



Elevated cerebrospinal fluid neuronal injury biomarkers within 24 hours of onset in infection-triggered acute encephalopathy compared to complex febrile seizures

老川, 静香

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2025-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第9064号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100496345>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Elevated cerebrospinal fluid neuronal injury biomarkers within 24 hours of onset in
infection-triggered acute encephalopathy compared to complex febrile seizures

感染関連急性脳症における発症 24 時間以内の
髄液中神経傷害バイオマーカーの上昇：複雑型熱性けいれんとの比較

(指導教員：神戸大学大学院医学研究科医科学専攻 野津寛大教授)

老川 静香

【背景】

熱性けいれん（FS）は小児救急分野でよく見られる疾患であり、中でも 30 分以上持続する症例は熱性けいれん重積状態（FSE）とされ、多くは複雑型熱性けいれん（CFS）と診断される。一部の FSE 患者では、急性脳症（AE）に進展することがあるが、その発症メカニズムは未だ不明である。これまでの研究では、脳脊髄液中に含まれる中枢神経由来の神経傷害バイオマーカーが、外傷性脳損傷や脳卒中などの急性脳損傷、または多発性硬化症やアルツハイマー病などの神経変性疾患、および精神障害などで注目されてきた。しかし AE における髄液中の神経傷害バイオマーカーに関する文献は乏しく、特に小児急性脳症を対象とした研究はさらに限られている。つまり、AE の初期段階における神経学的障害やその病態には不明点が多く残されている。

【研究目的】

本研究の目的は、発症 24 時間以内の髄液中の神経傷害バイオマーカー（Neuron-specific enolase protein (NSE)、growth differentiation factor 15 (GDF-15)、S100 calcium binding protein B (S100B)、glial fibrillary acidic protein (GFAP)、および tau protein (Tau)) を測定し、CFS および AE 患者の急性期における神経傷害の程度を比較しながら、その発症メカニズムを明らかにすることを目的とした。特に、AE の中でもけいれん重積型二相性急性脳症（AESD）の病態を他の AE と比較して明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

本研究は後ろ向き臨床観察研究であり、神戸大学および兵庫県立こども病院の倫理委員会の承認の下で実施された（承認番号：180041）。2016 年 11 月 1 日から 2022 年 12 月 31 日までの期間に、30 分以上持続する FSE で兵庫県立こども病院を受診し、発症 24 時間以内に脳脊髄液が採取された 18 歳未満の小児を対象とした。各症例の臨床症状、治療、画像所見、検査所見、最終診断および予後は、レジストリデータおよび診療録から後ろ向きに収集した。髄膜炎や脳炎などの明らかな中枢神経感染症は除外した。神経学的予後は、発症 1 か月後に小児用脳機能カテゴリースケール (PCPC) を用いて評価した。症例は、CFS および AE として分類され、AE 患者はさらに AESD と分類不能型 AE に細分化された。NSE、GDF-15、S100B、および Tau は、Luminex Discovery Assay Human Premixed Multi-Analyte Kit (R&D Systems®, Minneapolis, USA) を使用して定量分析した。GFAP は酵素連結免疫吸収法 (ELISA) (Human GFAP ELISA Kit (MyBioSource®, San Diego, USA)) を使用して測定した。結果は、数値 (%) または中央値 [四分位範囲 (IQR) (第 1 四分位と第 3 四分位)] で表した。統計解析には、Mann-Whitney U 検定または Kruskal-Wallis 検定を用い、必要に応じて Steel-Dwass 検定を行った。相関関係は Spearman の順位相関係数を用いて分析した。有意水準を $p < 0.05$ とした。

【結果】

合計 63 名の患者が最終的に対象となり、そのうち 45 名 (61.6%) が CFS、18 名 (24.7%) が AE と診断された。AE 患者のうち、9 名が AESD、9 名が分類不能型 AE と診断された。患者背景および臨床的特徴については表 1 に示し、詳細は補足表 1 に記載した。分類不能型 AE 患者は他の群と比較して統計学的に有意に年齢が高かった。63 例中 8 例が神経学的後遺症を呈した。各診断群間で発作持続時間に有意差はなく、中央値は CFS 群で 80 分 (IQR 59-115 分)、AESD 群で 123 分 (IQR 88-225 分)、分類不能型 AE 群で 42 分 (IQR 0-100 分) であった。

次に、髄液バイオマーカー値を、CFS、AESD、分類不能型 AE の 3 つの診断群間で比較した (図 1)。GDF-15 の中央値 (IQR) は AESD 群および分類不能型 AE 群で有意に上昇し、CFS 群と比較して高値であった (AESD: 77.7 pg/ml [47.6-115.4]、分類不能型 AE: 102.4 pg/ml [67.9-189.4] vs. CFS: 23.6 pg/ml [0-54.9]; それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.001$)。また、分類不能型 AE 群では AESD 群よりもさらに高値であった。S100B の中央値 (IQR) は AESD 群で CFS 群よりも有意に高値を示した (AESD: 485 pg/ml [364.3-915.5] vs. CFS: 175.3 pg/ml [0-263.4]; $p < 0.05$)。さらに、分類不能型 AE 群では S100B の増加は見られず (0 pg/ml [0-204.5])、S100B の上昇は AESD 群に特異的であることが示された。

さらに、9 名の AESD 患者に焦点を当て、後遺症を認めた 6 名と、後遺症のない 3

名を比較した。両群で患者背景に有意な差はなく、非後遺症群の方が発作持続時間が長い傾向がみられた（表 2）。AESD 群全体において、S100B は発作の持続時間と相関がなかった（図 2）。両群で S100B および GFAP を比較し（図 3）、S100B の中央値（IQR）は後遺症群の方が非後遺症群よりも有意に上昇していた（702.4 pg/ml [486.1-1786.9] vs 122.9 pg/ml [61.4-243.6]; $p < 0.05$ ）。GFAP は両群で有意差はなかったが、後遺症群の方がより高い傾向がみられた（235.5 pg/ml [15.75-466.5] vs 8 pg/ml [4-18]; $p = 0.3$ ）。

【考察】

本研究では、CFS および AE の急性期（発症 24 時間以内）における髄液中の神経傷害バイオマーカーを測定し、比較した。本研究における重要な発見の 1 つは、AESD 群で発症 24 時間以内に髄液 S100B の上昇が特徴的にみられたことである。2 つめに、これは CFS および AE を対象として初めて髄液 GDF-15 を測定した研究であり、髄液 GDF-15 は AE 群全体において CFS 群よりも有意に高かったことを示した。

S100B は、AE の中でも AESD 群で有意に高く、神経学的後遺症を有する AESD 患者ではさらに高値を示した。S100B は、中枢神経系においてはアストロサイト由来のカルシウム結合タンパク質であり、炎症や虚血など様々なストレスに応答して分泌される。細胞外に放出された S100B は濃度依存性に機能することが知られており、生理的な低濃度では神経保護効果をもつが、高濃度ではグルタミン酸やアストロサイト

の異常な活性化などのメカニズムを介して、神経炎症/傷害の組織反応を引き起こし、神経炎症や細胞死に密接に関連することが報告されている。アストロサイトから持続的に放出された高濃度の S100B が、AESD の発症初期の病態形成に関与している可能性が示唆される。

本研究は、CFS および AE において初めて髄液 GDF-15 を測定した報告であり、髄液中の GDF-15 は AE 群において CFS 群よりも有意に高値であることを示した。GDF-15 は transforming growth factor (TGF)- β スーパーファミリーに属し、炎症、心筋虚血、がんなどに関連することが知られており、敗血症やミトコンドリア疾患のバイオマーカーとして有用とされている。一方で、FSE や AE における GDF-15 の臨床的意義は不明である。最近の研究では、髄液中の GDF-15 が中枢神経系での統合ストレス応答 (ISR) の活性化を反映すると報告された。本研究では、S100B とは異なる上昇パターンを示し、GDF-15 は AESD および分類不能型 AE の両群で上昇し、CFS 群では上昇しなかった。このことから、AE 群全体における GDF-15 の増加を示唆しており、中枢神経系特異的な ISR の活性化を反映している可能性がある。AE における髄液 GDF-15 の意義を明確にするためには、さらなる研究が必要である。

また、けいれん重積時間がバイオマーカーに与える影響は依然として議論的である。AESD 群では初回発作から 24 時間以内に S100B が既に上昇し初期病態への関与が示唆されたが、発作持続時間と S100B には相関関係は認めなかった。AESD 群の

中でも後遺症を呈した患者はさらに S100B 値が有意に上昇しており、一方で GFAP は有意差を認めなかった。これらの結果より、AESD の発症要因とされる興奮毒性は、単に発作持続時間のみで決まるものではなく、AESD 患者のアストロサイトにおける機能的異常が構造的損傷に先行して起こる可能性が考えられる。特に、分類不能型 AE 群では S100B の上昇が見られなかったことから、AESD の病因は他の AE とは異なる可能性が示唆される。

全体として、AESD 群においては S100B が発症初期から既に上昇している一方で、GFAP や Tau に有意な上昇が認められなかったことから、AESD 発症後 24 時間以内にはアストロサイトや神経軸索の構造的損傷がまだ進行していない可能性が示唆される。過去の研究で報告された AE における GFAP や Tau の増加は、AE 発症後の二次的な神経傷害を反映している可能性がある。S100B は AESD の発症メカニズムと関連し、初回発作後 24 時間以内の S100B 高値は二次的な神経傷害がより重篤に進行する可能性を示唆している。

【本研究の限界】

本研究にはいくつかの限界がある。まず、単一施設で実施された後ろ向き研究である。次に、本研究の対象は神経症状が 30 分以上持続する患者に限定されており、30 分未満の発作から急性脳症を発症した例は含まれていない。また、縦断的分析ではないため、各症例でのバイオマーカーの経時的な変化は評価できていない。

【結論】

本研究では、FSE 発症から 24 時間以内の発症早期の髄液バイオマーカーを評価した。NSE、GFAP、Tau の濃度は、いずれの診断群においても上昇していなかった。一方、S100B は発症初期に AESD 群で上昇しており、特に神経学的後遺症を伴う AESD 患者においてさらに顕著であった。また、AE 群では、CFS 群と比較して GDF-15 が上昇しており、さらに分類不能型 AE 群で高値を示した。本研究により、AE や AESD の病態解明に重要な示唆を得た。

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲 第 3443 号	氏 名	老 川 静 香
論 文 題 目 Title of Dissertation	Elevated cerebrospinal fluid neuronal injury biomarkers within 24 hours of onset in infection-triggered acute encephalopathy compared to complex febrile seizures 感染関連急性脳症における発症 24 時間以内の髄液中神経傷害バイオマーカーの上昇：複雑型熱性けいれんとの比較		
審 査 委 員 Examiner	主 査 尾 藤 祐 子 Chief Examiner 副 査 小 谷 穰 治 Vice-examiner 副 査 菱 本 明 豊 Vice-examiner		

（要旨は1, 0 0 0字～2, 0 0 0字程度）

【背景】

熱性けいれん (FS) は小児救急分野で多くみられ、中でも 30 分以上持続する症例は熱性けいれん重積状態 (FSE) とされ、多くは複雑型熱性けいれん (CFS) と診断される。一部の FSE 患者では急性脳症 (AE) に進展することがあるが発症メカニズムは不明である。過去の研究では、脳脊髄液中に含まれる中枢神経由来の神経傷害バイオマーカーが、外傷性脳損傷や脳卒中などの急性脳損傷または多発性硬化症やアルツハイマー病などの神経変性疾患および精神障害などで注目されてきた。しかし AE における髄液中の神経傷害バイオマーカーに関する文献は乏しく、特に小児急性脳症を対象とした研究は限られているため、AE の初期段階における神経学的障害やその病態には不明点が多い。

【研究目的】

本研究の目的は、発症 24 時間以内の髄液中の神経傷害バイオマーカー (NSE, GDF-15, S100B, GFAP, Tau) を測定し、CFS および AE 患者の急性期における神経傷害の程度を比較し、発症メカニズムを明らかにすることを目的とした。特に AE の中でもけいれん重積型二相性急性脳症 (AESD) の病態を他の AE と比較して明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

本研究は後ろ向き臨床観察研究であり、神戸大学および兵庫県立こども病院の倫理委員会の承認のもとで実施された (承認番号 180041)。2016 年 11 月 1 日から 2022 年 12 月 31 日までの期間に 30 分以上持続する FSE で兵庫県立こども病院を受診し、発症 24 時間以内に脳脊髄液が採取された 18 歳未満の小児を対象とした。各症例の臨床症状、治療、画像所見、検査所見、最終診断および予後は、レジストリデータおよび診療録から後ろ向きに収集した。髄膜炎や脳炎などの明らかな中枢神経感染症は除外した。神経学的予後は、発症 1 か月後に小児用脳機能カテゴリースケール (PCPC) を用いて評価した。症例は CFS および AE として分類、AE 患者はさらに AESD と分類不能型 AE に細分化した。NSE, GDF-15, S100B, および Tau は Luminez Discovery Assay Human Premixes Multi-Analyte Kit を使用して定量分析した。GFAP は酵素連結免疫吸収法 (ELISA) を使用して測定した。

【結果】

対象は 63 名で、45 名が CFS、18 名が AE と診断され、AE のうち 9 名が AESD、9 名が分類不能型 AE と診断された。分類不能型 AE 患者は有意に高年齢で 8 例が神経学的後遺症を呈した。各診断群間で発作持続時間に有意差はなかった。バイオマーカー値を CFS, AESD, 分類不能型 AE の 3 群で比較した。GDF-15 の中央値は AESD 群および分類不能型 AE 群で有意に上昇し CFS 群と比較して高値、分類不能型 AE 群では AESD 群より高値であった。S100B の中央値は AESD 群で CFS 群より有意に高値であった。分類不能型 AE 群では S100B の増加は見られず、S100B の上昇は AESD 群に特異的であることが示された。さらに 9 名の AESD 患者に焦点を当て後遺症群 6 名と非後遺症群 3 名を比較すると、両群で背景に差はなく AESD 群で S100B は発作持続時間と相関がなかった。両群で S100B と GFAP を比較すると、S100B は後遺症群が非後遺症群より有意に上昇した。GFAP 群は後遺症群がより高かった。

【考察と結論】

本研究では CFS と AE の急性期における髄液中の神経傷害バイオマーカーを測定し比較した。重要な発見の一つは、AESD 群で発症 24 時間以内に髄液 S100B の上昇がみられたことで、また、髄液 GDF-15 は AE 群が CFS 群より有意に高値であることを示した初の研究となった。S100B は AESD 群で有意に高く、神経学的後遺症を有する AESD 患者ではさらに高値であった。S100B はアストロサイト由来のカルシウム結合タンパク質で炎症や虚血など様々なストレスに応答して分泌される。細胞外に放出されると濃度依存性に機能し、高濃度では神経炎症や傷害を引き起こすことが報告されており、アストロサイトから持続的に放出された S100B の AESD 発症初期の病態形成への関与が示唆される。本研究は、CFS と AE において初めて髄液 GDF-15 を測定したもので、AE 群は CFS 群より有意に高値であることを示した。GDF-15 は TGF- β スーパーファミリーに属し、敗血症などのバイオマーカーとして有用であるが、FSE や AE での臨床的意義は不明である。本研究では GDF-15 は AESD 群と分類不能型 AE 群で上昇したことから中枢神経系特異的な統合ストレス応答の活性化を反映している可能性がある。けいれん重積時間がバイオマーカーに与える影響は、AESD 群では初回発作から 24 時間以内に S100B が上昇し初期病態への関与が示唆され、後遺症ありの患者はさらに S100B が上昇し、一方で GFAP は有意差がなかったことから、AESD の要因である興奮毒性は、アストロサイトの機能的異常が構造的損傷に先行して起こる可能性が示唆された。全体として、AESD 群においては発症後 24 時間以内にアストロサイトや神経軸索の構造的損傷が進行していない可能性が示唆された。本研究の限界は、単一施設での後ろ向き研究であること、対象を神経症状が 30 分以上持続する患者に限定していること、各症例のバイオマーカーの経時的変化を評価していないことである。本研究では FSE 発症から 24 時間以内の発症早期の髄液バイオマーカーを評価し、AE や AESD の病態解明に重要な示唆が得られたと考える。

本研究は、FSE 発症から 24 時間以内の発症早期の髄液バイオマーカーを評価し臨床的意義を研究したものであり、バイオマーカーのうち NSE、GFAP、Tau の濃度は上昇がみられず、S100B は発症臓器に AESD 群で上昇、特に神経学的後遺症を伴う AESD 患者でさらに顕著な高値を求め、AE 群では GDF-15 の上昇を認めさらに分類不能型 AE 群で高値を示すという結果が得られ、AE や AESD の病態解明について重要な知見を得たものとして価値のある業績であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。