

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K16290

研究課題名(和文)小児けいれん重積治療に対するベンゾジアゼピン治療の問題点と新規治療の探索

研究課題名(英文)Problems with Benzodiazepine Therapy and the Search for Novel Treatments for the Status Epilepticus in Child

研究代表者

中島 啓介(NAKAJIMA, Keisuke)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・研究員

研究者番号：60795269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：小児けいれん重積に対する急性期治療の第一選択であるベンゾジアゼピン治療の問題点を指摘するとともに、新規治療としてNKCC1ブロッカーであるブメタニドとベンゾジアゼピンとの併用使用の有効性について調べた。

我々のけいれん重積モデルではベンゾジアゼピン投与後に恐怖記憶の異常の改善を認めず、ベンゾジアゼピンとブメタニドの併用にて改善をした。また、われわれのけいれん重積モデルにおいてNKCC1/KCC2の優位な変化が認められた。

また、小児けいれん重積データベースを構築し、軽症例へのGABA-Aレセプター抑制系の抗けいれん薬の過量投与が後遺症の重症化につながっていることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児のけいれん重積の第一選択薬はベンゾジアゼピンであるが、その重症化にNKCC1/KCC2バランスをコントロールする遺伝子の異常がわかってきた。そのためNKCC1ブロッカーであるブメタニドは小児けいれん重積に対して今後の急性期治療薬として期待できる。

我々の結果は動物実験での結果に過ぎないが、今回の結果をもとに小児けいれん重積に対しての急性期治療戦略を考え、単にけいれんを抑制するのみならず後遺症抑制を見据えた治療戦略を立てていくことが重要である。

研究成果の概要(英文)： We investigated the efficacy of benzodiazepine in combination with bumetanide, an NKCC1 blocker, as a novel treatment for seizure congestion in children.

In our model of seizure congestion, fear memory did not improve after benzodiazepine treatment, but improved with the combination of benzodiazepine and bumetanide. We also found a predominant change in NKCC1/KCC2 in our status epilepticus animal model.

We also established a database of pediatric seizure overlap, and confirmed that overdosage of GABA-A receptor-suppressing anticonvulsants in mild cases is associated with severe sequelae, and presented the results.

研究分野：小児神経

キーワード：けいれん重積 ベンゾジアゼピン NKCC1 KCC2 ブメタニド

1. 研究開始当初の背景

小児は様々な感染症に伴い、有熱時けいれんを誘発することがたびたびある。持続時間が5分以内の有熱時けいれんはしばしば熱性けいれんと呼び、後遺症などにつながる事はほぼ無い。15分以上持続する有熱時けいれんをけいれん重積と呼ぶが、5分以上持続する有熱時けいれんはけいれん重積に進展することが多く、早期のけいれん抑制が求められる。場合により、けいれん重積後に意識レベルの低下が遷延し、脳画像の変化などを伴い後遺症を残すこともある。このような場合、急性脳症と診断されることが多いが、その後遺症発症のリスク要因として、けいれん持続時間、原因ウイルスの種類、低年齢児などがすでに報告されている。

小児のけいれん重積の急性期治療の第一選択薬はGABA-A受容体に作用するベンゾジアゼピンが使用される。急性期にけいれんを早く、適切に抑制することが後遺症抑制に大切である事は疑いない。しかし、日本では特に急性脳症の発生が多く、ベンゾジアゼピン系抗けいれん薬の使用頻度も多い。このことから、けいれん重積にベンゾジアゼピン系抗けいれん薬を繰り返し使用することや、脳波などを確認せずにベンゾジアゼピン系薬剤の持続投与を行うことが後遺症発症に影響しているのではないかと考えた。

ベンゾジアゼピンはGABA-A受容体に作用して神経細胞内外のCl<sup>-</sup>バランスを調整している。また神経細胞内外のCl<sup>-</sup>バランスはcation-chloride cotransporterであるNKCC1とKCC2のバランスで調整されている。幼若神経細胞ではNKCC1が高くKCC2が低いことが報告されている(図1)が、けいれん重積後にNKCC1とKCC2のバランスが崩れNKCC1優位になることで神経細胞内のCl<sup>-</sup>濃度が高くなり、ベンゾジアゼピン系抗けいれん薬の効果が不十分になると考えられる(図2)。そのためNKCC1 blockerであるブメタニドをベンゾジアゼピンに併用することでベンゾジアゼピンの効果が増強されけいれん抑制が可能になり後遺症の改善が可能になると考えた。

図1 NKCC1, KCC2の年齢依存的変化(ヒト前頭葉) Dzbara, et al. Nat.med. 2005.

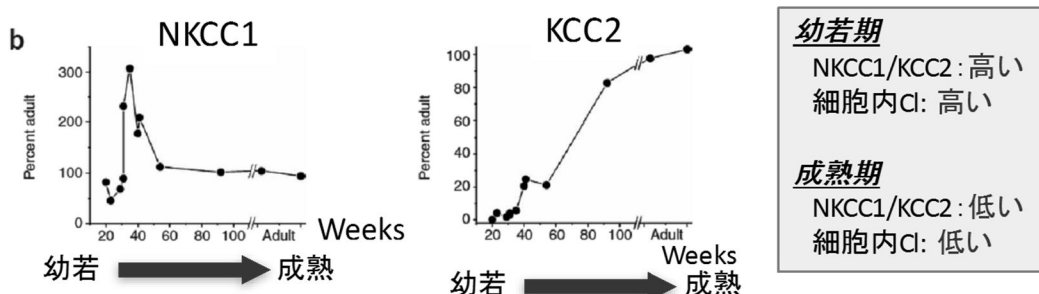
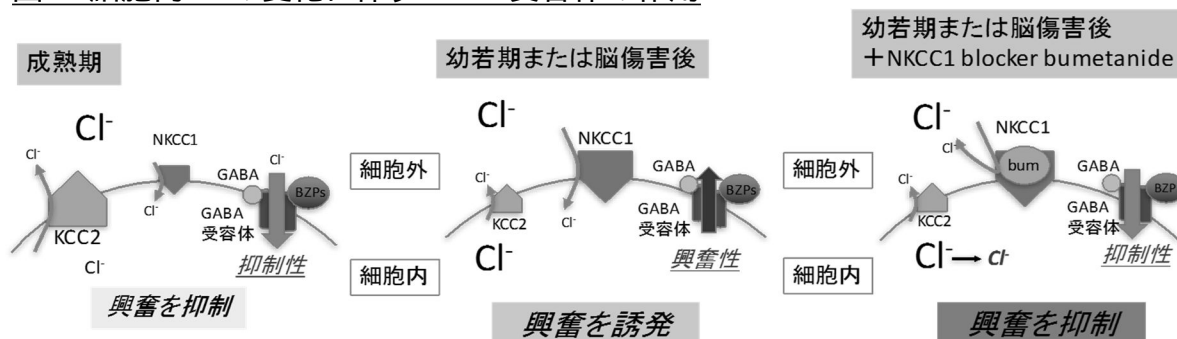


図2 細胞内Cl<sup>-</sup>の変化に伴うGABA受容体の作用



2. 研究の目的

けいれん重積の後遺症と急性期の治療法との関連を調べる。また、小児けいれん重積に対する急性期治療の第一選択薬であるベンゾジアゼピン治療の問題点を指摘するとともに、後遺症の発症にNKCC1/KCC2新規治療としてNKCC1ブロッカーであるブメタニドとベンゾジアゼピンの併用使用の有効性について調べた。

### 3. 研究の方法

臨床では少数例での後ろ向き解析での報告はあったものの前向き研究はない状況であったため、臨床研究と基礎研究を並行して進めて行くこととした。

臨床研究としては、東京医科歯科大学小児科の関連病院にて15分以上のけいれん重積の診断にて入院した患者の情報を患者の個人情報をも匿名化してクラウド上のシステムに入力した。急性期の治療法に加え、年齢や急性期の検査結果、24時間後の意識レベルなど、24時間以内の患者から得られる情報と急性脳症発症の有無を調べた。現在、データの集積は終了し、解析したデータから論文投稿の準備中である。

基礎分野では、B6 マウスに胎生 15 日目に TLR4 agonist である LPS によって炎症を誘発し、その後に pilocarpine hydrochloride の投与によってけいれんを誘発した。その後胎生 17 日目、40 日目に組織評価、胎生 35-40 日目に行動実験を行った。またマウス海馬から mRNA および蛋白を抽出しその定量を行い NKCC1/KCC2 比を評価した。その後、我々のけいれん重積モデルにベンゾジアゼピンのみ、およびベンゾジアゼピン+ブメタニドそれぞれ腹腔内投与を行い、組織染色・行動実験にて評価した。

### 4. 研究成果

我々のけいれん重積モデルにおいて海馬での PV 陽性細胞の減少、アポトーシス細胞の増加を認め、NKCC1/KCC2 蛋白量の有意な変化が認められた(図3)。また、けいれん重積モデルではコントロールと比較して恐怖記憶の増強を認めていたが、ベンゾジアゼピン投与後にその恐怖記憶の異常の改善を認めずベンゾジアゼピンとブメタニドの併用にて改善が見られた(図4)。上記結果は現在論文投稿中である。

また小児けいれん重積の臨床データベースを構築し、ベンゾジアゼピン系薬剤の使用方法が後遺症の重症化につながっていることを確認した。上記について学会発表するとともに、今後論文文化を目指している。

図3 けいれん重積モデルでは PV 陽性神経細胞の減少、ssDNA 陽性細胞の増加を認め、海馬において NKCC1/KCC2 比が優位に変化している

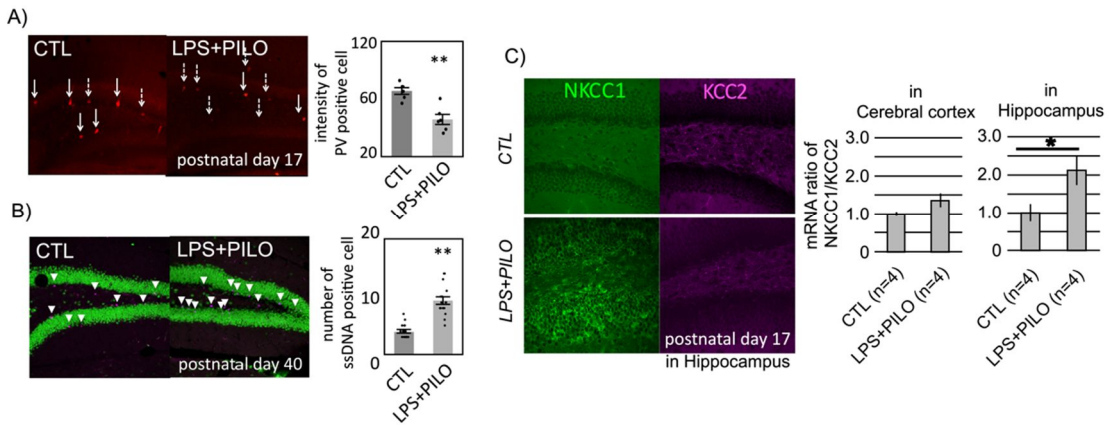
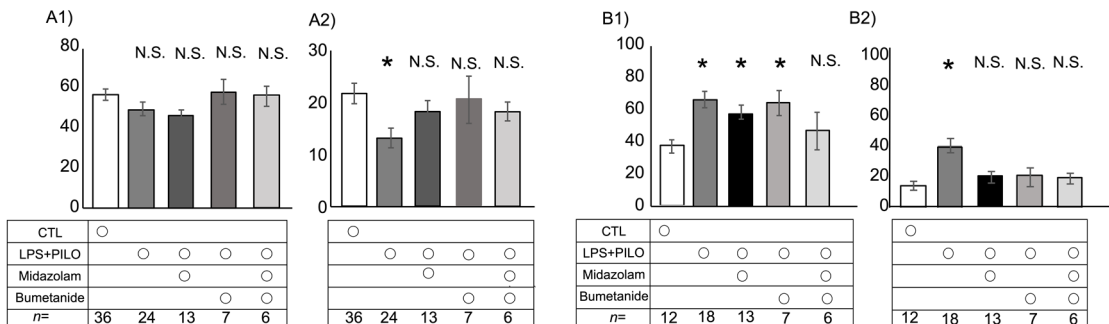


図4 けいれん重積モデルで認めた恐怖記憶の増強は、ベンゾジアゼピン投与で改善せず、ベンゾジアゼピンとブメタニドの併用にて改善した



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>中島啓介                                   |
| 2. 発表標題<br>けいれん重積患者に対する急性期の抗けいれん薬の使用方法は後遺症と関係するか？ |
| 3. 学会等名<br>日本小児神経学会学術集会                           |
| 4. 発表年<br>2019年                                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>中島啓介  |
| 2. 発表標題<br>小児てんかん重積に対する、BDZ系抗けいれん薬とNKCC1ブロッカーの併用の新規治療としての可能性 |
| 3. 学会等名<br>第51回日本てんかん学会                                      |
| 4. 発表年<br>2017年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

|         |         |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|