1-4 てんかんの病態解明と併存症を含めた先駆的・包括的診断 と治療方法の開発

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター病院

てんかん診療部、総合てんかんセンター

主任研究者名：中川栄二

総括報告書

1. 研究目的

てんかん診療全国拠点機関として、当センターでのてんかんに関するリソース・レポジトリシステムを構築することにより、てんかん発症の病態解明、診断と治療方法の開発・提言を行うことが本研究班の目的である。てんかんの診断、治療に関しては、てんかんセンターを核として精神科、脳神経内科、小児神経科、脳神経外科、放射線科のてんかん医療体制を活かして、特に神経発達症および精神症状を併存するてんかん患者に関するソフト、ハードの両面から望ましい診療体制を提言し、てんかん治療のモデル医療の実現に向けた研究を行う。てんかん患者臨床データベースの質の高い集積を継続して行うことに加え、脳波データベースを新たに構築し脳波から診断、治療ができるシステムを提言し、全国規模での脳波診療ネットワークを構築する。てんかん診療実態調査では、民間レセプト情報データベースから、全国てんかん有病率（受療率）の調査を行う。より実際の疾患有病率に近くなるような解析を行うことで、本邦におけるてんかん有病率を明らかにできる。これらの調査結果は、疾病対策や啓発活動、医療政策構築に役立つ情報となる。

てんかんと併存する精神症状、神経発達症を様々な脳形態・機能画像解析や神経生理学的解析を用いて可能な限り早期に適切な評価と診断を行い、効果的な内科的、外科的治療方法導入の確立を目指す。研究成果をもとにてんかん市民公開講座や全国の医師やメディカルスタッフ、患者向けの研修会、講演会で積極的に発信して啓発活動を行う。

てんかんの基礎研究に関しては、すでに当センターTMCでリサーチ・レポジトリとして確立された利用可能な試料・情報を利用することにより、てんかんの分子病理学的研究、神経生理学的研究、遺伝学的基礎研究によるてんかんの病態解明等の基礎研究を行う。

2. 研究成果：

I. てんかん臨床情報データベースの構築

① てんかん臨床情報データベースの整備：てんかんの診療・疾患研究に有効に活用しうる臨床情報データベースの整備を行うと共に、データの効率的な収集・有効な活用のための課題について検討した。JASPER（精神疾患レジストリ等プロジェクト）では、当センター含め4つのNCからの症例情報の集積がすでに開始され、収集されたデータは、6NC統合診療情報データベースとして、NC医療研究連携推進本部（JH）によるデータ管理および利活用の運用が予定されている。電子カルテの定型入力を対象とし、異なる電子カルテシステムで共通利用できる汎用規格を

策定し、効率的な情報収集の基盤を整備することを検討している。

② てんかん臨床情報データベースおよび脳神経外科データベースの構築：当センターにおけるてんかんを対象とする臨床研究、共同研究および治験を促進するための患者データベースを構築する。2021年9月末までに外来延べ患者数4680名、入院延べ患者数5706名の2017年の新しいてんかん国際分類に準拠したデータベースを構築した。脳神経外科手術データベースは、1999年以降2021年10月末時点で2181件のデータベースとなっている。バイオバンクへてんかん患者を登録する体制を築いた。外科治療を受ける難治てんかん患者を対象に、2017年6月から2021年9月末時点で395名から同意を取得し、脳検体297件、血漿340件、血清186件が登録されている。同バイオバンクを利活用する形で、てんかん原性腫瘍や皮質形成障害の遺伝子解析を行う研究が実施され、競争的資金の獲得にも役立っている。

II. てんかん疫学研究

レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査：本邦では、成人を含む全年齢層を対象とした本格的なてんかん疫学調査は未だ行われていない。JMDC社のレセプトデータを用いて18歳未満の患者を対象として2018年にてんかんとして治療を受けた患者数を推定した。患者数は9,487、被保険者（家族）は165,9736、受療率は1,000人あたり5.7（受療率0.57%）であった。抗てんかん薬では、バルプロ酸、レベチラセタム、カルバマゼピンが多かった。処方薬剤数では、1剤が70%以上で、3剤以上投与されているのは20%以下であった。

III. てんかん患者における脳波記録のデータベース化に向けた基盤構築：脳波判読ツール作成を目指し、基礎データとなるべく脳波記録をデータベース化するための基盤構築を行った。脳波データ登録の形式や、脳波データ登録に付随する臨床情報シートの内容について、検討、選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を容易に行えるようEuropean data format (EDF)形式にて登録することし、登録様式として臨床情報シートを作成し、登録システムを構築した。今後は、他施設から登録体制を整え、さらなる発展を目指したい。

IV. てんかんの適切な診断と治療戦略の研究

① T1WI-CHESS法を用いた結節性硬化症の中枢神経病変の評価：T1WI-CHESS法を用いた結節性硬化症の中枢神経病変の評価：結節性硬化症（tuberous sclerosis complex：TSC）の中枢神経病変の検出におけるT1WI-CHESSの有用性を検討した。結節性硬化症の白質病変の検出能はT1WI-CHESSが最も高かった。従来のルーチンであるT2WIやFLAIRにT1WI-CHESSを加えることにより、TSCの中枢神経病変をより正確に検出することが可能になると考えられた。本研究の中で、通常のシーケンスではsolitary cortical tuberと考えられたが、T1WI-CHESSにより複数の白質病変が指摘され、TSCと診断できた症例があった。従来FCD type IIbやsolitary cortical tuberと診断されていた症例の中にも、画像で指摘できていない白質病変があり、TSCを見ていた可能性がある。T1WI-CHESSは日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と

考えられた。FCD type IIb と同様に、TSC においても T1WI 高信号と balloon cell との関連が示唆された。今後は balloon cell の T1 短縮に寄与する物質を同定し、balloon cell の由来の糸口を掴みたい。

② 片側巨脳症における半球離断術後の脳波の検討：片側巨脳症（HME）の脳波では、suppression-burst (SB) パターン を認めることがあり、半球離断術によって視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も、巨脳側で SB が持続する症例を経験する。現在のところ SB の発生機序は解明されていない。大脳の異常のみによって SB が発生し得ることを明らかにするために、HME における半球離断術後の脳波について検討した。HME の脳波を解析した結果、半球離断術によって巨脳側が対側大脳・大脳基底核・視床・脳幹から機能的に切断された後にも巨脳側で SB が認められる症例が多数あり、大脳の異常のみ によって SB が発生し得ることが明らかとなった。SB 発生機序に関する仮説には、視床皮質ネットワーク仮説、皮質過敏性仮説、代謝仮説 などがあるが、今回我々は視床皮質ネットワーク仮説を否定する画期的な結果を得た。

③ てんかんのある患者の抑うつ・不安に関する研究：精神科治療や介入が必要なたんかん患者のうつ病や不安障害の実態を明らかにした。抑うつ・不安を認めるてんかん患者の約半数は 自閉スペクトラム症と知的障害（ASD/ID） を合併しており、ASD/ID の評価は重要である。うつ病のてんかん患者の半数は心理社会的問題が多く、心理士・ソーシャルワーカーの連携強化が必要 である。Psychosocial group (P 群)は 心因性非てんかん性発作（PNES）合併が多く、PNES の影響が予想される。ASD/ID 合併、PNES 合併の影響の解析を引き続き進める。

④ 自己免疫性てんかんの研究：成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析として、てんかんと自己免疫性機序の解明のため、複数の自己抗体を一度に検索できる手法の開発検討を行い診断と治療に有効活用することができた。また、広域の周波数帯域の脳波 wide-band EEG では 200 Hz 以上の高周波数帯域の活動、1 Hz 以下の低周波数帯域の活動の記録が可能となり、高周波数律動(HFOs)、直流(DC)電位と呼ばれる脳波活動が新たな情報として得られるようになり、両指標がてんかん原性領域の同定に役立つことが明らかになった。

⑤ てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明：小児てんかん患者を対象に中途覚醒を含めた睡眠の状況について終夜睡眠ポリ グラフ検査 (PSG) を用いて評価を行い、客観的バイオマーカーの一つである脳波解析や認知機能検査と睡眠との関連について明らかにした。脳波解析では、てんかん症例では覚醒時の脳機能低下がある可能性が示唆された。また不注意、実行機能異常、学習の 問題などの認知機能障害を認めた前頭葉てんかんでは、12Hz slow spindle のパワー値が高かった。また CSWS や全般焦点合併てんかんでは、前頭部優位の 12Hz spindle が認められなかったことは、覚醒時の脳機能障害や前頭-視床のループ回路の異常を示す可能性が考えられた。てんかん児では、睡眠の質の悪さが、脳機能 障害を呈し認知機能障害を呈する可

能性が考えられた。

V. てんかん基礎研究

① 難治性てんかんの遺伝学的解析：難治性てんかんの外科的切除標本を免疫組織染色により、グリア細胞特有のチャンネルや受容体について免疫組織化学的解析による発現解析を行った。海馬硬化および癲痕脳回のグリア細胞の抗原提示性は非てんかん性疾患による反応性グリア細胞のそれとは異なり、グリア細胞のてんかん原性への関与が示唆された。新生児期より難治性てんかんを来す early-onset progressive leukodystrophy を発見し報告した。また結節性硬化症の遺伝学的解析では、皮質結節の dysmorphic neuron、balloon cell、normal-looking neuron に分けて microdissection を行い、DNA を抽出して PCR で増幅することを確認した。塩基配列解析を進めている。Joubert syndrome-related disease (JSRD) に併発するてんかんについての病態解明を行った。JSRD 患者の遺伝子解析で 46 例中 11 例(約 24%) のてんかんを併発していた。4 例に *CEP290* 遺伝子異常、1 例に *TMEM67* 遺伝子異常、1 例に *TCTNI* 遺伝子異常、5 例が VUS (variants of uncertain significance) であった。今回解析した *CEP290* 遺伝子異常を伴う JSRD 患者は 9 例であり、このうち 4 例にてんかんを併発していたことは既報告に比して高い割合であった。

② てんかんモデル動物を用いた病態解明：(i) *AUTS2* 遺伝子について：脳内の神経細胞は、神経活動を促す「興奮性シナプス」と、逆にそれを抑え込む「抑制性シナプス」で繋がっており、これらの数がバランスよく保たれることで、健やかな精神活動が営まれる。*AUTS2* が興奮性シナプスの新規形成を抑え、刈り込みを促進することで、結果的に興奮性シナプスの数が増えすぎないように調整していることを見出した。一方で、抑制性シナプスに対してはこのような働きが認められなかった。*AUTS2* の機能が失われると、興奮性シナプスの数は増えるが抑制性シナプスは変わらないため、興奮性/抑制性のバランスが破綻してしまい、脳が常に興奮した状態になることがわかった。これがてんかん病理の背景にあることが示唆された。自閉スペクトラム症と小脳との関連が示唆されてきているため、さらに小脳における *AUTS2* の機能についても調べた。*AUTS2* が、プルキンエ細胞の成熟、登上線維シナプスの発生、平行線維シナプスの数の制限、等に関わることによって、社会性行動に関与することを小脳特異的コンディショナルノックアウトマウスを使った実験により明らかにした。(ii) イハラてんかんラット (IER) および *DSCAML1* 遺伝子について：IER の原因遺伝子として *Dscaml1* を同定し、また「てんかん症例リサーチリソース」から、いくつかのゲノム変異を同定した。C 末端側のアラニンがスレオニンに変異した症例では、その変異 *DSCAML1* 蛋白質のフォールディング異常により細胞表面に出ることができず、*DSCAML1* 蛋白質が機能しない。相同なゲノム変異を持つノックインマウスを作成したところ、IER と同様な表現型が見られたので、ヒトのこのアミノ酸変異が疾患の原因となっている可能性が示唆された。さらに統合失調症、知的障害、自閉スペクトラム症、(てんかん症例を含む) のデータベースから *DSCAML1* 遺伝子の変異を多数抽出した。さらに、代表的な三変異のコードする変異 *DSCAML1* タンパク質について、立体構造予測、細胞内局在、タンパク質安定性、細胞接着機能、シナ

プス数制限機能について調べることによって、その変異が精神疾患やてんかんの発症に関連する可能性について調べた。また、4PBA のような分子シャペロンをマウスに投与したところ、DSCAML1 の細胞内局在や神経細胞配置、異常脳波などがレスキューされた。これは、新たな治療法の開発につながると考えている。

(iii) 発達障害・てんかんではゲノムの遺伝的変異あるいは体細胞変異によって mTOR 経路の遺伝子に変異が入ることが多いと報告されているこれまでの精神疾患、神経疾患の患者検体を用いた研究は、主として死後脳を用いたものが多く、しかもそれはゲノム・エピゲノム解析およびトランスクリプトーム解析に留まっているものが多い。しかし、mTOR 経路はリン酸化を介した細胞内の伝達カスケードが主体であり、細胞内タンパク質のリン酸化状態を包括的に調べない限りは、その疾患で生じている細胞の病理の実態を理解することはできない。NCNP バイオバンクは、てんかん患者の多数の手術検体を有している。本研究では、「トランスクリプトーム解析」、「プロテオミクス解析」、「リン酸化プロテオミクス解析」を行いビッグデータの収集を行い、「mTOR 関連遺伝子の塩基配列解析」および「mTOR シグナルの活性化の測定」を行う予定である。

③ てんかん原性獲得におけるグリア細胞機能変調との因果関係の研究：てんかん原性型グリア細胞の視点によるてんかん分子病態研究：ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん病態におけるグリア細胞の役割を検討してきた。モデルマウスを用いて IP3 受容体タイプ 2 (IP3R2) 依存的な Ca²⁺過活動依存的にてんかん原生を誘導する「てんかん原生型アストロサイト」の存在を明らかにした。ピロカルピンによるけいれん重積 (SE) 誘発下に *in vivo* で全脳の Ca²⁺ imaging を施行し、てんかん重積 (SE) 中にはほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca²⁺シグナル (超広域 Ca²⁺シグナル) が惹起されることを見出した。SE 後のてんかん原生獲得期には、生理的条件と異なり、複数の脳領域にまたがる広い領域にアストロサイトの Ca²⁺シグナルが拡散していた。これは、てんかん病態時にアストロサイトネットワークの機能的再編が起きていることを示唆する可能性がある。今後、無麻酔覚醒下脳波同時記録全脳 Ca²⁺ imaging を行い、超広域 Ca²⁺シグナルと神経活動 (てんかん発作) の因果関係を解明する。また、薬理的な介入実験を行うことで、てんかん発作の起始・拡散・抑制過程における超広域 Ca²⁺シグナルの役割を引き続き解明を行う。

VI. 社会的貢献

日本てんかん学会、日本てんかん協会本部・てんかん協会東京支部と協賛して、東京都てんかん講座、全国てんかん基礎講座の共同開催を行い、てんかんに関する普及啓発活動を行った。

厚労省てんかん地域診療連携体制整備事業の全国てんかん支援拠点として、てんかん診療コーディネーターWEB 研修会を 8 月 1 日と 12 月 12 日に主催した。2021 年 2 月 13 日～14 日に第 9 回全国てんかんセンター協議会総会 (JEPICA) を主催した。

国立精神・神経医療研究センター病院てんかんセンター編集、「患者のギモンに答える！

てんかん診療のための相談サポート Q&A。」診断と治療社. 2021.を発売しててんかん啓発活動を行った。

3. 今後の研究の進め方について

厚労省てんかん地域診療連携体制整備事業の全国てんかん支援拠点として、「てんかん診療支援ネットワーク」を整備し、約 1,000 医療機関の医療機関の登録を行った。今後、てんかん診療支援ネットワークを通じて、遠隔医療事業を発展させ、てんかん診療デバイスを用いて、AI 技術を活用した、てんかんと併存する精神症状、神経発達症における画像・血液・脳波等の検査データと、発作症状、行動、身体所見等のデジタルフェノタイピングデータを組み合わせた解析を行い、早期診断が可能となる医療機器プログラム等の研究開発を推進し、早期に適切な評価と診断を行い、効果的な内科的、外科的治療方法導入の確立を目指す。

本てんかん研究班を核として、AMED 星野班（手術検体を用いた発達障害・てんかんの脳内細胞内情報伝達機構の把握）が開始された。引き続き外部研究資金の獲得を目指す。

2023 年度には、第 56 回日本てんかん学会学術集会を開催する予定である。より一層の研究のレベルアップを図りたい。

4. 倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）

個人情報保護法、生命倫理・安全対策に関するガイドライン等に準拠し、倫理基準を遵守して研究を行っている。それぞれの研究分担者が倫理委員会に申請を行い承認された。

5. その他希望事項

特になし

6. 研究成果の発表（原著論文、講演）

2019 年度～2021 年度 3 年間のまとめ

1. 主任研究者分 中川栄二

論文 80 編（英文論文 40 編、和文論文 11 編、総説 28 編、査読付論文計 43 編、書籍 1 編）
学会 242 回（国際学会 15 回、国内 107 回、シンポジウム 24 回（国際 3 回、国内 21 回、講演 96 回（国際 2 回、国内 94 回））

2. 研究班全体合計

論文 197 編（英文論文 125 編、和文論文 42 編、総説 30 編、うち査読付論文計 120 編）
学会 339 回（国際学会 40 回、国内 259 回、計 299 回、シンポジウム 40 回（国際 3 回、国内 37 回））

【論文】 計（197 編）件 うち査読付論文 計（120）件

1. Itoh M, Dai H, Horike S, Ganzalez J, Kitami Y, Meguro-Horike M, Kuki I, Shimakawa S, Yoshinaga H, Ota Y, Okazaki T, Maegaki Y, Nabatame S, Okazaki S, Kawawaki H, Ueno N, Goto Y, Kato Y. Biallelic KARS pathogenic variants cause an early-onset progressive leukodystrophy. *Brain* 2019;142;560-573. doi.org10.1093/brain/awz001
2. Saito Y, Kaga Y, Nakagawa E, Okubo M, Kohashi K, Omori M, Fukuda A, Inagaki M. Association of inattention with slow-spindle density in sleep EEG of children with attention deficit-hyperactivity disorder. *Brain Dev.* 2019;41(9):751-759. (小児医学新興財団優秀論文賞、イーライリリー賞受賞)
3. Visualization of AMPA receptors in living human brain with positron emission tomography. Miyazaki T, Nakajima W, Hatano M, Shibata Y, Kuroki Y, Arisawa T, Serizawa A, Sano A, Kogami S, Yamanoue T, Kimura K, Hirata Y, Takada Y, Ishiwata Y, Sonoda M, Tokunaga M, Seki C, Nagai Y, Minamimoto T, Kawamura K, Zhang MR, Ikegaya N, Iwasaki M, Kunii N, Kimura Y, Yamashita F, Taguri M, Tani H, Nagai N, Koizumi T, Nakajima S, Mimura M, Yuzaki M, Kato H, Higuchi M, Uchida H, Takahashi T. *Nat Med.* 2020 Feb;26(2):281-288. doi: 10.1038/s41591-019-0723-9. Epub 2020 Jan 20.
4. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kaido T, Kimura Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Takahashi A, Otsuki T. Cognitive and developmental outcomes after pediatric insular epilepsy surgery for focal cortical dysplasia. *J Neurosurg Pediatr.* 2020 Aug 7:1-9. doi: 10.3171/2020.5.PEDS2058. Online ahead of print.
5. Ueda R, Takeichi H, Kaga Y, Oguri M, Saito Y, Nakagawa E, Maegaki Y, Inagaki M. Atypical gamma functional connectivity pattern during light sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Dev.* 2020;42(2):129-139. (小児医学新興財団優秀論文賞)
6. Sone D, Sato N, Shigemoto Y, Kimura Y, Maikusa N, Ota M, Foong J, Koeppe M, Matsuda H. Disrupted White Matter Integrity and Structural Brain Networks in Temporal Lobe Epilepsy With and Without Interictal Psychosis. *Front Neurol.* 2020 Sep 24;11:556569. doi: 10.3389/fneur.2020.556569. eCollection 2020.
7. Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa SF, Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M. AUTS2 Regulation of Synapses for Proper Synaptic Inputs

- and Social Communication. *iScience*. 2020 Jun 26;23(6):101183. doi:10.1016/j.isci.2020.101183. Epub 2020 May 18.
8. Arimura N, Okada M, Taya S, Dewa KI, Tsuzuki A, Uetake H, Miyashita S, Hashizume K, Shimaoka K, Egusa S, Nishioka T, Yanagawa Y, Yamakawa K, Inoue YU, Inoue T, Kaibuchi K, Hoshino M. DSCAM regulates delamination of neurons in the developing midbrain. *Sci Adv*. 2020 Sep 2;6(36):eaba1693. doi: 10.1126/sciadv.aba1693. Print 2020 Sep.
  9. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: surgical and developmental outcomes. *J Neurosurg Pediatr*. 2021 Aug 13;28(4):395-403. doi: 10.3171/2021.4.PEDS21123.
  10. Yamamoto H, Nakagawa E, Kita Y, Kaga Y, Inagaki M. Effect of anti-attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) medication on clinical seizures and sleep EEG: A retrospective study of Japanese children with ADHD. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2021 Dec;41(4):511-521. doi: 10.1002/npr2.12215. Epub 2021 Oct 20. (日本てんかん学会優秀発表賞受賞)

【学会発表】 計 (299) 件

1. Morimoto E, Matsuda H, Kimura Y, Shigemoto Y, Suzuki F, Fujii H, Nakagawa E, Sasaki M, Iwasaki M, Saito Y, Sato N. Hypermetabolism in the Cerebellar Vermis and the Ipsilateral Red Nucleus Indicates Possible Hyperactivity of the Epileptogenic Focus in Pediatric Epilepsy. American Epilepsy Society 2019 Annual Meetings. Baltimore, USA December 6-10, 2019.
2. Nakagawa E. The Efficacy of Anti-epileptic Drugs for Sleep Disturbance and EEG Abnormality in Developmental Disorders. 24th Conference of Asian Federation on Intellectual Disabilities. Kathmandu, Nepal, December 2-6, 2019.
3. Iwasaki M, Iijima K, Takayama Y, Yokosako S, Kosugi K, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Kimura Y, Kaneko Y, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Seizure Outcome and Complications in Surgical Treatment of Infantile Epilepsy. American Epilepsy Society 2020 Annual Meeting. Dec 5, 2020 (Virtual, USA)
4. Watanabe S, Ming Lei, Nakagawa E, et al. ST3GAL5 mutation in two Chinese sisters with epilepsy, developmental delay, and involuntary movements. The 21st Annual Meeting of the ISS, the International Symposium on Pathophysiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy (ISDEE2020). Tokyo, Japan, June 19-21, 2020.

5. Nakagawa E, Yamamoto H. Effect of methylphenidate and atomoxetine on electroencephalogram sleep studies in children with attention deficit hyperactivity disorder. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
6. Nakagawa E, Fukumura S, T. Language dominance in Children with epilepsy using near-infrared spectroscopy. 34th International Epilepsy Congress, Virtual Congress, 28 August-1 September, 2021.
7. Ueda R, Iwasaki M, Kita Y, Takeichi H, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Okada T, Sasaki M. Improvement of brain function after surgery in infants with posterior quadrant cortical dysplasia. 75th American Epilepsy Society Annual Meeting (AES), Dec 3-7, 2021.
8. Watanabe S, Nakagawa E, Saito T, Iwasaki M. A clinical report on the pathogenesis of suppression-burst by analyzing EEG from hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy. The Lancet Summit: Presymptomatic Prevention and Treatment of Neurodegenerative Diseases., Dec 14-16, 2021.
9. Tabata K, Ishiyama A, Sugai K, Iwasaki M, Sumitomo N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M. A predictor for developmental and epileptic postsurgery prognosis in patients with hemimegalencephaly; A pre- and postsurgery study with N20 at non-HME side of median nerve short latency somatosensory evoked potentials. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
10. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kimura Y, Iijima K, Takayama Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M. Neuropsychological and neurological sequelae after pediatric insular epilepsy surgery. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.

【図 書】 計 (7) 件

1. 国立精神・神経医療研究センター病院てんかんセンター編集.「患者のギモンに答える！ てんかん診療のための相談サポート Q&A.」 診断と治療社. 2021.
2. 伊藤雅之. MECP2 Rett 症候群. 小児遺伝子疾患辞典. 小児科診療特集. vol.84 (11), 診断と治療社. 東京. 1484-1486pp, 2021.
3. 伊藤雅之. 病理解剖検査. 小児神経科診断・治療マニュアル (改訂第 4 版). 診断と治療社. 東京. 236-240pp, 2021.
4. 伊藤雅之. Rett 症候群. 遺伝子医学 37 巻. メディカルドゥ. 112-119pp, 東京. 2021 年 7 月.
5. 伊藤雅之. 乳児期より重度精神運動発達遅滞をきたし、特徴的な画像を呈した姉妹例.

小児神経疾患の遺伝学的アプローチ. 日本小児神経学会編集. 診断と治療社. 東京. 184-188pp., 2019.

6. 伊藤雅之. ジュベール症候群関連疾患. 生涯教育シリーズ 96. 水澤英洋, 五十嵐隆, 北川泰久, 高橋和久, 弓倉整 (監修・編集). 日本医師会雑誌 148 (特別号 1). 日本医師会. 東京. 131pp., 2019.
7. 谷口豪, 宮川希, 兼子直 (編集). ラコサミド (lacosamide: LCM): てんかんの薬物療法 効果的な治療薬選択のために, 新興医学出版社, 東京, pp 177-193, 2021

7. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計 (2) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番	出願年月日	国内・外国の別
新生児低酸素性虚血性脳症の重症度判定方法と予後予測方法	伊藤雅之 赤松智久	NCNP	特許権、 特願 PCT/JP2019/013927	2019. 3. 29	外国
ミクログリア含有中枢神経系内移動剤、及びこれを含む中枢神経系疾患治療薬、並びにミクログリア導入動物、及びその製造方法	小泉修一 パラジュリ ビージェイ 繁富英治 篠崎陽一 斎藤弘樹	小泉修一 パラジュリ ビージェイ 繁富英治 篠崎陽一 斎藤弘樹	特願2020-196642	2020. 11. 27	国内

【取 得】 計 (1) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番	取得年月日	国内・外国の別
脳循環障害検出マーカー、それを用いた脳循環障害検出方法、及び脳循環障害抑制剤	伊藤雅之 赤松智久	NCNP	特許権、 特許第6941888号	2021. 9. 9	国内
				出願年月日	
				2015. 2. 17	

片側巨脳症における半球離断術後の脳波の検討

国立精神・神経医療研究センター病院
外来部 中川 栄二

【研究協力者】

国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経診療部、脳神経外科*
渡辺 詩絵奈、斎藤 貴志、岩崎 真樹*

【要旨】

背景：片側巨脳症（HME）の患者は生後早期から難治性てんかんを発症し、しばしば発作間欠期の脳波で suppression-burst (SB) を示す。SB の発生機序は未解明である。我々は片側巨脳症患者の脳波所見を長期的に観察し、SB の発生機序を検討した。

方法：2009年10月から2019年3月に、国立精神・神経医療研究センター病院において2歳未満で半球離断術を施行した片側巨脳症18例（男児10例、女児8例）を対象とした。脳波記録からSBの有無を確認した。

結果：巨脳側では、術前に9例、術後に12例でSBが認められた。非巨脳側では、術前に5例でSBが認められたが、術後にSBが認められた症例はなかった。

結論：半球離断術により視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も、巨脳側でSBが出現していることは、SBが大脳皮質の異常のみによって発生し得ることを示している。

【緒言】片側巨脳症（HME）は、一側大脳半球の肥大と脳回形成異常を示す先天性疾患で、生後早期から難治性てんかんを発症し、不全片麻痺、精神運動発達遅滞を伴う。発症時の発作間欠期の脳波は suppression-burst パターンを示すことが多い。薬物療法が無効である場合が多く、早期に大脳半球離断術を行うことで、てんかん発作の消失や発達予後の改善が期待できる。Suppression-burst (SB) は、相対的静止期 (suppression) と群発した脳活動 (burst)

が数秒間隔で交互に出現する脳波パターンであり、大田原症候群や早期ミオクロニー脳症、深麻酔時、低酸素時、低体温時などに認められるが、その発生機序は解明されていない[1,2]。我々は、半球離断術後に視床・対側大脳半球との連絡を断たれた巨脳側においてSBパターンが持続している症例があることに注目し、SBの発生機序について検討した。

【対象・方法】2009年10月から2019年3月に、国立精神・神経医療研究センター病院において2歳未満で半球離断術を施行した片側巨脳症18例（男児10例、女児8例）を対象とした。脳波記録から、巨脳側におけるSBパターンの有無と持続期間を確認した。さらに、SBパターンが認められた症例では、suppression時間とburst時間を計測した。

【結果】対象症例のてんかん発症年齢の中央値は日齢7（日齢0-2か月）、手術時年齢の中央値は3か月（2-17か月）だった。術前は規則的なSBパターンのみだったが、術後はsuppressionが1-2秒と短く、burstが20秒以上持続する不規則なパターンも認められた。術前術後ともに規則的なSBが認められた7例は「suppression時間10秒未満、burst時間20秒未満」であったことから、「burst時間20秒以上」の症例を「SB-(s+)」と定義し、3例を「SB-(s+)」と判定した。巨脳側では結果的に、「SB+」が術前9例・術後12例、「SB-(s+)」が術前0例・術後3例、「SB-」が術前9例・術後3例だった。術前にSBがあり、術後にSBが消失した症例はなかった。非巨脳側では、術前に9例でSBが認められたが、術後にSBが認められた症例はなかった。巨脳側におけるSBの持続期間は、最長術後6年11か月だった。

【考察】SBの発生機序の有力な仮説には、「視床皮質ネットワーク仮説」「皮質過敏性仮説」

「代謝仮説」の3つがある[3-6]。本研究では、半球離断術により対側大脳・大脳基底核・視床・脳幹とのネットワークが消失しても巨脳側でSBが生じており、「視床皮質ネットワーク仮説」で本研究の結果は説明できず、「皮質過敏性仮説」「代謝仮説」によって説明可能と考えた。

【結論】半球離断術により視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も巨脳側でSBが出現しており、SBは大脳皮質の異常のみによって発生し得ると言える。

【参考文献】

- [1] Ohtahara S, et al. The early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst: developmental aspects. *Brain Dev.* 1987;9(4):371-376.
- [2] Shanker A, et al. Etiology of Burst Suppression EEG Patterns. *Front Psychol.* 2021 Jun 10;12:673529.
- [3] Japaridze N, et al. Neuronal Networks during Burst Suppression as Revealed by Source Analysis. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123807.
- [4] Zhang Z, et al. Isoflurane-Induced Burst Suppression Increases Intrinsic Functional Connectivity of the Monkey Brain. *Front Neurosci.* 2019;13:296.
- [5] Kroeger D, et al. Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. *J Neurosci.* 2007 Sep 26;27(39):10597-607.
- [6] Ching S, et al. A neurophysiological-metabolic model for burst suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(8):3095-3100.

てんかん臨床情報データベースおよび脳神経外科データベースの構築

国立精神・神経医療研究センター病院

脳神経外科

岩崎 真樹

【要旨】

てんかんの臨床研究、共同研究および治験を促進するために患者データベースの改善を行った。先行事業において2011年1月から2017年5月の期間に、てんかんセンターにおける外来初診患者5769件、入院患者4924件のデータベースが構築されていた。2017年6月からは医療情報室とバイオリソース部研究補助員による協力体制が築かれており、本研究課題ではその登録を継続した。

データベースソフトウェアによる管理に移行し、ICD10病名コードを付与することで、病名による患者抽出と集計を可能にした。2017年てんかん国際分類に準拠した専用テンプレートを診療情報システム上に用意して診断情報を収集し、入院症例の臨床的特徴を明らかにした。2021年9月までに外来4680件、入院4993件のデータベースが構築されている。脳神経外科手術データベースは、1999年以降計2181件のデータベースとなっている。2017年てんかん国際分類に準拠した診断情報を含む豊富な臨床情報を備えており、データベースソフトウェアでの管理と各種クエリの整備によって、臨床研究に活用しやすい体制を整えた。2017年6月から、NCNP バイオバンクへてんかん患者を登録する体制を築いている。外科治療を受ける難治てんかん患者を対象に登録を開始し、2021年9月時点で計395名から同意を取得し、脳試料297検体が登録された。脳試料は、てんかん原性腫瘍の分子遺伝学的解析の研究課題に利活用されている。今後も継続的に、効率的なデータ構築の仕組みを検討し、バイオバンクの利活用を促進する。手術患者データベースや長時間脳波台帳、小児てんかんデータベースなど、既存データベースとの連携を持たせることでデータの二次利用を可能にする。

【はじめに】

臨床研究、共同研究および治験を促進するためには、その基盤となるデータベース構築が必要である。過去の研究班から継続して、脳神経外科データベースおよびてんかんセンターデータベースの整備が課題となっている。

外科治療の対象となる難治てんかんは術前精査による豊富な臨床情報を有しており、脳神経外科におけるてんかんの臨床情報データベースは極めて重要である。外科的に切除される脳検体は研究用試料として貴重であり、これを効率的に利活用する体制が求められる。

てんかんの共同研究や治験を促進するためには、基本的な診断情報について継続して十分な大きさのデータベースを構築する仕組みが求められる。患者基本情報の取得は容易だが、医師の判断を要する診断項目について、一定の質を担保しつつ悉皆性をもって情報を蓄積するのは困難であった。診断分類等には汎用性の高い用語を用い、必要度の高い項目を選択してデータとする必要がある。

上記の課題を克服することを目的に、本研究を行った。

【方法】

1. 脳神経外科データベース

エクセルフォーマット上に構築されていたデータベースを、Microsoft Access®に移行した。患者基本情報に加えて術前診断の各項目(MRI、脳波など)、術後の発作転帰、病理所見、手術分類を加えた。てんかん診断については、国際抗てんかん連盟(ILAE)の2017年新てんかん分類に基づいた項目を整備している。¹⁾手術検体の利活用を促進するために、同意取得できた外科治療患者をNCNP バイオバンクに登録する仕組みを2017年6月に構築した。標本は、ホルマリン固定と凍結保存が解剖学的に対応するように切り出され、将来的に病理学的所見と分子遺伝学的所見が対応するようにした。

2. てんかんセンターデータベース

バイオリソース部の支援を得て、診療支援システムから外来新患と入院新患の基本情報をデータベース化するワークフローを構築した。2019年10月からICD10病名コードを付与し、病名をもとにてんかん患者を抽出して整理で

きるようにした。病名コードによる患者抽出の正確性を検証するため、2021年3月から外来帳簿との突合作業を行っている。診療支援システム上にテンプレートを作成し、入院患者を対象に2017年新てんかん分類に基づく診断情報をデータベース化した。

【結果】

1. 脳神経外科データベース

1999年以降2021年10月末までに臨床診断と術式を含む2181件のデータベースとなっている。2017年4月以降は新てんかん分類に基づいた診断項目が追加されている。Microsoft Access®に移行し、各種のクエリを用意することで、期間や手術分類などに基づく抽出や集計を容易にした。当センター内の共同研究者に情報提供することで、外科症例を対象にした臨床研究を支援した。

2019年4月1日から2021年12月31日までの期間に192件のてんかん関連手術が実施され、その内根治目的の手術が86件(44.8%)、緩和手術(脳梁離断、迷走神経刺激装置植込)が55件(28.6%)、検査目的手術(頭蓋内電極留置)が29件(15.1%)であった。根治術に対する検査手術の割合は33.7%であった。治療目的の手術を受けた患者(n=141)の手術時平均年齢は13.4歳で、15歳以下の小児が107件(75.9%)と、小児手術を主体とする当院の特徴が見られた。

NCNP バイオバンクには、2021年9月30日現在で脳試料として297検体、血漿として340検体、血清として186検体が登録された。電話説明と郵送による同意取得も併用し、過去に外科治療を受けた患者の登録も進めた。脳試料検体は、てんかん原性腫瘍や皮質形成障害の分子遺伝学的解析(「分子遺伝学的・病理学的・画像的解析による低悪性度てんかん原性腫瘍および関連する皮質形成障害の診断に関する研究」[A2018-050])、てんかん焦点診断に適な麻酔深度を探る脳波研究(「慢性頭蓋内電極留置中の難治性てんかん患者を対象として、全身麻酔中の脳波変化の統計学的解析によりてんかん焦点領域を同定する探索的臨床研究」)に利活用された。

2. てんかんセンターデータベース

医療情報室およびバイオリソース部研究補助員との協力体制を築き、2017年てんかん国際分類に準拠したデータベースへの登録体制を2017年6月から開始した。これに先行して2011年1月から2017年5月の期間に外来台帳5769件、入院台帳4924件が登録されている。今回、2017年6月から2021年9月までに、外来台帳として4680件、入院台帳として4993件の登録がされた。外来台帳については、性別、年齢、診療科、病名、居住地、紹介施設、入院台帳については、性別、年齢、診療科、病名、入院目的に基づく集計を行った。外来帳簿との突合作業の結果、月に3~5件の頻度で抽出漏れあるいは過抽出があることが分かったが、多くは保険病名の扱いなどに起因するもので、抽出される患者総数に大きな誤差はないと考えている。

外来患者の66.4%、入院患者の83.7%を小児神経科が占めた。外来病名は、てんかんが60.5%、難治性てんかんが27.7%、てんかん疑いが16.9%を占めた。入院目的は検査が54.6%、経過観察が26.2%と、非治療目的の入院が80.8%を占めた。

入院患者を対象にしたテンプレート入力による診断情報からは以下の結果が得られた(n=611)。てんかん分類は、焦点性てんかんが67.8%、全般性てんかんが22.1%を占めた。また、診断の11.9%は非てんかんであった。てんかんの病因は、構造的原因の58.9%に次いで、原因不明が28.3%を占めた。臨床症候群として多かったのは、皮質形成障害(25.9%)、原因不明(15.5%)、海馬硬化症を伴う内側側頭葉てんかん(6.4%)、Lennox-Gastaut 症候群(5.4%)、腫瘍(5.1%)であった。

【考察】

先行する事業から継続して、てんかんおよび脳神経外科のデータベース構築を進めた。てんかんの診断情報は、2017年国際抗てんかん連盟(ILAE)国際分類に準拠した。近年は国際分類に準拠した研究発表や論文が強く求められており、重要な対応である。てんかん外科のうち緩和外科が28.6%と比較的多く、難治性全般てんかんが多い小児を対象とするNCNPの特徴と考えられた。根治術に占める頭蓋内電極留

置の割合は 33.7%と、国際的な報告と一致しており、適応基準に大きな問題がない実態が明らかになった。てんかんの病因としては皮質形成障害が最も多く、これも小児例を主体とする当センターの特徴を反映していた。また、病因を不明とするてんかんが入院例の 28%を占めることが分かった。これも、成人てんかんの約 3 割は病因が不明であるとする過去の報告と矛盾しない実態である。²

バイオバンクとの連携により、外科検体を用いた研究の発展が期待される。バイオバンクを活用することにより、外部への研究の機会を広げられる。過去検体についても同意取得と登録を進めることにより、研究への利用価値が更に高まると思われる。

てんかんセンター台帳からは、小児神経科が診療ボリュームの大半を占める当センターの特徴が明らかになった。厚生労働省のてんかん地域診療連携体制整備事業に参画する自治体が増えるとともに、日本てんかん学会による包括的てんかん専門医療施設の施設認定が 2021 年 4 月に開始された。欧米と異なり、わが国では神経内科を中心とするてんかん診療体制が発展しておらず、施設ごとに小児科や脳神経外科など得意とする専門性が異なる。各施設の診療機能の特徴を明確にし、不足する診療機能を補完するような連携の構築が重要になると思われる。診療データベースは、診療機能を明確にする上で重要な役割を果たす。

バイオリソース部の支援による新しいワークフローを構築したが、質の高い診断情報をどのように効率よく取得するかが、依然として課題である。てんかんに関連する保険病名は実臨床にそぐわない面が多い。また、てんかんの診断には時間を要し、初診時には診断がつかない例も多い。本研究においては、入院症例を対象にして、診療支援システム上の診断テンプレートから診断情報を収集した。今後は、脳神経外科データベースとてんかんセンターデータベース、他診療科データベースとの連携を図ることによって、更に利用価値が高められると考えられる。

【結論】

バイオバンク・バイオリソース部との連携によ

り、研究試料の二次利用を容易にした。医師の負担を最小限に抑えたデータベース構築については、更に方法を検討する必要がある。また、データベースの二次利用を容易にする体制の構築も求められている。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

データベース構築は継続されるべきであり、今後もバイオリソース部との連携を維持する。データベース間の連携、診断情報入力効率化に向けた工夫を継続して行う。これらは、質の高い研究開発の計画と実施に貢献すると思われる。

【参考文献】

1. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al: ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58:512–521, 2017
2. Abramovici S, Bagic A. Epidemiology of epilepsy. *Handb Clin Neurol*. 2016;138:159-71.

レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査

国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部
齋藤 貴志

【要旨】

民間のレセプトデータを使用して、てんかん患者数の推定を行なった。健康保険組合のレセプトであるために、小児患者のみを対象とした。保険請求のための病名を除外し、真のてんかん患者数に近づけるためのフローチャートを作成して推計を行った結果、2018年にてんかんとして医療機関を受診している18歳未満の患者数は5.7/1,000と推定された。多くの患者では抗てんかん薬は1剤のみで治療されていた。5歳以降では5-10%の患者で、中枢神経治療薬などの合併症に対する治療が行われていた。脳神経外科的治療の頻度は1%以下であった。レセプトデータの利用により、本邦での小児てんかん患者の患者数及び林菱実態を明らかにすることが可能であった。

【目的】

てんかんは、最も患者数の多い神経疾患の一つである。諸外国でのデータをもとに、日本でも全年齢層の有病率は少なくとも0.5~0.8%程度、60万~100万人ほどと推測される(1)(2)が、大規模な疫学調査はこれまでに行われていない。小児を対象とした有病率の調査は1999年に岡山県で行われた13歳未満を対象とした調査がある。その結果では、単発または発熱時の発作を除くと5.3/1000となる(3)。日本全国を対象とした、あるいは成人を含む全年齢層を対象とした本格的な疫学調査は未だ行われていない。患者数とその医療需要を明らかにすることは、てんかんに対する対策を行なっていくためにも重要である。

近年、様々な疾患の疫学的調査にレセプトデータが使用されることが増えてきており、神経疾

患でも応用されているが(4)(5)、てんかんに関する本邦での調査はない。本研究では、てんかんの疫学的調査の手段として、保険診療にて作成されるレセプトデータを使用することが実現可能かどうか検討し、その後実際にレセプトデータを利用した解析を行う予定とした。

【方法】

レセプトデータは、診療行為に対する保険請求のためのデータであり、研究目的のデータではない。このため、単純に「てんかん」に関連する傷病名を使用した患者をカウントすると、保険請求のために付与された「保険傷病名」の患者もカウントされるため、過大に計算される。てんかん患者数の集計にできるだけ保険傷病名の患者が含まれることを可能な範囲で減らす必要がある。このため、診療行為、処方された薬剤などを組み合わせることで真のてんかん患者に近づけることが必要である。

レセプトデータとしては、母集団が最も多く、研究目的でよく用いられるJMDC社より2005年11月から2019年までの期間で、てんかん病名(ICD-10コードG40*)を付与されたレセプトデータを購入した。同社のレセプトデータは健保組合のデータであるため、社会経済的地位が高い集団である。また、65歳以上のデータはほとんどなく、75歳以上は基本的にない。一方、日本では、小児のてんかん患者の発症率や診療(受療率、治療方法など)は、被保険者の社会的経済的地位に大きな影響を受けにくいと考えられる。このため、まず小児期の患者の診療実態の調査を計画した。

先に述べたように、てんかんの病名は、保険請求を目的として付与されており、必ずしもてんかん患者に限って与えられているわけではない。このため、てんかんの病名を付与された小児期の患者のうち、真のてんかん患者数に最も近似した患者数を抽出するフローチャート作成した。

次に、てんかんと考えられる患者の診療実態を

明らかにするために、抗てんかん薬の内服数、多く内服されている薬剤、発達障害の治療、外科治療について明らかにした。

【結果】

てんかん患者数を推定するためのフローチャートは、以下のような点に留意し作成した。てんかん (ICD10 コード G40*) を含む傷病名を付与された患者の、病名、診療行為、処方から以下のような手続きを行い、てんかん患者数を集計することが可能であると考えられた。

診療行為：「てんかん指導料」と「在宅迷走神経電気刺激治療指導管理料」はてんかん患者以外では請求ことはないと考えられ、どちらかが請求されていれば、てんかんと考えられる。なお、特定疾患、指定難病の病名のつくてんかん患者(ウエスト症候群などの難治てんかんあるいは、他の難病等の合併がある場合、てんかんであっても、難病指導料が請求され、てんかん指導料が請求されていないことがあるため、この項目の有無のみではてんかかかどうかを判定できない。

処方：一時的な抗てんかん薬の処方は、てんかんではない可能性が高く、4週間未満の抗てんかん薬処方はてんかん患者の集計から除外する。なお、小児では、双極性障害、神経痛、頭痛など、てんかん以外の疾患に、保険適応外使用される機会は少ないと考えられるため、この点は考慮しないこととした。

これらの点に留意し、フローチャートを作成し検討を行なった。2018年にてんかん (G40*) の病名を付与された18歳未満の小児患者は19,827名、母集団は165,9736名であった。てんかん患者数を推定すると、患者数9,487名、受療率5.7/1,000と計算され、過去の報告と同等であり、妥当な推定と考えられた。

処方された薬剤について検討した。抗てんかん薬では、バルプロ酸が最も多くの患者に処方され、次いでレベチラセタム、カルバマゼピンが多かった。12歳以上では、女性患者に対し、

バルプロ酸処方頻度がやや減少し、ラモトリギン処方頻度が増える傾向があった。

2018年の初回受診月で処方薬剤数の見津等を行った。1剤が70%以上で、3剤以上投与されているのは20%以下であった。

薬剤の組み合わせでは、バルプロ酸、カルバマゼピン、レベチラセタムの単剤使用が多く、多剤併用でもこれらの薬剤を中心とした組み合わせが多かった。

抗精神病薬やADHD治療薬の併用は年齢の上昇とともに増える傾向があった。

外科的治療に関しては、迷走神経刺激装置埋込術を含む手術は33件(脳刺激装置植込術と焦点切除術が行われた5例、脳梁離断術が2度行われた1例あり、患者数自体は27例)であった。全ててんかん患者数対して、外科治療を受けた割合は0.28%であった。

【考察】

抗てんかん薬を処方されていない患者、2018年に医療機関に受診をしていない患者などは把握できないため、実際のてんかん患者数よりは過小に評価されている可能性があるが、概ね過去の報告と同様であった。薬剤コントロールされる患者は70-80%とされるが、多くの患者が1-2剤の抗てんかん薬を処方されている処方実態は、それを反映していると思われる。一方、外科治療が行われた患者は少なく、難治てんかんの患者の中治療の選択肢としての外科治療がまだまだ浸透していない可能性が考えられた。思春期男女に対するバルプロ酸、ラモトリギンの処方の差は、妊娠に向けた薬剤変更が浸透してきていることが反映されていると考えられた。5-10%程度のてんかん患者では薬剤治療が必要な行動上の問題が併存していると考えられた。

文献

1. Bell GS et al. An unknown quantity-The

- worldwide prevalence of epilepsy.
Epilepsia. 2014 Jul;55(7):958–62.
2. Fiest KM et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies.
Neurology. 2017 Jan;88(3):296–303.
  3. Oka E et al. Prevalence of Childhood Epilepsy and Distribution of Epileptic Syndromes: A Population-based Survey in Okayama, Japan. *Epilepsia*. 2006 Mar;47(3):626–30.
  4. Toyokawa S, et al. Estimation of the number of children with cerebral palsy using nationwide health insurance claims data in Japan. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 2017 Mar;59(3):317–21.
  5. Ogino M, et al. Prevalence, treatments and medical cost of multiple sclerosis in Japan based on analysis of a health insurance claims database. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2017 Nov;8(4):318–26.

てんかん患者における脳波記録のデータベース化に向けた基盤構築

国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部
石山 昭彦

【要旨】

脳波記録をデータベース化する目的で、その基盤構築を行った。脳波データベースのハードウェアとしては、日本光電社製の脳波データベースシステムを採用し導入した。脳波データの登録の形式や脳波データ登録に付随する臨床情報の内容について選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を行えるよう European data format (EDF)形式にて登録することし、付随する臨床情報としては臨床情報シートを作成し、各項目について Comma Separated Value (CSV)出力が可能な登録シートのシステムを構築した。センター内の脳波記録データベース化の体制を整え、将来的に全国の多施設からのデータベース化を視野に入れた体制を整え脳波データの登録を開始した。登録体制の拡充をはかり更なる発展を目指したい。

【緒言】

てんかん診療において脳波は中核的な役割を果たす重要な検査である。しかし判読には熟練を要し、かつ軽微な異常所見は見落とされる可能性も高い。てんかん医療水準の均てん化には、そのような問題を解決すべく自動解析などの補助的な判読ツール作成が求められる。本研究では脳波判読ツール作成を目指し、基礎データとなるべく脳波記録をデータベース化するための基盤構築を行うことを目的とした。まず当センター内の脳波記録のデータベース化を行い、将来的には全国の多施設からのデータベース化を視野に入れ、データベース構築が可能なシステム作りを行うことを目指すものである。それにより、臨床研究の発展が期待され、てんかんの病態解明と診断、治療方法の開発の推進

につながるものと考えられる。

【方法】

(1) 脳波記録のデータベース化を行うが、それにあたり脳波データ登録の形式を検討し、かつ脳波記録に付随する臨床情報を選定し、臨床情報シートを作成した。脳波記録の登録のためのサーバの構築を行い、登録を行っていく。

(2) また脳波記録データの研究として、環状20番染色体症候群(r(20))の脳波について発作時の脳波所見の特徴についての検討もあわせて行った。難治てんかんのうち、non-convulsive seizures (NCS)を示し発作中に前頭葉優位の律動的な高振幅徐波を認め、r(20)を疑った症例で、r(20)の確定診断となった5例(r(20)群)、およびr(20)を疑ったが染色体異常を認めなかった5例(non-r(20)群)の2群に分け、長時間ビデオ脳波での間欠期脳波の解析、およびNCS発作時脳波の解析を行い①徐波成分の周波数変化、②棘波成分の振幅高について、各々の群間の脳波所見の相違について後方視的に検討した。

【結果】

(1) 脳波データベースのハードウェアとしては、日本光電社製の脳波データベースシステムを採用し導入した。脳波データ登録の形式や、脳波データの登録に付随する臨床情報の内容について検討および選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を行えるよう European data format (EDF)形式にて登録することし、付随する臨床情報としては臨床情報シートを作成し、各項目について Comma Separated Value (CSV)出力が可能な登録シートのシステムを構築した。登録項目については脳波データ登録用の Research ID、年齢、性別、検査日、診断名を採用した。それらを構築後、まず脳波データベース構築の第一段階として当施設での脳波データの登録を開始した。

(2) 環状 20 番染色体症候群の脳波について発作時の脳波所見の特徴についての検討では、環状 20 番染色体症候群 5 例のうち周波数変動は全例で認め、その変動幅は 2.5~7 Hz の δ ~ θ 帯域であった。徐波成分の振幅高が棘波成分と比して高い徐波振幅成分優位型は 5 例中の 4 例であった。一方、非環状 20 番染色体症候群の 5 例のうち周波数変動を認めたのは 2 例であり、徐波振幅成分優位型の例は認めなかった。周波数変動を示し、振幅高の比較で棘波よりも徐波の振幅が高振幅を示す脳波所見を示すことが環状 20 番染色体症候群を疑う際の有用な所見であると考えられた。

【結語】

データベース構築の体制が整い、脳波データの登録を開始した。最終的には他施設から登録体制も整え更なる発展を目指したいところである。脳波データの登録が発展していくことで、今回の解析例に挙げたような環状 20 番染色体症候群のような、てんかんの中でも希少な疾患についても母集団を大きくし、よりエビデンスレベルの高い脳波解析、検討がなされていくことが期待される。

【社会的貢献】

てんかんの脳波解析に関連する臨床的研究を行い、てんかんの国内学会、および国際学会での発表や論文投稿を行ってきた。てんかんや脳波の研究を行うことは、日本におけるてんかん医療に関する政策に貢献でき、それらを発表していくことで最新知見等について広く啓発活動を行えるものとする。

【倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）】

個人情報保護法、生命倫理・安全対策に関するガイドライン等に準拠し、倫理基準を遵守して研究を行った。

【参考文献】

1. 小野博也、石山昭彦、須貝研司、竹下絵里、本橋裕子、斎藤貴志、中川栄二、佐々木征行、環状 20 番染色体症候群の非けいれん性てんかん発作時脳波の検討、てんかん研究 38 巻、2020、19~27

てんかんの成立機序の解明と診断・治療法開発のための基礎・臨床の融合的研究

国立精神・神経医療研究センター病院放射線科
佐藤 典子

【要旨】

我々は限局性皮質異形成 (FCD) の MRI 所見である transmantle sign (TMS) の信号評価を行った。術前 MR を検討したところ、約 6% に T1WI 高信号を示す TMS を認め、そのすべてが type IIb であった。病理と比較するとその高信号は Balloon cell の密度を反映していた。この所見は FCD type IIb の鑑別に有用であり、MR のみで subtype を推測することが可能であると思われる。さらに結節性硬化症においても TMS は T1 高信号にみられ、日常診療で頻繁に使用される脂肪抑制法 CHESSE を付加することで、より明瞭に描出することが推測された。結節性硬化症における脳内病変を T2WI や FLAIR、T1、T1-MTC、T1WI-CHESSE と比較したところ、白質病変の TMS の検出能は、T1WI-CHESSE が最も優れていた。さらに通常のシークエンスでは solitary cortical tuber と考えられていた症例が、T1WI-CHESSE により複数の白質病変の TMS が指摘され、結節性硬化症と診断できた症例があった。T1WI-CHESSE はてんかんの日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と考えられた。またグラフ理論にて 3DT1 を用いたネットワーク解析では、海馬硬化症を伴う側頭葉てんかん患者 (TLE) のネットワークは全脳レベルでは保たれていたが、局所レベルでは健常者と比べて両側 TLE 群で Clustering coefficient の低下、左 TLE 群で Shortest path length の低下を認め、それぞれ、機能分離の低下と、局所的な効率の上昇を意味した。海馬硬化症を伴う TLE において脳内のネットワークは局所的にランダム化している可能性が示唆される。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海馬硬化症を伴う TLE の病態解明に貢献するものと思われる

る。

【目的】

FCD の MRI 所見として知られる TMS は、皮質から脳室に向かう帯状の異常信号で、FCD type IIb でよく認められ、特徴的な所見とされている。TMS は時に、T1WI で高信号を示す症例がある。またこの T1 高信号は、結節性硬化症においては、より頻繁に認める所見である。我々は画像所見と病理学的所見を評価し、FCD の TMS における T1WI 高信号の成因を検索する。また結節性硬化症の中脳神経病変の検出における T1WI-CHESSE の有用性も検討する。またグラフ理論を用いたネットワーク解析は、脳内ネットワーク異常を検出する手法であり、てんかん分野でも広く検討されている。近年登場した灰白質の類似度に着目した手法は、ルーチンで取得可能な 3D-T1 強調画像を用いて脳内ネットワークを個人レベルで評価可能である。我々は海馬硬化症を伴う側頭葉てんかん (TLE) 患者にこの手法をはじめて適用することで、特徴的なネットワークパターンを抽出し、その潜在的な有用性を確立することを目的とする。

【方法】過去に NCNP にて手術を行い FCD と病理診断され、かつ術前に MRI 検査を行っている 141 症例の症例から、さらに MRI にて TMS を伴う FCD 患者を検索したところ、25 人の手術例を認めた。この 25 人を後方視的に、臨床、TMS の画像と病理を評価した。FCD type 分類と TMS の T1WI の信号によりグループ分けをした。画像評価は 2 名の神経放射線科による視覚評価である。臨床評価としては、発症年齢と術後発作予後について、グループ間で比較した。発作予後の評価は観察期間を 12 か月以上とし、ILAE outcome score: 1,2 を good、3~6 を poor とした。また 2 名の神経病理医により、TMS 部の病理学的評価を行った。TMS 部位の顕微鏡観察 200 倍視野で評価した。評

価項目は balloon cell の数、dysmorphic neuron の数、gliosis の程度、石灰化の程度で、それをグループ間で比較した。

結節性硬化症における CHESS 法の有用性の検討であるが、2018 年 7 月-2021 年 6 月の間に、T1WI, T1WI-MTC, T1WI-CHESS, T2WI, FLAIR を含んだ MRI を撮像された TSC 患者 25 例を評価対象とした。2 名の神経放射線科医で皮質結節、白質病変、上衣下結節の数をシークエンス毎にカウントした。皮質結節、白質病変では周囲正常皮質・白質とのコントラスト比を算出した。病変検出能、コントラスト比の比較を①T1WI、T1WI-MTC、T1WI-CHESS 間、②T2WI、FLAIR、T1WI-CHESS 間で行った。③中枢神経病変数と発作頻度・知的障害との相関性を解析した。④手術症例では画像と病理像との比較を行った。

海馬硬化症における側頭葉てんかんにおけるネットワーク検索であるが、2014 年 2 月～2017 年 10 月に TLE で MRI を撮像し、片側海馬硬化症が確認された 51 例（右 TLE 29 例、左 TLE 22 例）、健常者 51 例を対象とした。SPM12 を用いて 3D-T1 強調画像から灰白質画像を抽出し、2mm 大の等大ボクセル化後、灰白質の類似性を用いたネットワーク解析を用いて、全脳のネットワーク指標である small-world network δ 、局所のネットワーク指標である Clustering coefficient、Shortest path length、Betweenness centrality を算出した。3 群間（右 TLE、左 TLE、健常者）でこれらの指標の違いを比較検討した。さらに、これらのネットワーク指標と罹病期間および発作頻度との相関を検討した。

【結果】

TMS を有する 25 人の FCD の内、type II a は 3 人で、いずれも T1 で TMS の高信号は示さなかった。残りの 22 人は全て type II b であった。さらにその 22 人のうちで TMC が T1 での高信号を示した type II b の症例は 9 人でであ

った。高信号を示さなかった type II b は 13 人であった。T1 高信号で type II b を A 群、T1 非高信号で type II b を B 群、T1 非高信号で type II a を C 群とした。年齢はそれぞれ 6.6 ± 5.9 歳、 21.7 ± 14.1 歳、 13.3 ± 8.6 歳と A 群で低く、B 群で高かった。病理では A 群は B 群に比べて、優位に Balloon cell が多かった ($p=0.007$)。しかし dysmorphic neuron の数、gliosis の程度、石灰化の程度は 3 群では優位な差は認めなかった。発症年齢、術後発作予後に有意差はなかった。

結節性硬化症において T1WI、T1WI-MTC、T1WI-CHESS 間での皮質結節の検出能・コントラスト比は、T1WI-CHESS と T1-MTC で有意差はなく、いずれも T1WI よりも有意に高かった。白質病変の検出能・コントラスト比は T1WI-CHESS が T1-MTC よりも有意に高く、いずれも T1WI よりも有意に高かった。T2WI、FLAIR、T1WI-CHESS 間での皮質結節の検出能・コントラスト比は、T2WI と FLAIR で有意差はなく、いずれも T1WI-CHESS よりも有意に高かった。白質病変の検出能・コントラスト比は T1WI-CHESS が T2WI、FLAIR よりも高く、T2WI と FLAIR の間では有意差は認めなかった。中枢神経病変数と発作頻度、知的障害との間に有意な相関性は認めなかった。手術症例の画像と病理像との対比では、T1WI-CHESS で高信号を示した部位に balloon cell を認め、同部には石灰化は認められなかった。

全脳のネットワーク指標 δ は正常、右海馬硬化症による TLE、左海馬硬化症による TLE の 3 群間で有意差は認めなかった ($p>.05$)。局所レベルでは、右 TLE、左 TLE とともに健常者と比べて Clustering coefficient の低下を認めた ($p<.001$, uncorrected)。これらの低下は、同側側頭葉だけでなく、前頭葉や対側側頭葉にも分布し、左 TLE の方が右 TLE より広範な低下を認めた。Shortest path length は左 TLE で両側脳梁・帯状回周囲の低下を認めたが

($p < .001$, uncorrected)、右 TLE では低下は認めなかった。Betweenness centrality は、右 TLE、左 TLE ともに有意な変化は認めなかった。全脳、局所のネットワーク指標と臨床情報（罹病期間、発作頻度）との間に有意な相関は認めなかった。TLE のネットワークは全脳レベルでは保たれていたが、局所レベルでは健常者と比べて両側 TLE 群で Clustering coefficient の低下、左 TLE 群で Shortest path length の低下を認めた。Clustering coefficient の低下は機能分離の低下をあらわし、TLE では同側側頭葉だけでなく、前頭葉や対側側頭葉などの局所的な機能分離の低下が示唆される。このような広範な Clustering の低下は、過去の functional MRI や DTI を用いた解析結果と一致し、構造 MRI を用いた解析でも脳機能を反映した結果が得られると期待される。左 TLE で認めた脳梁・帯状回周囲の Shortest path length の低下は、同部の局所的な効率の上昇をあらわす。効率が上昇することで、分離していたクラスター同士がつながって機能分離が低下し、右 TLE と比べて広範な Clustering coefficient の低下に至った可能性が示唆される。海馬硬化症を伴う TLE において脳内のネットワークは局所的にランダム化している可能性が示唆される。

【結語】

FCD の MR と病理との比較により、MR での T1 信号は Balloon cell の密度を反映している可能性があり、この所見は FCD type II b の鑑別に有用で、つまり FCD のサブタイプ鑑別に有用である。結節性硬化症の白質病変の検出能は T1WI-CHESS が最も高かった。従来のルーチンである T2WI や FLAIR に T1WI-CHESS を加えることにより、TSC の中枢神経病変をより正確に検出することが可能になると考えられた。T1WI-CHESS はてんかんの日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と考えられた。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海

馬硬化症を伴う TLE の病態解明に貢献する可能性がある。

【今後の研究計画と期待される研究】

FCD や皮質結節の Balloon cell のどの成分が T1 高信号の原因となるかは未だ明らかではなく、今後さらに探求を行うことによって、balloon cell の由来の糸口を掴み、FCD の発生や分類に貢献したい。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海馬硬化症を伴う TLE 以外のてんかん疾患にも広く応用可能で、FDG-PET や脳血流、脳波との関係性も絡めて、病態研究を進めていきたい。

成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析

国立精神・神経医療研究センター病院

脳神経内科

金澤 恭子

【要旨】

本研究では、成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について、潜因性てんかん症候群の患者等において自己免疫の関与、wide-band EEGの2つの点について解析した。主に内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究、自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究、Wide-band EEGの手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究を行った。

【目的】

本研究では、成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について、以下の2つの点について解析する。

- 潜因性てんかん症候群の患者等において自己免疫の関与が示唆されているが⁽¹⁾、活動性の炎症所見に乏しい症例も多く、診断が困難である。自己免疫の関与が明らかにできれば、免疫治療によりてんかん発作を抑制できる可能性がある。我々はこれまでに、自己免疫性脳炎の臨床像等について検討・報告を行ってきた⁽²⁾。
- デジタル脳波計の進歩により、従来のいわゆる Berger 帯域より広域の周波数帯域の脳波が臨床的に記録可能となり、これを wide-band electroencephalography(EEG) と呼ぶ⁽³⁾。通常脳波で記録される周波数活動に加え、wide-band EEG では 200 Hz 以上の高周波数帯域の活動、1 Hz 以下の低周波数帯域の活動の記録が可能となり、高周波数律動(HFOs: high frequency oscillations)、直流(DC: direct current)電位と呼ばれる脳波活動が新たな情報として得られるようになった。両指標はともにてんかん原性の中核領域を示唆することが予想され、てんかん焦点のバイオマーカー

ーとして注目されるとともに、てんかん診療への応用が期待される。我々はこれまでに、発作時 DC 電位と HFOs がてんかん原性領域の同定に役立つことを報告した⁽⁴⁾。DC 電位と HFOs との関連、臨床的有用性を評価し、てんかん原性の病態を検討できれば、新たな治療法や薬剤の創造に貢献できる可能性がある。

【方法】

主に以下の3つの研究を行った。

1. 内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究
2. 自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究
3. Wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究

【結果】

1. 内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究:てんかんや記憶力障害などを発症し、頭部 MRI にて片側もしくは両側内側側頭葉の画像異常を認める症例が存在し、自己免疫性炎症性機序が関与している可能性がある。髄液検査や FDG-PET、ECD-SPECT 等で活動性の炎症を示唆する所見を呈さないこともしばしばあるが、免疫治療が効果を示す場合があり、診断が困難である⁽⁵⁾。内側側頭葉の画像異常は、特に片側性的場合はてんかん重積後の変化や腫瘍などでも見られるため判断が難しい^(6,7)。内側側頭葉の画像異常を認める症例の臨床経過や治療反応性を検討することにより、同異常を認めた場合の検査・治療方針の選択について有用な知見を得られる可能性がある。本研究では、てんかんや記憶力障害を発症し、頭部 MRI にて片側もしくは両側内側側頭葉の画像異常を認め自己免疫性脳炎が疑われる症例の臨床経過、髄液検査や画像検査等の所見の変化、治療反応性等を後方視的に検討し、同異常を認めた場合の検査・治療方針の選択について有用な知見が得られた。

2. 自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究:自己免疫性脳炎の中でも辺縁系脳炎は早期診断・加療が必要となるが、抗神経抗体の測定が本邦では時間がかかること、また抗体陰性症例では診断に至らないことなどが問題で、不十分な治療による認知症・難治性てんかんの原因となっている現状がある。これまで難治性てんかんを呈する自己免疫性辺縁系脳炎の臨床症状・画像所見などを用いた臨床的な診断基準を作成する取り組みが行われてきたが 1、volumetry を加えた 3TMRI や FDG-PET、長時間ビデオ脳波、SPECT などの画像・生理的検査を加えた評価や、血液・髄液のリンパ球解析などを含めた病態評価、発症の危険因子となる遺伝子解析はなされておらず、抗神経抗体毎に自己免疫性辺縁系脳炎のバイオマーカーの解明が必要である。

本研究は、急性期の病態を反映した血液・髄液・唾液検体、画像・神経生理学的検査などを用いて、自己免疫性辺縁系脳炎の新規バイオマーカー発見を目的としており、倫理申請を完了し、症例登録を開始した。

3. wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究:薬剤抵抗性部分てんかんのてんかん焦点摘出術等の目的で頭蓋内電極を慢性に留置した患者を対象とし、wide-band EEG の手法を用い DC 電位、HFOs を含め解析を行い、その性状と時間的・空間的相関、臨床的有用性とヒトのてんかん原性の病態を検討する。
- 発作時 DC 電位は一般的に時定数を 0.1 から 10 秒にするとより明瞭となる、陰性あるいは陽性の 3 秒以上持続する電位で、出現部位、波形、持続時間、振幅に再現性があるものとされる。HFOs は短時間フーリエ変換でバンド状のパワー上昇として同定される高周波数活動である。
- 国外では時定数 10 秒で記録できる脳波計は少なく 2 秒で記録されることが一般的

であるため、時定数 2 秒で記録されたデータでの DC 電位の有用性について多施設共同研究を開始した。

【考察】

その他、難治部分てんかん患者の焦点検索における、発作時 DC 電位・HFO の記録および解析の標準化案について報告した^(8,9)。発作時 DC 電位、HFOs は定義、記録・解析方法などがコンセンサスの形成の途上であり、評価の方法も様々であるため、比較検討することが難しいことがある。頭蓋内電極記録を施行されたてんかん患者の発作時脳波を多施設合同で解析し、その際生じた問題点を議論し、記録・解析の標準化へ向けて共通の試案を作成した。

また、自己免疫性脳炎の遺伝的な素因についての研究、前方視的に症例を登録し臨床経過を検討する研究について、他施設と共同で進めている。

【結語】

てんかんの有病率は 0.4-0.9%、米国や先進国では 1.2%といわれている。認知症や脳梗塞にも合併するため、社会の高齢化に伴い今後成人のてんかん患者は増加すると考えられる。70%の患者では抗てんかん薬で発作がコントロールされるが、就業、結婚等を含め社会的な不利益を被ることも少なくない。またてんかんの患者以外にも抗生物質、抗菌薬などの薬剤の副作用としててんかん発作は生じうる。成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について解析することは患者の QOL の向上に資すると考えられる。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

1. 自己免疫性脳炎については、遺伝的素因を検討する共同研究を継続して進める。前方視的に症例を登録し臨床経過を検討する多施設共同研究については、主機関との契約について調整を進める。
2. wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究:術前評価のため頭蓋内に電極を留置した難治性部分てんかんの症例において、発作時

DC 電位と HFOs の性状と時間的・空間的
相関、臨床的有用性とヒトのてんかん原性
の病態を検討する。また、抗てんかん薬や
けいれん重積が DC 電位及び HFOs に与
える影響等についても検討する。

【行政政策への貢献度】

てんかんが今後 10 年間で解決を図るべき重
要な疾患であることが 2015 年に WHO で決議
された。てんかんが治療可能な疾患であるこ
とが諸国で理解されつつあり、日本でも一般社会
の理解が少しずつ改善してきた。成人・高齢者
てんかんの臨床病態と治療について検討を進
めることは日本におけるてんかん医療に関す
る政策に貢献すると考えられる。

【参考文献】

- 1.Toledano M, et al.: Autoimmune Epilepsy.
Semin Neurol 35:245-258, 2015
- 2.Kanazawa K, et al.: Persistent frequent
subclinical seizures and memory impairment
after clinical remission in smoldering limbic
encephalitis. Epileptic Disord 16:312-317,
2014
- 3.Worrell GA, et al.: High-frequency
oscillations in human temporal lobe:
simultaneous microwire and clinical
macroelectrode recordings. Brain 131:928-937,
2008
- 4.Kanazawa K, et al.: Intracranially recorded
ictal direct current shifts may precede high
frequency oscillations in human epilepsy. Clin
Neurophysiol 126:47-59, 2015
- 5.Dubey D, et al.: Evaluation of positive and
negative predictors of seizure outcomes among
patients with immune-mediated epilepsy: a
meta-analysis. Ther Adv Neurol Disord
9:369-377, 2016
- 6.Malter MP, et al.: Suspected new-onset
autoimmune temporal lobe epilepsy with
amygdala enlargement. Epilepsia
57:1485-1494, 2016
- 7.Reyes A, et al.: Amygdala enlargement:

Temporal lobe epilepsy subtype or nonspecific
finding? Epilepsy Res 132:34-40, 2017

8.中谷 光, et al.: 難治部分てんかん患者の焦
点検索における、発作時 DC 電位・HFO の
記録および解析の標準化案. てんかん研究
35:3-13, 2017

9.中谷 光, et al.: 難治性部分てんかん患者の
焦点検索における、発作時 DC 電位・発作時
HFO の記録および解析の手引きに向けて（多
施設合同による解析手法）. てんかん研究
37:38-50, 2019

てんかん臨床情報データベースの整備

国立精神・神経医療研究センター病院 臨床
研究・教育研修部門 情報管理・解析部 医療
情報室
波多野 賢二

【要旨】

インハウスてんかん臨床情報データベースと、電子カルテの患者基本情報・受診情報・診断情報等を連携するシステムを開発し、診療情報を用いた患者抽出の効率化・精緻化が実現した。さらにデータベースのRDBサーバ移行等の改善を行い、データベースの環境整備を行った。さらに、てんかん臨床情報データベースの外部データベース連携を視野に、当センター病院の診療データとセンター外で構築されている疾患レジストリ・症例データベースとの連携の環境整備を進めた。6NCの共同研究事業であるJASPEHRプロジェクトでは、当センター病院として初めて診療データのオンライン外部連携を実施し、その成果と課題について検討を行った。

【はじめに】

センター病院に電子カルテが導入され約10年が経過し、蓄積される診療情報の量的・質的な価値は日々大きなものになっている。近年進歩がめざましいAIの診療への活用の試みも多く行われるようになり、診療情報の活用のニーズが益々大きくなっている。てんかんセンターでは、診療科横断的な患者台帳の整備が進んでおり、電子カルテの診療情報を活用した効率的な疾患データ収集・管理が望まれている。また、Real World Dataとしての電子カルテの診療情報やレジストリデータの活用が注目され、多施設の診療情報収集プロジェクトが立ち上がっている。

【目的】

てんかんの診療・疾患研究に有効に活用しう

る、インハウスてんかん患者データベースの整備および、データの効率的な収集・有効な活用のための課題について検討する。病院電子カルテシステムの診療データを、リアルワールドデータとして外部の疾患レジストリ・症例データベースと連携し、二次活用を可能にするシステムの開発整備と課題検討を行う。

【方法】

インハウスてんかん患者データベースの整備について、データベースの基礎情報となる受診患者情報を電子カルテデータベースから抽出するシステムを開発し、抽出データの精度向上のための条件検討を行う。さらに、てんかん患者データベースの環境改善を目的にデータベースのオンラインサーバ化を行う。診療情報の外部データベースとの連携に関して、電子カルテシステムからの臨床データ取り出しの標準形式である、SS-MIX2標準ストレージを整備し、6ナショナルセンターの電子カルテ統合データベースプロジェクト(JASPEHR)等の外部データベース・レジストリとデータ連携を行う環境を構築する。

【結果】

・インハウスてんかん臨床情報データベースの整備
電子カルテから抽出する外来・入院患者の名簿に、病名のコード・属性情報を追加した。これにより、てんかん患者の判別が容易になり、データベース登録患者の選択作業の効率化とデータベース情報の精緻化が図られた。現在も、外来受診患者の抽出条件の見直し等、改善を継続的に実施している。データベース環境は、デスクトップアプリケーションから、診療系ネットワークに配置するリレーショナルデータベースサーバ(MS SQL Server2019)に移行した。これにより、データ管理機能の向上、セキュリティの強化が実現された。
・Real World Dataとしての診療情報活用の環

環境構築

JASPEHR プロジェクトにおいて、2015 年度以降の当センター病院の全受診患者（約 45,000 人）の診療データをオンラインでデータセンターに送信し、継続的にデータ更新を実施している。この案件は、当センター病院の診療情報の初のオンライン外部連携事例となる。データ送信と並行して、データ内容の点検を行い、不足しているコード情報の整備などの改善を実施している。他に、精神疾患レジストリに電子カルテの精神科退院サマリのデータの送信を開始するなど、診療情報と外部レジストリの連携を徐々に進めている。

【考察】

てんかんは、多様な病因と病態・症候を持ち、他の神経疾患・発達障害等との合併も多く、データベースとして管理すべき情報は他疾患に比べ多く、内容も複雑である。本研究およびてんかんグループのメンバーの協力により、当センターにおける疾患情報データベースの構築と臨床情報との連携について、基本的な環境整備ができたと考えるが、今後てんかんの複雑多岐な疾患情報を管理できるシステムの構築を進める必要がある。また、今後の課題として、インテリジェントな手法によるフリーテキストからの情報自動抽出・部門サブシステムに蓄積されている画像・波形・レポートデータへの対応を進めることで、疾患データベースの質・量の充実が図れると考えている。

JASPEHR プロジェクトや、精神疾患レジストリ等の外部レジストリ研究との連携の実践を踏まえて、リアルワールドデータとしての電子カルテデータ活用の環境構築をさらに進める必要があると考えている。てんかん臨床情報データベースについては、現状はインハウスでの構築を行っているが、将来的に外部レジストリとの連携や多施設データベースへの展開が課題となることが考えられる。これまでの本研究の成果により、データベースの外部連携に向

けた技術的・データ管理的な環境作りができたと考えている。

難治性てんかんの分子病理学的病態解明

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所疾病研究第二部
伊藤 雅之

【研究協力者】

北見欣一、大島拓也、代紅梅

【要旨】

本研究では、多岐にわたる難治性てんかん疾患の分子病理学的研究を行い、原因遺伝子と病態の解明を行った。①新生児期より難治性てんかん、難聴、重度発達遅滞で発症し、石灰化を伴う大脳白質変性症の臨床像を明らかにし、原因遺伝子としてLysRSをコードするKARS遺伝子を同定した。変異KARS遺伝子産物は、対照群に比して有意に活性低下があった。これらの成果をKARS-related leukodystrophyとして報告した。②海馬硬化の病巣部のグリア細胞のイオンチャンネルと受容体の発現解析を行ない、瘢痕脳回のグリア細胞と比較検討した。その結果、病因、病巣の違いによるグリア細胞の発現に明らかな相違はないことがわかった。難治性てんかんのグリア細胞では共通の病態があるものと考えられた。また、結節性硬化症のloss-of-heterogeneityについて、病巣部の特異的細胞のsingle cellの遺伝子解析を行なった。これらの成果により、難治性てんかんの多角的に分子病理学的及び遺伝学的解析により病因・病態を明らかにした。

【目的】

難治性てんかんは多剤併用でもてんかん発作のコントロールが困難な疾患であり、その原因には様々な基礎疾患がある。近年の遺伝子解析技術の進展により、多くの疾患の原因遺伝子が解明されているが、これまで解明されていない疾患も少なくない。本研究では、難治性てんかん疾患の原因遺伝子と発症病態の解明を遺伝子解析や分子病理学的手法によって解明する。

具体的には、次の疾患について多角的な病態解明をおこなう。

①新生児期より難治性てんかん、難聴、重度発達遅滞で発症し、石灰化を伴う大脳白質変性症 (KARS-related leukodystrophy) の原因遺伝子を明らかにし、その発症病態を解明する。②海馬硬化症 (HS) や結節性硬化症 (TSC) の病理検体を用いた発症病態の解明を行う。海馬硬化症の病理像は神経細胞の脱落とグリオーシスであるが、脳波異常を伴う難治性てんかんを呈する。病巣部のグリア細胞のてんかん原性について分子病理学的に解析する。また、結節性硬化症の発症には、loss-of-heterogeneity (LOH) が想定されている。microdissectionにより、皮質結節の特徴的なdysmorphic neuronとballoon cellのsingle cell DNA sequencing技術によりLOHの機序を解明する。

【対象と方法】

難治性てんかんと診断され治療目的で外科的に摘出された病理検体及び剖検による病理検体を用いて、次の実験を行った。

①難治性てんかんを伴う特異な大脳白質変性症の原因遺伝子と病態解明: 症状の類似性が高い7例の患者DNAを用いて、HiSeq2000によるエクソームシーケンス解析を行った。異常遺伝子の共通性とin silico解析から原因遺伝子を探出し、リジンtRNA合成酵素 (LysRS) をコードするKARS遺伝子異常を同定した。さらに、患者にみられた変異KARS遺伝子を発現ベクターに組み込み異常タンパクを合成し、ATP消費測定による活性測定を行なった。アフリカツメガエル胚へのantisense morpholino oligomerへのinjectionおよび発現ベクターによるrescue実験などを行った。

②HSのグリア細胞のてんかん原性の分子病理学的解明では、HSと臨床病理診断された20例のパラフィン切片を用いて、グリア細胞のイオンチャンネル及び受容体 (P2RY1とP2RY2、P2RY4、Kir4.1、Kv4.2、mGluR1、mGluR5)

の免疫組織化学とウエスタンブロットによる発現解析を行った。対照4例の結果と比較検討した。また、TSCの遺伝学的解析では、研究同意を得た3例のTSC患者の手術検体を固定後、4-6 μ m厚切片を作成し、ヘマトキシリン染色を行い病変部のdysmorphic neuron、balloon cell、その他の細胞について、microdissection (Leica; LMD6500) により取り出した。収集した各細胞群からゲノムDNAを抽出し、TSC2遺伝子のPCR増幅を行い、次世代シーケンサー (Life Technologies社, Ion Torrent) とサンガーシーケンス解析を行った。得られたデータをCLC workbenchにより分析した。

倫理面の配慮: 生体試料を用いた遺伝子解析については、すでに当センターの倫理問題検討委員会の承認を得ている。また、遺伝子解析にあたって患者あるいは代諾者への説明と同意のもとに行った。本研究の生物学的研究は当該施設に設置されている組換えDNA実験安全委員会および小型実験動物倫理審査委員会の承認のもとで行なった。また、動物の倫理を尊重し、最小限の負担で遂行した。

【結果】

①小児期に発症する難治性てんかん疾患の新規原因遺伝子と発症病態の解明: 全例でKARS遺伝子異常をホモ接合体あるいは複合ヘテロ接合体で発見した。いずれの遺伝子変異も、SIFTやMutationTasterなどで高い病因性を予測した。また、変異KARS遺伝子産物は、対照群に比して有意に活性低下があった。Xenopus胚の解析結果から臨床表現型を再現することができた。臨床および特徴的な画像の類似性から新規疾患と考えられ、KARS-related leukodystrophyと命名し臨床像と病因遺伝子異常を明らかにした。aminoacyl tRNA合成酵素の遺伝子異常は、神経系疾患で報告されているが、我々の報告した疾患は表現型と遺伝子の新規性があり、KARS遺伝子異常による新しい疾患概念を提唱した (Brain 2019;142;560-573)。

②難治性てんかん病巣のグリア細胞のてんかん原性: 難治性てんかんの診断下に病変部を外科的切除標本を免疫組織染色により、グリア細胞特有のチャンネルや受容体について免疫組織化学的解析による発現解析を行った。その結果、海馬硬化および癲癇脳回のグリア細胞の抗原提示性は非てんかん性疾患による反応性グリア細胞のそれと同様のパターンがあることが分かった。グリア細胞のてんかん原性への共通した病態が示唆された (Pediatr Dev Pathol 2019;22(6):532-539)。

また、結節性硬化症の遺伝学的解析では、皮質結節のdysmorphic neuron、balloon cell、normal-looking neuronに分けてmicrodissectionを行い、各20細胞からDNAを抽出してPCRで増幅し、塩基配列解析を行った。これらの試料について、TSC2遺伝子のPCRを行い、増幅産物をサンガーシーケンスにより配列を確認した。

【考察】

難治性てんかんの患者検体を用いて、分子病理学的及び遺伝学的解析を行い、多角的に病因・病態を調べた。

①新しく小児期に発症する難治性てんかん疾患の臨床像と病因遺伝子異常を明らかにした。aminoacyl tRNA合成酵素の遺伝子異常は、広く神経系疾患で報告されているが、今回見つかった表現型はこれまでにない。KARS遺伝子異常の報告は1例報告が多く、そのスペクトラムが広いことから疾患概念が確立できなかったが、今回の研究からLysRS活性の残存が表現型に影響を及ぼしている可能性が示唆され、新しい疾患概念を提唱することができた。

今後、本研究で明らかにしたKARS-related leukodystrophyの疾患のモデル動物を作成し、その発症病態の解明と新規治療法開発を行う。

②既報告の癲癇脳回病巣のグリア細胞のイオンチャンネルと受容体の免疫組織化学とウエスタンブロットによる発現解析の結果 (J

Neuropathol Exp Neurol 2014;73(8):798-806)と比較検討を行なった。病因、病巣の違いによるグリア細胞の発現に明らかな相違はないことがわかった。難治性てんかんのグリア細胞では共通の病態があるものと考えられた。

また、TSCはてんかんや知的障害、腎障害、不整脈など多彩な症状を呈し、乳幼児期より多彩な障害をきたす疾患である。遺伝形式は常染色体優性遺伝で、原因遺伝子TSC1あるいはTSC2異常がheterozygousに存在する。変異を持つalleleの対立alleleに変異が体細胞レベルで入ることにより病態が形成づけられる。すなわち、細胞レベルでTSC1あるいはTSC2の機能喪失によりmTOR活性亢進状態となり、様々な細胞活動に影響すると考えられている。TSCの病態を細胞レベルで解析し、TSCの発症機序とLOHの関連性を分子遺伝学的に解明し、分子機構を明らかにすることが重要である。現在までの解析では、病的細胞の遺伝子配列の確認を終えている。LOHの関与について検討中であり、今後培養細胞への遺伝子導入などにより、生物学的意義を解明する。

【参考文献】

1. Itoh M, Dai H, Horike S, Ganzalez J, Kitami Y, Meguro-Horike M, Kuki I, Shimakawa S, Yoshinaga H, Ota Y, Okazaki T, Maegaki Y, Nabatame S, Okazaki S, Kawawaki H, Ueno N, Goto Y, Kato Y. Biallelic KARS pathogenic variants cause an early-onset progressive leukodystrophy. *Brain* 2019;142;560-573. doi.org10.1093/brain/awz001
2. Aoki Y, Hanai S, Sukigara S, Otsuki T, Saito T, Nakagawa E, Kaido T, Kaneko Y, Takahashi A, Ikegaya N, Iwasaki M, Sugai K, Sasaki M, Goto Y, Oka A, Itoh M. Altered Expression of Astrocyte-Related Receptors and Channels Correlates With Epileptogenesis in Hippocampal Sclerosis. *Pediatr Dev Pathol* 2019;22(6):532-539. doi: 10.1177/1093526619855488.

3. Sukigara S, Dai H, Nabatame S, Otsuki T, Hanai S, Honda R, Saito T, Nakagawa E, Kaido T, Sato N, Kaneko Y, Takahashi A, Sugai K, Saito Y, Sasaki M, Goto Y, Koizumi S, Itoh M. Expression of astrocyte-related receptors in cortical dysplasia with intractable epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014;73(8):798-806. doi: 10.1097/NEN.000000000000099.

【行政施策への貢献度】

難治性てんかんは治療の困難さに加えて、社会生活や家庭生活への影響が大きい。その病因・病態解明は有効な治療法の開発には必須である。今回の研究では、KARS-related leukodystrophyの臨床像と原因遺伝子、細胞生物学的意義について世界で初めて報告した。これまで未知とされていた疾患の概念を確立した。また、てんかん病巣部のグリア細胞は、その疾患により特徴的な遺伝子発現パターンがあることがわかった。

これらの結果は、病態に合った治療法の開発について提言することが可能となることが期待される。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

今後の研究は、①KARS-related leukodystrophyのモデル動物を作成し、その発症病態を明らかにすることにより、新規治療法開発の基盤を作る。②グリア細胞のてんかん原性をin vivoで再現し、治療法の開発を行う。また、LOHの分子遺伝学的な病的意義を培養細胞を用いて解明する。

これらの成果により、多彩な病因・病態を有する難治性てんかんの治療法開発の基盤となることが期待される。

てんかんモデル動物を用いた病態解明と治療法の開発

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 病態生化学研究部
星野 幹雄

【研究協力者】

田谷 真一郎、堀 啓、川内大輔

【要旨】

我が国にも多数のてんかん患者がいるが、その中には、未だに病態がわかっておらず、それ故に診断法、治療法が確立されていないてんかんも少なく無い。そこで、てんかんの原因遺伝子の一つである *AUTS2* の遺伝子改変動物、およびてんかんモデル動物の一つであるイハラてんかんラット (IER) の解析を通して、てんかんの発症と病態進展に関わる病理を明らかにすることを旨とした研究をおこなった。終脳特異的な *Auts2* ノックアウトマウスの解析から、*AUTS2* タンパク質が興奮性シナプスの数を制限する機能を持つこと、その異常により興奮性/抑制性のバランスが崩れててんかんの原因となりうることを示唆された。また、*Auts2* の小脳特異的 KO マウスの解析から、*AUTS2* が小脳発生に関与し、その異常により社会性行動異常が引き起こされることも明らかになった。さらに、IER の原因遺伝子として *Dscaml1* を同定し、またヒトてんかんにおいて *DSCAML1* 遺伝子に変異を持つ症例を同定した。その変異によって作られる異常 *DSCAML1* タンパク質はタンパク質フォールディングに異常を来し、細胞表面へと露出できないために正常な機能を失うことが示唆された。以上から、この二つの遺伝子のヒトてんかんの病態との関連の一端が明らかにされた。

【諸言】

我が国にも多数のてんかん患者がいるが、その中には、未だに病態がわかっておらず、それ故に診断法、治療法が確立されていないてんかんも少なく無い。しかし、もしもそのようなてんかんの良いモデル動物を開発することができれば、病態の理解や診断法・治療法を検

討することができる。我々は過去に、イハラてんかんラット (IER), *Auts2* ノックアウト (KO) マウス、などの複数種類のてんかん動物モデルを作製し、その解析などを行ってきた。本研究では、これらの動物モデルをさらに解析・利用することにより、ヒトてんかんの発症・病態進展機構を理解し、さらに診断法・治療法の開発に道を拓くことを目指した。ヒトてんかんリサーチリソースからのヒト相同疾患を同定も本研究の目的とした。

【方法】

(i) *AUTS2-flox* 系統を用いて終脳特異的 (*Emx1-Cre*) および小脳特異的 (*En1-Cre*) ノックアウト (KO) マウスを作成し、その表現型を解析する。

(ii) IER の原因遺伝子 (*Dscaml1*) を同定し、そのノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析する。

(iii) ヒトてんかんにおける *DSCAML1* 遺伝子の変異を同定し、それと相同なノックインマウス (*A2105T* 型変異 *Dscaml1* マウス) を作成、解析し、その表現型を解析する。

【結果】

(i) *AUTS2/Auts2* 遺伝子について

我々は、終脳特異的ノックアウト (KO) マウスの解析及び *in vitro* 培養細胞実験から、*AUTS2* タンパク質が興奮性シナプスの新規形成を抑え、刈り込みを促進することで、結果的に興奮性シナプスの数が増えすぎないように調整していることを見出した (Hori et al, 2020)。一方で、抑制性シナプスに対してはこのような働きが認められなかった。*AUTS2* の機能が失われると、興奮性シナプスの数は増えるが抑制性シナプスは変わらないため、興奮性/抑制性のバランスが破綻してしまい、脳が常に興奮した状態になることがわかり、これがてんかんの原因となっていることが示唆された。また、小脳特異的 KO マウスの解析から、*AUTS2* がプルキンエ細胞の成熟とプルキンエ細胞に投射する興奮性シナプスの形成に関わることを見出した。この KO マウスは運動学習に障害を示し、さらには、仲間のマウスとうまくコミュニケーションが取れないなど、自閉症によく似た症状

も示すことも分かったため、小脳機能異常による ASD などのモデルマウスとなることが期待された (Yamashiro et al,2020)。さらに、終脳特異的 KO マウスの解析から、大脳皮質浅層神経細胞の産生に参与することが示唆された(投稿準備中)。

(ii) IER (イハラてんかんラット) について我々は、IER の原因遺伝子として *Dscaml1* を同定し、また「てんかん症例リサーチリソース」から、いくつかのゲノム変異を同定した。C 末端側のアラニンがスレオニンに変異した症例では、その変異 DSCAML1 蛋白質のフォールディング異常により細胞表面に出ることができず、DSCAML1 蛋白質が機能しない。相同なゲノム変異を持つノックインマウスを作成したところ、IER と同様な表現型が見られたので、ヒトのこのアミノ酸変異が疾患の原因となっている可能性が示唆された (Hayase et al, 2020)。さらに、薬理的シャペロンによるレスキュー実験から新たな治療法開発に努めている。また、いくつかのヒト精神疾患 (統合失調症、ASD 等) で見つけられた DSCAML1 遺伝子の変異型について、培養細胞を使ってその機能を検証した (Ogata et al., 2021)。さらに、ファミリー分子 DSCAM が脳発生において神経細胞の終足の脳室面からの離脱にかかわることを明らかにした (Arimura et al., 2020)

【考察】

AUTS2 については、大脳皮質の浅層神経細胞の産生に関わる分子メカニズムを明らかにすると共に、てんかん、精神疾患の病態との関連についてさらに調べる必要がある。また、DSCAML1 のタンパク質フォールディング異常型については、分子シャペロンを用いた治療法の開発を試みる必要がある。将来的には、タンパク質の立体構造異常による疾患に広く適用できる治療法となる可能性が期待される。

【行政政策への貢献度】

AUTS2 ノックアウトマウスおよびイハラてんかんラットと *Dscaml1* ノックアウトマウスを動物モデルとして用いて、新たな診断法および治療法を開発することができれば、てんかんや精神疾患患者に対して大きく貢献で

きると考えられる。

【今後の研究計画】

てんかんの手術脳検体を用いた、多層オミックス (ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、リン酸化プロテオーム) を行い、ビッグデータ解析することにより、てんかんの病態をさらに明らかにしていく予定である。

てんかんのある患者の抑うつ・不安に関する研究

国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部てんかん診療科・精神科
谷口 豪

【要旨】

てんかんに合併する精神障害としては抑うつと不安が多い。抑うつと不安のスクリーニング検査で抽出したてんかん患者の臨床的特徴、選択された治療法、精神症状の改善度などを後方視的に検討した。

スクリーニング検査で抽出され精神科診断で抑うつ、不安はそれぞれてんかん外来初診患者 168 人において 55 人 (33%)、53 人

(32%) に認めた。これらの患者を精神科診断に基づき分類したところ、うつ病 31 人が最も多く、次いで知的障害・発達障害 27 人、精神病 12 人、不安障害 4 人だった。

31 人のうつ病患者で、27 人は抑うつスクリーニング検査で陽性だったが、4 人は不安のスクリーニング検査でのみ陽性だった。うつ病患者で生物学的要因が大きい群は心理社会的要因が大きい群に比べては受診時の年齢が高い、症候性局在関連てんかんが多い、発作抑制が少ない PNES 合併が少なかった。両群ともに、治療には抗てんかん薬の調整や外来精神療法が施行されて軽度改善することが多かった。

【はじめに】

てんかん患者はてんかん発作のみならず様々な心理社会的な困難を抱えており、一般人口に比べて高率に精神障害が合併する。てんかん患者に合併する精神障害としては抑うつが最も多く、次いで不安が多いことが知られている 1)。抑うつや不安の合併はてんかん発作以上に患者の QOL に影響を与えることがあるだけでなく、抑うつや不安が合併することによって発作のコントロールが不良になる、

自殺のリスクが高くなるなどの影響もあり、てんかん患者における抑うつや不安を適切な診断・治療することが求められている 2)。そのため、てんかん診療医が抑うつや不安を評価するスクリーニング検査が欧米を中心に汎用されている。しかし、てんかんに合併する抑うつや不安の背景は多様であり、実際にスクリーニングで抽出した患者に対してどのような治療や介入が必要・有効なのかは不明なままである。

【方法】2020 年 4 月から 2021 年 10 月までに当院てんかんセンター精神科外来を受診した 239 人の患者から、心因性非てんかん性発作などの非てんかん発作 (PNES) のみの患者やスクリーニング検査未回答 (知的障害、認知症) の患者を除いた、てんかん患者 168 人を対象患者とした。

それぞれの患者の病歴、検査所見、てんかん診断、精神科診断、NDDI-E (Neurological Disorders Depression Inventory for Epilepsy: 抑うつスクリーニング検査)、GAD-7

(Generalized Anxiety Disorder-7: 不安スクリーニング検査)、CGI-S (Clinical Global Impression-Severity: 臨床全般重症度)、向精神薬の使用の有無、環境調整の有無、精神療法の有無、CGI-I (Clinical Global Impression-Improvement: 臨床全般改善度)などを後方視的に解析した。

本研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会より実施の承認を受けている。

【結果】

1. 対象群の患者背景

168 人 (男性 69 人、女性 99 人) の平均年齢は 35 歳 (12-78 歳) であった。

紹介元の診療科は精神科 (86 人: 51%)、脳神経外科 (47 人: 28%)、小児科 (19 人: 11%)、脳神経内科 (12 人: 7%)、その他 (4 人: 2%) であった。

てんかん診断は症候性局在関連てんかんが最も多かった(109人:65%;側頭葉てんかん86人、前頭葉てんかん47人、後頭葉てんかん12人、局在不明38人)。特発性全般てんかん(17人:10%)、症候性全般てんかん(6人:4%)、その他(2人:1%)となり、症候群分類不明(34人:20%)も含まれた。37人の患者にPNESが合併していた(22%)。

2. スクリーニング検査陽性および精神科診察で抑うつ・不安を認めた患者

対象患者のうちNDDI-Eでカットオフ(16点)以上だった62人中で精神科診察の結果、抑うつ症状ありと診断されたのは55人(33%)であった。GAD-7でカットオフ(10点)以上だった60人中で精神科診察の結果、不安症状ありと診断されたのは53人(32%)であった。

カットオフ以上の抑うつ状態を認めたが不安症状はカットオフ以下だった患者(Dep-only)は21人、カットオフ以上の不安症状を認めたが抑うつはカットオフ以下だった患者(Anx-only)は19人、カットオフ以上の抑うつと不安症状を認めた患者(Dep & Anx)は34人であり、対象患者の44%にあたる合計74人の患者が抑うつあるいは不安の症状を認めていた。

3. 精神科診断

抑うつあるいは不安症状を認めた74人の患者を、精神科診断に基づき分類した。

その結果、うつ病31人が最も多く(42%)、次いで知的障害・発達障害27人(36%)、精神病12人(16%)、不安障害4人(5%)だった。

各精神科疾患の抑うつ症状・不安症状の内訳は以下の通りであった。

うつ病31人は、Dep-only 12人(38%)、Anx-only 4人(13%)、Dep & Anx 15人(48%)。知的障害・発達障害27人は、Dep-only 5人

(19%)、Anx-only 10人(37%)、Dep & Anx 12人(44%)。

精神病12人は、Dep-only 4人(33%)、Anx-only 3人(25%)、Dep & Anx 5人(42%)。不安障害4人は、Dep-only 0人(0%)、Anx-only 2人(50%)、Dep & Anx 2人(50%)。

4. うつ病患者31人の解析

うつ病患者31人を対象としてその病因分析を行った。

てんかん発作関連因子(Ictal factor)、抗てんかん薬関連因子(AED factor)、脳器質的因子(Biological factor)、心理社会的因子(Psychosocial factor)の4つの病因の中から最も患者のうつ病発症に影響を与えたと考えられるものを最大2つまで選択し評価し、うつ病の重症度に関してはClinical Global Impression-Severity scale (CGI-S)で評価した。

その結果、Psychosocial factorのみ13人、Psychosocial + Biological factors 5人、Biological factorのみ5人、Psychosocial + AED factors 4人、Biological + AED factors 3人、Biological + Ictal factors 1人という6つのパターンを示した。

このうち、Psychosocial factorのみ13人とPsychosocial + AED factors 4人をPsychosocial Depression群(P-D群)、それ以外の14人をBiological Depression群(B-D群)とした。そして、両者の臨床的特徴について統計的手法を用いて比較した(P値0.05未満は統計的有意差あり。P値0.05以上0.1未満を傾向があるとした)。

受診時平均年齢はB-D群39.3(SD:13.3)歳、P-D群30.2歳(SD:10.6)と統計的有意差を認め(P=0.042)、Biological群の受診時年齢は高かった。症候性局在関連てんかんの割合はB-D群が86%、P-D群は53%であり、B-D群においては症候性局在関連てんかんが多い傾向がみられた(P=0.068)。発作抑制の

割合は B-D 群 7%、P-D 群 35%と、B-D 群は発作抑制が少ない傾向がみられた (P=0.094)。PNES の合併は、B-D 群 14%、P-D 群 47%と、B-D 群は PNES の合併が少ない傾向がみられた (P=0.068)。

5. 治療継続したうつ病患者の解析

上記 31 人のうつ病のあるてんかん患者のうち、3 か月以上当院で治療継続した患者 21 人 (B-D 群 11 人、P-D 群 10 人) について解析した。

主たる治療法としては、抗てんかん薬の調整、向精神薬の開始、外来精神療法、環境調整、認知行動療法 (本格的な精神療法) の中から最大 2 つまで選択して評価し、うつ病の改善度は Clinical Global Impression-Improvement scale (CGI-I) で評価した。抗てんかん薬の調整は B-D 群 45%、P-D 群 40%、向精神薬の開始は B-D 群 64%、P-D 群 30%、外来精神療法は B-D 群 55%、P-D 群 60%、環境調整は B-D 群 9%、P-D 群 30%、認知行動療法は B-D 群 0%、P-D 群 20% といずれも統計的有意差を認めなかった。

CGI-I は B-D 群平均 2.8 (SD 1.1)、P-D 群は平均 3.3 (SD 0.9) で、統計的有意差を認めなかった。

【考察】

1. てんかん患者における抑うつ症状

てんかんの抑うつに関する研究ではしばしば、抑うつ症状 (状態像) とうつ病 (精神科診断) が混同されていることが多い。てんかん患者における抑うつ症状 (うつ病) は 11~44% と報告によって幅広いが、これは調査対象や評価方法の違い、そして抑うつとうつ病を混同していることを反映していると考えられる 1)2)。近年本邦から発表された研究では 18.3~18.6% と報告されている 3)4)。今回の研究では抑うつ症状は全体の 33% に認め、実際にうつ病の診断に至ったのは全体の

18.4% という結果であったが、うつ病の割合は本邦からの報告と一致する。また、今回の調査では抑うつ症状はうつ病以外にも精神病、知的障害・発達障害の二次性障害などにも認めるのが明らかとなっており、スクリーニング検査で陽性となった患者をそのまま、うつ病として治療するのではなく、精神科診断をする必要がある可能性が示唆された。

てんかんのうつ病の背景は多様であり、今回の我々の結果でも生物学的要因が大きい群と心理社会的要因が大きい群に 2 分することができた。両群にはいくつかの臨床的背景の差があったが、選択された治療法や治療による改善度には差がなかった。これは必ずしも選択された治療法が適していないのが理由の一つとして考えられる。特に心理社会的要因の場合は本来ならば環境調整や心理療法を優先すべきであるが、実際にはそれを施行できるリソースが不足しているため向精神薬の追加や外来精神療法をする頻度が増えている可能性がある。うつ病の改善度が軽度にとどまったのもそれらが影響しているのかもしれない。

第二の理由としては観察期間が短いこと、症例数の少なさが考えられる。

2. てんかん患者における不安症状

不安はてんかん患者の 15~25% にみられる、うつ病に次いで 2 番目に多い精神障害である。今回の我々の研究では不安はてんかん患者の 2% という結果であり、既存の報告と大きく異なる。その理由としては我々の研究では、うつ病、精神病、知的障害・発達障害といった不安障害以外で不安症状を呈する精神疾患を除外したため既存の報告よりも低い数値になったと考える。

GAD 7 は不安のスクリーニング検査として開発されたが、てんかん患者において NDDIE と併用することによって相補的に抑うつと不安を評価することが示されている 5)。今回の我々の研究でもうつ病 31 人の中で NDDIE で

はカットオフ以下だったが GAD7 とカットオフ以上でうつ病と診断された患者が 4 人いる(4/31: 13%)。さらに知的障害・発達障害の患者では GAD7 のみでカットオフ以上の患者におけるその割合は 37% と高く、精神病患者においても 25% 認めている。このように簡易なスクリーニング検査である GAD7 を実施するのは不安障害のみならずその他の精神障害の評価にも役立てられる可能性が考えられた。

GAD7 および精神科診断で不安障害と診断に至った症例は 4 人と少ないため、その臨床的特徴や治療経過に関しては検討できておらずこれは今後の課題である。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

1. 引き続き、精神科てんかん新患症例で NDDIE と GAD7 を施行し症例数を増やし解析を進めていく。

症例数が増えることにより「うつ病」と「不安障害」の診断に至る症例が増え、これらの精神科的合併症のあるてんかん患者の臨床的特徴、背景因子、治療法、予後などの項目について解析することにより、非精神科のてんかん診療医でも最適な精神科治療を選択することができるようになることが期待できる。

2. 環境調整や心理療法などの非薬物療法が必要なうつ病患者の特徴や数が明らかになることで、現在のてんかん診療におけるうつ病治療のアンメットニーズが明確になり、改善度の向上が期待できる。

3. 不安や抑うつ症状のある知的障害・発達障害の患者についても臨床的特徴、背景因子、治療法、予後などの項目について解析する。

【行政政策への貢献度】

本研究が計画した目標を達し成果をあげることで、てんかん患者の精神症状の過少評価が減り、適切な治療が行われる可能性が高くな

り精神症状の改善が期待できる。その結果、てんかん患者の QOL は改善し社会参加が促進されることも期待できる。

【参考文献】

- 1) Schimtz B. Depression and mania in patients with epilepsy. *Epilepsia* 46 (Suppl 4): 45-49, 2005
- 2) Micoulaud-Franchi JA, Bartolomei F, Duncan R et al. Evaluating quality of life in epilepsy: The role of screening for adverse drug effects, depression, and anxiety. *Epilepsy Behav* 75: 18-24, 2017
- 3) Mori Y, Kanemoto K, Onuma T et al. Ader is a distinctive feature of epilepsy patients with depression. *Tohoku J Exp Med* 232: 123-128, 2014
- 4) Azuna H and Akechi T. Effects of psychosocial functioning, depression, seizure frequency, and employment on quality of life in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav* 41: 18-20, 2014
- 5) Micoulaud-Franchi JA, Lagarde S, Barkate G et al. Rapid detection of generalized anxiety disorder and major depression in epilepsy: validation of the GAD-7 as complementary tool to the NDDI-E in a French sample. *Epilepsy Behav* 57: 211-216, 2016

てんかん原性型グリア細胞の視点によるてんかん分子病態研究

山梨大学 大学院総合研究部 医学域¹薬理学講座、²山梨 GLIA センター、³小児科
小泉修一^{1,2,3}、佐野史和^{1,2,3}

【要旨】

本研究では、グリア細胞依存的なてんかん原性および発作原性機構の解明を目指して検討を行った。具体的には、ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、我々が以前に報告した「てんかん原性型アストロサイト」においては、RNA-seq 解析による表現型解析から代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)の発現亢進が特徴的であることを見出した。さらに、細胞外 ATP が adenosine A2b 受容体を介して mGluR5 の再発現に関与すること、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスを用いて、アストロサイトにおける mGluR5 の発現亢進が苔状繊維異常発芽を介しててんかん原性獲得に寄与することを解明した。また、in vivo 全脳 Ca²⁺ imaging 法を用いて、ピロカルピンによるけいれん重積 (SE) 誘発中および、SE 後のてんかん原性獲得期には、ほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca²⁺シグナル (超広域 Ca²⁺シグナル) が惹起されることを見出した。これらの成果は、アストロサイトを標的とする新規創薬に繋がりうる基礎的な成果となる可能性がある。

【緒言】

我々は、これまで過剰な神経興奮 (けいれん発作) の結果として引き起こされると解釈されてきたてんかん病巣におけるアストログリオシス (アストロサイト活性化) に着目し、てんかん病態の原因にアストロサイトがより能動的に関与している可能性を検討してきた。

前回研究班でも報告してきたように、実際にはピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん原性獲得過程におけるグリア細胞の役割を検討してきた。前回研究班においては、前述のモデルマウスを用いて、活

性化ミクログリアが誘導する IP₃受容体タイプ 2 (IP₃R2) 依存的な Ca²⁺過活動依存的にてんかん原性を誘導する「てんかん原性型アストロサイト」の存在を報告した。

しかし、この Ca²⁺過活動から、てんかん原性および発作原性に至る分子メカニズムは解明されていなかった。そこで今回研究班においては、グリア細胞依存的なてんかん原性および発作原性機構の解明を目指して、さらなる検討を追加した。具体的には、てんかん原性型アストロサイト依存的なてんかん原性獲得機構解明のため、「てんかん原性型アストロサイト」の RNA-seq 解析による表現型解析を行い、てんかん原性型アストロサイトに高発現する分子として、シナプス新生関連遺伝子として知られる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)を同定した。また、アストロサイト初代培養系を用いて mGluR5 の発現亢進分子機構を解明すると共に、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスを用いて、アストロサイトにおける mGluR5 の発現亢進が苔状繊維異常発芽を介しててんかん原性獲得に寄与することを解明した。

さらに、てんかん病態におけるグリア細胞の役割の視点を広げ、上記のような長期的なてんかん原性獲得に与える影響とは異なる、グリア細胞がてんかん発作の起始・拡散・終結など(発作原性)に果たす役割を解明するための予備実験を開始した。

【方法】

てんかん原性プロジェクト:ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん原性を獲得した野生型マウスの海馬から、磁気分離法によりアストロサイトを分離した。これまでの研究で、IP₃R2-KO マウスは、てんかん原性を認めないことから、同様にピロカルピンによるけいれん重積 (SE) 誘発後の IP₃R2-KO マウスのアストロサイトも分離し RNA-seq 解析を行った。RNA-seq 解析の結果、

てんかん原生型アストロサイトに高発現する分子として同定された、シナプス新生関連遺伝子としてしられる代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR5) について、アストロサイト初代培養系を用いて mGluR5 がアストロサイトで発現亢進する分子機構を検討した。また、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスの表現型解析を行った。

発作原生プロジェクト : Aldh111-creERT2::GCaMP6f マウスを用いて、ピロカルピンによるけいれん重積(SE)誘発下に、in vivoで全脳の Ca²⁺ imagingを施行した。また、自発てんかん発作の起始・拡散・抑制などにアストロサイトの Ca²⁺過活動が果たす役割を解明するため、ピロカルピンによる SE 誘発 1 日後、7 日後、28 日後 (てんかん原生獲得期) に同様の手法で in vivo 無麻酔覚醒下で全脳の Ca²⁺ imaging を施行した。

【結果】

てんかん原生プロジェクト

1) RNA-seq によるてんかん原生型アストロサイトの表現型解析

野生型マウスにおいては SE により、438 遺伝子発現が亢進し、150 遺伝子の発現が低下した。しかし、IP₃R2KO では SE により 105 遺伝子の発現が亢進し、324 遺伝子で発現が低下した。さらに SE により野生型マウスで発現亢進し、かつ、IP₃R2KO では変化しない分子、つまりてんかん原性型アストロサイトの実行分子候補として、50 の遺伝子を抽出し、その中にシナプス新生関連遺伝子としてしられる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)を見いだした。

2) アストロサイトにおける mGluR5 発現亢進分子機構の解明

まず、mGluR5 が生後発達初期のアストロサイトには発現しているが、正常アダルトアストロサイトではほぼ発現していないこと注目し、生後 21 日目程度までの幼若野生型マウスを用いて、生後発達に伴う mGluR5 発現低下と逆相

関するシグナル経路を探索し、adenosine A2b 受容体を見いだした (なお、A2b 受容体は中枢ではアストロサイトに特異的に発現している)。

さらに、アストロサイト初代培養系を用いて、細胞外 ATP が adenosine A2b 受容体を介して mGluR5 の再発現に関与することを見出した。

3) アストロサイト mGluR5 依存的なてんかん原生獲得機構の解明

まず、蛍光免疫組織化学染色法を用いて、野生型マウスにおいてはアストロサイトにおける mGluR5 の発現は生後 21 日目にほぼ消失する一方で、てんかん原生を獲得した野生型マウスの成獣では (つまりてんかん原生型アストロサイトでは)、mGluR5 が再発現することを確認した。次に、mGluR5 がシナプス新生関連遺伝子であることから、側頭葉てんかんの特徴的病理像の一つとして知られる苔状繊維異常発芽に注目して解析を行った。野生型マウスではけいれん重積 4 週間後に苔状繊維異常発芽を認め、けいれん閾値が低下していたが、アストロサイト特異的 Grm5cKO マウス (Glast-creERT2::floxGrm5) では、同時期の苔状繊維異常発芽は有意に抑制され、けいれん閾値の低下も認められないことを見出した。

発作原生プロジェクト

1) ピロカルピンによる SE 中の in vivo 全脳 Ca²⁺ imaging

Aldh111-creERT2::GCaMP6f マウスを用いて、ピロカルピンによる SE 誘発下に、in vivo で全脳の Ca²⁺ imaging を施行した。その結果、ピロカルピンにより誘導した SE 中に、ほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca²⁺シグナル (超広域 Ca²⁺シグナル) が惹起されることを見出した。

2) SE 後のてんかん原生獲得期の in vivo 全脳 Ca²⁺ imaging

ピロカルピンにより誘導した SE 誘発後には、経時的に複数の脳領域でアストロサイトの Ca²⁺活動が亢進していくことを見出した。特に、

SE 誘発 7 日後・28 日後では、生理的条件下では観察されない超広域 Ca^{2+} シグナルに類似するような、複数の脳領域にまたがる同期性の高い Ca^{2+} シグナルが惹起されることを見出した。また、今後の脳波同時記録実験の予備的検討のため、全脳 Ca^{2+} imaging の時間解像度の技術的な限界を検討し、25msec/frame までの撮影は可能であることを見出した。

【考察】

てんかん原生プロジェクトを通じて、てんかん原生型アストロサイト依存的なてんかん性神経回路（興奮性神経回路）形成機構を分子レベルで解明した。具体的には、1）てんかん原生型アストロサイトでは mGluR5 の発現が亢進しており、2）mGluR5 依存的に苔状繊維異常発芽を介しててんかん原生獲得（けいれん閾値の低下）に関与する可能性が示唆された。また、発作原生プロジェクトを通じて、薬物誘導けいれん重積発作中およびてんかん原生獲得期には、生理的条件下では認められない超広域 Ca^{2+} シグナルが惹起されることを見出した。この超広域 Ca^{2+} シグナルが過剰に同期した神経細胞の過興奮（すなわちけいれん発作）と関連する可能性はあるが、今回の検討ではその因果関係までは言及できなかった。

【行政政策への貢献度】

これらの結果は、アストロサイトの mGluR5 を標的とする新規創薬に繋がりうる成果である。また、今後の研究で超広域 Ca^{2+} シグナルの発生機構及び神経細胞の活動との因果関係が解明されれば、アストロサイトを標的とする新規抗けいれん薬の開発につながりうるさらなる基礎的なデータを創出できる可能性があると考えられた。

【参考文献】

1) Shigetomi E et al. Int J Mol Sci 2019; 20: 996

2) Koizumi S et al, Int J Mol Sci 2021; doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23010149>

3) Sano F et al. JCI Insight. 2021; 6: e135391(2021)

4) Tanaka M et al. GLIA, 2021; 69 (11), 2546-2558. doi: 10.1002/glia.24006

5) Kim SK et al, J Clin Invest, 2016; 126, 1983-1997.

てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明

山梨大学医学部小児科

加賀佳美

【研究協力者】

上田理誉、田中美歩（国立精神・神経医療研究センター 知的・発達障害研究部）

齋藤貴志、中川栄二、佐々木征行（国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科）

岩崎真樹（国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経外科）

田丸径、犬丸淑樹、佐野史和、深尾俊宣、石井佐綾香、青柳閣郎（山梨大学医学部小児科）

【要旨】

てんかんと睡眠と認知機能は密接な関連がある事が知られているが、小児てんかん児の睡眠が認知機能に及ぼす影響について客観的に評価した報告は少ない。そこでこの研究では、小児てんかん患者の睡眠の実態を明らかにし、その認知機能について神経生理学的心理学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。検討1：小児てんかん例に対して睡眠習慣と認知機能の関連について調べるために5～19歳までの91例に質問紙調査を行ったところ、てんかん児では、中途覚醒例が35%に認められ、睡眠習慣の悪さが明らかとなった。また中途覚醒例では、干渉抑制機能障害、ことばの読み書きの学習習得の低下、適応行動の低さ（特に内在化障害）を認めることがわかった。検討2：てんかん児6例について、終夜睡眠ポリグラフ検査（PSG）を用いて睡眠の評価を行い、脳波周波数解析と実行機能との関連について調べた。認知機能障害のある例では、REM睡眠が短く、前頭部優位の12Hz slow spindleのパワー値が高くなっていた。てんかん児全例で覚醒時脳波の徐波化を認め、日中の脳機能の低下および、前頭葉機能障害の可能性が考えられた。

以上より、てんかん児では、睡眠の質の悪さが症状としても脳機能解析からも存在することがわかり、睡眠の質の低下が認知機能障害をひき起こす可能性が考えられる。

【はじめに】

従来、てんかんと睡眠の関係についてはその密接な関連性について報告されている。徐波睡眠時に発作波が出現する徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症（CSWS）や、夜間の発作の多い前頭葉てんかん（FLE）、睡眠時に特徴的な脳波所見を示す中心・側頭部に棘波を持つ良性小児てんかん（BECT）など、小児特有のてんかんは、睡眠と密接な関係がある。また睡眠障害が発作を増悪したり、認知機能障害を来したりすることもあるといわれ¹⁾、睡眠、てんかん、認知機能との関連性を明らかにする事は非常に重要である。従来の報告では、てんかん患者では、不眠症や過眠症、閉塞性睡眠時無呼吸（OSA）、中枢性無呼吸、睡眠時随伴症などの睡眠障害が多く、OSAに対するCPAPや不眠症に対するメラトニン治療で発作が改善するという報告もある²⁾。また、これまでのわれわれの検討により、小児てんかんでは、適応行動が低く、とくに自閉スペクトラム症（ASD）様行動と睡眠時発作が関連していたことを報告した³⁾。特に適応行動は、睡眠時に発作が多い群で低下しやすいことから、認知機能や適応行動は睡眠の影響が大きく関与することが想定された。しかし、睡眠と認知機能がどのように関連しているのか、神経生理学的な方法を用いた客観的な解析法での詳細な検討はほとんどない。そこで本研究では、小児てんかんにおける睡眠と認知機能の関連について、神経生理学的、心理学的な客観的な方法を用いて明らかにすることを目的とした。

【方法】

検討1：てんかん児の睡眠の実態と認知機能障害との関連

対象は2017年7月～2019年12月までにてんかん精査のため NCNP 病院に入院した5～19歳の小児発症てんかん例91名(男性46名)。方法は、①質問紙(睡眠習慣調査票, PARS-TR, ASSQ, SNAP-IV) ②適応行動(Vineland-II)、③実行機能検査(DN-CAS 表出の制御、Wisconsin Card Sorting test: WCST, 持続的注意課題; もぐら一ず)、④学習検査(K-ABC2のことばの読み, 書き)を行い、睡眠問題行動と認知機能の関連について比較検討した。睡眠週間調査票については全例で施行し集計を行った。中途覚醒が認知機能に及ぼす影響を調べるために、WISC-IV 知能検査で全検査知能指数(FSIQ)が80以上の小中学生のてんかん児33例について②～④を行い、中途覚醒あり群となし群の2群に分けて比較検討を行った。2群の比較については t-test を行い、 $p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$ を有意差ありとした。この検討は NCNP の倫理委員会で承認を得て施行した(承認番号 A2017-019)。

検討2: てんかん児の睡眠時ポリグラフ(PSG)による脳波解析と認知機能

対象は山梨大学病院に2020年4月～2021年10月までに入院した8～15歳の小児前頭葉てんかん(FLE)4症例とCSWS1例、睡眠時50%以上の全般性局徐波複合を伴う全般焦点合併てんかん1例。これらの症例に対し①質問紙(PARS-TR, ASSQ, SNAP-IV) ②実行機能検査(持続的注意課題; もぐら一ず, DN-CAS 表出の制御)、③学習検査(K-ABC2のことばの読み, 書き) ④PSG 検査、⑤PSG で採取した脳波を用いた脳波周波数解析(覚醒時 θ/β 比、12Hz、14Hz spindle のパワースペクトラム解析)を行った。この検討は山梨大学医学部倫理委員会で承認され、被験者および代諾者より同意を得て施行した(承認番号2334)。

【結果】

検討1: てんかん児の睡眠の実態と認知機能障

害との関連

(1) てんかん児の睡眠の特徴

対象者の患者背景として、発作焦点部位は前頭47%、側頭27%、頭頂2%、後頭11%、全般12%だった。抗てんかん薬の数は1剤17%、2剤33%、3剤以上47%と多剤併用の難治例の割合が比較的高かった。発作頻度は、発作なし15%、月単位28%、週単位19%、日単位37%と比較的発作頻度は高い群が多かった。47%に発達障害の併存、13%に不登校を認めた。WISC-IV によるFSIQ80以上が48%だった。また学年分布としては、小学生48%、中学生41%、高校生以上12%であった。

睡眠状況として、35%に就寝時間の不規則があり、睡眠潜時も長くなっていた。35%に中途覚醒例を認め、中途覚醒時間が平均34分と長くなっていた。一方、睡眠総時間は小学生は、定型児と同様であったが、中学生では比較的に長い傾向を認めた。てんかん児では、寝付きの行動(入床をいやがる、暗室恐怖)や睡眠中の行動(体動多く、びくつき、息止まり、息つまり、夜驚、悪夢など)に問題例が多かった。また、起床時の問題としては、離床困難、目覚め不良、昼間の眠気などを示す例が多く見られた。

(2) 中途覚醒が認知機能に及ぼす影響

FSIQ80以上の小中学生を中途覚醒の有無で2群に分けたところ、中途覚醒あり12例、なし21例で、それぞれFSIQ、注意欠如多動症(ADHD)の指標であるSNAP-IV、自閉スペクトラム症(ASD)の質問紙であるPARS-TRでは2群間に有意差は認められなかった。認知機能検査では、干渉抑制課題であるDN-CAS 表出の制御(標準得点 あり8.3、なし9.9、 $p=0.049$)、K-ABC2のことばの読み(あり7.2、なし9.3、 $p=0.024$)で中途覚醒群が有意に低下していた。持続的注意機能課題では、両群で明らかな有意差は認められなかった。またVineland-IIの結果は、中途覚醒群で適応行動尺度が低く、特に内在化の不応行動が多くなっていた。

検討2：小児てんかん患者の睡眠時ポリグラフ (PSG) による脳波解析と認知機能

検討2患者背景

症例	性別	年齢	分類	睡眠時脳波所見	病因	睡眠時発作	睡眠時伴症
1	F	9	FLE	Rt F-C spike, diffuse S&W	不明	なし	なし
2	M	12	FLE	Fp-Fにspike, S&W, Lt>Rt	家族性	あり	あり
3	M	12	FLE	Fp-Fにspike, Lt>Rt	不明	あり	なし
4	M	15	FLE	Rt F, aT S&W	脳症後遺症	あり	なし
5	M	8	CSWS	Continuous diffuse S&W	不明	なし	なし
6	F	10	全般焦点合併	Diffuse slow S&W50%以上	FCD	なし	なし

FLE: Frontal lobe epilepsy, CSWS:徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症, S&W slow spike and waves

表に患者背景を示す。PSG 所見では、FLE の症例1-3、CSWS、全般焦点合併てんかんで、REM 睡眠時間の短縮が認められた。また CSWS では、Stage1 が低下し、Stage3~4 が増加していた。FLE 症例4では、REM の低下は認めなかった。認知機能の検討は、FLE3例と CSWS1例で行い、FLE の症例1と2、CSWS1例で不注意や実行機能障害、読み書き能力の低下を認めた。REM 睡眠の異常がなかった FLE の症例4では、認知機能異常を認めなかった。

脳波解析では、てんかん群全例で覚醒時の θ/β 比の増加を認めた。Stage2 の spindle の検討では 12Hz slow spindle パワー値増加を FLE4 例中3例で認めた。実行機能障害のない1例（症例4）では、増加を認めなかった。一方、睡眠時脳波の持続的な異常を伴う CSWS と全般焦点合併てんかんで、前頭部優位の slow spindle を認めなかった。14Hz spindle は、中心部優位に出現し、パワー値の高い例と低い例が認められたが、臨床的な関連性については明らかではなかった。

【考察】

検討1の結果より、小児てんかん患者の睡眠の実態について明らかにする事が出来た。小児てんかん例では、中途覚醒や睡眠潜時の延長、昼間の眠気など睡眠の質の低下を示唆する状態を呈していた。特に中途覚醒のある症例ではない症例に比較し、干渉抑制機能などの実行機能、ことばの読み書きの成績が低く、実行機能や学習習得に影響を及ぼしていることが示唆

された。これまでの報告でも、小児てんかん児の睡眠の質の低下が、記憶の形成に異常を来すという報告があり⁴⁾、記憶の定着の悪さが学習の困難さを来している可能性が考えられた。

脳波解析による検討では、いずれの例においても TDC に比較して覚醒時の θ 波の増加を認めたことから、てんかん症例では覚醒時の脳機能低下がある可能性が示唆される。これまでの ADHD 児の報告では、覚醒時の θ/β 比が増加するといわれており⁵⁾、覚醒時基礎脳波の徐波化は ADHD の脳機能に関連し、ADHD の生理的マーカーとして臨床応用されている。今回の検討では、てんかん児全例で θ/β 比が高かったことから、覚醒時脳機能低下を反映している可能性があるが、一方で睡眠の脳波異常が覚醒時に影響を与えている可能性もあることから今後、睡眠と覚醒時脳波との関連、さらに認知機能との関連についてさらに症例数を増やして検討していく必要がある。また今回の対象は FLE や CSWS など比較的夜間発作や睡眠時の脳波異常を伴いやすいてんかん症例のみの検討であったが、比較的脳波異常のない群での比較検討も合わせて行っていく必要がある。

Spindle に着目した脳波解析で、不注意、実行機能異常、学習の問題などの認知機能障害を認めた前頭葉てんかんの3例では、12Hz slow spindle のパワー値が高かった。認知機能障害の比較的少ない例では、12Hz slow spindle のパワー値は TDC と同等であった。一方、CSWS や全般焦点合併てんかんの睡眠時の持続的脳波異常を示す例では、実行機能障害を呈し、むしろ前頭部優位の 12Hz spindle が認められなかった。これまでのわれわれの ADHD 児の spindle の検討では、中心部優位の 14Hz spindle は TDC と差がなかったが、前頭部 12Hz slow spindle のパワー値が増加しており、ADHD 児の覚醒時脳機能障害や前頭-視床のループ回路の異常を示す可能性について報告した⁶⁾。前頭葉機能障害を認める FLE 症例では ADHD と同様に 12Hz slow spindle のパワ

一値の増加を認めたことより、てんかん児でも同様な前頭葉機能障害を示唆する結果の可能性はある。逆に CSWS 症例などでは、spindle は中心部優位であり、前頭部優位の spindle を stage2 全ての期間において認めなかった。このことは前頭-視床ループが CSWS などの脳波異常によって遮断され、認知機能低下につながっている可能性が考えられた。

以上より、てんかん児では、睡眠の質の悪さが症状としても脳機能解析からも存在することがわかり、睡眠の質の低下が認知機能障害を呈する可能性が考えられる。

【行政施策への貢献度】

てんかん児の睡眠と認知機能に着目した研究はこれまでにない。睡眠の質の向上に着目したてんかん診療を行うことにより、てんかん児の認知機能の改善、および生活の質 (QOL) の向上する可能性があり、てんかん患者の QOL 向上に寄与する研究である。

【今後の研究計画】

PSG 検査と認知機能検査を同時に行った症例データが少ないことからさらに症例数を蓄積していく。また検討するてんかん症候群の種類についても、睡眠による影響の少ない症候群などにも対象群を広げて検査を行い、比較検討する必要がある。また CSWS 例での spindle に着目して検討を行っていく予定である。

【文献】

- 1) Gibbon FM, Maccormac E, Gringras P. Sleep and epilepsy: unfortunate bedfellows. Arch Dis Child. 2019;104:189-192.
- 2) Jain SV, Kothare SV. Sleep and Epilepsy. Semin Pediatr Neurol. 2015;22:86-92.
- 3) Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Adaptive behavior

and its related factors in children with focal epilepsy. Epilepsy Behav. 2020; 108: 107092.

- 4) Chan S, Pressler R, Boyd SG, Baldeweg T, Cross JH. Does sleep benefit memory consolidation in children with focal epilepsy? Epilepsia. 2017;58:456-466.
- 5) Snyder SM, Rugino TA, Hornig M, Stein MA. Integration of an EEG biomarker with a clinician's ADHD evaluation. Brain Behav. 2015;5:e00330.
- 6) Saito Y, Kaga Y, Nakagawa E, Okubo M, Kohashi K, Omori M, Fukuda A, Inagaki M. Association of inattention with slow spindle density in sleep EEG of children with attention deficit hyperactivity disorder. Brain Dev 2019; 41:751-759.

1-4 Elucidating the Pathology of Epilepsy and Comorbidities for the Development of Pioneering and Comprehensive Diagnostic and Therapeutic Methods

Eiji Nakagawa, M.D., Ph.D.

*Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center,
National Center Hospital,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)
Tokyo, Japan*

Background: Rapid advances in molecular genetics, neuroimaging and neurophysiology over the last 10 to 20 years have been a catalyst for epilepsy research in neurobiology, developmental psychopathology, and translational neuroscience. Whereas integrative study on pathomechanism, diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy relevant to congenital factors do not have well established.

Purpose: The purpose of our research group is to clarify the pathomechanism, diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy and to establish a reliable diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy. Our final goal is to build up resource repository system for epilepsy research in NCNP. This should include various clinical disciplines as well as basic neurosciences.

Members of the research group

Principal Investigator: Eiji Nakagawa (NCNP)

Co-Investigator: Masaki Iwasaki (NCNP), Kenji Hatano (NCNP), Takashi Saito (NCNP), Akihiko Ishiyama (NCNP), Noriko Sato (NCNP), Kyoko Kanazawa (NCNP), Yoshimi Kaga (University of Yamanashi), Masayuki Itoh (NCNP), Mikio Hoshino (NCNP) and Schuichi Koizumi (University of Yamanashi).

Research Results

The purpose of this research team is to elucidate the pathology of epilepsy and develop and propose diagnostic and therapeutic methods for this disease by building a resource repository system for epilepsy at the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), which can be a national centre for epilepsy medical care in Japan. Using this Epilepsy Center as the core of the epilepsy diagnosis and treatment, we can take advantage of our epilepsy care system in various departments, including the departments of psychiatry, neurology, paediatric neurology, neurosurgery and radiology. While proposing a desirable medical care system for patients with epilepsy, particularly for those with

comorbid neurodevelopmental disorders and psychiatric symptoms, from both software and hardware aspects, we conducted research aimed at forming a medical care model for epilepsy. In addition to accumulating high-quality data of patients with epilepsy in our clinical database, we proposed building a new electroencephalogram (EEG) database system that enables EEG-based diagnosis and treatment, thus helping to establish a nationwide EEG medical care network in Japan. In the epilepsy medical fact-finding survey, we examined the nationwide epilepsy prevalence rate (treatment recipient rate) based on the non-governmental National Database of Health Insurance Claim Information and Specified Medical Check-ups. By performing an analysis that approximately estimates the actual prevalence rate, we can elucidate the epilepsy prevalence in Japan. These survey results can provide useful information for disease control, awareness-raising activities and health policy formulation.

The team works to appropriately evaluate and diagnose epilepsy, comorbid psychiatric symptoms and neurodevelopmental disorders as early as possible using various brain morphological and functional imaging and neurophysiological analyses. Thus, we aim to establish effective medical and surgical therapeutic methods for these conditions. To disseminate these research results, we have actively conducted awareness-raising activities, such as public lectures on epilepsy, workshops and lectures for doctors, medical staff and patients, throughout Japan. For basic research on epilepsy, we utilised samples and information available from a research repository that was already established at the NCNP's Translational Medical Center. Using molecular, pathological, neurophysiological and basic genetic research on epilepsy, we are conducting basic research to elucidate the pathology of epilepsy.

Allotment studies

- 1) Development of patient database is essential to promoting joint research and clinical trials. Here we report progress in developing Neurosurgical database and Epilepsy patient database of the NCNP Epilepsy Center.

Masaki Iwasaki

Department of Neurosurgery, National Center Hospital, NCNP

NCNP Neurosurgical database was developed with Microsoft Access®. Clinical information including patient basic profiles, diagnostic findings, seizure outcome, pathological diagnosis, and classification of surgical procedures was registered. The 2017 international classification system of epilepsy and seizures was used for the diagnostic classification of patients. A total of 2181 surgeries have been registered in the database by the end of year 2021. The database was shared on multiple occasions with fellows and staffs for conducting clinical studies. Surgically-treated patients with epilepsy were registered to the NCNP Biobank after written informed consent. Blood samples and surgical specimen, if available, were prospectively stored for utilization in future research. A total of 395 patients have been registered to the Biobank by the end of year 2021. Epilepsy outpatient and

inpatient database was generated from electric medical records based on the ICD-10 diagnostic codes. Specific epilepsy diagnosis was obtained from the information entered in the other template. Total 4680 and 4993 cases have been entered to the outpatient and inpatient databases, respectively from June 2017 to September 2021. Analysis of the database elucidated patient characteristics in the NCNP epilepsy center. Efficient data entry of diagnostic information continues to be a priority issue for building high-quality database. Further improvement in the data entry system is required.

- 2) The number of epilepsy patients was estimated using health claim database containing health insurance claims of employees and their families.

Takashi Saito

Department of Child Neurology, National Center Hospital, NCNP

In this study, we aim to estimate number of patients with epilepsy under 18 years of age. To exclude patients who are not actually epilepsy but given disease name "epilepsy" for insurance claims, we created a flowchart. We estimated that the number of patients under 18 years of age visiting a medical clinic for epilepsy in 2018 was 5.7/1,000. Most patients were treated with only one antiepileptic drug. 5-10% of patients older than 5 years of age were treated for behavioral complications with central nervous system stimulants and/or typical antipsychotics. The frequency of neurosurgical treatment was less than 1%. By using receipt data, it was possible to estimate the number of patients with pediatric epilepsy and the actual condition of epilepsy management in Japan.

- 3) Construction of a platform for the database construction of electroencephalography records of patients with epilepsy

Akihiko Ishiyama

Department of Child Neurology, National Center Hospital, NCNP

Objectives: This study aimed to construct a platform for the database construction of EEG records, which would be used as basic data to develop tools for reading EEG data, to standardize the quality of the treatment for epilepsy, supplementary reading tools. The study was first to construct the database of EEG records collected at National Center Hospital, National Center of Neurology and Psychiatry, with the aim of developing a system that would enable us to construct the database of EEG records collected from multiple institutions across Japan in the future. **Methods:** To construct the database of EEG records, we selected clinical information to be attached to EEG records, and prepared a clinical information sheet. Then, we constructed a server for the EEG database and registered EEG records. **Results:** The hardware used for the EEG database was the EEG database system manufactured by Nihon Kohden. We examined and selected formats for registering EEG data and the contents of clinical information to be attached to EEG records. EEG data were to be registered in the European data format

(EDF) so that various analyses could be performed with the registered data. A clinical information sheet was prepared for registering the attached clinical information. For registration of data in this sheet, we developed a system that could export data on each item in the Comma Separated Value (CSV) file. The items of the clinical information to be registered with EEG data were research identification (ID), age, sex, date of test, and diagnosis. After this registration system was developed, we started registration of EEG data collected at our center as the first stage of the construction of the EEG database. Summary: We developed a system to construct the EEG database and started registering EEG data. Ultimately, we would like to further expand this system to register data from other institutions. Expansion of registration of EEG data is expected to promote analysis and evaluation of EEG findings in epilepsy.

4) MR detection of CNS lesions in tuberous sclerosis complex: the usefulness of T1WI-CHESS

Noriko Sato

Department of Radiology, National Center Hospital, NCNP

The transmantle sign (TMS) is one of the important MRI findings of focal cortical dysplasia (FCD) and sometimes the TMS shows T1-high-signal. We examined MR and pathology of FCD with TMS. The TMS showing T1WI high signal was found in about 6%, and all of them were type IIB. The hyperintensity reflected the density of Balloon cells when compared to pathology. This finding is useful for differentiating FCD type IIB, and it seems possible to infer the subtype only by MR. Furthermore, TMS was also seen as T1 hyperintensity in tuberous sclerosis. We speculated that it could be visualized more clearly by adding the fat suppression method, CHESS, which is frequently used in daily practice. The detectability of intracerebral lesions in tuberous sclerosis was compared with T2WI, FLAIR, T1, T1-MTC, and T1WI-CHESS. T1WI-CHESS had the best detection ability of TMS. T1WI-CHESS was considered to be an imaging method that should be actively utilized in the daily clinical practice of epilepsy. In addition, in the network analysis using 3DT1 in graph theory, the network of patients with temporal lobe epilepsy (TLE) with hippocampal sclerosis was maintained at the whole brain level, but at the local level, both right and left TLE groups were damaged comparing with healthy subjects. In the left TLE group, a decrease of the Clustering coefficient and the short test path length was observed, which meant a decrease in functional separation and an increase in local efficiency, respectively. It is suggested that the network in the brain may be locally randomized in TLE with hippocampal sclerosis. Network analysis using gray matter similarity may contribute to the elucidation of the pathophysiology of TLE with hippocampal sclerosis.

5) Analysis of the clinical condition of a patient and treatment of an adult, elderly epilepsy

Kyoko Kanazawa

Department of Neurology, National Center Hospital, NCNP

Clinical pathophysiology and treatment of epilepsy in the adult and elderly were analyzed from the following two viewpoints in the present study: Autoimmune pathophysiology in patients with cryptogenic epilepsy syndrome, and wide-band EEG. The observational study on the autoimmune pathophysiology in relation to imaging abnormality in mesial temporal lobes, multi-center study on the genetic predisposition in autoimmune encephalitis, and the pathophysiology of epileptogenicity in the human using the method of wide-band electroencephalography (EEG) were carried out.

6) Maintenance of the epilepsy clinical information database

Kenji Hatano

Department of Clinical Epidemiology, Translational Medical Center, National Center Hospital, NCNP

We have developed a system that links the in-house epilepsy clinical information database with patient clinical information in electronic medical records, and have realized efficiency and refinement of patient extraction using medical information. Furthermore, the environment of the database was improved by improving the migration of the database to the RDB server. With a view to linking the epilepsy clinical information database to an external database, we have promoted the development of an environment for linking the medical data of NCNP Hospital with the disease registry or case database constructed outside the center. In the JASPEHR project, which is a joint research project of 6NC, we first carried out online external collaboration of medical data of NCNP hospital, and examined the results and issues.

7) The condition of a patient elucidation of the molecular pathology of intractable epilepsy

Masayuki Itoh

Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, NCNP

Intractable epilepsy is defined by uncontrolled epilepsy with polypharmacy. Some of them consist of metabolic errors and brain malformation from birth. We studied a molecular mechanism of KARS-related leukodystrophy and a pathological system of loss-of-heterogeneity (LOH) of tuberous sclerosis complex (TSC), as well as an alteration of astrocyte specific ion-channels and receptors (P2RY1, P2RY2, P2RY4, Kir4.1, Kv4.2, mGluR1 and mGluR5) expression of hippocampal sclerosis (HS).

We discovered a novel epileptic syndrome with KARS gene (encoding LysRS) mutations. The clinical features were characteristically intractable epilepsy after birth, severe developmental delay, congenital deafness and progressive leukodystrophy with intracranial calcification. The abnormal

LysRSs due to the genetic variants were those dysfunctions. We made some various patients' based-mutation expression vectors. Then, we measured mutated LysRS activities and transfected them into *Xenopus* oocytes to reproduce the phenotypes of patients. As results, we revealed significant decreasing LysRS activities and pathological reproduction. Here, we can propose a novel severe progressive leukodystrophy caused by KARS gene mutation. We revealed that all 7 astrocytic receptors and channels in HS lesions were significantly increased. We previously described unique astrogliosis in epileptic lesions similar to what was observed in this study. This phenomenon is considered to trigger activation of the related signaling pathways and then contribute to epileptogenesis. Thus, astrocytes in epileptic lesion may show self-hyperexcitability and contribute to epileptogenesis through the endogenous astrocytic receptors and channels. These findings may suggest novel astrocytic receptor-related targets for the pharmacological treatment of epilepsy. We performed TSC2 genetic analysis of dysmorphic neurons, balloon cells and the other cells, extracted from the pathological lesions of cortical tubers of 3 TSC individual patients. The samples were collected each 20 cells' DNAs with microdissection technique. We confirmed TSC2 mutations. The result of LOH analysis suggests that the TSC pathological cells were made excessive activation of mTOR. We need further study to clarify the molecular mechanism of LOH.

- 8) The condition of a patient elucidation using the epilepsy model animal and development of the cure

Mikio Hoshino

Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience, NCNP

Although there are many epilepsy patients in Japan, the pathogenesis is still unknown, and therefore, diagnostic and therapeutic methods have not yet been established. In this study, we aimed to elucidate the pathology of epilepsy through the analysis of genetically engineered mice for *AUTS2/Auts2* (a causative gene of epilepsy) and Ihara epilepsy rats (IER, model rat of epilepsy). Analysis of the telencephalon-specific *Auts2* knockout mice suggested that AUTS2 protein has a function to limit the number of excitatory synapses and that its abnormality may cause an imbalance between excitatory and inhibitory synapses, putatively leading to epilepsy. Analysis of cerebellum-specific KO mice of *Auts2* revealed that AUTS2 is involved in cerebellar development and that its abnormality causes abnormal social behavior. In addition, we identified *Dscaml1* as the causative gene of IER, and also identified one case of human epilepsy with a mutation in the *DSCAML1* gene. It was suggested that the abnormal DSCAML1 protein produced by that mutation has a defect in protein folding and cannot be exposed to the cell surface, resulting in loss of its function. These results suggest that these two genes may be involved in the pathogenesis of human epilepsy.

9) Depression and anxiety are the most common mental disorders associated with epilepsy.

Go Taniguchi

Department of Psychiatry, National Center Hospital, NCNP

We retrospectively reviewed the clinical characteristics, selected treatments, and improvement of psychiatric symptoms in epilepsy patients selected by screening for depression and anxiety. Depression and anxiety were detected in 55 (33%) and 53 (32%) of 168 outpatients with epilepsy, respectively. When these patients were classified according to psychiatric diagnosis, depression was the most common diagnosis in 31 patients, followed by intellectual and developmental disabilities in 27, psychosis in 12, and anxiety disorders in 4. Of the 31 depressed patients, 27 were positive on the depression screening test, while 4 were positive only on the anxiety screening test. The group of depressed patients with greater biological factors was less likely to have PNES complications than the group with greater psychosocial factors: older age at presentation, more symptomatic localization-related epilepsy, and less seizure control. In both groups, treatment included adjustment of antiepileptic drugs and outpatient psychotherapy, which often resulted in mild improvement.

10) Elucidation of molecular pathogenesis of epileptogenesis mediated by glia

Schuichi Koizumi^{1,2}, Fumikazu Sano^{1,2,3}

Department of Neuropharmacol¹, Yamanashi GLIA center², Department of Pediatrics³, Faculty of Medicine, Yamanashi University

Using pilocarpine-induced status epilepticus (SE) model, we found that astrocytes in the hippocampus became reactive with excitable Ca²⁺ signals mediated by IP3 receptor type 2 (IP3R2). The time-course of SE-evoked reactive astrocytes was well associated with induction of epileptogenesis. Importantly, the Ca²⁺ excitation in the reactive astrocytes was a cause of epileptogenesis because when the Ca²⁺ signals were inhibited by IP3R2-deleted mice, the epileptogenesis was inhibited as well. Therefore, we termed these reactive astrocytes as “epileptogenic astrocytes”. RNA-seq analysis showed that epileptogenic astrocytes increased expression of various genes including metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) which is known to cause network remodeling via induction of synaptogenic molecules. However, it remains unclear how epileptogenic astrocytes are induced and leads to epileptogenesis. As for mechanisms underlying SE-evoked induction of epileptogenic astrocytes with upregulation of mGluR5, the initially activated microglia and extracellular ATP were responsible. In addition, adenosine, a metabolite of ATP, controls mGluR5 expression via adenosine A2b receptors in astrocytes. The epileptogenic astrocytes caused mossy fiber sprouting in a mGluR5-dependent mechanism(s) in the hippocampus, which would cause misconnection and remodeling of hippocampal networks, thereby leading to abnormal network excitation. These were demonstrated by Glast-

CreERT2::flx-mGluR5 mice (astrocyte-specific mGluR5 knockout mice). In addition, the mechanisms underlying this seizure spreads or abnormal synchronization remain also poorly understood. To clarify whether astrocytic Ca²⁺ signals, associated with neural activity, are implicated in the initiation or spreads of epileptic seizure, a new Ca²⁺ imaging method, i.e., a transcranial widefield Ca²⁺ imaging was developed. We performed Ca²⁺ imaging at the whole cortex in awake Aldh1l1-CreERT2::flx-GCaMP6f mice under a fluorescence dissection microscope. Astrocytes showed sporadically appeared Ca²⁺ signals at various cortical regions randomly in control, whereas they showed highly synchronous Ca²⁺ signals in SE, which traveled from the frontal lobe to the occipital lobe cortex (Ultra-wide Ca²⁺ spreads). Similar Ca²⁺ signals were also observed at 7 and 28 days after SE. The ultra-wide Ca²⁺ spreads were never observed in control mice, and thus they are unique phenomenon to SE and epileptogenic mice, suggesting its involvement in seizure spreads and/or abnormal synchronization in epileptic seizures (ictogenesis). In the future study, we plan to elucidate the causal relationship between Ultra-wide Ca²⁺ spreads and ictogenesis, and to clarify the molecular mechanisms.

11) The clarification of pathophysiological findings and exploration study of neurophysiological biomarker for epileptic children

Yoshimi Kaga

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yamanashi University

It is known that epilepsy, sleep and cognitive function are closely related, but there are few reports that objectively evaluate the effects of sleep on cognitive function in children with epilepsy. Therefore, the purpose of this study was to clarify the actual state of sleep in pediatric epilepsy patients and to clarify their cognitive functions using neurophysiological and psychological methods.

Study 1: In order to investigate the relationship between sleep habits and cognitive function in pediatric epilepsy cases, a questionnaire survey was conducted on 91 cases between the ages of 5 and 19 years old. 35% of the epileptic children showed mid-waking cases, indicating poor sleep habits. In addition, the mid-waking cases were found to have interference suppression dysfunction, poor learning of reading and writing, and poor adaptive behavior (especially internalization disorder).

Study 2: Six children with epilepsy were evaluated for sleep using all-night polysomnography (PSG), and the relationship between EEG frequency analysis and executive function was examined. Cases with cognitive dysfunction had shorter REM sleep and higher power values of the frontally dominant 12 Hz slow spindle. All children with epilepsy showed a slow wave in the waking EEG, suggesting a decrease in brain function during the day and possible frontal lobe dysfunction.

These results indicate that poor sleep quality is present in children with epilepsy, both as a symptom and in brain function analysis, and that poor sleep quality may present as a cognitive dysfunction.

12) The pathogenesis of suppression-burst by analyzing EEG from hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy

Eiji Nakagawa

Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center;

National Center Hospital, NCNP

Background: Hemimegalencephaly (HME) is a congenital cortical malformation that shows an enlargement of one cerebral hemisphere. Patients with HME develop intractable epilepsy early in life and often show suppression-burst (SB) on EEG during the interictal period. When the hemisphere on the affected side is separated from the basal ganglia, thalamus, and contralateral cerebral hemisphere by hemispherotomy, the EEG on the non-affected side normalizes and the patient becomes seizure-free. On the affected side, strong excitotoxicity remains after surgery, SB and epileptic discharges persist, and cerebral atrophy progresses. The pathogenesis of SB remains unresolved. Since SB is a relatively regular pattern in which the entire cerebrum synchronizes and repeats suppression and burst every few seconds, it is thought that not only the cerebral cortex but also the basal ganglia, thalamus, and brainstem networks must be involved in SB generation. We aimed to investigate the generating mechanism of SB by long-term observation of EEG obtained from HME patients. **Method:** We retrospectively evaluated 18 patients (10 boys, 8 girls) with HME who underwent hemispherotomy under 2 years of age at the NCNP between October 2009 and March 2019. The presence of SB was confirmed from EEG records.

Results: SB was observed in the affected side in 9 cases preoperatively and in 12 cases postoperatively. SB was observed in the non-affected side in 5 cases preoperatively, but in no cases postoperatively.

Conclusion: We confirmed that SB can be generated only by abnormalities of the cerebral cortex in the human brain, so the network of the basal ganglia, thalamus, and brainstem is not essential for SB generation.

Conclusion

These comprehensive and interdisciplinary research of epilepsy will continue next second year. Each research will bring further evidence to establish a reliable diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy.