

令和 2 年 4 月 20 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2019

課題番号：15K09622

研究課題名（和文）代謝物質分析によるけいれん重積型脳症の発症予測因子・重症化因子の検討

研究課題名（英文）Metabolite analysis for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion

研究代表者

秋山 倫之（Akiyama, Tomoyuki）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：10379737

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）：けいれん重積型脳症（AESD）は発症時に熱性けいれん（FS）との区別が困難である。本研究では、AESDにおいて脳内でのビタミンB6欠乏が何らかの役割を演じているという仮説を立て、その検証を試みた。AESD患者5名とFS患者18名の髄液検体を分析対象とした。AESDではFSよりも髄液中ピリドキサルリン酸（PLP）が低値の傾向であり、PLP/ピリドキサル比が有意に低かった。PLP低値、PLP/ピリドキサル比低値がAESDの原因とは結論できないものの、AESDの発症危険因子かも知れない。他のマーカーと組み合わせることにより、この所見は発症時点においてAESDをFSから区別する一助になりえる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

けいれん重積型脳症は発症時点において熱性けいれんとの区別が困難であり、かつ後遺症の頻度が高いのが問題である。発症時点でけいれん重積型脳症の可能性が高い患者を見つけることができれば、より積極的な治療を行うことにより数日後の発作（晩期発作）と後遺症の予防につながれるかも知れない。けいれん重積型脳症では、熱性けいれんではみられない髄液ビタミンB6代謝の変化が発症時点で起こっている可能性が本研究で示された。この成果は、けいれん重積型脳症を早い段階で熱性けいれんと区別するのに有用な可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The initial presentation of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) is indistinguishable from that of complex febrile seizures (FS). The aim of this study is to investigate our hypothesis that VB6 deficiency in the brain may play a role in AESD.

We obtained cerebrospinal fluid (CSF) samples from 5 patients with AESD and 18 patients with FS. In AESD, CSF pyridoxal phosphate (PLP) concentration was marginally lower and the PLP-to-pyridoxal ratio was significantly reduced compared to those in FS.

Although it is impossible to conclude that low PLP concentration and PLP-to-pyridoxal ratio are causative of AESD, this may be a risk factor for developing AESD. When combined with other markers, this finding may be useful in distinguishing AESD from FS upon initial presentation.

研究分野：小児科学

キーワード：けいれん重積型脳症 熱性けいれん ピリドキサルリン酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

年間 400~700 人の小児が急性脳症に罹患する。けいれん重積型脳症(二相性脳症)は急性脳症の中で最も多い病型であり、全体の約 3 割を占める。ウイルス感染症の高熱にともない発症することが多く、大多数は発熱初日にけいれん重積状態をきたす(早期発作)。その後、意識レベルは回復傾向を示すが、第 4-6 病日より発作群発(晩期発作)と意識レベルの低下を再度きたす。慢性期には知的障害を遺すことが多く、てんかんの発症もみられる。

早期発作の時点で、けいれん重積型脳症を複雑型熱性けいれんと鑑別するのは困難である。けいれん重積型脳症では後遺障害をきたしやすいため、晩期発作以前の早期診断と早期治療が課題である。晩期発作の予見のため、炎症性サイトカインや細胞障害マーカー蛋白等の測定が試みられているが、決定的な結論はまだ得られていない。一方、けいれん重積型脳症における中枢神経系内の代謝マーカーを検討した報告はない。

活性型ビタミン B6 であるピリドキサルリン酸は、興奮性神経伝達物質のグルタミン酸を抑制性神経伝達物質の γ -アミノ酪酸に変換するグルタミン酸脱炭酸酵素の補酵素である。ビタミン B6 欠乏状態では、大脳抑制系の機能低下によりけいれんが起こる。テオフィリン剤による急性脳症はしばしばけいれん重積型脳症の形を示すが、テオフィリン剤はビタミン B6 を活性化するピリドキサルキナーゼを阻害することが判明している。また、ビタミン B6 投与によりけいれん重積型脳症の重症化を防止できたと示唆する報告がある。そのため、ビタミン B6、特にピリドキサルリン酸の低下がけいれん重積型脳症の発症や重症化に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

けいれん重積型脳症の発症や重症化にビタミン B6 化合物が関与しているのではないかという仮説を検証する。けいれん重積型脳症、熱性けいれん患者の髄液中ビタミン B6 化合物の高感度測定を行うことにより、けいれん重積型脳症に特徴的なビタミン B6 のプロファイルを明らかにし、熱性けいれんとの早期の鑑別における有用性を検討する。

3. 研究の方法

けいれん重積型脳症、熱性けいれんの患者と対象とし、髄液検体を全国より収集した。髄液検体の質担保のため、髄液採取・保管の条件に関する情報収集も行った。また、患者の臨床経過、後遺症の重症度(Pediatric Cerebral Performance Category, PCPC)の情報も収集した。

ビタミン B6 化合物の分析には高速液体クロマトグラフィ・蛍光検出を用い、ピリドキサルリン酸、ピリドキサル、4-ピリドキシン酸を測定した。小児神経疾患患者(ビタミン B6 に影響を与える疾患は除外)の髄液での測定値より基準値を作成し、けいれん重積型脳症、熱性けいれん患者の髄液中ビタミン B6 化合物の濃度を基準値と比較した。また、けいれん重積型脳症と熱性けいれん間での比較も行った。さらに、けいれん重積型脳症においてはビタミン B6 化合物濃度と PCPC との関連性の検討も行った。

4. 研究成果

小児髄液中のビタミン B6 化合物、関連する他の代謝物質の測定系の新規作成・改善を行い、ビタミン B6 化合物(Clin Chim Acta 2017;466:1-5, Clin Chim Acta 2017;472:118-122)モノアミン代謝物と 5-メチルテトラヒドロ葉酸(Clin Chim Acta 2017;465:5-10)の小児における基準値を作成した。

ビタミン B6 化合物は光で分解されるため、収集したけいれん重積型脳症、熱性けいれん患者の髄液のうち、検体採取後 1 時間以内に遮光が行われた検体のみを分析対象とした。対象になったのは、けいれん重積型脳症患者 5 名、熱性けいれん患者 17 名からの髄液検体であった。

けいれん重積型脳症群、熱性けいれん群間で年齢に有意差はなかった。髄液採取のタイミングはいずれにおいても中央値が 0 日(発症当日)であり、有意差はなかった。熱性けいれん患者のほとんどは、髄液中ピリドキサルリン酸とピリドキサルは基準値内であった。一方、けいれん重積型脳症患者では 3 名(60%)において髄液中ピリドキサルリン酸が低値であり、4 名(80%)において髄液中ピリドキサルリン酸/ピリドキサル比が低値~正常下限であった。髄液中ピリドキサルリン酸はけいれん重積型脳症群で低値の傾向(中央値 11.3 vs. 31.5 nmol/L, $p = 0.0999$)を示し、髄液中ピリドキサルリン酸/ピリドキサル比は有意に低値(中央値 0.5 vs. 1.0, $p = 0.0417$)であった。ビタミン B6 化合物濃度と PCPC の関連性については、症例数が少ないため検討を行わなかった。

これらの結果より、けいれん重積型脳症では早期発作後の時点において、熱性けいれんにはみられないビタミン B6 代謝の変化が起こっている可能性が判明した。この代謝変化がけいれん重積型脳症の発症機序とは結論できないものの、発症直後の段階においてけいれん重積型脳症と熱性けいれんとを区別するのに有用と考えられた。けいれん重積型脳症に対するビタミン B6 の治療効果については、今後の検討が必要である (Brain Dev 2020;42:402-407)。

また、今回の成果に関連する研究として、血清中ビタミン B6 化合物が診断に有用とされる低ホスファターゼ症の患者 20 名の血清分析を行い、血清中ピリドキサルリン酸/ピリドキサーリン比が従来指標 (血清中ピリドキサルリン酸、尿中ホスホエタノールアミン) よりも信頼性のより高い指標であることを報告した (Mol Genet Metab 2018;125:174-180)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akiyama T, Kubota T, Ozono K, Michigami T, Kobayashi D, Takeyari S, Sugiyama Y, Noda M, Harada D, Namba N, Suzuki A, Utoyama M, Kitanaka S, Uematsu M, Mitani Y, Matsunami K, Takishima S, Ogawa E, Kobayashi K	4. 巻 125
2. 論文標題 Pyridoxal 5'-phosphate and related metabolites in hypophosphatasia: Effects of enzyme replacement therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol Genet Metab	6. 最初と最後の頁 174-180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgme.2018.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akiyama T, Hayashi Y, Hanaoka Y, Shibata T, Akiyama M, Tsuchiya H, Yamaguchi T, Kobayashi K	4. 巻 472
2. 論文標題 Pyridoxal 5'-phosphate, pyridoxal, and 4-pyridoxic acid in the paired serum and cerebrospinal fluid of children	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 118-122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2017.07.032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akiyama T, Hayashi Y, Hanaoka Y, Shibata T, Akiyama M, Nakamura K, Tsuyusaki Y, Kubota M, Yoshinaga H, Kobayashi K	4. 巻 465
2. 論文標題 Simultaneous measurement of monoamine metabolites and 5-methyltetrahydrofolate in the cerebrospinal fluid of children	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 5-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2016.12.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akiyama T, Akiyama M, Hayashi Y, Shibata T, Hanaoka Y, Toda S, Imai K, Hamano S, Okanishi T, Yoshinaga H, Kobayashi K	4. 巻 466
2. 論文標題 Measurement of pyridoxal 5'-phosphate, pyridoxal, and 4-pyridoxic acid in the cerebrospinal fluid of children	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Chim Acta	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cca.2016.12.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiyama T, Toda S, Kimura N, Mogami Y, Hanaoka Y, Tokorodani C, Ito T, Miyahara H, Hyodo Y, Kobayashi K	4. 巻 42
2. 論文標題 Vitamin B6 in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Dev	6. 最初と最後の頁 402-407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2020.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----