

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390258

研究課題名(和文)急性脳症の包括的遺伝子解析を通じた多様性と共通性の解明

研究課題名(英文)Comprehensive gene analysis of acute encephalopathy to elucidate its variability and commonality

研究代表者

水口 雅(MIZUGUCHI, Masashi)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20209753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：急性脳症は急性壊死性脳症(ANE)、けいれん重積型(二相性)急性脳症(AESD)、難治頻回部分発作重積型脳炎(AERRPS)などに分類される。これらの症候群には臨床的に多様性と共通性がある。その分子的背景を解明するための包括的な遺伝子解析を行った。ひとつの症候群に特異的なvariationとしてANEではHLA型、IL6、IL10(多型)が、AESDではADORA2A、IL1B多型が、AERRPSではSCN2A多型が同定された。複数の症候群に共通するvariationとしてCPT2、IL1RN多)、SCN1Aミスセンス変異が見いだされた。ほとんどが自然免疫と神経興奮に関わる因子であった。

研究成果の概要(英文)：Acute encephalopathy is classified into multiple syndromes, such as acute necrotizing encephalopathy (ANE), acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) and acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AERRPS). To elucidate the molecular background of their variability and commonality, we conducted a comprehensive gene analysis and functional analysis. Risk gene variants specific to individual syndromes included HLA genotypes, IL6 and IL10 polymorphisms for ANE, ADORA2A and IL1B polymorphisms for AESD, and SCN2A polymorphism for AERRPS. Risk variants relevant to multiple syndromes included CPT2 and IL1RN polymorphisms and missense SCN1A mutations. Most factors were involved in either innate immunity or neuronal excitation.

研究分野：小児神経学、神経病理学

キーワード：急性脳症 遺伝子多型 遺伝子変異 自然免疫 神経興奮 急性壊死性脳症 けいれん重積型(二相性)急性脳症 難治頻回部分発作重積型急性脳炎

1. 研究開始当初の背景

急性脳症は急性壊死性脳症 (acute necrotizing encephalopathy、以下 ANE)、けいれん重積型 (二相性) 急性脳症 (acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion、以下 AESD)、脳梁膨大部に可逆性病変を有する軽症脳炎・脳症 (mild encephalitis/ encephalopathy with a reversible splenial lesion、以下 MERS)、難治頻回部分発作重積型脳炎 (acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures、以下 AERRPS) など多様な症候群を含む。

これらの症候群には多様性と共通性がある。多様性とは各々の症候群が固有の臨床経過、検査・画像所見を有し、病態や予後が大きく異なることを指す。いっぽう共通性とは罹病率の人種差 (多くが日本人に高頻度)、一部の患者における複数の症候群の共存 (例: AESD と出血性ショック脳症) ないし再発 (例: 1 回目が ANE、2 回目が AESD) である。

2. 研究の目的

ANE、AESD、AERRPS など急性脳症のさまざまな病型における遺伝子型 (複数の遺伝子の変異・多型) と表現型 (臨床・頭部画像所見) の関連を解析することにより、急性脳症の多様性と共通性の分子的背景を解明して、治療の向上に資する。

3. 研究の方法

(1) ANE に関する研究

ANE は全身のサイトカインストームともなう脳傷害であり、自然免疫の病態が推定されている。また欧米の家族性再発性 ANE では *RANBP2* 遺伝子変異が原因として同定されている。本研究では日本人 ANE の遺伝的背景を調べるため、ANE (32 症例) と対照 (健康な日本人) との間で HLA 型のアレル頻度およびサイトカイン関連遺伝子の多型の頻度を比較した。また *RANBP2* 遺伝子解析を行って変異の有無を調べた。

(2) AESD に関する研究

AESD の発症直後の症状は熱性けいれん (febrile seizures、以下 FS) と酷似しており、両者の異同が問題となっている。病態としてはけいれん重積状態ともなう興奮毒性が推定されている。本研究では従来の研究で AESD との関連の見られた *ADORA2A* (アデノシン A2A 受容体) 遺伝子多型に関して、機能解析を行った。また AESD (88 症例)、FS (80 症例)、正常対照 (100 症例) を対象としてサイトカイン関連遺伝子解析を行い、多型の頻度を群間で比較した。

小児で片側けいれんに引き続き片麻痺を生じる病態は hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy (HHE) 症候群と総称される。HHE 症例の多くは感染症を契機に発症し、AESD の一部を構成する。AESD とオーバーラップ

するタイプの HHE (14 症例) を対象として、既知の AESD 関連遺伝子について解析した。

(3) AERRPS に関する研究

AERRPS は脳炎とてんかんの両方の側面を持つ症候群である。本研究では AERRPS (19 症例) と対照の間でサイトカイン関連遺伝子と Na チャネル遺伝子の多型頻度を比較した。

4. 研究成果

(1) ANE に関する研究

HLA 型のうち *A*31:01*、*DRB1*09:01*、*DQB1*03:03* の陽性率および *DRB1*09:01*/*DQB1*03:03* のアレル頻度は ANE 群で対照群より有意に高かった。これらの遺伝子型は東アジア民族で高いことが知られているため、ANE 罹病率の人種差 (東アジアで高い) を説明する要因と考えられた。

また *IL6* と *IL10* の遺伝子多型が発症と関連することも判明した。リンパ芽球をホルボールエステル (PMA) で刺激した際のサイトカイン産生能をリスク遺伝子型と野生型との間で比較したところ、*IL10* のリスク遺伝子型を有するリンパ芽球では *IL-10* 産生量が有意に少ないことが示された。これにより ANE の発症にはサイトカイン産生のアンバランスを生じやすい遺伝的素因が関与することが明らかとなった。

日本人 ANE 症例を対象として *RANBP2* 遺伝子の全エクソンを解析した結果、変異は認められなかった。1 症例でエクソン 20 に欠失が認められたが、無症状の母にもあったので、病原性の変異ではないと考えられた。

(2) AESD に関する研究

AESD 発症の危険因子となる *ADORA2A* 遺伝子多型ではアデノシン A2A 受容体の mRNA 発現、蛋白発現、サイクリック AMP 産生のいずれも亢進していた。

IL1B 遺伝子-511C/T 多型および *IL1RN* (interleukin-1 receptor antagonist) 遺伝子の VNTR (variable number tandem repeat) に関して AESD と対照の間で有意差を認めた。後者については FS と対照の間で差がなかった。

HHE に関する検討では *CPT2*、*ADORA2A*、*IL1B* などの遺伝子多型頻度について対照との間に有意差があり、*SCN1A*、*SCN2A* 遺伝子変異が数%に見られるなど、全体として HHE は AESD と同様の傾向を示した。これにより、臨床的のみならず遺伝学的にも HHE と AESD の関連性が強いことが確かめられた。

(3) AERRPS に関する研究

IL1RN 遺伝子の VNTR および *SCN2A* 遺伝子の多型の頻度に関して AERRPS と対照の間に差があった。その他の遺伝子 (*IL1B*、*IL6*、*IL8*、*IL10*) の多型については、両群間に有意差はなかった。*SCN1A* 遺伝子のミスセンス変異が少数例に見られた。AERRPS が脳炎とてんかんの両方の側面を持つこと

が、遺伝学的見地からも確かめられた。

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 13 件)

- ・ Takanashi JI, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida YI, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M. Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 *E coli* O111 outbreak in Japan. *Neurology*, 査読有, 2014; 82(7): 564-572. doi: 10.1212/WNL.000000000000120.
- ・ 森川美佳, 三牧正和, 高橋長久, 内野俊平, 水野葉子, 岩崎博之, 水口雅, 五十嵐隆. 回復期に眼球上転・口部ジスキネジアが遷延したインフルエンザ脳症の 1 例. *小児科臨床*, 査読有, 2014; 67(6): 995-1000.
- ・ 種市尋宙, 六車崇, 太田邦雄, 小西道雄, 住田亮, 奥村彰久, 高梨潤一, 水口雅, 宮脇利男. 腸管出血性大腸菌 O111 集団感染における危機対応. *日本小児科学会雑誌*, 査読有, 2014; 118(7): 1103-1108.
- ・ Sakai E, Yamanaka G, Kawashima H, Morishima Y, Ishida Y, Oana S, Miyajima T, Shinohara M, Saitoh M, Mizuguchi M. A case of recurrent acute encephalopathy with febrile convulsive status epilepticus with carnitine palmitoyltransferase II variation. *Neuropediatrics*, 査読有, 2013; 44(4): 218-221. doi: 10.1055/s-0032-1333439.
- ・ Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, Ikeda K, Hirose S, Takanashi JI, Takita J, Kikuchi K, Kubota M, Yamanaka G, Shiihara T, Kumakura A, Kikuchi M, Toyoshima M, Goto T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. *ADORA2A* polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology*, 査読有, 2013; 80(17): 1571-1576. doi: 10.1212/WNL.0b013e31828f18d8.
- ・ Mizuguchi M. Influenza encephalopathy and related neuropsychiatric syndromes. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 査読有, 2013; 7(Suppl3): 67-71. doi:10.1111/irv.12177.
- ・ 水口雅. [クローズアップ脳炎・脳症・髄膜炎] 序—急性脳炎・脳症研究の最近の進歩. *小児内科*, 査読無, 2013; 45(2):172-175.

- ・ 水口雅. 急性脳症—発症の遺伝的背景—. *Neuroinfection*, 査読無, 2013; 18(1): 54-59.
- ・ Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takanashi JI, Hirose S, Yamagata T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes. *Brain and Development*, 査読有, 2012; 34(5): 337-343. doi: 10.1016/j.braindev.2011.07.012.
- ・ Bergamino L, Capra V, Biancheri R, Rossi A, Tacchella A, Ambrosini L, Mizuguchi M, Saitoh M, Marazzi MG. Immunomodulatory therapy in recurrent acute necrotizing encephalopathy ANE1: Is it useful? *Brain and Development*, 査読有, 2012; 34(5): 384-391. doi: 10.1016/j.braindev.2011.08.001.
- ・ Kobayashi K, Ohzono H, Shinohara M, Saitoh M, Ohmori I, Ohtsuka Y, Mizuguchi M. Acute encephalopathy with a novel point mutation in the *SCN2A* gene. *Epilepsy Research*, 査読有, 2012; 102(1-2): 109-112. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2012.04.016.
- ・ 水口雅. [神経疾患診療の進歩と話題] 急性脳症の診断と治療. *小児内科*, 査読無, 2012; 44(9): 1486-1489.
- ・ 水口雅. [けいれん重積型(二相性)急性脳症] 序: けいれん重積型(二相性)急性脳症のオーバービュー. *小児科臨床*, 査読無, 2012; 65(9): 1941-1945.

〔学会発表〕(計 31 件)

- 1) 水口雅. 小児のウイルス感染症と意識障害. 第 55 回日本臨床ウイルス学会、ロイトン札幌(札幌市), 2014 年 6 月 15 日
- 2) 齋藤真木子, 石井敦士, 井原由紀子, 星野愛, 寺嶋宙, 久保田雅也, 山中岳, 河島尚志, 菊池健二郎, 雨宮馨, 亀井淳, 廣瀬伸一, 水口雅. けいれん重積型急性脳症におけるナトリウムチャンネル *SCN1A* および *SCN2A* 変異解析. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(浜松市), 2014 年 5 月 29 日
- 3) 山中岳, 竹下美佳, 小穴信吾, 石田悠, 森地振一郎, 宮島佑, 齋藤真木子, 水口雅, 廣瀬伸一, 河島尚志. 重度後遺症を伴ったけいれん重積型急性脳症 5 例の脳症関連遺伝子の解析. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(浜松市), 2014 年 5 月 29 日
- 4) 星野愛, 齋藤真木子, 久保田雅也, 高梨潤一, 豊島光雄, 宮本晶恵, 奥村彰久, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因—HLA タイピング及びサイトカイン

- 遺伝子多型解析—第2報. 第56回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(浜松市), 2014年5月29日
- 5) 西村尚子, 樋口嘉久, 木村暢佑, 廣田常夫, 野崎章仁, 熊田知浩, 藤井達哉, 星野愛, 齋藤真木子, 水口雅. RANBP2 遺伝子変異, CPT-II 熱感受性多型を認めなかった急性壊死性脳症の兄弟例. 第117回日本小児科学会学術集会, 名古屋国際会議場(名古屋市), 2014年4月11日
- 6) 齋藤真木子, 塩見正司, 山形崇倫, 亀井淳, 赤坂真奈美, 廣瀬伸一, 水口雅. テオフィリン関連急性脳症における複数の遺伝的素因. 第117回日本小児科学会学術集会, 名古屋国際会議場(名古屋市), 2014年4月11日
- 7) Saitoh M, Mizuguchi M. Gene polymorphisms and mutations predispose children to encephalopathy with febrile status epilepticus. 7th IGAKUKEN International Symposium on Fever, Inflammation, and Epilepsy. 東京都医学総合研究所(東京都世田谷区), 2014年2月21日
- 8) Hoshino A, Saitoh M, Kubota M, Takanashi J, Toyoshima M, Miyamoto A, Okumura A, Mizuguchi M. Genetic backgrounds in Japanese patients with acute necrotizing encephalopathy—HLA typing and cytokine gene polymorphisms. 7th IGAKUKEN International Symposium on Fever, Inflammation, and Epilepsy. 東京都医学総合研究所(東京都世田谷区), 2014年2月21日
- 9) 水口雅. [遺伝子異常と神経感染症]急性脳症と遺伝子多型・変異. 第18回日本神経感染症学会学術集会, フェニックス・シーガイア・リゾート(宮崎市), 2013年10月12日
- 10) Mizuguchi M. Genetics of early onset epilepsy with encephalopathy. 12th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Riyadh (Saudi Arabia), 2013年9月16日
- 11) 水口雅. [急性脳症をいかに理解するか: 今後の研究アプローチ]急性脳症の包括的遺伝子解析. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年6月1日
- 12) 西村尚子, 樋口嘉久, 井口牧子, 木村暢佑, 野崎章仁, 熊田知浩, 藤井達哉, 星野愛, 齋藤真木子, 水口雅. RANBP2, CPT-II 遺伝子変異を認めなかった急性脳症の兄弟例. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年6月1日
- 13) 星野愛, 齋藤真木子, 久保田雅也, 高梨潤一, 豊嶋光雄, 宮本晶恵, 奥村彰久, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因—HLA タイピング及びサイトカイン遺伝子多型解析—. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年6月1日
- 14) 座波清誉, 松本浩, 中村康子, 齋藤真木子, 水口雅. RS ウイルス関連脳症の2例: 発症機序についての考察. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年5月31日
- 15) 多田弘子, 高梨潤一, 山形崇倫, 奥野英夫, 久保田雅也, 河野剛, 椎原隆, 浜野晋一郎, 廣瀬伸一, 水口雅. 二相性けいれんと遅発性拡散低下を呈する急性脳症(AESD)の予後予測に関する検討. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年5月30日
- 16) 齋藤真木子, 星野愛, 久保田雅也, 菊池健二郎, 山中岳, 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遺伝的素因の比較—サイトカイン遺伝子多型解析—. 第55回日本小児神経学会学術集会, iichiko 総合文化センター(大分市), 2013年5月30日
- 17) 高梨潤一, 水口雅, 奥村彰久, 種市尋宙, 田中朋美. 腸管出血性大腸菌(EHEC) O111 関連急性脳症の頭部画像所見の検討. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島国際会議場(広島市), 2013年4月20日
- 18) 齋藤真木子, 篠原麻由, 高梨潤一, 菊池健二郎, 久保田雅也, 山中岳, 水口雅. けいれん重積型急性脳症の遺伝的素因. 第117回日本小児科学会学術集会, 広島国際会議場(広島市), 2013年4月20日
- 19) 星野愛, 齋藤真木子, 水口雅. 病原体及び症候群分類に基づいた急性脳症の全国実態調査. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島国際会議場(広島市), 2013年4月19日
- 20) Mizuguchi M. Influenza encephalopathy and related neuropsychiatric syndromes. 2nd ISIRV-Antiviral Group Conference, Hanoi (Vietnam), 2012年10月30日
- 21) 水口雅. [小児の急性脳症]急性脳症: 発症の遺伝的背景. 第17回日本神経感染症学会総会学術集会, 京都ホテルルビノ京都堀川(京都市), 2012年10月19日
- 22) Mizuguchi M. Acute encephalopathy: devastating complications of influenza and other viral infections. 12th International Child Neurology Congress and 11th Asia and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane (Australia), 2012年5月28日
- 23) Yonee C, Toyoshima M, Maruyama S, Maegaki Y, Saito M, Mizuguchi M. A recurrent case of acute encephalopathy

with biphasic seizures and late reduced diffusion after acute necrotizing encephalopathy. 12th International Child Neurology Congress and 11th Asia and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane (Australia), 2012年5月28日

- 24) 阿部裕一, 酒井哲郎, 水口雅, 山内秀雄. 先天性副腎皮質過形成に合併する小児急性脳症の臨床的検討. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月18日
- 25) 篠原麻由, 齋藤真木子, 山中岳, 雨宮馨, 久保田雅也, 山形崇倫, 菊池健二郎, 川脇寿, 亀井淳, 赤坂真奈美, 安西有紀, 塩見正司, 水口雅, 山内秀雄. テオフィリン関連急性脳症における遺伝的素因. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月18日
- 26) 多田弘子, 高梨潤二, 山形崇倫, 奥野英夫, 久保田雅也, 河野剛, 椎原隆, 浜野晋一郎, 廣瀬伸一, 水口雅. Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD]における早期診断に関する後方視的検討. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月17日
- 27) 中川裕康, 八木信一, 水口雅, 深部灰白質の両側対称性病変を伴う腸管出血性大腸菌(EHEC)脳症. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月17日
- 28) 星野愛, 齋藤真木子, 篠原麻由, 長嶋雅子, 吉田健司, 加藤竹雄, 豊島光雄, 李守永, 水口雅. 急性壊死性脳症における遺伝的素因. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月17日
- 29) 齋藤真木子, 篠原麻由, 星野英紀, 久保田雅也, 雨宮馨, 高梨潤二, 黄壽卿, 廣瀬伸一, 水口雅. 急性脳症におけるSCN1A遺伝子解析. 第54回日本小児神経学会総会, ロイトン札幌(札幌市), 2012年5月17日
- 30) 大内啓嗣, 三浦健一郎, 内野俊平, 岩崎博之, 竹内正人, 磯島豪, 張田豊, 水口雅, 五十嵐隆, 武藤浩司. 急性腎不全と後頭葉可逆性白質脳症(PRES)を合併したサルモネラ脳症の1例. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡国際会議場(福岡市), 2012年4月22日
- 31) 山本啓之, 奥村彰久, 夏目淳, 水口雅. 急性壊死性脳症の重症度予測スコア. 第115回日本小児科学会学術集会, 福岡国際会議場(福岡市), 2012年4月21日

〔図書〕(計4件)

- 1) 水口雅. 小児の急性脳炎・脳症. 永井良三, 太田健(編) 疾患・症状別今日の治療と看護, 第3版. 南江堂, 東京, 2013,

pp.1300-1302.

- 2) 水口雅. [インフルエンザの臨床] インフルエンザ脳症. 菅谷憲夫(編) 別冊・医学のあゆみ インフルエンザ Update—課題と問題点. 医歯薬出版, 東京, 2013, pp.77-81.
- 3) 水口雅. [感染症症候群] 急性脳症, ライ症候群. 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 25, 感染症症候群(第2版) 症候群から感染性単一疾患までを含めて, 日本臨牀社, 東京, 2013, pp.148-152.
- 4) 水口雅. [感染性疾患] ウイルス性脳炎・脊髄炎・髄膜炎概論. 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 26, 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて, 日本臨牀社, 東京, 2013, pp.529-535.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕

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

6. 研究組織

(1)研究代表者

水口 雅 (MIZUGUCHI, Masashi)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 20209753

(2)研究分担者

高梨 潤一 (TAKANASHI, Jun-ichi)
東京女子医科大学・八千代医療センター・教授
研究者番号: 00302555

齋藤 真木子 (SAITOH, Makiko)

東京大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 20225733

(3)連携研究者

廣瀬 伸一 (HIROSE, Shin-ichi)
福岡大学・医学部・教授
研究者番号: 60248515

山内 秀雄 (YAMANOUCHI, Hideo)

埼玉医科大学・医学部・教授
研究者番号: 10250226