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　てんかんセンター
主任研究者名：中川栄二

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・レポジトリー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、神経内科、小児神経、脳神経外科、放射線科のてんかん医療体制を活かして、特に発達障害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。てんかん全国拠点施設として、難治性てんかんに対する三次医療機関として小児から成人・高齢者にいたるまでの望ましい診療体制を提言し、てんかん患者のモデル医療の実現に向けた質の高い情報発信を行う。研究成果をもとにしてNCNPてんかん市民公開講座や全国の医師やメヂカルスタッフ、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・レポジトリー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．研究組織

主任研究者

国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科　中川栄二

分担研究者

Ⅰ．てんかん臨床情報データベース（DB）化と臨床治験地域ネットワークの構築

① 脳神経外科てんかん臨床情報のデータベース化と臨床治験ネットワークの構築
　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

② 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医療情報室　波多野賢二

③ 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科　齋藤貴志

④ 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 - 片側巨脳症における生理学的検査所見と神経学的予後の検討 -
国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科　石山昭彦

Ⅱ．精神症状、発達症状を併存するてんかんの診断と治療戦略
⑤ 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　小児神経科　中川栄二
⑥ 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
⑦ 海馬硬化症を伴う側頭葉てんかんにおけるネットワーク解析の検討国立精神・神経医療研究センター病院　放射線科　佐藤典子

Ⅲ　てんかん基礎研究
⑧ 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
⑨ 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
⑩ てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明
山梨大学大学医学部　小児科　加賀佳美
⑪ グリア細胞の視点によるてんかん分子病態の解明
山梨大学大学院総合研究部医学域　薬理学講座　小泉修一

３．研究成果
Ⅰ．てんかん臨床情報データベースの構築
① てんかん患者データ抽出の自動化と精度向上：てんかん患者台帳のベースデータとして月次で実施しているてんかんの外来・入院患者のデータ抽出について、病院情報システムから自動出力プログラムを開発した。抽出する患者データは、外来・入院患者の基本情報と病名のみであったが、病名のコード・属性情報を追加し、データベース登録患者の選択作業の際にその情報を活用する環境を整備した。
② てんかん国際分類に対応したデータベース構築の検討：2017 年版てんかん国際分類では「発作型」「てんかん病型」「てんかん症候群」の診断軸の分類の設定と用語改訂が行われ、データベースの対応が必要である。予備的な検討として、ICD10・ICD11 とてんかん国際分類の比較検討を行った。ICD10 では国際分類との齟齬が大きかったが、ICD11 では国際分類と一定の整合が取られていることを確認した。
③外部データベース連携のためのネットワーク環境構築：診療情報交換の標準規格である SS-MIX2 ストレージの臨床情報を外部連携するためのシステムを病院内に導入し、標準・拡

張ストレージからのデータエクスポートの検証を実施した。NC 横断的研究事業でデータセンターが設置される国立国際医療研究センターと VPN による通信回線を整備し、セキュリティを担保した形で外部データセンターへ診療情報を送信する環境を整備した。
③ てんかん患者臨床データベースの整備：医療情報室からの抽出ファイルと医療連携室からの紹介患者リストをもとに月単位で入院と外来のデータベースを構築するフローを作成した。データベースソフトウェアに移行し、クエリによって患者 ID に紐づいた病名を収集してデータベース化するようにした。2017 年 6 月～2020 年 10 月の集計で、外来延べ患者数　4086 名（実人数 2868 名）、入院延べ患者数　4433 名（実人数 1678 名）のデータベースとなった。収集の精度を確認するため、月ごとに抜き打ちで検証する方針とした。入院例を対象に、国際抗てんかん連盟による 2017 年分類に基づいた診断情報を、電子カルテ上のテンプレートを利用して収集する体制を作った。2020 年 10 月現在 527 件の登録を行った。

Ⅱ．レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査
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るが、母集団が最も多く、研究目的でよく使われる JMDC 社から 2005 年 11 月からのてんかん病名（G40*）を付与されたレセプトデータを用いて検討を行った。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）を抽出するフローチャートを前年度のフローチャートを作成し解析中である。

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
脳波のデータベース化に向けての基盤構築を行った。全国の複数施設からの脳波データの登録が可能な体制を目指し、脳波データを収集し登録するためのハードウェアは整えた。複数施設からの登録にあたり、脳波データ登録のみで、データの閲覧や抽出が、オンライン上では出来ない状況であるため、その課題をクリアすべく、解決策を見出し、対応可能な状況を構築し全国の他施設からの登録が出来る体制を作る予定である。

Ⅳ．てんかんの適切な診断と治療戦略の研究
① てんかんの画像診断：近年登場した灰白質の類似度に着目したネットワーク解析手法は、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。海馬硬化症（HS）を伴う側頭葉てんかん（TLE）患者において、その手法を用いて特徴的なパターン抽出を試みた。TLEでMRIを撮像し、片側HS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。全脳のネットワーク指標δは3群間で有意差は認めなかった（$p>.05$）。しかし局所レベルでは、右左TLE患者群ともに健常者群と比べてClustering coefficientの低下を認めた（$p<.001$, uncorrected）。これらの低下部位は、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より広範な機能分離の低下を認めた。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）、これは同部の局所的な効率の上昇をあらわすと示唆される。一方右TLEでは有意な変化は認めなかった。Betweenness centralityは、右TLE、左TLEともに有意な変化は認めなかった。HSを伴うTLEにおいては、全脳のネットワークは保たれているが、機能分離低下や効率の上昇などの局所のネットワークの異常を認め、特に左TLEではより広範囲に異常を認めた。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、HSを伴うTLEの病態解明に貢献する可能性がある。

② 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などで認められるが、その発生機序は解明されていない。今回我々は、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た。片側巨脳症 18 例を対象とし脳波記録から、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。巨脳側では、術前に 9 例、術後に 15 例で SB が認められた。術前に SB があり、術後に SB が消失した症例はなかった。SB の発生機序に関する従来の仮説は、グルタミン酸輸送の抑制、視床-皮質連絡との関連などであるが、本研究では大脳の異常のみによって SB が発生し得ることを臨床的な結果から示している。半球離断術後に SB パターンが不規則となった点は、規則的な SB パターンの発生に視床・対側大脳半球との連絡が関与している可能性を示唆している。

③ てんかんと神経発達症の併存研究：小児てんかん手術症例における手術前後の適応行動、認知機能の変化：これまでに 18 例の小児てんかん手術例について術前、術後 6 か月、1 年の認知機能や行動の変化について質問紙や心理検査、脳波の一つである事象関連電位等を用いて検討を行った。発達障害様症状は、反抗挑戦性、自閉スペクトラム様症状がみられていたが術後有意に改善していた。実行機能の改善を認めたが、知的能力には変化がなかった。実行機能の改善は多くの例で認められたが、前頭葉上中前頭回焦点例や発作残存例で改善が乏しかった。術後、実行機能、発達障害様症状は改善しており、認知機能における手術の有用性も証明された。

前頭葉てんかん症例の浅睡眠時脳機能ネットワークと臨床症状との関連研究：対象は前頭葉てんかん(FLE)21 例と定型発達児 17 例。19 チャネル脳波を用いて睡眠 Stage1 の脳波を測定し、その周波数から Phase lag index(PLI)を測定し、グラフ理論を用いて解析した。FLE では、γ 帯域の PLI が有意に低下していた。FLE では浅睡眠時の左右大脳半球の連結性が下がりやすく、この PLI は持続的注意課題のお手つきエラーと負の相関を認めていた。すなわち FLE の PLI が持続的注意と関連し、バイオマーカとなる可能性が示唆された。

④ てんかんと精神症状の併存研究：てんかんのある患者に抑うつや不安が合併すること

は一般よりも多く、時に発作以上にQOLに影響を与えることが知られている。精神科てんかん外来初診した71人のてんかん患者のうち、治療を要する抑うつを23人（32%）、不安を18人（25%）に認めた。抑うつ患者23人の中でうつ病の診断基準を認めるものは6人であり、知的障害や発達障害の二次障害や心因性非てんかん性発作など背景疾患は多岐に渡った。不安患者21人の背景も同様であった。抑うつ、不安への治療の半数弱は非薬物療法であり、薬物療法のうち半数弱は抗てんかん薬の調整だった。

⑤　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。

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。海馬硬化および瘢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。

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。

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：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。そして１）けいれん重積 4 週間後にてんかん原性が誘導されること、２）同時期には苔状繊維異常発芽を認めること、３）同時期の活性化アストロサイト（てんかん原生型アストロサイトとする）は、IP3 受容体タイプ 2（IP_3R2）依存的な Ca^{2+} 過活動を起こすこと、４）IP_3R2 欠損マウスではてんかん原性獲得が阻害されること、てんかん原性型アストロサイトの RNA-seq 解析により、5) てんかん原生アストロサイトに高発現する分子として代謝型グルタミン酸受容体 mGluR5 を同定した。mGluR5 はシナプス新生を引き起こす分子として知られており、てんかん原性アストロサイトに発現する mGluR5 が上記 1)～4) の引き金となっている可能性を示した。

Ⅵ. 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。

Ⅶ. 2018 年度より当てんかんセンターは、厚労省から「てんかん診療全国拠点機関」として指定された。全国のてんかん診療機関をリードできる臨床的・基礎的研究を推進し、成果を全国に展開し、わが国のてんかん診療の向上をはかりたい。各専門疾病センターとも連携し、各科共通の臨床データベースの構築に向けて、てんかんの疾病統計分析や臨床研究、臨床治験がスムーズに施行できるシステムの構築を目指す。てんかんを様々な脳形態・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したい。てんかん病態解明のための基礎研究では、引き続き遺伝学的病態解明とモデル動物の開発を行い、てんかんの発症病態解明と治療方法の開発を進めていきたい。

2020 年度には当センターが全国てんかんセンター協議会を開催した。2023 年度には、日本てんかん学会学術集会を開催することになった。より一層の研究のレベルアップを図りたい。

Ⅷ. 今後の研究の進め方について：
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。
2020 年度には、当センターが全国てんかんセンター協議会を開催し、また 2023 年度には、日本てんかん学会学術集会を開催することになった。より一層の研究のレベルアップを図りたい。

Ⅸ. 研究成果の発表（原著論文、講演）

2019 年度（初年度）
【論文】英文　34 編、和文 6 編、総説 13 編、計 53 編、うち査読付論文計 40 編　、【書籍】英文　1 編、和文 15 編　計 16 編、【学会発表】国際学会 17 回、国内 80 回、計 93 回、【シンポジウム】国際 2 回、国内 26 回、計 28 回、【講演】国際 2 回、国内 53 回、計 55 回

2020 年度（2 年度）
【論文】英文　26 編、和文 4 編、総説 10 編、計 40 編、うち査読付論文計 30 編、　【書籍】英文　0 編、和文 8 編　計 8 編、【学会発表】国際学会 4 回、国内 46 回、計 50 回、【シンポジウム】国際 2 回、国内 6 回、計 8 回、【講演】国際 0 回、国内 29 回、計 29 回

（７）研究成果による産業財産権の出願・取得状況
特になし

精神・神経疾患研究開発費 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

分担研究： 片側巨脳症における半球離断術後の脳波の検討

分担研究者 国立精神・神経医療研究センター外来部　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*

【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などで認められるが、その発生機序は解明されていない[1,2]。今回我々は、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、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。巨脳側では、術前に9例、術後に15例でSBが認められた。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。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。SBパターンが認められた症例において、suppression時間は術前1-8秒、術後1-10秒と大きな変化がなかった。一方、burst時間は術前1-16秒、術後1-94秒と大きく変化した。

【考察】

①SBの発生機序に関する従来の仮説は、グルタミン酸輸送の抑制[3]、視床-皮質連絡との関連[4,5]などであるが、本研究では大脳の異常のみによってSBが発生し得ることを臨床的な結果から示している。

②通常、大田原症候群ではsuppression時間3-4秒、burst時間1-3秒の規則的なSBパターンが認められる[6]。半球離断術後にSBパターンが不規則となった点は、規則的なSBパターンの発生に視床・対側大脳半球との連絡が関与している可能性を示唆している。

【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] Ching S, et al. A neurophysiological-metabolic model for burst suppression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(8):3095-3100.
[3] Milh M, et al. Inhibition of glutamate transporters results in a ″suppression-burst″ pattern and partial seizures in the newborn rat. Epilepsia. 2007;48(1):169-174.
[4] Japaridze N, et al. Neuronal Networks during Burst Suppression as Revealed by Source Analysis. PLoS One. 2015;10(4):e0123807.
[5] Zhang Z, et al. Isoflurane-Induced Burst Suppression Increases Intrinsic Functional Connectivity of the Monkey Brain. Front Neurosci. 2019;13:296.
[6] 稀少てんかんの診療指標. 日本てんかん学会

脳神経外科てんかん臨床情報のデータベース化と臨床治験ネットワークの構築

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

【諸言】

本研究では、当センターにおけるてんかんを対象とした臨床研究、共同研究および治験を促進することを目的に、患者データベースの構築を進めている。

以下、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の 2 点に分けて記載する。

1. 脳神経外科データベース：　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いる。また、外科的に切除される脳検体は研究用試料として非常に貴重である。これらを有効に利活用する仕組みが求められる。
2. てんかんセンターデータベース：　共同研究や治験を促進するためには、継続的に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。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。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どのように一定の質を担保しつつ入力を進めるかが課題であった。

【方法】

1. スプレッドシート（Microsoft Excel®）からデータベースソフトウェア（Microsoft Access®）に移行した。手術情報と診断情報、合併症情報、患者転帰を別のテーブルにしてリレーションを持たせた。要望に応じて研究用にデータを提供できる状態とした。患者基本情報、術前検査情報（MRI、脳波など）、術後の発作転帰、病理所見、手術分類を加え、国際抗てんかん連盟（ILAE）の 2017 年新てんかん分類(1)に基づいた診断項目を、術前サマリーから収集する体制を構築した。

   手術検体の利活用を促進するために、NCNP バイオバンクと連携し、同意取得できた外科治療患者を全例バイオバンクに登録する仕組みを運用した。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. 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。2017 年新てんかん分類に基づいて医師入力項目を明確にし、診療支援システム上で入力作業ができるようにした。

【結果】

1. 脳神経外科データベースは、1999 年以降 2020 年 12 月までで臨床診断と術式を含む 2093 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を追加して前向きに登録を進めている。当センター内の共同研究者に共有することで、外科症例を対象にした臨床研究の発案・遂行に役立てた。

   NCNP バイオバンクとの連携体制を構築し、手術適応のある難治てんかん患者の登録を 2017 年 6 月に開始し、2020 年 10 月 31 日現在、同意取得者 345 名で、脳試料 259 検体、血漿 301 検体、血清 164 検体が登録されている。「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傷および関連する皮質形成障害の診断に関する研究」「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」にて利活用されている。

2. 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 年の新しいてんかん国際分類に準拠したデータベースへの新しい登録体制を 2017 年 6 月から開始した。2017 年 6 月～2020 年 10 月の集計で、外来延べ患者数　4086 名（実人数 2868 名）、入院延べ患者数　4433 名（実人数 1678 名）のデータベースとなっている。入院例を対象に、国際抗てんかん連盟 2017 年分類に基づいた診断情報を、電子カルテ上のテンプレートを利用して収集する体制を作った。2020 年 10 月現在 527 件の診断情報が登録されている。

【考察】

1. 2017 年に国際抗てんかん連盟（ILAE）による新しいてんかん国際分類が発表された。近年は ILAE による国際分類に準拠した発表・論文が強く求められており、素早い対応が必要である。バイオバンクとの連携により、外科検体を用いた共同研究への発展が期待される。データベースの利活用を促進するために、周知などに更なる工夫が必要である。
2. てんかんセンターデータベースについては、診断情報が保険病名に限られている点が課題である。入院患者はテンプレートを用意することで質の高い診断情報を収集できているが、外来患者への応用が今後の課題である。

【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る。

参考文献

1. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia, 58: 512–521, 2017. doi:10.1111/epi.13709

レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査

研究分担者：齋藤貴志（国立精神・神経医療研究センター病院小児神経診療部）

【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】令和元年度の研究の目的は、レセプトデータを利用したてんかん診療実態の改名が可能かどうか、実現性を検討した。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。

令和 2 年度：実際のデータを用いた解析の準備を行うことを目的とした。母集団が最も多く、研究目的でよく用いられる JMDC 社のレセプトデータを使用することとした。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。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、真のてんかん患者を抽出するフローチャートを前年度のフローチャートを作成することとした。

【結果】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

てんかん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。
環境整備：関係データベースマネージメントシステムとして、オープンソースで、標準的 SQL 言語を使用できる PostgreSQL をインストールし、JMDC 社から提供されたデータを扱える環境を構築した。この環境にて、2019 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概算で、2019 年度の 18 歳未満の小児てんかん患者数は 19,827 名、母集団は 1,584,213 名であり、受療率 1.25%であり、既報と同様の結果で妥当であると考えられた。
【今後の予定】フローチャートに従い、レセプトデータから真の小児てんかん患者を同定し、疫学や診療実態を明らかにする。
また、既存のコンピューターにデータベースをせ

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
‐片側巨脳症における生理学的検査所見と神経学的予後の検討‐

分担研究者　石山昭彦
所属機関名　国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科

【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。我々は脳波記録のデータベース化の体制構築を行い、脳波記録データベース作成を行っている。今後、他施設からの登録ができる体制を整えるための準備を行っているところである。今回は片側巨脳症における脳波を含めた生理学的検査所見と神経学的予後との関連についての検討を行った。

【方法】片側巨脳症の患児の手術前後の体性感覚誘発電位(SSEP)と発作や発達予後に関して、術後 SSEP における健側 N20 の出現の有無と発作消失の関連について統計学的に検討した。

対象は片側巨脳症患児で手術療法を行った 18 例で、手術後の SSEP 検査で健側脳に N20 の出現を認めなかった 6 例(A 群)と、健側脳に N20 の出現を認めた 12 例(B 群)の 2 群に分け、N20 出現の有無と発作や、発達予後との関連についての検討を行った。

【結果】対象の片側巨脳症患児のてんかん発作発症時年齢は生後 7 日。てんかん外科手術術後の平均フォローアップ期間は 4.4 年であり、両群に有意差は認めなかった。対象の手術術式は、半球離断術が 15 例、後方離断が 2 例、脳梁離断術が 1 例であった。

A 群に発作完全消失の患児は認めず、B 群では 12 例中 10 例で発作の消失を認めた。発達指数は A 群で有意に低く(Mann-Whitney U test; $p = 0.0123$)、発達指数 10 未満の児が A 群では 4 例、B 群で 1 例で認められた。

発作転帰は A 群では、6 名すべてが ILAE 分類 class 4 または 5（class 4 が 4 名、class 5 が 2 名）で、全例有意語未獲得であった。また運動発達では、6 名中 5 名が歩行不能であった。一方で、B 群の発作転帰は 12 名中 10 名が ILAE 分類 class 1（残りの 2 名は class 5）であった。また 12 名中 6 名が有意語を獲得し、8 名が歩行可能であった。

【考察】

片側巨脳症の患児の術後の健側脳の SSEP の N20 所見の有無は、発作予後、発達予後に関連していることが示唆された。今後、手術前後の脳波所見との関連などを含めた更なる詳細な検討をすすめていく予定である。

今後、脳波登録のデータベース化をすすめつつ、種々のてんかん症候群の疾患において脳波所見や電気生理学的検査の解析、検討を継続していきたい。

精神・神経研究開発費 1-4

「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」

演題名：海馬硬化症を伴う側頭葉てんかんにおけるネットワーク解析の検討

所属　国立精神・神経医療研究センター病院
　　放射線診療部

氏名　佐藤典子

諸言

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。今回の研究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した。

方法

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

全脳のネットワーク指標 δ は 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。

考察

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ｒ

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。

結論

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、更なる臨床的有用性の探索が望まれる。

参考文献

1. Tijms BM, Seriès P, Willshaw DJ, et al. Similarity-based extraction of individual networks from gray matter MRI scans. Cereb Cortex. 2012;22:1530-1541.
2. Sporns O, Tononi G, Kötter R. The human connectome: A structural description of the human brain. PLoS Comput Biol. 2005;1:e42.
3. Yasuda CL, Chen Z, Beltramini GC, et al. Aberrant topological patterns of brain structural network in temporal lobe epilepsy. Epilepsia. 2015;56:1992-2002.
4. Liao W, Zhang Z, Pan Z, et al. Altered functional connectivity and small-world in mesial temporal lobe epilepsy. PLoS One;5:e8525.

成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析

金澤　恭子[1]、山田　知香[2]、藤井　裕之[3]
森本　笑子[4]、木村　有喜男[3]、池谷　直樹[5]
西川　典子[6]、塚本　忠[1]、斎藤　貴志[7]
佐藤　典子[3]、岩崎　真樹[8]、高橋　祐二[1]
中川　栄二[7]

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科[1]、放射線科[3]
脳神経外科[8]、小児神経科[7]
東京女子医科大学東医療センター
脳神経外科[2]
大阪市立大学大学院 医学研究科
放射線診断学･IVR 学[4]
横浜市立大学附属病院　脳神経外科[5]
順天堂大学医学部附属順天堂医院
脳神経内科[6]

諸言

超高齢社会とともに、認知症、てんかん、免疫介在性神経疾患等の神経疾患の有病率はこの 20 年間で倍増している。自己免疫性辺縁系脳炎は自己抗体に関連する大脳辺縁系を中心とした炎症性疾患で免疫治療の効果があり早期診断、加療が必要だが、本邦では自己抗体の測定に時間がかかり、自己抗体陰性の症例では診断に難渋するため、不十分な治療により認知症、薬剤抵抗性てんかんの原因となっている現状がある。

これまで、薬剤抵抗性てんかんを呈する自己免疫性辺縁系脳炎の臨床的な診断基準を作成する取り組みが行われてきた。坂本らの報告では、てんかんの原因として免疫機序が疑われ入院精査した 70 症例を対象に後方視的にアルゴリズムを適応し検討した(1)。対象の男女比は 50%ずつで、発症年齢の中央値は 54(9-74)歳だった。MRI は全例で、髄液検査は 66 例､FDG-PET は 68 例で施行された。抗 VGKC 複合体抗体は 40 例，NMDAR は 32 例，GAD は 68 例で検索され、自己抗体の陽性率は全体として 19%だった。

自己免疫性脳炎のバイオマーカーの解明が望まれ、3T MRI、FDG-PET、SPECT、長時間ビデオ脳波などによる画像/神経生理学的検査に基づく評価、血液/髄液のリンパ球解析による病態評価、遺伝子解析による発症の危険因子の評価等が必要である。

方法

検査結果、髄液、血清、唾液検体を用い、自己免疫性辺縁系脳炎の患者の新規抗体の解析、病態の解明、新規バイオマーカーの検索を行う研究を開始した。

分析的研究、神戸大学主幹の多施設共同研究である。

結果

対象は自己免疫性辺縁系脳炎と診断され、血清、髄液、唾液検体が取得可能で、画像検査、神経生理学的検査等が実施されている症例を患者群、自己免疫性辺縁系脳炎以外と診断されたが、血清、髄液、唾液検体が取得可能で、画像検査、神経生理学的検査が実施されている症例を非患者群とした。

探索的な研究として実行可能な症例数として患者群は 50 例と設定した。比較対象としての非患者群は 20 例と設定した。

診療記録の情報を用い年齢、性別、診断名、薬剤投与歴、臨床経過、自己抗体価、髄液検査、画像検査、神経生理学的検査の結果等について検討する。

血液、髄液検体を用いたリンパ球機能解析、血清、血漿、髄液検体を用いた自己抗体の探索、血液、唾液検体を用いた遺伝子解析を行う。

測定施設は、神戸大学、Schleswig-Holstein 大学、新潟大学、コスミックコーポレーションを予定している。

当施設での倫理委員会の承認が得られたため、症例登録を開始した。
データの提供にあたり、研究責任者または研究分担者は研究対象者識別番号リストを作成する。個人情報は提供しない。
匿名化されたデータは主幹機関の事務局で管理される予定である。
本研究は診断を目的とした遺伝子解析は行わないこと、自己免疫性辺縁系脳炎の有病率は低く関連する遺伝子異常があっても発症の危険性が著しく高くなるわけではないことから、研究対象者には結果を開示しない方針である。ただし、偶発的所見については、有効な対処方法がある場合には研究対象者への開示を検討し、必要に応じ遺伝カウンセリングの機会を設ける予定である。

考察

抗 LGI1 抗体関連脳炎、抗 NMDAR 抗体関連脳炎における遺伝的素因について、抗 NMDAR 抗体陽性の 96 症例、抗 LGI1 抗体陽性の 54 症例について GWAS(genome-wide association study)で検討した結果が報告されている(2)。
抗 LGI1 抗体関連脳炎では有意水準を超えた 6 番染色体、有意水準をわずかに下回った 4、19 番染色体について SNP が同定され、各々 HLA-DRB1 と HLA-DQA1 の遺伝子間領域、DCLK2 の上流領域、ZNF528 のイントロン領域に位置していた。
HLA アレルについては、抗 LGI1 抗体関連脳炎で MHCII (Major Histocompatibility Complex class II)遺伝子ファミリーで関連のある 11 ヵ所の HLA アレルが同定された。
NMDAR では MHCI アレル 1 ヵ所が同定され、これは 24 歳以降に発症した群では有意だったが、より若年で発症した群では相関がなかった。

結論

自己免疫性辺縁系脳炎は免疫治療の効果があり早期診断、加療が必要だる。不十分な治療により認知症や薬剤抵抗性てんかんをきたしている。自己免疫性辺縁系脳炎の臨床的な診断基準を作成する取り組みが行われてきた。自己免疫性脳炎のバイオマーカーの解明が望まれる。抗 LGI1 抗体関連脳炎、抗 NMDAR 抗体関連脳炎と関連を示す SNP、HLA アレルが報告されている。本研究では特に自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する予定である。

参考文献

1. 坂本 光弘, 松本 理器, 十川 純平, 端 祐一郎, 武山 博文, 小林 勝哉, et al. 自己免疫性てんかんにおける診断アルゴリズムの提唱とその有用性の予備的検討. 臨床神経. 2018;58:609-16.
2. Mueller SH, Färber A, Prüss H, Melzer N, Golombeck KS, Kümpfel T, et al. Genetic predisposition in anti-LGI1 and anti-NMDA receptor encephalitis. Ann Neurol. 2018;83(4):863-9.

てんかん臨床情報データベースの整備

TMC 情報管理・解析部 病院 医療情報室
波多野賢二

緒言

近年リアルワールドデータとして電子カルテ・レセプトデータ等の診療情報データベースが疾患研究・医薬品開発に活用されるようになり、診療情報の活用のニーズが益々大きくなっている。当センターのてんかん診療グループでも、診療科横断的なてんかん患者台帳を整備し、疾患統計等に活用されている。

本分担研究では、当センターにおいて、てんかん診療・研究に従事する医師・研究者が症例の情報を共有し、診療・研究に有効に活用しうる、てんかん臨床情報データベースの整備を目的とする。さらに、診療データと外部の疾患レジストリ・症例データベースとの連携を可能にする環境整備・システム開発を進めることを目的とする。

方法

1. てんかん患者データ抽出の自動化と精度向上

てんかん患者台帳のベースデータとなる外来・入院患者情報を病院情報システムの DWH から自動的に出力するプログラムを開発した。

2. てんかん国際分類に対応したデータベース構築の検討

2017 年版 ILAE てんかん国際分類に対応したデータベースの構築のため、予備的な検討として、ICD10・ICD11[*1]とてんかん国際分類の比較検討を行った。

3. 外部データベース連携のためのネットワーク環境構築

6 NC の電子カルテデータ統合プロジェクト（JASPEHR）[*2]の一環として、診療情報交換の標準規格である SS-MIX2 ストレージの臨床情報を外部連携するためのシステムを病院内に導入し、ストレージからのデータエクスポートを行った。

結果

1. これまで抽出する患者データは、外来・入院患者の基本情報と病名のみであったが、病名のコード・属性情報を追加し、てんかん患者データ抽出の作業効率化が実現した。
2. ICD10 では新国際分類との乖離が大きかったが、ICD11 では国際分類と一定の整合が取られていることを確認した。
3. 国立国際医療研究センターに設置されたデータセンターと VPN 回線を結び、診療情報の送信を開始した。今年度は過去 10 年間の受診患者約 4 万人分の基本情報・病名・処方・検体検査情報が送信されている。

考察

症例データベースは、疾患固有の臨床情報を正確かつ広範に保持することが求められる。日々蓄積される電子カルテの診療情報から精度の高い疾患情報を取得し、症例データベースに反映する仕組みが必要である。6NC の JASPEHR 事業での電子カルテデータの統合ストレージは、当院としては初めての電子カルテデータの包括的な外部連携が実現した。この経験を元に、てんかんの多施設症例データベース構築を視野に今後研究開発を継続したい。

結論

てんかん患者データベースの整備を目的に、電子カルテ情報との連携環境の研究開発を行った。

参考文献

1. https://icd.who.int/en/ （WHO）
2. https://www.japanhealth.jp/project/research.html （JH）

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

【緒言】
難治性てんかんは多剤併用によって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。本研究では、新生児期より難治性てんかんを呈する*KARS*-related Leukodystrophy（KRL）[1]の分子病態と結節性硬化症（TSC）の異常細胞の遺伝的異質性（loss of heterogeneity（LOH））について、分子神経病理学的側面から発症病態の解明を行なった。

【方法】
(1) KRLの病態解明：ヒト疾患で同定したKARS遺伝子異常について、CRISPR/Cas9を用いた遺伝子改変マウスを作成した。系統維持を行なった上で、発現解析や表現型解析を行った。
(2) TSCのLOH解析：研究同意を得た3例のTSC患者の手術検体を固定後、4-6μm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、サンガーシークエンス解析を行った。
（倫理面の配慮）生体試料を用いた遺伝子解析は、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実験安全委員会の承認のもとで行なった。

【結果】
(1) KRLの病態解明：マウスの交配率が低く、個体の十分な確保ができなかった。KARS遺伝子産物はリジンtRNA合成酵素であり、この機能喪失は胎生致死に至る可能性がある。凍結杯作成を行い、生存胎仔の追跡を行なっている。
(2) TSCのLOH解析：dysmorphic neuron、balloon cell、その他の細胞について、各20細胞のDNAでシークエンス解析が可能であった。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クエンスにより配列を確認した。

【考察】
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KRLの病態解明のためにモデルマウスを作成した。今回の研究から、臨床的にはLysRS活性の残存が表現型に影響を及ぼし、マウスでは致死的になっている可能性が考えられた。
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（LOH）。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。

【結論】

特異な画像を呈する新生児難治性てんかんの臨床像と病理、遺伝子異常を明らかにしたことより、新しい疾患概念を提唱し、未診断症例の診断への一助となることが期待される。

今後、本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。

【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

分担研究報告書

（課題名）てんかんモデル動物を用いた病態解明と治療法の開発

（所属）国立精神・神経医療研究センター病態生化学研究部

（氏名）星野　幹雄

緒言

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。我々はこれまでに、イハラてんかんラット(IER)，Auts2 KO (Auts2-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ている。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的とする。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する。今年度はAuts2 の小脳における役割の解析、IER およびその原因遺伝子のてんかん発症における解析を行った。

方法

複数種類のてんかんモデル動物を作製・解析し、同じ原因で惹起されるヒトてんかんの病理を理解し、さらに診断法の開発につなげる。また、「てんかん症例リサーチリソース」から、モデル動物に相同なヒトてんかんを探し出すことも研究目的とする。

結果

(1)Auts2 遺伝子について。

Auts2 ノックアウト (KO) マウスを作製したところ、正常なマウスと比べて小脳が著しく小さくなっていることを発見した。発達過程にある *Auts2* KO マウスの小脳では、プルキンエ細胞の神経突起が短く、枝分かれの少ない未熟な形態を示していました。さらに、プルキンエ細胞上に作られるシナプスにも異常が見られ、小脳の神経系ネットワーク形成が破綻していることが分かった。また、この *Auts2* 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。つまり、AUTS2 はプルキンエ細胞の成熟を促し、シナプスを介した神経系ネットワーク形成に関わることで、小脳の正常な発達にたいへん重要な働きをする遺伝子であることが分かった。小脳機能とてんかんの関わり合いはまだわからないが、AUTS2 遺伝子がヒトてんかんに関わることから、この知見も重要であると考えている。これは論文として発表した(Yamashiro et al,2020)

(2)IER 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。これは論文として発表した(Hayase et al, 2020)。

考察

昨年の報告では、AUTS2 タンパク質が脳内の興奮性/抑制性を制御すること、*AUTS2* 遺伝子に変異を持つてんかん患者でも同様な病態である可能性について報告した(論文化は今年、Hori et al, 2020)。今年度の研究ではさらにそれに追加して、AUTS2 が小脳の発達にも関与することが明らかになった(Yamashiro et al, 2020。)もしかすると、大脳および小脳の異常が相互作用して、てんかんの病態に何らかの影響を与えている可能性が考えられた。

また、今回 DSCAML1 とてんかんとの関連を明らかにしたが(Hayase et al, 2020)、蛋白質のコンフォーメーション異常によるてんかんの場合には、4PBA のような分子シャペロンが治療薬として使えるかもしれないことがわかった。そちらは投稿準備中である。

結論

AUTS2, DSCAML1 という二つの遺伝子に絞っててんかん発症の原理の一端に迫ることができた。また、シャペロンが新たなてんかん治療薬として使える可能性にも迫ることができた。今後は他の原因遺伝子についても調べ、より一般的なてんかんの発症機構に迫る必要がある。

参考文献

Yamashiro K, Hori K, Esther L, Aoki R, Shimaoka K, Arimura N, Egusa SF, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Watanabe T, Uesaka N, Kano M, Hoshino M.
AUTS2 governs cerebellar development purkinje cell maturation, motor function and social communication
iScience. 2020 Nov 18;23(12):101820.

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
Science Advances 2020 Sep 2;6(36):eaba1693.

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, 23(6):101183.

Down syndrome cell adhesion molecule like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility.
Hayase Y, Amano S, Hashizume K, Tominaga T, Miyamoto H, Kanno Y, Ueno-Inoue Y, Inoue T, Yamada M, Ogata S, Balan S, Hayashi K, Miura Y, Tokudome K, Ohno Y, Nishijo T, Momiyama T, Yanagawa Y, Takizawa A, Mashimo T, Serikawa T, Sekine A, Nakagawa E, Takeshita E, Yoshikawa T, Waga C, Inoue K, Goto YI, Nabeshima Y, Ihara N, Yamakawa K, Taya S, Hoshino M.
Acta Neuropathol Commun. 2020, 8(1):206.

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　精神科　谷口　豪

緒言

てんかんのある患者に抑うつや不安が合併することは一般よりも多く、時に発作以上に QOL に影響を与えることが知られている 1)。てんかんのある患者の抑うつや不安は見逃されていることが多いため、それらの症状をスクリーニングする検査が開発されている 2)。しかし、スクリーニング陽性の患者の精神医学的診断や必要な治療や支援に関しては不明な点が多い。

方法

国立精神・神経医療研究センター病院精神科および脳神経外科てんかん外来初診を受診した患者を対象に病歴、生活歴、てんかん診断、精神科診断、選択された治療法などの臨床情報およびスクリーニング検査を含む各種検査所見を後方視的に研究する。

今年度はパイロット研究として 2020 年 4〜9 月精神科てんかん外来受診患者を対象とした。

本研究は 2020 年 7 月に倫理申請委員会で研究実施が承認されている。

結果

精神科てんかん外来初診した、てんかん患者 71 人のうち、抑うつのスクリーニング検査で陽性は 27 人認めた。その中で実際に精神科臨床的に抑うつを認めるものは 85%にあたる 23 人だった（てんかん患者：32%）。抑うつ患者 23 人の中でうつ病の診断基準を認めるものは 6 人であり、陽性的中率は 0.22 であった。

知的障害や発達障害の二次障害や心因性非てんかん性発作など精神科診断は多岐に渡った。

不安のスクリーニング検査陽性は 21 人であり、精神科臨床的にも不安を認めるのは 86%にあたる 18 人だった（てんかん患者：25%）。不安患者 18 人は知的障害や発達障害の二次障害である 10 人が最多であり、うつ病合併の不安障害や適応障害などの多様な精神科診断から構成された。

抑うつ、不安への治療の半数弱は非薬物療法であり、薬物療法を選択した患者の半数弱は抗てんかん薬の調整であり、向精神薬の追加を要した患者は 30%程度であった。

考察

てんかん患者の中で不安や抑うつを合併する患者の割合は先行研究 3)4)とほぼ同じである一方で、構成される精神科診断名は多岐に渡り、抗うつ薬や抗不安薬を要する患者は少数であった。

不安や抑うつのスクリーニング検査で陽性となった患者に対して精神科医へのコンサルトができるような体制さらには環境調整や心理教育などの非薬物療法が施行可能な多職種連携体制の整備が必要な可能性が示唆された。

結論

てんかん患者の抑うつや不安の背景となる精神科疾患および必要となる治療や支援も多様である可能性が示唆された。

参考文献

1) Micoulaud-Franchi J 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

2) Tadokoro Y et al. Screening for major depressive episodes in Japanese patients with epilepsy: validation and translation of the Japanese version of neurological disorders depression inventory for epilepsy (NDDI-E). Epilepsy Behav 25: 18-22, 2012

3) Fiest KM et al. Depression in epilepsy: a systematic review and meta-analysis. Neurology 80: 590-9, 2013

4) Yang TW et al. Anxiety disorders in outpatient clinics of epilepsy in tertiary care hospitals: a meta-analysis. Seizure 75: 34-42, 2020

グリア細胞の視点によるてんかん分子病態の解明

小泉修一[1]、佐野史和[2]
山梨大　院　医　薬理[1]，小児科[2]

【緒言】

これまで我々は、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。昨年度までに本研究班において、前述のモデルマウスを用いて IP_3 受容体タイプ2（IP_3R2）依存的な Ca^{2+}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」の存在と、RNA-seq 解析によるその表現型解析について報告してきた。しかし、この Ca^{2+}過活動から、てんかん原性および発作原生に至る分子メカニズムは解明されていない。そこで今回、てんかん原性型アストロサイト依存的なてんかん原生獲得機構および、グリア細胞依存的な発作原生機構の解明を目指して、さらなる予備的な検討を開始した。

【方法】

てんかん原生プロジェクト：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、(1) mGluR5 がアストロサイトで発現亢進する分子機構および、（２）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：Aldh1l1-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 Ca^{2+} imaging を施行した。

【結果】

てんかん原生プロジェクト: アストロサイト mGluR5 発現は生後 21 日目にほぼ消失したが、成獣におけるてんかん原生型アストロサイトでは再発現していた。アストロサイト初代培養系を用いた検討から、細胞外 ATP が adenosine A2b 受容体を介して mGluR5 の再発現に関与する可能性があることを見出した。また、アストロサイト特異的 Grm5cKO マウス（Glast-creERT2::floxGrm5）を作成し、蛍光免疫組織化学染色法でアストロサイト特異的に Grm5 が KO されることを確認した。

発作原生プロジェクト: グリア細胞がてんかん発作の起始・拡散・抑制などに果たす役割の解明のため、前述の方法を用いて脳葉をまたぐ広域なアストロサイト Ca^{2+}シグナルを in vivo で観察した。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 Ca^{2+}シグナル（超広域 Ca^{2+} シグナル）が惹起されることを見出した。

【考察および今後の展望】

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するために、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスを用いて、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とけいれん閾値の低下が抑制されるかを検討する。また、覚醒下脳波同時記録全脳 Ca^{2+} imaging を行い、超広域 Ca^{2+}シグナルが神経活動（けいれん発作）に与える影響を解明する。

【結論】

てんかん原生型アストロサイトの mGluR5 再発現機構が解明された。SE 中の in vivo 全脳 Ca^{2+} imaging を施行できることを実証した。

【参考文献】

1)Kim et al, J Clin Invest, 126, 1983-1997 (2017)

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 [1)]
国立精神・神経医療研究センター[2)]
精神保健研究所　知的発達障害研究部
加賀佳美 [1,2)]

緒言

これまでの研究により、小児てんかんでは神経発達症の併存が多く、特に自閉スペクトラム症様行動と睡眠時発作が関連していた事を報告した [1)]。てんかんの中には、睡眠に関連したてんかんも多く、睡眠障害は発作を増悪させることや認知機能、QOL を低下させることなどが知られている [2)]。てんかんに多い睡眠疾患としては、閉塞性睡眠時無呼吸や中枢性無呼吸、レストレスレッグ症候群、不眠症、過眠症などがある [3)]。そこで小児てんかんにおける睡眠の特徴と認知機能の関連について明らかにすることを目的とした.

方法

対象は、2017 年 7 月～2019 年 12 月にてんかんの精査のため、国立精神・神経医療研究センター病院に入院し同意が得られた 5～19 歳の小児発症てんかん症例 91 名（男性 46 名、女性 45 名）。方法は、①質問紙（睡眠習慣調査票, PARS, 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, 持続注意課題であるもぐらーず®)、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。

なお, 本研究の実施にあたり、当センター倫理委員会の承認を得て行っている(A2017－019)。

結果

1. 患者背景

対象者の①発作焦点部位としては、前頭部 47%、側頭部 27%、頭頂部 2%、後頭部 11%、全般 12%であった。②発作型は、GTC12%、焦点発作 59%、強直発作 15%、欠神発作 7%、脱力発作 2%、spasms2%、③発作頻度は日単位 37%、週単位 19%、月単位 28%だった。④WISC-IV の全検査 IQ は 100 以上 17%、80-100 31%、60-80 33%、40-60 15%、⑤神経発達症の併存は、注意欠如多動症(ADHD)15%、自閉スペクトラム(ASD)症 12%、ASD+ADHD 20%にみられ、⑥学校への登校状況は、12%が不登校であった。

2. 睡眠状況

寝室は同室が 73%、就寝時間の不規則性がある症例は 35%で、入眠潜時の最大時間差は平均 1 時間 53 分と長い傾向を認めた。中途覚醒回数は、1 回 15%、1-2 回 3%、2 回 10%、3 回 5%、4 回以上が 2%で、中途覚醒がある例が 35%、中途覚醒時間は平均 34 分だった。昼寝をする例は全体の 28%で、内訳として年長 1 名、小学生 12 名、中学生 9 名、高校生以上 2 名で発作頻度は 12 名が日単位で、12 名がそれ以下であった。必ずしも、低年齢群、発作が多い群だけではなかった。寝付きの習慣としては、てんかん児には定型発達児に比べると、入床を嫌がる、暗室恐怖などが高い傾向を認めた。睡眠中の行動としては、体動が多い、ぴくつき、息止まり、息つまり、夜驚、悪夢が多かった。

起床時には離床困難、目覚め不良、昼間の眠気がある例が多く、てんかん児では、睡眠の質の低下が考えられた。

3. 中途覚醒が認知機能に及ぼす影響

全検査 IQ80 以上の 6－15 歳までのてんかん児 33 名について、中途覚醒ありの 12 名となしの 21 名について検討を行った。両群で全検査 IQ や SNAP-IV、PARS で有意差を認めなかった。表 1 に結果を示す。中途覚醒あり群では表出の制御、ことばの読みが有意に低下していた。

表 1：中途覚醒と認知機能との関連 **p<0.01, *p<0.05

	あり	なし	t-test (p value)
DN-CAS (表出の制御)			
mean (SD)	8.3 (2.2)	9.9 (2.1)	0.049*
Wisconsin card sorting test			
CA :達成数	2.2 (1.7)	3.1 (2.3)	0.223
PEN: 保続	8.0 (4.6)	5.3 (5.4)	0.211
TE: 誤反応数	23.4 (8.3)	17.3 (8.2)	0.088
読みチェック	5.7 (4.9)	1.5 (2.0)	0.002**
書きチェック	6.2 (4.7)	2.5 (2.6)	0.008**
K-ABC2			
ことばの読み	7.2 (2.9)	9.3 (2.1)	0.024*
ことばの書き	7.2 (2.6)	8.5 (3.1)	0.256

持続的注意を示す CPT の結果では、見逃しエラー、お手つきエラー、反応時間のばらつきとも中途覚醒あり群で成績が悪かったが、なし群との有意差は見られなかった。中途覚醒あり群における適応行動は、なし群より低い傾向にあり、特に内在化問題の不適応行動は有意に高くなっていた(p<0.05)。

考察

小児てんかん患者では、就寝時間の不規則性や睡眠潜時が長くなっており、中途覚醒や睡眠時の問題が多く認められていた。夜間の発作が認知機能に及ぼすだけでなく、睡眠リズムの障害などを来し、特に実行機能や読み書きの学習困難を来している可能性がある。てんかん児では REM 期と Stage3-4 などの徐波睡眠期の減少があり、また、REM と徐波睡眠期が記憶の形成に重要な役割を果たすことも報告されている[4]。てんかん児における睡眠のパターンの不規則化が認知機能障害を来している可能性があり、睡眠障害に着目しつつ、認知機能についての評価を行っていく必要がある。

研究協力者

上田理誉、(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　知的・発達障害研究部)
齋藤貴志、石山昭彦、佐々木征行、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）
岩﨑真樹（国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経外科）
佐野史和（山梨大学医学部小児科）

引用文献

1) Ueda R, Kaga Y, Kita Y, et al, *Epilepsy&Behavior* 2020
2) Gibbon FM, et al. *Arch Dis Child* 2019
3) Sejal VJ, et al., *Semin Pediatr Neurol,* 2015
4) Chan S, et al., *Epilepsy&Behavior,* 2011

1-4. Integrative research on pathomechanism, diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy

Eiji Nakagawa, MD, PhD
Epilepsy Center, National Center Hospital, NCNP,
Tokyo, Japan

***Background*:** Rapid advances in molecular genetics, neuroimagings 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 Kagai (University of Yamanashi), Masayuki Itoh (NCNP), Mikio Hoshino (NCNP) and Schuichi Koizumi (University of Yamanashi).

Methods and Results

Iwsaki et al. were undertaken to establish the database compilation of neurosurgical epilepsy clinical information and construction of the clinical trial network. Development of patient database is essential to promoting joint researches and clinical trials. Here we report progress in developing 1. Neurosurgical database and 2. Epilepsy patient database of the NCNP Epilepsy Center. Excel-based NCNP Neurosurgical database was moved to the database software Microsoft Access®. Relational database was build between patient basic profiles, diagnostic information, surgical information, surgical complications, and pathological diagnosis. Epilepsy classification was adapted to the new 2017 international classification system of epilepsy and seizures (1). Registration of epilepsy patients to the NCNP Biobank was started in June 2017. Blood samples and surgical specimen, if available, in all surgical cases are prospectively stored for utilization in future researches. A total of 345 patients

have been registered to the Biobank. The database was shared on several occasions with fellows and staffs for conducting clinical studies. With help from medical information staffs and bio-resource division, a new workflow was established to generate inpatient and outpatient database from electric medical records. Epilepsy classification was adapted to the new 2017 classification system. Total 4086 and 4433 cases have been entered to the outpatient and inpatient databases, respectively between January 2017 and October 2020. Diagnostic information is still based on the insurance name of disease. Further improvement is necessary to obtain rich clinical information.

Hatano was undertaken to construct clinical information database of epilepsy patients using the common identity management system (Super ID Registration Management System) in NCNP.
Purpose: Develop an epilepsy clinical information database for epilepsy treatment and research with sharing clinical information from electronic medical records in the hospital, Methods: 1. Automatic data extraction of clinical data of epilepsy patients. 2. Examination of database construction corresponding to new international classification of epilepsy. 3. Network system development for external data exchange. Results: 1. The code and attribute information of the disease name was added to improve the work efficiency of epilepsy patient data extraction. 2. ICD11 was confirmed that there was a certain degree of consistency with the new international classification of epilepsy. 3. We connected a VPN line to the data center set up at the National Center for Global Health and Medicine and started transmitting medical information. Discussion: Clinical case databases are required to retain disease-specific clinical information accurately and extensively. It is necessary to have a mechanism to acquire accurate disease information from the medical information of electronic medical records accumulated daily and reflect it in the case database. Based on the experience of building an integrated storage of electronic medical record data in 6NC's JASPEHR project, we would like to continue research and development with a view to building a multicenter case database of epilepsy.
Conclusion: Regarding the development of the epilepsy patient database, we conducted research and development of an environment linked with electronic medical record information.

Saito et al. was undertaken to establish the reliminary study on feasibility of epidemiologic epilepsy of survey using health claim data. The aim of this study is to investigate the epidemiological and clinical practice of epilepsy by using the receipt data. We purchased the receipt data of epilepsy patients from 2005 through 2019 of JMDC. Since this receipt data contains data on patients with high socioeconomic status, we decided to conduct research only on children. Receipt data is created for insurance claims and should be used with caution because the number of patients might be overcalculated. For this reason, it is necessary to approach a true epilepsy patient by combining diagnosis, medical practice code, and medication. We have created an algorithm for extracting true epilepsy patients in pediatric patients. We used PostgreSQL as a relational database management

system and built an environment that can handle the data provided by JMDC. In JMDC receipt data, pediatric patients under the age of 18 who were given the diagnosis of epilepsy (ICD-10 code G40 *) in 2019 are calculated to be 19,827 (12.5/1,000). The results were similar to those previously reported. In the next year, we plan to apply the flow chart to identify true pediatric epilepsy patients from receipt data and clarify epidemiology and clinical practice of epilepsy in childhood.

Ishiyama et al, were undertaken to predict post-operative developmental and seizure outcomes in patients with hemimegalencephaly using the short latency somatosensory evoked potentials.
Purpose: This study aimed to predict the seizure and developmental outcomes after epilepsy surgery in patients with hemimegalencephaly (HME) by assessing N20 responses of the median nerve short latency somatosensory evoked potentials (SSEP) observed in the non-HME side of the brain.
Method: We retrospectively investigated the clinical features, SSEP findings, and seizure and developmental outcomes reported in the medical records of 18 HME patients who met the following inclusion criteria: (1) the median nerve SSEP were examined within 3 months after surgery and (2) the post-operative follow-up period was 12 months or longer. The developmental outcomes at the last follow-up were evaluated using the Kinder Infant Development Scale. The patients were divided into two groups, those with absent N20 responses in the non-HME side of the brain (Group A, n = 6) and those with preserved N20 responses (Group B, n = 12). Clinical profiles and seizure and developmental outcomes were statistically compared between the groups. Results: The median age at the onset of epilepsy, median age at surgery, and median follow-up period were 7 days, 3 months, and 4.4 years, respectively, which did not significantly differ between the groups. Surgical procedures included hemispherotomy in 15, posterior quadrantectomy in two, and corpus callosotomy in one patient. While none of the patients in Group A achieved seizure freedom, 10 patients did so in Group B (Fisher's exact test; p=0.00151). DQ at the last follow-up was lower in Group A (Mann-Whitney U test; p = 0.0123). DQ was below 10 in four patients of Group A and in one patient of Group B.
Conclusion: N20 response of the median nerve SSEP observed in the non-HME side of the brain can be an early predictor of post-operative seizure and developmental outcomes in patients with HME.

Nakagawa et al. were undertaken to analyse of suppression-burst in hemimegalencephaly patients after hemispherotomy. Introduction: Hemimegalencephaly (HME) is a congenital cortical malformation which shows enlargement of one cerebral hemisphere, resulting in intractable epilepsy in early infancy, incomplete hemiplegia, and psychomotor delay. The EEG at onset shows a suppression-burst pattern in the interictal period. In many patients, medication is ineffective, and early hemispherotomy can eliminate epileptic seizures and improve developmental outcomes. Suppression-burst (SB) is an electroencephalogram (EEG) pattern that shows relative quiet periods (suppression) and clustered brain activity (burst) alternating at intervals of several seconds, which is observed in

Ohtahara syndrome and early myoclonic encephalopathy, but its pathogenesis has not been elucidated. In this study, we focused on cases in which SB pattern persisted on the affected side that disconnected from the thalamus and contralateral cerebral hemisphere after hemispherotomy. Method: We retrospectively evaluated 18 patients (10 boys, 8 girls) with HME who underwent hemispherotomy under 2 years of age at the National Center of Neurology and Psychiatry between October 2009 and March 2019. The presence and sustained period of SB pattern were confirmed from EEG records. In addition, the suppression and burst duration were measured in patients with SB pattern. Results: The median age of epilepsy onset was 7 days old (range, 0 day-2 months), and the median age at surgery was 3 months (range, 2-17 months). On the affected side, SB was observed in 9 cases preoperatively and in 15 cases postoperatively. There were no cases with preoperative SB which disappeared postoperatively. On the non-affected side, SB was observed in 5 cases preoperatively, but there were no cases of SB postoperatively. The maximum duration of SB on the affected side was 6 years and 11 months after surgery. In patients with SB pattern, there was no significant change in the range of suppression duration from 1-8 seconds preoperatively to 1-10 seconds postoperatively. In contrast, the range of burst duration changed significantly from 1-16 seconds preoperatively to 1-94 seconds postoperatively. Discussions: ① Previous hypotheses for the pathogenesis of SB are inhibition of glutamate transport [3] or association with thalamo-cortical networks [4,5], but in this study, clinical results show that SB can be caused only by cerebral abnormalities. ② In Ohtahara syndrome, a regular SB pattern with suppression time for 3-4 seconds and burst time for 1-3 seconds is usually observed [6]. The fact that SB pattern became irregular after hemispherotomy suggests that connections with the thalamus and contralateral cerebral hemisphere may be related to the development of a regular SB pattern. Conclusion: Even after hemispherotomy, SB appeared on the affected side, suggesting that SB can be caused only by cortical abnormalities.

Sato et al. were applied similarity-based gray matter network analysis in left and right TLE patients with hippocampal sclerosis. Although the global network properties were not changed in TLE compared to the controls, the regional network changes were observed mainly in the ipsilateral temporal lobes. Left TLE showed more widespread changed compared to right TLE. Our findings may contribute to better understanding of pathophysiology of TLE.

Kanazawa et al. were undertaken to establish The analysis of clinical pathophysiology and treatment of epilepsy in the adult and elderly. Purpose: In the super-aging society, dementia, epilepsy, autoimmune neurologic diseases increased twice-hold during the last 2 decades. Autoimmune limbic encephalitis is inflammatory disease mainly involving the limbic system, and is associated with autoantibodies. Immunotherapy is effective and early diagnosis and treatment is necessary. Laboratory tests for autoantibodies, however, takes a long time in Japan. Moreover, patients with autoimmune

encephalitis may have negative result for available autoantibody tests. Diagnosis is often difficult, and insufficient treatment may result in cognitive impairment and drug-resistant epilepsy. Method: Analytical multicenter study has started with Kobe University as the principal investigator. Clinical examination results as well as samples such as cerebrospinal fluid (CSF), serum and saliva are evaluated. The study aims to search for novel autoantibody as well as biomarkers, and analyzes the pathophysiology of autoimmune encephalitis. Results: Subjects are patients with the diagnosis of autoimmune limbic encephalitis. Samples such as CSF, serum and saliva are analyzed. The results of clinical examination results such as neuroimaging, and neurophysiological examination are also analyzed. Control subjects are patients with the diagnosis other than autoimmune limbic encephalitis, with the available samples and clinical examination results. The study was approved by the ethics committee at our institution, and patient recruitment has been started. Conclusion: Genetic predisposition for autoimmune encephalitis has been analyzed using GWAS in NMDAR- and LGI1-associated encephalitis (Mueller et al., 2018). Therefore, our study also aims to investigate genetic predisposition for autoimmune encephalitis.

Kaga et al. were undertaken to evaluate the clarification of pathophysiological findings and exploration study of neurophysiological biomarker for epileptic children. Introduction: Previous studies have shown that sleep onset seizures are involved in adaptive behavior. Therefore, cognitive function and adaptive behavior may be affected by sleep. The purpose of this study was to clarify the relationship between sleep characteristics and cognitive function in pediatric epilepsy. Methods: The subjects were 91 pediatric onset epilepsy cases (46 males) aged 5-19 years who were admitted to NCNP hospital from July 2017 to December 2019. The following tests were performed; (1) questionnaires (Sleep Habits Questionnaire, PARS, SNAP-IV), (2) adaptive behavior (Vineland-II), (3) executive function tests (Stroop test, Wisconsin Card Sorting test: WCST, Mogura-zu), and (4) learning tests (K-ABC2 word reading and writing). We compared the relationship between sleep problems and cognitive function. Results: Forty-seven percent had comorbid developmental disorders, and 13% were absent from school. As for sleep characteristics, 35% had irregular bedtimes and longer sleep latencies, and 35% had cases of mid-waking, with a longer average mid-waking time of 34 minutes. Children with epilepsy had more problems with sleep onset behavior (reluctance to enter the bed, fear of the dark room), behavior during sleep (lots of body movements, twitching, breath holding, choking, night terrors, nightmares, etc.) and behavior during waking (difficulty leaving the bed, wakefulness, and daytime sleepiness). Next, they were divided into two groups according to the presence or absence of mid-waking, and cognitive function tests were compared. The mid-waking group showed a significant decrease in interference suppression and learning to read words. In addition, the adaptive behavior scale was lower, and the maladaptive behavior of internalization was particularly high in the mid-waking group. Conclusion: These results suggest that poor sleep quality is associated

with cognitive dysfunction, especially in executive function and learning. Previous reports have shown that poor sleep quality in children with epilepsy causes abnormalities in memory formation, suggesting that poor memory retention may lead to learning difficulties. In the future, we would like to analyze EEG during sleep in children with epilepsy and examine the relationship between EEG and cognitive function tests.

Ito et al. were undertaken to establish a study of molecular pathology of intractable epilepsy with developmental disorders. Intractable epilepsy id 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 (KRL) and a pathological system of loss-of-heterogeneity (LOH) of tuberous sclerosis complex (TSC). As for KRL, we developed a CRISPR-Cas9 mediated genetic model mouse. However, most of the mouse were embryonic lethal. Therefore, we keep the strain with frozen embryos and examine behaviour analysis of small number of the mice. On the other hand, 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 phenotypes of KRL model mouse may reflect those of human KRL. TSC1/TSC2 complex controls mTOR activity. 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.

Hoshino et al. were undertaken to Investigation of pathology for epilepsy using animal models..
(AUTS2 Project) *Autism susceptibility candidate 2* (*AUTS2*), a risk gene for autism spectrum disorders (ASDs), is implicated in telencephalon development. Because AUTS2 is also expressed in the cerebellum where defects have been linked to ASDs, we investigated AUTS2 functions in the cerebellum. AUTS2 is specifically localized in Purkinje cells (PCs) and Golgi cells during postnatal development. *Auts2* conditional knockout (cKO) mice exhibited smaller and deformed cerebella containing immature-shaped PCs with reduced expression of *Cacna1a*. *Auts2* cKO and knock-down experiments implicated AUTS2 participation in elimination and translocation of climbing fiber synapses and restriction of parallel fiber synapse numbers. *Auts2* cKO mice exhibited behavioral impairments in motor learning and vocal communications. Because *Cacna1a* is known to regulate synapse development in PCs, it suggests that AUTS2 is required for PC maturation to elicit normal development of PC synapses and thus the impairment of *AUTS2* may cause cerebellar dysfunction related to psychiatric illnesses such as ASDs.
(IER and DSCAML1 Project) The Ihara epileptic rat (IER) is a mutant model with limbic-like seizures whose pathology and causative gene remain elusive. In this report, via linkage analysis, we identified

Down syndrome cell adhesion molecule-like 1(Dscaml1) as the responsible gene for IER. A single base mutation in Dscaml1 causes abnormal splicing, leading to lack of DSCAML1. IERs have enhanced seizure susceptibility and accelerated kindling establishment. Furthermore, GABAergic neurons are severely reduced in the entorhinal cortex (ECx) of these animals. Voltage-sensitive dye imaging that directly presents the excitation status of brain slices revealed abnormally persistent excitability in IER ECx. This suggests that reduced GABAergic neurons may cause weak sustained entorhinal cortex activations, leading to natural kindling via the perforant path that could cause dentate gyrus hypertrophy and epileptogenesis. Furthermore, we identified a single nucleotide substitution in a human epilepsy that would result in one amino acid change in DSCAML1 (A2105T mutation). The mutant DSCAML1^{A2105T} protein is not presented on the cell surface, losing its homophilic cell adhesion ability. We generated knock-in mice (Dscaml1^{A2105T}) carrying the corresponding mutation and observed reduced GABAergic neurons in the ECx as well as spike-and-wave electrocorticogram. We conclude that DSCAML1 is required for GABAergic neuron placement in the ECx and suppression of seizure susceptibility in rodents. Our findings suggest that mutations in DSCAML1 may affect seizure susceptibility in humans.

Koizumi et al. were analyzed the role of glial cells, especially astrocytes, in induction of epileptogenesis. Using pilocarpine-induced status epilepticus (SE) model, we reported that reactive astrocytes (we termed “epileptogenic astrocyte”) are strongly induced after SE. The epileptogenic astrocyte could be important role for the induction of epileptogenesis via Ca^{2+} hyperexcitability mediated by IP_3 receptor type 2 (IP_3R2). RNA-seq analysis showed increased expression of various genes including metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) which is known to change synaptic connection via synaptogensis in epileptogenic astrocytes. However, it remains unclear unclear how epileptogenic astrocyte are induced and leads to epileptogenesis. In this study, we demonstrated that extracellular ATP causes upregulation of mGluR5 in astrocytes via adenosine A2b receptor. To clarify epileptogenic astrocyte leads to mossy fiber sprouting which can cause epileptogenesis via mGluR5 singnaling, we plan to add experiments using Glast-CreERT2::flx-mGluR5, astrocyte-specific mGluR5 knockouts mice. In addition, the mechanisms underlying this seizure spread or abnormal synchronization remain also poorly understood. To clarify whether astrocytic Ca^{2+} signals, associated with neural activity, are implicated in the initiation or spread of epileptic seizure, Ca^{2+} imaging was performed at the whole cortex in awake Aldh1l1-CreERT2::flx-GCaMP6f mice under a fluorescence dissection microscope. Synchronous Ca^{2+} signals in astrocytes were extensively observed in the cortex from the frontal lobe to the occipital lobe cortex (Ultra-wide Ca^{2+} spreads) during pilocarpine induced status epilepticus (SE). This ultra-wide Ca^{2+} spreads were never observed before SE. Ultra-wide Ca2+ spread in astrocyte is unique phenomenon to SE, suggesting that the ultra-wide Ca^{2+} spread in astrocytes may contribute to seizure spread and/or abnormal synchronization in epileptic seizures

(ictogenesis). We plan to perform additional experiments to clarify the causal relationship between them.

Conclusion

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