

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500430

研究課題名(和文)鉄暴露性てんかん原性脳病変の病理解析と診断標準化

研究課題名(英文)Pathological analysis and standardization of iron-induced epileptic lesions

## 研究代表者

新井 信隆 (ARAI, Nobutaka)

公益財団法人東京都医学総合研究所・病院等連携研究センター・副所長

研究者番号：10167984

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、てんかんを惹起する様々な脳神経疾患における鉄沈着の有無や、その病理学的様式を検証した結果、海綿状血管腫や頭部外傷後遺症(挫傷後)の病変に出現する鉄沈着と、それによると思われるアストロサイト異常の形態を明らかにした。また、鉄沈着の多さがてんかん原性に関係しているという病理形態の計測学的な知見を得た。内側側頭葉てんかんの海馬において、頭部外傷に起因したと思われる鉄沈着の疾病構造を明らかにした。一方、明らかな器質敵な病変がない焦点部の約2%に鉄沈着が潜在していることを明らかにした。これらの知見は、てんかん外科治療の戦略策定のために資すると思われた。

研究成果の概要(英文)：This study clarified a form of the astrocytic abnormality (named foamy spheroid body), probably induced by iron composure, with abundant hemosiderin pigments in cases of cavernous hemangioma and post-traumatic lesions. In addition, this study revealed that the much iron composure around the lesions got the epileptogenic nature. In the hippocampus of mesial temporal lobe epilepsy after head injuries, many iron-deposits appeared unexpectedly. It was thought that such knowledge would contribute for strategic planning of the epilepsy surgery treatment.

研究分野：神経病理学

キーワード：てんかん 鉄 脳外科治療 焦点病理診断 海綿状血管腫

### 1. 研究開始当初の背景

てんかんは百人にひとりと言われる、比較的稀ではない疾患症候群であり、大脳の神経細胞の過剰発火に起因する疾病である。大脳皮質の神経細胞には、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞があり、それらのバランスの破綻によって、過剰興奮が起きる(図1)。多くのてんかん患者では薬物などの治療で軽快するものの、約3割の患者は抗てんかん薬抵抗性であり、さらにその中の一定割合の患者はてんかん外科手術(焦点切除術など)の適応となる。焦点切除後の病理診断においては、様々なカテゴリーの器質的疾患を呈するが、かならずしも病理診断が標準化されているわけではないことが、医療的な問題となっていると言っても過言ではない。

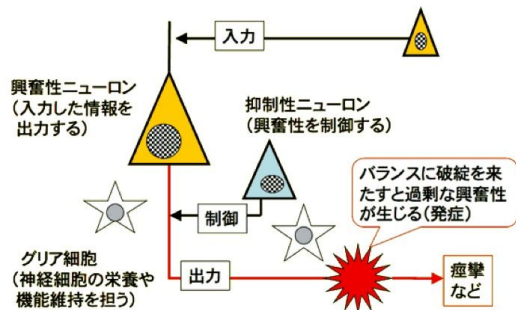
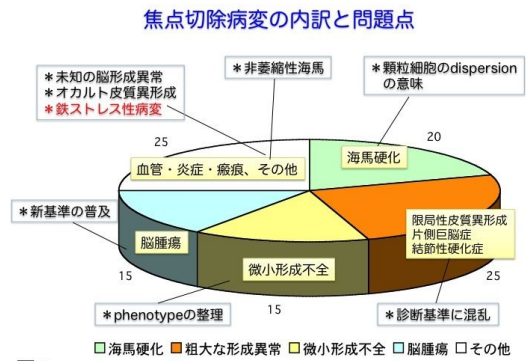


図1

### 2. 研究の目的

本研究は、脳神経病理疾患の診断困難症例について、治療方針決定のための病理診断基準の科学的根拠を確定し、それらを根拠にしたデータベース構成を完成させる新しい視点の研究である。現在、診断基準のコンセンサスが得られていない疾患群の代表は、上記したようにてんかん外科病理検体である。国際的には、国際抗てんかん連盟(International League Against Epilepsy; ILAE)のNeuropathology Task Force委員会が、様々なてんかん外科手術症例についての病理診断基準の標準化を行おうと活動しており、代表者もad hocメンバーとして海馬硬化症例、脳形成異常症例の診断標準化に参画してきた。一

方、ILAEの神経病理部会でも、また、その他の研究活動でも取り扱われていない重要なてんかん惹起病変は、組織に鉄イオンが沈着している鉄ストレス性てんかん原性病変である(図2)。



本研究では、てんかんを惹起する様々な脳神経疾患における鉄沈着の有無や、その病理学的様式を検証することを目的とした。また、明らかな鉄沈着がないと思われていた各種てんかん病変についても、改めて、鉄沈着の有無や様式について検証することも目的とした。さらに、それらの検証過程で得られた病理画像については、脳神経病理データベースのコンテンツとして搭載し、医療の均霑化に資する資料として公開することも目指した。

### 3. 研究の方法

(1) 海綿状血管腫、頭部外傷後遺症における鉄沈着様式については以下のように行った、てんかん外科手術によって焦点切除された脳検体約800例、てんかんを含む様々な神経疾患の剖検脳約2,000例のパラフィンブロックを用い、人脳における鉄沈着病変の疾病構造と、そこに生じている細胞病理学的変化を検証した。このうち切除焦点対象が頭部外傷後遺症、海綿状血管腫であった症例につき(18例)、病変部および周辺部における鉄沈着様式、アストロサイト・マクロファージの反応様式について検証した。

(2) 海綿状血管腫におけるてんかん原性と鉄沈着様式の関係については、てんかん原生

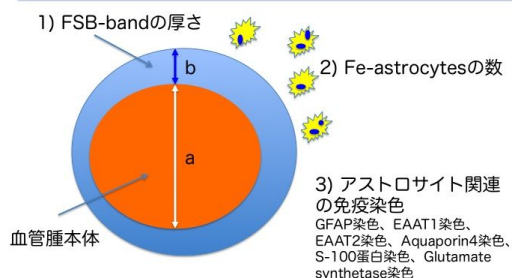
海綿状血管腫 (CH) 17例 (epi-CH群、平均28.2才) および非てんかん原生CH 8例 (non-epi-CH群; 平均39.9才)を対象とし(図3)、病理診断のルーチン染色に加えて、ベルリン青染色、GFAP染色、EAAT1染色、EAAT2染色、Aquaporin4染色、S-100蛋白染色、Glutamate synthetase染色を行ない、FSB-bandの定量的比較(FSB-band厚/CH直径)、FSB-bandの外側エリアの鉄沈着アストロサイトの定量的比較、および上記の免疫組織学的表出を定性的に評価した(図3、4)。

**検索対象**

症例番号	手術年齢	性別	初発年齢	病巣の場所	主な症状
<b>Epi-CH</b>					
1	39	f	33	左海馬	認知症、言語障害
2	23	f	18	右側頭葉内側	失音症、言語障害
3	53	m	28	右基底節部	右側視野の欠如、自閉症
4	44	m	39	右側頭葉	失音症
5	22	f	22	右側頭葉	右側偏盲、上記にミタコウラス欠陥
6	39	f	18	右側頭葉内側	上部視野欠如、言語障害
7	36	m	30	左海馬	認知症、言語障害
8	24	m	17	左側頭葉	言語障害、言語障害
9	29	f	26	右側頭葉内側	一過性失音、全身痙攣
10	30	f	16	右側頭葉内側	聴覚障害、全身痙攣
11	25	f	24	右側頭葉内側	言語障害
12	14	f	1	右側頭葉内側	認知症、言語障害
13	25	m	22	左基底節	失音症、言語障害
14	25	f	25	右側頭葉	右半身麻痺のけいれん
15	17	m	11	右側頭葉内側	失音症、認知、言語障害
16	35	f	18	右側頭葉内側	認知症、言語障害
17	26	m	16	右側頭葉	聴覚部分失音
<b>Non-epi-CH</b>					
1	31	f	31	右側頭葉	聴覚
2	29	f	26	右側頭葉	聴覚
3	43	m	42	右側頭葉	聴覚障害
4	49	m	42	右側頭葉	なし
5	67	m	67	右側頭葉	聴覚障害
6	45	f	45	右側頭葉	聴覚障害
7	34	f	32	左海馬	認知症
8	44	m	44	右側頭葉	聴覚

図3

**鉄暴露とアストロサイト異常を検出する3つの指標**



- 任意の20カ所のb/aの平均値を両群で比較
- 鉄顆粒を含むアストロサイトの1mm<sup>2</sup>領域での総数を計測し両群で比較
- 各種免疫染色の染色様式を定性的に両群で比較

図4

(3) 内側側頭葉てんかん(海馬硬化、扁桃体腫大、脳腫瘍など)での鉄沈着の検証は、てんかん外科手術を受けた500余名の焦点切除部を、アストロサイトへの鉄の沈着の有無や病理像の種類の再検証を行った。

(4) ウェブサイトを活用し、研究成果の普及を推進した。

4. 研究成果

(1) 海綿状血管腫や頭部外傷後遺症の主な

る病変では、比較的粗大な hemosiderin deposit が多く認められ(図5)、その周囲には極めて多数の foamy spheroid body の集積を認めた。また、foamy spheroid body の内部には微細な鉄顆粒が含まれ(図6)、周囲や内部にはメッシュ様のグリア線維の集積があり(図7)、鉄暴露により誘導された特殊なアストロサイト異常であることを確認することができた。

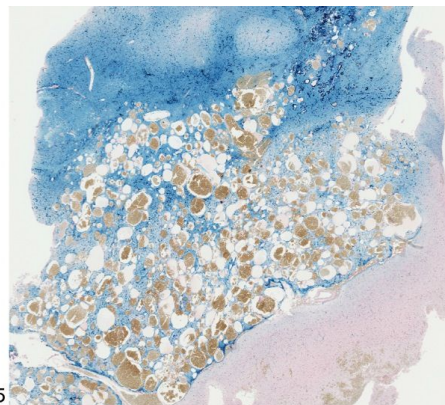


図5

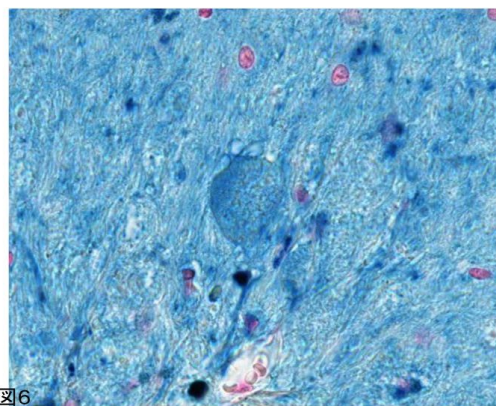


図6

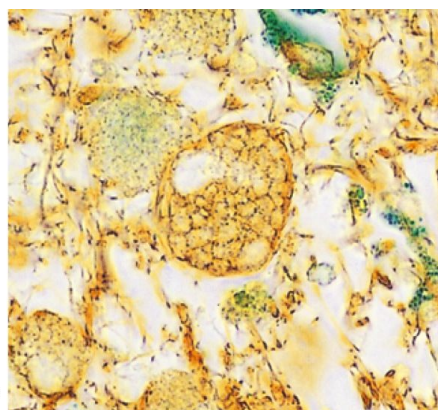


図7

このことにより、鉄暴露によるアストロサイトの形態異常とてんかん原性獲得の間における密接な関係が示唆された。

(2) FSB-band の厚さは epi-CH 群では non-epi-CH 群に比して有意に高値であった。FSB-band より外側エリアにおけるベルリン青陽性鉄顆粒を有するアストロサイトの頻度も有意に epi-CH 群で高値だった。免疫染色では EAAT2 の表出が epi-CH 群で不整であった (図8)。

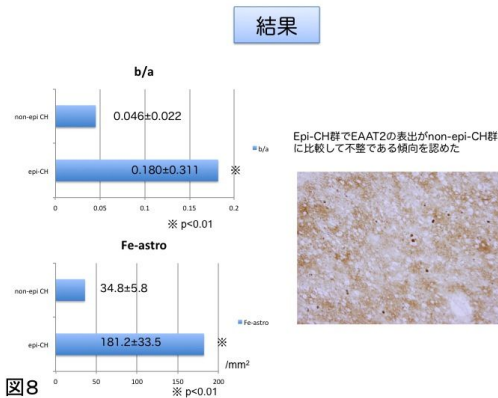


図8

両群の病理組織学的差異は、微細かつ継続的な漏出性出血の程度に起因するものと考えられた。組織内鉄沈着がてんかん原生と密接に関わっているとすれば、手術時に en-block 迅速鉄染色 (PerI 染色変法) を行ない断端の鉄沈着の程度を評価することも有用であろう。鉄イオンと関連する蛋白の神経細胞-アストロサイト間のリサイクルのメカニズムの破綻に起因する神経疾患がいくつか知られているが、海綿状血管腫や頭部外傷による鉄暴露によるてんかん原生獲得もそのカテゴリーに入るのではないかとされた。

(3) 内側側頭葉てんかん症例 (339例) のうち、61.5%に海馬硬化 (hippocampal sclerosis) を認めたが、そのうち 5.3%の海馬にベルリン青染色にて鉄沈着を認め、それら鉄沈着のある海馬硬化症例の 87.5%に乳幼児期に頭部打撲のエピソードがあった。一方、海馬硬化を来さなかった内側側頭葉てんかん症例のうち 2.7%に、ベルリン青染色による鉄沈着を確認し、それらのうち 71.9%に乳幼児期に頭部打撲のエピソードがあった。この

ことは、頭部打撲 (ストレス) によって海馬に鉄沈着が誘発される危険性が高いことを示しており、その一部は、海馬硬化を引き起こすということを示しており、臨床的に重要な知見と思われる。すなわち、軽重はともかく、脳発達の段階で外傷性ストレスが加わることで、脳血管閉塞の破綻か、血管そのものの破綻などにより、微細で拡散性の血液漏出が惹起され、その結果、組織鉄の沈着が引き起こされることが強く示唆される。従って、そのような臨床歴がある症例においては、鉄誘発型てんかんの発症リスクが高いことを念頭にフォローアップするべきであるという根拠を示すことができた。一方、鉄沈着があった海馬硬化となかった海馬硬化、において、各種免疫染色などでのパイロット検索を行った結果、異なる病理フェノタイプであることは確認できなかった。従って、鉄沈着が海馬硬化を誘発しているという直接的なエビデンスを立証することは、今後の検討課題と判断された。

代表者らが 2014 年にはじめてその存在と病理像を発表した扁桃体肥大大型側頭葉てんかんにおいても、鉄沈着の有無を検証したが、鉄沈着はなかったため、上記のてんかん病態とは異なる基盤があるものと思われた。この点は、今後の検討課題である。

検索した内側側頭葉てんかんの 21.7%に様々な病理型の脳腫瘍を認めたが、鉄関連構造物を認めた脳腫瘍は、胚芽異形成性神経上皮腫瘍のみであり、46.7%に軽微ながら鉄関連構造物を認めた。一方、本研究ではてんかん原性との関連については明らかにはできなかった。

外側側頭葉てんかんと側頭葉外てんかんのうち、約 20%には明らかな病変がないと初期診断されていたが、それらの 10.6%に軽微ながらベルリン青染色にて微細鉄沈着が大脳皮質表層に認められた。このことは、てんかん焦点脳組織のうち約 2%には、潜在的鉄暴

露があり、かつ、てんかん原性獲得に何らかの関与していることを示唆している。鉄暴露型てんかん焦点部をMRIなどの神経画像検査において、臨床現場で検出することにより、手術で治療可能なてんかんの診断精度の向上に繋がると考えられる。

(4) これらの知見につて、診断病理の現場に普及させるため脳神経病理デジタルデータベースを用いて公表・普及させる取り組みも同時に行ってきた(図9)。



図9

これらのことにより、てんかん脳外科治療の現場における治療戦略(切除範囲の吟味)の改良に役立つと思われる。

#### 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3件)

Komori T, Arai N. Dysembryoplastic neuroepithelial tumor, a pure glial tumor? Immunohistochemical and morphometric studies, *Neuropathology*, 査読有, 33(4), 2013, 459-68. doi: 10.1111/neup.12033.

Minami N, Morino M, Uda T, Komori T, Arai N, Lohmura E, Nakanol. Surgery for amygdala enlargement with medial temporal lobe epilepsy: pathological findings and seizure outcome, *J Neuro Neurosurg Psychiatr*, 査読有, 33, 2014, 459-468. doi: 10.1136/jnnp-2014-308383

〔学会発表〕(計6件)

新井信隆、特別講演：中枢神経系検索のポイント、第65回日本病理学会関東支部学術集会、2014年12月20日 横浜市大医学部へボンホール(神奈川県横浜市)

新井信隆、他、脳神経病理データベースを活用したてんかん病理診断の均霑化、第47回日本てんかん学会、2013年10月11日 北九州国際会議場(福岡県北九州市)

新井信隆、特別講演：鉄リサイクル異常によるてんかん病理、第55回日本小児神経学会、2013年5月31日 総合文化センター(大分県大分市)

新井信隆、他、てんかん外科病理診断の標準化のためのウェブカンファレンスルームの活用、第36回日本てんかん外科学会、2013年1月17日、岡山コンベンションセンター(岡山県岡山市)

新井信隆、教育講演：難治性てんかんの外科病理診断の標準化、第46回日本てんかん学会、2012年10月11日 都市センターホテル(東京都千代田区)

〔その他〕

ホームページ  
東京都医学研・脳神経病理データベース  
<http://pathologycenter.jp>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

新井 信隆 (ARAI Nobutaka)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・病院等連携研究センター・副所長  
研究者番号：10167984