

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09654

研究課題名(和文) 亜急性硬化性全脳炎の病態解明とバイオマーカーの確立

研究課題名(英文) The investigation of pathophysiology and biomarkers in subacute sclerosing panencephalitis (SSPE)

研究代表者

長谷川 俊史 (HASEGAWA, Shunji)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90314806

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)： 髄液中MAP2濃度はSSPE群では対照群に比して、有意に高値であった。血清中MAP2濃度は両群間に有意差を認めなかった。髄液中MAP2濃度の推移は、治療開始前が最高値で治療開始後に低下し、その後4か月と6か月にNDIスコアの増悪を認めたが、髄液中MAP2濃度はNDIスコアが増悪する直前にそれぞれ上昇した。また髄液中キノリン酸濃度はSSPE群では、対照群に比して有意に高値であった。また髄液中キノリン酸濃度はNDI scoreおよび病日と有意な正の相関を示した。髄液中MAP2およびキノリン酸濃度はSSPEのバイオマーカーになりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Cerebrospinal fluid (CSF) levels of microtubule-associated protein 2 (MAP2) were higher in the patients with SSPE, compared with control group, but not serum levels. In addition, CSF quinolinic acid (QA) levels were increased in the patients with SSPE. Our results show that there may be relationships between CSF MAP2 or QA levels and conditions of SSPE. They may be involved in the pathophysiology of SSPE, and they may be candidates as biomarkers of SSPE.

研究分野：感染免疫学

キーワード：亜急性硬化性全脳炎 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

亜急性硬化性全脳炎 (Subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) は変異した麻疹ウイルスによる遅発性ウイルス感染によって起こる中枢神経系の持続感染である。発展途上国を中心に世界各国で発症しており、その発症頻度は自然麻疹罹患者の1,000,000人あたり10人程度とされている。本邦では麻疹ワクチンの定期接種化および普及にともない、SSPE発症は減少しているが、2001-2005年の全国調査では118名が報告されており (J Child Neurol, 2012)、まだ全国で新たな発症患者数は年間3名以上いると報告されている。SSPEは、麻疹ウイルス感染から2年から10年の潜伏期間を置いて知能低下、性格変化、動作緩慢などで発症する。その後進行性に脳の機能が障害され、高度の痴呆、植物状態になり、死に至る疾患である。診断は髄液中麻疹抗体価の上昇と特徴的な脳波所見 (periodic synchronous discharge; PSD) により診断される。ワクチンが唯一の予防方法で、治療としてはこれまでにイノシンプラノベックス、インターフェロン、リバビリンなどが治療に用いられ、一定の効果は認められるが、いずれの治療でも根治には至らない。またSSPEの発症には麻疹ウイルスの感染が契機であるが、その機序および病態は不明である。

2. 研究の目的

SSPEの病態は未だ不明で、病勢を把握するためのバイオマーカーもなく、根治療法もない。日本では麻疹ワクチン接種の定期化に伴い、減少傾向にあるが、世界ではまだ多くの発症があるため、患者数の多い国々と連携をとりながら病態解明を行うことが早期治療開発につながる。本研究では、トルコ共和国および国内研究協力者から提供された患者検体を用いた解析から、SSPEにおける病勢を把握するバイオマーカーの確立、免疫応答、発症要因 (主に宿主側要因) について検討することを目的とし、SSPEのバイオマーカーの確立と病態の解明を目指す。

3. 研究の方法

トルコ Hacettepe 大学および本邦の研究協力者から提供された SSPE 患者血清および髄液を -80 で凍結保存した。これらの検体を用いて下記の研究を行った。

(1) 血清および髄液中 Microtubule Associated Protein 2 (MAP2)濃度

血清は SSPE 群 14 検体、対照群 13 検体 (発達遅滞、てんかんなど)、髄液検体は SSPE 群 15 検体、対照群 13 検体を用いた。MAP2 濃度を ELISA 法 (Uscn Human Microtubule Associated Protein 2 ELISA Kit) で測定した。

また治療開始前から治療後半年まで経時的に 9 点の髄液検体がある本邦 SSPE 症例

(19歳発症) についても髄液中 MAP2 濃度を測定し、neurological disability index (NDI) score との関係について検討した。

(2) 血清キヌレニン/トリプトファン比および髄液中キノリン酸濃度

SSPE 患者の診断時血清 20 検体 (年齢 3.5 ~ 11.0 歳, 中央値 11.0 歳, 男 17 名, 女 3 名) および髄液 25 検体、対照群として血清 20 検体、髄液 20 検体を対象として、血清キヌレニン/トリプトファン比 (KYN/Trp 比) および髄液キノリン酸濃度について検討した。またこのうち 1 症例 (19 歳男性) における髄液キノリン酸の経時的変化と NDI score との関係についても検討した。

(3) 髄液プロテオーム解析

SSPE 患者 1 例および疾患対照として睡眠障害患者 1 例の診断時髄液を用いた。蛋白濃縮後、ポリアクリルアミドゲルを用いた二次元電気泳動を行い、対照と異なるスポットの等電点と分子量を求め、質量分析により解析した。

バイオマーカーの確立もすすめる。また SSPE ウイルスの増殖に關与する免疫応答についても検討する。

4. 研究成果

(1) 血清および髄液中 MAP2 濃度

髄液中 MAP2 濃度は SSPE 群で中央値 307.8 pg/ml (84.0 - 1,434.4 pg/ml) で、対照群で中央値 69.0 pg/ml (9.4 - 1,046.4 pg/ml) に比して、有意な上昇を認めた ($p=0.009$)。一方、血清中 MAP2 濃度は SSPE 群 (中央値 11,577.6 pg/ml, 7,403.2 - 1,164,011.7 pg/ml) と対照群 (中央値 9,654.7 pg/ml, 2,061.1 - 20,004.8 pg/ml) に有意差を認めなかった。

また病型別比較では緩徐進行型で髄液中 MAP2 濃度が、急速進行型に比して高値である傾向を認めた (統計学的有意差なし)。

さらに経時的に測定した SSPE 症例では髄液中 MAP2 濃度の推移は、治療開始前が 1,371 pg/ml で最高値だった。IFN- および Ribavirin の治療開始後に 390 pg/ml へ低下し、3 か月間 NDI score の進行は認めなかった。その後 4 か月と 6 か月に NDI スコアの増悪を認め末期に至ったが、髄液中 MAP2 濃度は NDI スコアが増悪する直前にそれぞれ 1,052 pg/ml, 675 pg/ml に上昇した。

(2) 髄液中キノリン酸濃度

血清 KYN/Trp 比は SSPE 群 (0.026~0.081, 中央値 0.042) と対照群 (0.020~0.096, 中央値 0.045) の間には有意差を認めなかった ($p=0.88$)。髄液中キノリン酸濃度は SSPE 群 (11.4~285.5nM, 中央値 24.3nM) では、対照群 (3.7~44.6nM, 中央値 12.1nM) に比して有意に高値であった ($p < 0.001$)。また経時的に測定できた SSPE 症例の髄液中キノリン酸濃度は NDI score ($r = 0.72$, $p = 0.030$) および病日 ($r = 0.85$, $p = 0.0033$) と有意な正の相関を示した。

(3) 髄液プロテオーム解析

SSPEと疾患対照で計472個のスポットが検出された。このうちSSPEが対照より3倍以上高く、視認できる明瞭なスポットは11個検出された。11個のスポットは等電点10付近で分子量約160kDa, 約150kDa, 約130kDa, 約100kDa, 約90kDa, 約50kDa, 約45kDa, 約10kDa, 等電点7.6付近で分子量約10kDa, 等電点6.8付近で分子量約10kDa, 等電点6.5付近で分子量約10kDaであった。このうち質量分析により Dermcidin であると推測された。今後検討をすすめる。

これまではトルコ Hacettepe 大学から血清、髄液を提供して頂いてきたが、今後 SSPE 患者の爪や毛髪等の提供もお願いし、宿主側要因について、SSPE ウイルスの受容体などを中心に遺伝子変異の検討を進める。

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 8 件)

1. Fujimoto Y (1 番目), Hasegawa S (2 番目), Matsushige T (3 番目), Ohga S (15 番目), 他 11 名. Pulmonary inflammation and cytokine dynamics of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during A(H1N1)pdm09 influenza infection. *Sci Rep.* 2017;7(1):9128. (査読あり)
doi: 10.1038/s41598-017-08030-w
2. Mizutani M (1 番目), Hasegawa S (2 番目), Matsushige T (3 番目), Ohga S (10 番目), 他 6 名. Distinctive inflammatory profile between acute focal bacterial nephritis and acute pyelonephritis in children. *Cytokine.* 2017;99:24-29. (査読あり)
doi: 10.1016/j.cyto.2017.06.012
3. Nanishi E (1 番目), Hasegawa S (8 番目), Ohga S (9 番目), 他 15 名. A nationwide survey of common viral infections in childhood among patients with primary immunodeficiency diseases. *J Infect.* 2016;73(4):358-368. (査読あり)
doi: 10.1016/j.jinf.2016.07.018
4. Yamada H(1 番目), Ohta H(2 番目), Hasegawa S (3 番目), Ohga S (11 番目), 他 7 名. Two infants with tuberculid associated with Kawasaki disease. *Hum Vaccin Immunother.* 2016;12(11):2772-2776. (査読あり)
doi: 10.1080/21645515.2016.1208329
5. Kibata T(1 番目), Hasegawa S (3 番目), Matsushige T (4 番目), Ohga S (19 番目), 他 15 名. Coronary artery lesions and the increasing incidence of Kawasaki

disease resistant to initial immunoglobulin. *Int J Cardiol.*

2016;214:209-215. (査読あり)
doi: 10.1016/j.ijcard.2016.03.017

6. Wakiguchi H (1 番目), Hasegawa S (2 番目), Ohga S (6 番目), 他 3 名. Successful control of juvenile dermatomyositis-associated macrophage activation syndrome and interstitial pneumonia: distinct kinetics of interleukin-6 and -18 levels. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2015;13:49. (査読あり)
doi: 10.1186/s12969-015-0048-2
7. Wakiguchi H (1 番目), Hasegawa S (2 番目), Ohga S (10 番目), 他 7 名. Long-lasting non-IgE-mediated gastrointestinal cow's milk allergy in infants with Down syndrome. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015;26(8):821-823. (査読あり)
doi: 10.1111/pai.12351
8. Wakiguchi H (1 番目), Hasegawa S (2 番目), 他 3 名. The relationship between T cell HLA-DR expression and intravenous immunoglobulin treatment response in Kawasaki disease. *Pediatr Res.* 2015;77(4):536-540. (査読あり)
doi: 10.1038/pr.2015.12

[学会発表](計 1 件)

1. 松重武志, 井上裕文, 梶本まどか, 岡桃子, 長谷川俊史, 大森啓充, 奥野海良人, 滝川 修, 大賀正一. 亜急性硬化性全脳炎におけるキヌレニン経路活性化の検討. 第 57 回日本小児神経学会. 大阪. 2015 年 5 月 28 日

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 俊史 (HASEGAWA, Shunji)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：90314806

(2) 研究分担者

大賀 正一 (OHGA, Shouichi)
九州大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：60233053

松重 武志 (MATSUSHIGE, Takeshi)
山口大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：60528941

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

市山 高志 (ICHIYAMA, Takashi)