を行った。けいれんは誘発されるものの、人で特徴的な30分以上継続するような遷延性けいれんは誘発されなかった。けいれん誘発後、各種行動テストと脳組織検査を行った。空間認知障害や運動障害の合併はなかった。また、脳組織検査では、脳浮腫などの所見は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

けいれん重積型急性脳症の発症メカニズムは不明な点が多く、死亡する症例や、知的障害や運動障害、てんかんなどの後遺症を併発する症例がある。病態解明と新規治療法の開発研究にはモデル動物の確立が欠かせない。SCN1A遺伝子異常をもつ患者では急性脳症の合併が多いが、Scn1a遺伝子変異を持つラットで種々の条件を付加して、モデル作製に努めたが、合併症を有するモデルにはならなかった。人の患者における遺伝子解析などで修飾遺伝子の同定を進め、複合的な因子を持つ動物がモデルとなり得るのかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We tried to establish an animal model of acute encephalopathy with convulsive status epilepticus. We used Scn1a mutant rats because SCN1A mutations have been linked to hyperthermia-induced seizure susceptibility and acute encephalopathy with a prolonged seizure in human. We induced seizures with various conditions or by using drugs with a proinflammatory effect. Seizures are evoked in Scn1a mutant rats, however, they did not last more than 30 minutes which are often observed in acute encephalopathy in human. Various behavioral tests and pathological examinations of the brain were conducted after provoked seizures. They showed no cognitive impairment and motor disturbance. Pathological tests exhibited no brain edema nor inflammation.

研究分野：神経生理学

キーワード：急性脳症 けいれん重積

1. 研究開始当初の背景

小児の急性脳症は、感染症を契機に急激に発症する脳機能の障害で、意識障害、頭蓋内圧亢進症状、けいれんが出現する。けいれん重積型急性脳症は、小児の急性脳症のなかでは最も頻度の高い病型である。知能障害・運動障害・てんかんなどの神経学的後遺症を残し、社会的損失が大きいため、有効な治療法の開発が望まれている。急性脳症の治療として、全身管理などの対処療法のほか、脳低温療法、ステロイドパルス療法が行われている。しかし、十分な治療効果が得られておらず、死亡する症例や、知的障害や運動障害、てんかんなどの後遺症を併発する症例がある。

人を対象とした臨床研究では、患者の数が少ないことおよび突発的に発症するため患者のリクルートが難しいことがあってエビデンスのある治療法を確立しにくい。また、急速に病態が変化していくため、けいれん重積型急性脳症の発症メカニズムは不明な点が多い。

以上のことから、病態解明と新規治療法の開発研究にはモデル動物の確立が欠かせないと考えた。

2. 研究の目的

本研究課題の第一の目的は、けいれん重積型急性脳症のモデル動物を作製することである。モデル動物の条件としては、けいれんを繰り返し誘発させたあと、脳波の徐波化が認められること、BBBの破綻として脳浮腫が認められること、神経細胞壊死、ミクログリアの活性化、炎症性サイトカインの上昇が認められることとした。また、後遺症の評価として空間記憶力、協調運動、てんかんの合併を検討することにした。第一の目的が達成されれば、炎症性サイトカインの変動、HMGB1の変化を検討し、抗HMGB1抗

体で、急性脳症様の症状の改善が認められるかどうかを確認することにした。

3. 研究の方法

(1)人では、SCN1A遺伝子異常を伴うドラベ症候群の患者にけいれん重積型急性脳症の発症が多く認められる。そのため、Scn1a遺伝子にミスセンス変異をもつラットを用いて、けいれんを誘発した。週齢や高体温の条件を振って、遷延するけいれんの誘発を試みた。

(2)上記の実験では不十分であったため、炎症を惹起しするため、lipopolysaccharide (LPS)を腹腔内投与し、同様に実験を行った。

(3)けいれん誘発実験終了後、行動テストによる神経学的症状の検討および脳組織の病理検査を行った。

4. 研究成果

(1)Scn1a遺伝子変異ラットでは、全例でけいれんが誘発されたが、遷延化することはなかった。

(2)LPS腹腔内投与後のけいれん誘発実験においても、けいれんそのものは誘発されるが、人で認められるような30分以上の遷延性けいれんは誘発されなかった。

(3)各種行動テストでは、空間認知機能、不安、失調性歩行について評価したが、有意差を認めず、神経学的後遺症の併発はないと判断した。また、脳の病理所見では急性脳症様の浮腫等の変化は認められなかった。

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8件)

1. Kobayashi Y, Hanaoka Y, Akiyama T, Ohmori I, Ouchida M, Yamamoto T, Oka M, Yoshinaga H, Kobayashi K. A case of Dravet syndrome with cortical myoclonus indicated by jerk-locked

- back-averaging of electroencephalogram data. *Brain Dev.* 査読有, 2017 Jan;39(1):75-79. doi: 10.1016/j.braindev.2016.07.005. Epub 2016 Aug 11.
2. 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. *J Neurol Sci.* 査読有, 2016 Sep 15;368:272-6. doi: 10.1016/j.jns.2016.07.040. Epub 2016 Jul 16.
 3. Kobayashi K, Akiyama T, Ohmori I, Yoshinaga H, Gotman J. Action potentials contribute to epileptic high-frequency oscillations recorded with electrodes remote from neurons. *Clin Neurophysiol.* 査読有, 2015 May;126(5):873-81. doi: 10.1016/j.clinph.2014.08.010. Epub 2014 Sep 4.
 4. Kobayashi K, Akiyama T, Ohmori I, Yoshinaga H, Gotman J. Action potentials contribute to epileptic high-frequency oscillations recorded with electrodes remote from neurons. *Clin Neurophysiol.* 査読有, 2014 Sep 4. pii: S1388-2457(14)00466-0. doi: 10.1016/j.clinph.2014.08.010.
 5. Ohmori I, Kawakami N, Liu S, Wang H, Miyazaki I, Asanuma M, Michiue H, Matsui H, Mashimo T, Ouchida M. Methylphenidate improves learning impairments and hyperthermia-induced seizures caused by an Scn1a mutation. *Epilepsia.* 査読有, 2014 Aug 25. doi: 10.1111/epi.12750.
 6. Michiue H, Sakurai Y, Kondo N, Kitamatsu M, Bin F, Nakajima K, Hirota Y, Kawabata S, Nishiki T, Ohmori I, Tomizawa K, Miyatake S, Ono K, Matsui H. The acceleration of boron neutron capture therapy using multi-linked mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) fused cell-penetrating peptide. *Biomaterials.* 査読有, 2014 Mar;35(10):3396-405. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.055. Epub 2014 Jan 20.
 7. Ookubo N, Michiue H, Kitamatsu M, Kamamura M, Nishiki T, Ohmori I, Matsui H. The transdermal inhibition of melanogenesis by a cell-membrane-permeable peptide delivery system based on poly-arginine. *Biomaterials.* 2014 May;35(15):4508-16. doi: 10.1016/j.biomaterials. 査読有, 2014.01.052. Epub 2014 Mar 3.
 8. 岩江荘介, 大守伊織, 小杉眞司. 遺伝学的検査をめぐる国際的動向 欧米と中国の動き. *遺伝子診断の未来と畏* 2014年9月20日 日本評論社 査読無 pp58-63.
- [学会発表](計8件)
- Ohmori I, Kobayashi K. Electrophysiological study of hyperthermia-induced seizures in Scn1a mutant rats. 第94回日本生理学会大会 2017年3月28日 浜松 Higurashi N, Kataoka F, Goto A, Uchoda T, Ohmori I, Mashimo T, Kataoka Y, Hirose S. Generation of heterozygous (Pcdh19+/-) female rats as a model for PCDH19-related epilepsy 第50回日本て

んかん学会学術集会 2016 年 10 月 7 日
静岡

Kurahashi H, 奥村彰久、五十嵐鮎子、安
部信平、高須倫彦、小林勝弘、大守伊織、

大内田守、石井敦士、廣瀬伸一、高橋悟、
粟屋智就、山本俊至. A clinical picture
of PRRT2-related epilepsy in Japan. 第
50 回日本てんかん学会学術集会 2016 年
10 月 7 日 静岡

大守伊織, 大内田守. Scn1a 遺伝子変異
に合併する発達障害の病態解析. 第 57
回日本小に神経学会学術集会 2015 年 5 月
29 日 大阪

Ohmori I, Ouchida M. A screening test
for early diagnosis of Dravet syndrome.
第 48 回日本てんかん学会学術集会
2014 年 10 月 2 日 東京

Ohmori I. Molecular biology of SCN1A
mutation-related epileptic
syndromes” 19th Korean epilepsy
congress, 2014 年 6 月 27 日 Korea

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称 : Therapeutic agent for a disease
accompanied by epileptiform discharges
発明者 : Ohmori I, Ouchida M, Kaida Y
権利者 : Okayama University
種類 : Patent
番号 : 14/772, 473
出願年月日 : 2016 年 1 月 22 日
国内外の別 : 米国

取得状況 (計 1 件)

名称 : てんかん波を伴う疾患治療剤
発明者 : 大守伊織, 大内田守, 改田祐子
権利者 : 岡山大学
種類 : 特許
番号 : 特願 2015-154053 号
取得年月日 : 平成 29 年 5 月 30 日
国内外の別 : 国内

〔その他〕

ホームページ等
<https://edu.okayama-u.ac.jp/~tokushi/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

大守 伊織 (OHMORI Iori)
岡山大学・大学院教育学研究科・教授
研究者番号 : 20403488

(2)研究分担者

真下 知士 (MASHIMO Tomoji)
大阪大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号 : 80397554

大内田 守 (OUCHIDA Mamoru)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教
授

研究者番号 : 80213635