

課題番号：21 委-5 脳形成異常の成立機序の解明と治療法確立のための融合的研究

主任研究者：中川栄二. 国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科

分担研究者：

- ①・伊藤雅之. 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
- ②・柿田明美. 新潟大学脳研究所脳病理学
- ③・呉 繁夫. 東北大学小児科
- ④・田中輝幸. 東京大学大学院保健学科
- ⑤・廣瀬伸一. 福岡大学小児科
- ⑥・井本逸勢. 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部人類遺伝学
- ⑦・井上祐紀. 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所知的障害部
- ⑧・小林勝弘. 岡山大学医学部小児神経科
- ⑨・白石秀明. 北海道大学医学部小児科
- ⑩・中川栄二. 国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科
- ⑪・中田安浩. 国立精神・神経医療研究センターセンター病院放射線科
- ⑫・前垣義弘. 鳥取大学医学部脳神経小児科
- ⑬・岩田欧介. 久留米大学小児科
- ⑭・大槻泰介. 国立精神・神経医療研究センター病院脳神経外科
- ⑮・山本 仁. 聖マリアンナ医科大学小児科

初年度総括研究報告

(1) 研究目的

本研究班は、先天性要因のなかでも特に脳形成異常による脳機能障害の発症病態の解明を病理学的、代謝学および遺伝学的解析により明らかにすることである。また、脳形成異常による小児期発作性神経疾患、発達障害や精神運動発達遅滞などの脳機能障害を新しい手法を用いた形態・機能画像解析や神経生理学的解析により適切な診断と評価を行い、新生児期、乳児期の早期からの有効な内科的、外科的治療方法の介入と確立を目指している。さらには遺伝学的解析による遺伝子改変モデル動物の作出により、従来の開発法とは異なる新規抗てんかん薬、抗精神病薬や代謝拮抗剤などのゲノム創薬に必要な分子病態の解明を目的としている。

(2) 研究方法

I. 脳機能障害を引き起こす先天性代謝、遺伝学的要因による病態の解明と治療方法の開発研究グループ

①・伊藤雅之. ②柿田明美. ③呉 繁夫. ④田中輝幸. ⑤廣瀬伸一. ⑥井本逸勢.

II：脳形成異常を含めた先天性脳機能障害の神経生理学的解析、機能学的・形態学的画像解析研究グループ

⑦井上祐紀. ⑧小林勝弘. ⑨白石秀明. ⑩中川栄二. ⑪中田安浩. ⑫前垣義弘.

III：脳形成異常を含めた先天性要因による脳機能障害の治療方法の検討グループ

⑬岩田欧介. ⑭大槻泰介. ⑮山本 仁.

(3) 本年度の研究成果

I. 脳機能障害を引き起こす先天性代謝、遺伝学的要因による病態の解明と治療方法の開発

- ①伊藤雅之：片側巨脳症、局在性皮質形成異常の手術試料を用いて、体細胞変異を検出するために手術試料と同一患者血液を用いて、脳病変のみに生じているゲノム DNA の構造異常を網羅的に解析し、責任遺伝子を検討中である。
- ②柿田明美：局在性皮質形成異常の脳組織で電気刺激により惹起した興奮動態をフラビン蛍光イメージング法で画像化して解析した。てんかんを有する脳皮質では特徴的なてんかん様興奮伝播が認められ、この興奮伝播は2つの構成成分よりなること、各々は異なる神経回路より生じている可能性が高いことを明らかにした。
- ③呉 繁夫：トランスジェニック手法による軽症型高グリシンモデルマウスの開発を行い、無脳症や脳脊髄破裂などの神経管欠損症を高率に認めた。本症モデルマウスは、葉酸代謝酵素の欠損で神経管欠損症が生じた初めての動物モデルである。
- ④田中輝幸：原因不明の大脳皮質形成/神経細胞遊走障害による病態機序解明の目的として *DCX* 遺伝子発現を調節するシスエレメントの解析と、核外膜蛋白 Nesprin-3 のアイソフォーム特異的機能解析を行った。Nesprin-3 が胎生期大脳皮質神経細胞に強く発現し、子宮内電気穿孔法を用いた胎仔脳内ノックダウンで大脳皮質放射状遊走が障害される事を明らかにした。
- ⑤廣瀬伸一：標的遺伝子内の変異を自由に出来るてんかんモデル動物キックインマウスを開発した。キックインマウス作出技術は効率良く多種のノックインマウスを作出できるため病態解明に寄与するものと思われる。
- ⑥井本逸勢：自作高精度 BAC アレイを用い、多発奇形/精神発達遅滞症例 536 例の微細ゲノ

ム構造異常を検討した。48 症例に検出した異常をモデル動物での領域内遺伝子の発現の組織特異性と機能の解析から疾患関連遺伝子を探索し、*UBE2A* が原因遺伝子候補の一つであることを新たに見出した。

II. 先天性脳機能障害の神経生理学的解析、機能学的・形態学的画像解析グループ

- ⑦井上祐紀：脳形成異常の患児を対象として Go/NoGo 課題施行中の ERP を測定し、患児の呈する発達障害特性の基盤となる病態を神経生理学的に解明した。著しい AD/HD 特性が N200 成分の形成に、PDD 特性と側頭葉の機能的/形態学的異常が P300 の形成異常に関連している可能性があることを見出した。
- ⑧小林勝弘：多小脳回と脳波の CSWS を認める 6 症例において、全症例で睡眠時脳波の CSWS パターンに伴い高周波振動を認め、広範囲の大脳皮質で同期性高周波を検出した。脳形成異常を基礎疾患とした CSWS では高次脳機能に影響している可能性が示唆された。
- ⑨白石秀明：皮質形成異常における脳磁図での棘波の特徴を比較検討した。皮質表層に皮質形成異常を持つ症例では、等価電流双極子は非常に狭い範囲に局在し、棘波の波長が短く傾きは大きく針状の波形を示した。各種脳磁図解析を組み合わせることにより、皮質形成異常をより特異的に診断する可能性が示唆された。
- ⑩中川栄二：小児てんかん発作時 NIRS と内科・外科治療前後における NIRS での認知機能評価、優位言語野の同定を行った。発作時 NIRS では、3D マッピングを使用することで 76%の症例で発作時の血液流量変化を捉えることが可能であった。片側巨脳症の発作間欠期における非巨脳側の波形パターンは、MRI で描出されないような大脳白質の微細な構造異常が、NIRS でのタスクに伴う Hb パターン異常として検知でき脳機能評価に有用であった。非侵襲的検査である NIRS による小児の

言語優位半球同定は、Wada テストの結果と一致し有用性が示唆された。

⑩中田安浩：結節性硬化症の MRI 画像において、皮質結節や白質病変の T2 延長領域の体積測定により、T2 延長領域の体積が多い程度てんかんの発症時期は早いことが示され、T2 延長領域の体積は臨床症状や予後などの予測に有用である可能性が示された。

⑪前垣義弘：患者データベース（17,474 例）から神経細胞の増殖の異常が推定される一群について、45 例の脳形成障害患者の臨床・画像診断を行った。著しい小頭症を呈する脳形成異常を 6 例見出し、神経細胞の増殖の異常が推定される小頭症には、進行性白質萎縮を呈する特異な一群が存在することを見出した。

Ⅲ. 先天性要因による脳機能障害の治療方法グループ

⑫岩田欧介：新生児脳症の新生仔豚モデルを作成し、低酸素受傷中・回復期・亜急性期の脳機能・酸素代謝とけいれん様発作の発現頻度、病理組織学的予後との関係を検討した。新生仔豚を全身麻酔下に 20 分間低換気とし、脳波・時間分解 NIRS の観察を行った。NIRS では脳組織酸素化 Hb が負荷前の 60-70%程度に低下し、血流の揺らぎが減少する傾向が認められ、前・中大脳動脈境界領域で 20-30%程度の急性神経細胞死が認められた。このモデルを用いて新生児の GABA 受容体刺激による抑制反応を成熟させる薬物（bumetanide）の効果を検討する予定である。

⑬大槻泰介：MRI で脳器質病変を認めない小児難治てんかん 24 例の外科治療例で、発作が消失した 14 例は複数の機能画像で局在所見が一致していた。複数の機能画像で焦点の局在所見を認める症例では、切除術による良好な発作予後が期待できることが明らかになった。

⑭山本 仁：脳形成異常に伴う難治てんかん発作を示す新生児、乳児では、初期治療として PB の静注を行ない、維持療法としては、未

熟脳に対する影響が少ない TPM や LEV を中心として、病態に合わせて ZNS、エダラボンなどを組み合わせる内科的治療が合理的な治療方法であることが明らかになった。

4. 本年度の研究業績

- ① 講演・シンポジウム 14 回
（うち国際学会シンポジウム 2 回）
- ② 論文：英文論文 58 編、和文論文 9 編、
総説 13 編
- ③ 国際学会発表 34 回
- ④ 受賞：第 17 回国際神経病理学会 (ICN2010)
優秀ポスター賞

5. 倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）

本研究課題を行うにあたり国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を得た。各分担研究者は当該施設の学内・院内生命倫理委員会の研究承認を得た。また、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年厚生労働省告示第 415 号）を遵守し研究を行った。研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解に関わる状況、動物実験に対する動物愛護上の配慮を行った。

5. 今後の研究課題と方向性

この 2 年間で病態解明のための新規の解析方法やモデル動物の開発体制がほぼ整ったので、最終年度では研究対象症例数を増やししながら、先天性要因による脳機能障害の発症病態解明を進めていきたい。診断と治療では、脳機能障害を新規の脳形態・機能画像解析や神経生理学的解析を用いて適切な評価と診断を行い、新生児期、乳児期の早期からの効果的な内科的、外科的治療方法導入の確立を目指したい。

