2009
51) Atkins RC: Dr. Atkins' new diet revolution. Avon, New York, 2002
52) Kossoff EH, McGrogan JR, Bluml RM, Pillas DJ, Rubenstein JE, et al: A modified Atkins diet is effective for the treatment of intractable pediatric epilepsy. Epilepsia 47: 421-424, 2006
53) Kossoff EH, Rowley H, Sinha SR, Vining EP: A prospective study of the modified Atkins diet for intractable epilepsy in adults. Epilepsia 49: 316-319, 2008
54) Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, et al: Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. Am J Clin Nutr 34: 362-366, 1981
55) 田島節子: 小児難治性てんかんのケトン食療法に関する研究. 第1編: 臨床発作面よりみた飢餓及びケトン食療法の効果. 脳と発達 9: 124-135, 1977
56) 田島節子: 小児難治性てんかんのケトン食療法に関する研究. 第2編: 飢餓及びケトン食療法中の脳波所見の推移に関する研究. 脳と発達 9: 136-144, 1977
57) 福山幸夫, 早川武敏, 小国弘量: 小児難治性てんかん患者における中鎖脂肪酸使用ケトン食療法の臨床的検討—従来のケトン食療法との比較. 厚生省神経疾患研究委託費「難治性てんかんの成因と治療に関する研究」報告書. 1984, pp93-98
58) 小国美也子, 小国弘量, 伊藤 進, 伊藤 康, 大澤真木子: 小児難治性てんかんに対するケトン食療法の再検討. 脳と発達 41: 339-342, 2009
59) Ito S, Oguni H, Ito Y, Ishigaki K, Ohinata J, et al: Modified Atkins diet therapy for a case with glucose transporter type 1 deficiency syndrome. Brain Dev 30: 226-228, 2008

違法コピーに注意！！

そのコピーは大丈夫ですか？

現代社会において，コピー（複写）はなくてはならないものになっていますが，その手軽さゆえに違法コピーが後を絶ちません。あなたが日常的に行っているコピーは大丈夫ですか？ 著作権法に定められた例外，つまり，個人または家庭内等で使うために自らコピーする場合や図書館において調査研究等のため一部分をコピーする場合（著作権法第30，31条等）のごく限られた範囲以外のコピーは，すべて著作権者の許諾を得なければ違法となります。企業や研究施設等で職務上利用するコピーはすべて許諾が必要となりますので，ご注意ください。

違法コピーは健全な創作活動，出版活動の障害となり，ひいては文化・学術の発展を阻害する大きな要因となります。今一度，著作権についてお考えください。

許諾の手続きは簡単です！

医学や関連領域の出版物の多くは，(社)出版者著作権管理機構 JCOPY に複写権の管理・運営が委託されています。複写される場合は事前に JCOPY に連絡し許諾を得てください。

JCOPY （社）出版者著作権管理機構
TEL03-3513-6969 FAX03-3513-6979 info@jcopy.or.jp

JMPA 一般社団法人 日本医書出版協会

不正なコピーは 許さない！

Q&A サイト「それは違法かも。」
「これって違法？」著作権に関するよくある質問にわかりやすくお答えしています。
http://www.ihokamo.net/

情報受付窓口「不正コピー情報ポスト」
不正コピーなど、明らかに違法なものを見つけたら、こちらまで情報をお寄せください。
https://www2.accsjp.or.jp/piracy/
フリーダイヤル 0120-765-175

ACCS
社団法人 コンピュータソフトウェア著作権協会
http://www2.accsjp.or.jp/

てんかん遺伝子診断は臨床に役立つか？

廣瀬伸一　日暮憲道　中村友紀
黄　壽卿　石井敦士

神経内科
Reprinted from NEUROLOGICAL MEDICINE
Vol. 74 No. 5 May 2011
科学評論社

特集　臨床に役立つてんかんの最新情報

てんかん遺伝子診断は臨床に役立つか?*

廣瀬伸一**,***／日暮憲道**,***／中村友紀***／黄　壽卿***／石井敦士**,***

Key Words : channel, channelepsy, channelopathy, epilepsy, seizure, genetic diagnosis

はじめに

てんかんは非常に頻度が高く，人類の歴史とともに知られる神経疾患でありながら，最近の遺伝子研究に取り残されるようにその分子生物学的成因が不明であった．これはてんかんが単一な疾患でなく，てんかん発作を繰り返す多様な疾患の総称によるところが大きい．しかしながら，ようやくここ十年で種々のてんかんの病型で遺伝子異常が報告されるようになり，遺伝子診断も臨床に応用できるようになってきた[1)~4)]．

てんかんの遺伝子診断が臨床に応用可能ではあるが，臨床に役に立つ例はいまだ限られたてんかんであるといわざるを得ない．てんかんの臨床では，てんかんの遺伝子診断の可能性と同時にその限界についてよく知って，診断・治療や遺伝子カウンセリングに役立てていただきたい．

てんかんと遺伝子異常

てんかんで発見される遺伝子異常はてんかんの種類とその遺伝子の特徴によって，次の3種，①進行性ミオクローヌスてんかん，②チャネレプシー(イオンチャネル異常によるてんかん)，③その他のてんかん，に整理すると理解しやすい．

1．進行性ミオクローヌスてんかん(表1)

進行性ミオクローヌスてんかん(PME)とは，主に家族性で小脳性運動失調，ミオクローヌス，てんかん，知的退行などの特異的な臨床症状をもつてんかんの総称である．本来，先天代謝異常症にあげるべき疾患もPMEには含まれる．このためこれらの疾患はてんかんという疾患概念とは趣を異にするが，特異的な症状や遺伝性が明確なこともあり，遺伝子異常の同定が最初に進んだ[5)~8)](表1)．

PMEで同定された責任遺伝子に共通する点はないが，いずれも酵素やミトコンドリア遺伝子など全身に分布する細胞の生命維持機能に関係しているようにみえる．このため遺伝子異常に基づく神経細胞の変性が合併する神経症状と結びつくのかもしれない．

遺伝子変異の発見は各疾患の確定診断となる．このためPMEを疑った場合は臨床症状や病理所見などの情報を整理し，疑う疾患を絞り込むことができれば遺伝子診断が可能となる．確定診断が得られれば予後判定や遺伝カウンセリングに応用できるため臨床上有用である．

* Is the genetic diagnosis of epilepsy useful in clinical practice?
** Shinichi HIROSE, M.D., Ph.D., Norimichi HIGURASHI, M.D. & Atsushi ISHII, M.D.: 福岡大学医学部小児科〔〒814-0108　福岡県福岡市城南区七隈7-45-1〕; Department of Pediatrics, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka 814-0108, Japan.
*** Yuki NAKAMURA, M.D., Ph.D. & Su-Kyeong HWANG, M.D.: 福岡大学基盤研究所／てんかん分子病態研究所; Research Institute for the Molecular Pathomechanisms of Epilepsy, Fukuoka University, Fukuoka, Japan.

表1　主な進行性ミオクローヌスてんかんと遺伝子異常が発見される遺伝子

病名(McKusick カタログ番号)	染色体座位	遺伝子シンボル	分　子
Myoclonic epilepsy of Underricht and Lundborg, EPM1(MIM 254800)	21q22.3	CSTB	cystatin B
Myoclonic epilepsy of Lafora (MIM 254780)	6q24	EPM2A	laforin
Myoclonic epilepsy of Lafora (MIM 254780)	6p22.3	NHLRC1	malin
Northern epilepsy (MIM 610003)	8p23	CLN8	CLN8
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN1 (MIM 256730)	1p32	PPT1	palmitoyl-protein thioesterase-1
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN2 (MIM 204500)	11p15.5	TPP1	Tripeptidyl peptidase I
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN3 (MIM 204200)	16p12.1	CLN3	CLN3
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN5 (MIM 256731)	13q21.1-q32	CLN5	CLN5
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN7 (MIM 610951)	4q28.1-q28.2	MFSD8	lysosomal transporter?
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN8 (MIM 600143)	8p23	CLN8	CLN8
Neuronal ceroid lipofuscinosis, CLN10 (MIM 610127)	11p15.5	CTSD	cathepsin D
Juvenile Gaucher disease (MIM 230800)	1q21	GBA	acid-glucosidase
Sialidosis 2 (MIM 256550)	6p21.3	NEU1	neuraminidase 1
Progressive myoclonic epilepsy 1B (MIM 612437)	12q12	PRICKLE1	prickle-like 1
Progressive myoclonic epilepsy 3 (MIM 611726)	7q11.21	KCTD7	potassium channel tetramerization domain-containing protein 7
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTK	tRNA-lys
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTL1	tRNA-leu
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTH	tRNA-his
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTS1	tRNA-ser
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTS2	tRNA-ser
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTTF	tRNA-phe
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers, MERRF (MIM 545000)	mtDNA	MTND5	NADH dehydrogenase, subunit 5
Dentatorubral-pallidoluysian atrophy, DRPLA (MIM 125370)	12p13.31	ANT1	Atrophin 1

2．チャネレプシー(イオンチャネル異常によるてんかん)(表2)

Channelepsy(チャネレプシー)とは，イオンチャネル(チャネル)の異常によって起こるchannelopathy(チャネル病)とepilepsy(てんかん)との複合語で，チャネルの異常によって起こるてんかんを表す造語である[9)10)]．チャネルは生体膜に開く穴で生体膜の電気活動を司っている．その異常は不整脈をはじめさまざまな病気(チャネル病)をひき起こす．分子生物学の発達とともに多くのてんかん病型でも中枢神経のチャネルの遺伝子異常が報告されはじめた．これこそがチャネレプシーである．チャネレプシーの多くは家族性てんかんであるが，発作間欠期に症状が乏しく遺伝性のはっきりしない一般的な素因性(特発性)てんかんと類似した点がある．ここからチャネル異常と特発性てんかんの密接な関係が示唆されるようになった．現在，チャネレプシーはてんかんの分子病態の解明への糸口になっている．

現在までにチャネレプシーとして主に家族性てんかんが20ほど知られており，Dravet症候群(DSと略)を中心に1,000近い遺伝子変異が報告されている．このうち代表的なものを簡単に紹介する．

a．常染色体優性夜間前頭葉てんかん(ADNFLE)[11)]

その名の通り明確な常染色体優性遺伝形式をとり，多くは小児期よりみられる睡眠中の手足

表2　チャネレプシー(イオンチャネルが関係するてんかん)

疾患名(McKusick カタログ番号)	遺伝子座位	遺伝子(産物)
・常染色体優性夜間前頭葉てんかん1(MIM 6000513)	20q13.2-q13.3	*CHRNA4*(ACh 受容体)
・常染色体優性夜間前頭葉てんかん3(MIM 605375)	1p21	*CHRNB2*(ACh 受容体)
・常染色体優性夜間前頭葉てんかん4(MIM 610353)	8p21	*CHRNA2*(ACh 受容体)
・良性家族性新生児けいれん1(MIM 125370)	20q13.3	*KCNQ2*(K^+チャネル)
・良性家族性新生児けいれん2(MIM 121201)	8q24	*KCNQ3*(K^+チャネル)
・発作性運動失調症Ⅰ型 (MIM 160120)に伴う部分発作	12p13	*KCNA1*(K^+チャネル)
・全般てんかんと発作性ジスキネジア	10q22	*KCNMA1*(K^+チャネル)
・聴覚症状を伴う常染色体優性部分てんかん (MIM 600512)	10q24	*LGI1*(K^+チャネル)
・全般てんかん熱性けいれんプラス1(MIM 604233)	19q13.1	*SCN1B*(Na^+チャネル)
・全般てんかん熱性けいれんプラス2(MIM 604233)	2q24	*SCN1A*(Na^+チャネル)
・Dravet症候群(MIM 607208)	2q24	*SCN1A*(Na^+チャネル)
・熱性けいれんおよびてんかん	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+チャネル)
・Dravet症候群 (MIM 607208)	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+チャネル)
・良性家族性新生児乳児けいれん(MIM 607745)	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+ チャネル)
・常染色体優性若年ミオクロニーてんかん(MIM 606904)	5q34-q35	*GABRA1*($GABA_A$受容体)
・全般てんかん熱性けいれんプラス3(MIM 604233)	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
・熱性けいれんプラスと欠神発作	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
・Dravet症候群(MIM 607208)	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
・発作性運動失調症Ⅱ型(MIM 108500)に伴う全般性てんかん	19q13	*CACN1A*(Ca^{2+}チャネル)
・若年ミオクロニーてんかん(MIM 254770)	2q22-23	*CACNB4*(Ca^{2+}チャネル)
・小児欠神てんかん	16p13.3	*CACNA1H*(Ca^{2+}チャネル)
・素因性(特発性)全般てんかん (MIM 600669)	2q22-23	*CACNB4*(Ca^{2+}チャネル)
・素因性(特発性)全般てんかん (MIM 600669)	3q26-qter	*CLCN2*(Cl^-チャネル)
・熱性けいれん(MIM 604352)	5q14	*MASS1* (EAR/EPTPリピート分泌蛋白？)

や身体各部分の大きな動きを伴うけいれんが特徴的である．寝ぼけや睡眠障害による驚愕などと誤られているケースも多い．その一部の原因として，ニューロンニコチン性アセチルコリン受容体を構成するα，βサブユニットのサブタイプのうちα_4，α_2とβ_2サブユニット遺伝子，それぞれ*CHRNA4*，*CHRNA2*と*CHRNB2*に異常が見出されている．この受容体はアセチルコリンにより開閉するイオンチャネルであり，見出された異常によりイオン流入孔(ポア)のアミノ酸が変化し，その電気的生理学的特性に異常をきたすことがわかった．

上記のような典型的な症状を呈する患者の10％弱程度に*CHRNA4*，*CHRNA2*と*CHRNB2*のいずれかの遺伝子変異が発見される[12]．このため臨床で応用できる遺伝子診断とはいえない．

b．良性家族性新生児けいれん(BFNS)[13)~15)]

生後数時間から数日の間の新生児にけいれんが発症する，はっきりとした常染色体優性遺伝形式をとる家族性のてんかんである．けいれんは1~3分と短いが群発する傾向をもつ．けいれんは乳児期に自然消退し，けいれんをきたさないので良性の名をもつ．

一部は脳内のK^+チャネル構成する*KCNQ2*と*KCNQ3*サブユニットの遺伝子異常が発見される．*KCNQ2*と*KCNQ3*は脳内でヘテロ四量体となりK^+チャネルを形成し，M-currentと呼ばれる抑制系の電流の産生に関与している．チャネル異常によりニューロンの興奮性が高まり，けいれんが誘発されるものと思われる．

典型的な症状を呈する家系でも，*KCNQ2*または*KCNQ3*いずれかに変異が発見される確立は半数以下で[12]，臨床上確立した遺伝子診断とはまだいえない．

c．良性新生児乳児けいれん(BFNIS)

臨床症状や優性遺伝形式など前項のBFNSと酷似するが，発症年齢がBFNSよりやや遅く新生児後期から乳児期前半に発症するとされる．しかしながら，BFNSと同様の新生児発症例もあり，BFNSの臨床診断で，われわれの元に送られてきた検体の遺伝子解析によりBFNISと診断されたケースもある．

Na^+チャネルのα_2サブユニットの遺伝子*SCN2A*にミスセンス変異がみつかる．しかしながら，*SCN2A*の異なるミスセンス変異が後述の素因性てんかん熱性けいれんプラスやDS[16]といった臨床像が異なるてんかんでも発見されており，類似した遺伝子異常がどのようにして別な臨床像をとるのかは今後の検討課題である．

BFNISでの*SCN2A*の変異が発見される頻度は不明であるが，少なくとも臨床上遺伝子診断が行えるほど高くないという印象をもっている．

d．素因性てんかん熱性けいれんプラス(GEFS+)

GEFS+は熱性けいれん(FS)の臨床一亜型で常染色体優性遺伝形式をとる家族性てんかんである．Autosomal dominant epilepsy with febrile seizures plus〔常染色体優性てんかん熱性けいれんプラス(ADEFS+)〕とも呼ばれる[17]．罹患者は6歳以前にFSを頻発するが，それ以後も有熱時けいれんが続いたり，無熱性のさまざまなてんかん発作をきたしたりする(FSプラス：FS+)．知的退行などは少なく，一般的に予後は不良ではない．以前は，GEFS+はgeneralized epilepsy with febrile seizures plus(全般性てんかん熱性けいれんプラスてんかん)と呼ばれたが，実際には部分発作が多く含まれており，最近ではgenetic epilepsy with febrile seizures plus(素因性てんかん熱性けいれんプラス)と呼ばれるようになった[18]．

GEFS+の原因として，脳内電位依存性Na^+チャネルの，α_1，α_2とβ_1サブユニット，さらには$GABA_A$受容体のγ_2サブユニットの遺伝子にアミノ酸置換をきたすミスセンス変異が知られている．このチャネルはどうやら抑制系のニューロンに発現しており，その異常で抑制系の不良が起こり，脳の電気的異常興奮，すなわちてんかん発作が起こるものと推測される．

典型的な臨床症状や遺伝形式がある家系の5~10％になんらかの遺伝子異常が発見される[12]．このため遺伝子検査のみで確定診断を得ることはできない．

e．Dravet症候群(DS：乳児重症ミオクロニーてんかん)

DSは乳児期の有熱時けいれんで発症し，しばしば重積化する．この後，幼児期早期からミオクロニー発作や非定形欠神発作が加わるようになる．発症までの発達は正常であるが，1~2歳頃から知的発達の停止を認め難治性で予後不良である．このため一般に孤発であり，その臨床像は上記した家族性の特発性てんかんと明らかに異なっている．

DSでもGEFS+で遺伝子変異が発見されるNa^+チャネルのα_1サブユニットの遺伝子，*SCN1A*の変異が高頻度に認められることが明らかとなってきた．当初，DSの遺伝子変異はα_1サブユニットの分子が寸断されたり，削除したりするようなトランケーション変異ばかりで，GEFS+で見出されるミスセンス変異と異なると予想された[19]．しかしながら，その後われわれを含めた複数の研究で，DSを起こす遺伝子変異にも実はミスセンス変異も高率に含まれていることが明らかになった[20]．同じような遺伝子の変異でなぜ，比較的軽症のGEFS+と難治性のDSがひき起こされるかなど，今後検討すべきことが多い．

いずれにせよ遺伝子変異は70％以上のDSで同定されるため，DSの早期診断に遺伝子解析は有用であるといえる．実際に700種近くのさまざまな変異が*SCN1A*に発見されており(http://www.scn1a.info/)，商業ラボに遺伝子診断を依頼することも可能となっている．ただし，*SCN1A*周囲の染色体の微小欠失も報告されており，この場合は通常のシークエンスでは変異が発見されないため，MLPA法などの特殊な手法が必要であることを知っておかないと，変異を見落とすことがある[21][22]．さらに，一般的に遺伝子の調節領域の変異は同定できずに見落とされることが多い．

また，患者で発見された変異が健常な親にも見出されることがあり，DSの発症には*SCN1A*変異のほかにも修飾因子があることが推定されている．さらに，DSで発見される*SCN1A*変異のほとんどは新生変異(*de novo*)である．しかしながら，両親に*SCN1A*変異が発見されないにもかかわらず，その子どもの同胞発症がある場合がある．これは，両親のうち一方が変異をキメラでもっていることを示唆している．このように，DSでの*SCN1A*変異に関する遺伝学は複雑である．このため出生前診断は技術的に可能であるが，その判定・実施に関してはいまだ問題があると認識している．

表3　遺伝子異常が発見されるその他のてんかん

病名(McKusick カタログ番号)		染色体座位	遺伝子
・若年性ミオクロニーてんかん(JME1)(MIM607631)		6p12-p11	*EFHC1*
・GLUT 1 欠損症(MIM606777)		1p35-p31.3	*SLC2A1*
・早期乳児てんかん性脳症(EIEE)	EIEE 1(MIM308350)	Xp22.13	*ARX*
	EIEE 2(MIM300672)	Xp22	*STK9*
	EIEE 3(MIM609304)	11p15.5	*SLC25A22*
	EIEE 4(MIM612164)	9q34.1	*STXBP1*
	EIEE 5(MIM613477)	9q33-q34	*SPTAN1*
	EIEE 9(MIM300088)	Xq22	*PCDH19*
	EIEE 10(MIM613402)	19q13.4	*PNKP*
	EIEE 12(MIM613722)	20p12	*PLCB1*
・女性に限定するてんかんと精神発達遅滞 (EFMR)(MIM300460)		Xq22	*PCDH19*

3．遺伝子異常が発見されるその他のてんかん(表3)

チェネレプシー以外にもいくつかのてんかんで遺伝子異常が見出されている．その中で主だったものをごく簡単に紹介する．

a．若年性ミオクロニーてんかん(JME)

思春期に多く，女性の方がやや多い傾向がある素因性(特発性)全般性てんかん．朝方眠いときにミオクロニー発作がみられ，一部に全般化し全身性強直間代けいれんがみられる．素因性(特発性)全般性てんかんの20％程度と推定され，頻度の高いてんかんである．

9％弱の患者にイオンチャネル分子ではない，ミオクロニン1をコードする遺伝子*EFHC1*に変異が発見される[12)23)]．ミオクロニン1の生体内での機能に関しては，Caチャネルに関与，アポトーシスの制御，神経細胞の遊走に関与などが示唆されているが，結論には至っていない．

JMEの遺伝子解析に関しては，現時点では研究の範囲内であり，注意深い臨床診断で予後，治療が判断できるので，臨床上必ずしも有用とはいえない．

b．GLUT1欠損症

脳血管内皮細胞に主に存在するぶどう糖のトランスポーターであるGLUT1グルコーストランスポーター1型の異常による常染色体優性遺伝形式をとる神経疾患である．脳内へのぶどう糖供給が低下するため乳児期，幼児期に空腹を経験して発症することが多いが，思春期以降にも発症する場合が多い．

臨床症状としては，空腹時にみられる欠神発作をはじめとするさまざまなてんかん発作が主である．このほか，空腹時や運動で誘発されるジスキネジアなどの神経症状も知られている．空腹時の髄液糖の低下で診断される．通常の抗てんかん薬に抵抗性であり精神発達遅滞をきたすことがある．ケトン食が有効である．

典型的な症例の10％ほどにGLUT1をコードする遺伝子の*SLC2A1*に変異が見出される[12)24)]．遺伝子変異の頻度は高くないが，変異が発見できれば多くの検査を回避でき，早期に有効なケトン食療法を開始することができる．このため，部分的ながら本疾患を疑ったなら遺伝子解析を行うことは意義があると思われる．

c．早期乳児てんかん性脳症

多くは新生児期に強直発作で発症し，短い強直発作(スパズム)が頻発するようになるてんかんである．脳形成異常を伴うことがあり，睡眠時，覚醒時ともに発作間歇期に「サプレッション・バースト」と呼ばれる特徴的な脳波所見がみられることが多い．生後4～6カ月頃にWest症候群やLennox-Gastaut症候群への移行例も少なからずある．脳に形成異常などの器質的異常を伴うことも多い．発作は難治で，予後はきわめて不良で，全例に重度の精神遅滞がみられ乳児期の死亡もある．

この10～17％に*ARX*[25)]，*STK9*[26)]，*SLC25A22*[27)]，*STXBP1*[28)]遺伝子などの変異が発見されるとされる[12)]．変異の発見の頻度は低いが，遺伝子診断は確定診断につながり，今後の予後の判定，診療の方針を決めるのにある程度有用かもしれない．

d．女性に限定するてんかんと精神発達遅滞

Epilepsy and mental retardation limited to females(EFMR)：EFMRは女性にのみ発症し，男性は無症候となる特徴的な家族歴を呈する疾患として1971年に初めて報告された．その後，プロトカドヘリン19をコードする*PCDH19*遺伝子の変異がその原因として同定された[29)]．

当初DSの原因遺伝子異常の一つとしても報告され，その後もDSを呈する症例が多く報告されている[30)]．しかしわれわれの調査では，EFMRの患者群は早期発症や有熱時発作，知的障害などは共通特徴として認められたが，重積発作やミオクロニー，欠神発作などの他のDSの臨床特徴の多くが稀であり，*PCDH19*変異自体がもたらす表現型はDSとは異なるものであることが推測された．ほかの修飾因子によってDSに近似するのであろう．

*PCDH19*変異によるてんかんの主要な臨床特徴として以下の項目が重要である．①女性，②乳児期～幼児期早期発症，③主要な発作出現様式は群発，④しばしば発熱で発作が誘発される，⑤重積発作は稀，⑥全般性の運動発作・部分発作など種々出現するが，ミオクロニー，欠神，脱力発作は少ない，⑦出現発作型は単一あるいは少数，⑧しばしば発症後に進行する知的障害を認めるが正常のこともある，⑨10歳代で発作消失する例が多い．とくに①～④を呈する症例では*PCDH19*解析を考慮すべきと考えられる．遺伝子発現頻度は明確ではないが，現在のところEFMRの確定診断，正確な遺伝相談のため，遺伝子診断は臨床上行う価値が高いと思われる．

ま と め

いままで述べたように，遺伝子診断が臨床上有用な疾患は進行性ミオクローヌスてんかん，Dravet症候群，epilepsy and mental retardation limited to femalesなどに限られている．しかしながら，これらの疾患では変異の同定により正確な診断がつくため，さらなる検査が不要になったり，今後出現してくる症状を予測したりすることが可能になる．また，予後判定が明確になることで，今後の診療計画が立てやすく利点が生じる．遺伝子情報が明らかになることにより遺伝カウンセリングが行いやすくなることはいうまでもない．さらに表4に示すように，症状を悪化させてしまうような抗てんかん薬をあらかじめ避けることもできる．今後，分子遺伝学の進歩とそれに伴うテクノロジーの進化により，さらに遺伝子診断がてんかんの臨床に役立つ日がくると確信する．

表4　遺伝子診断が可能なてんかんと避けるべき抗てんかん薬

・進行性ミオクローヌスてんかん：フェニトイン，カルバマゼピン，ガバペンチン，ビガバトリン，チアガビン，ラモトリギン
・ミトコンドリア病：バルプロ酸
・Dravet症候群：カルバマゼピン，ラモトリギン，フェニトイン
・GLUT-1 欠損症：ジアゼパム，フェノバルビタール
・コハク酸セミアルデヒド脱水素酵素(SSADH)欠損症：バルプロ酸
・グリシン脳症：バルプロ酸

文　献

1) Hirose S, Okada M, Yamakawa K, et al. Genetics abnormalities underlying familial epilepsy syndromes. Brain Dev 2002；24：211-22.
2) Hirose S, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A. Molecular genetics of human familial epilepsy syndrome. Epilepsia 2002；43：21-5.
3) Hirose S, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A. Are some idiopathic epilepsies disorders of ion channels?：A working hypothesis. Epilepsy Res 2000；41：191-204.
4) Hirose S, Mitsudome A, Okada M, Kaneko S. Genetics of idiopathic epilepsies. Epilepsia 2005；46 Suppl 1：38-43.
5) 廣瀬伸一．てんかんの分子生物学．分子精神医学 2001；1：338-50.
6) 廣瀬伸一．てんかん分子の生物学的研究．てんかん学の最前線 2002；1：1-5.
7) 廣瀬伸一．てんかんの分子生物学．精神神経誌 2003；105：407-12.
8) 廣瀬伸一，てんかんの遺伝子解析．臨床精神医学 2005；34：1493-8.
9) Lossin C. A catalog of SCN1A variants. Brain Dev 2009；31：114-30.
10) 廣瀬伸一，石井敦士，日暮憲道，倉橋宏和．てん

かんの遺伝子研究の最前線：チャネレプシー．日本発達障害学会誌 2010；32：246-57.
11) Hirose S, Kurahashi H. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (April 2010) in : Gene Reviews at Gene Tests : Medical Genetics Information Resource[database online]. Copyright. Seattle : University of Washington ; 1997-2010. Available at http://www.genetests.org.
12) Ottman R, Hirose S, Jain S, et al. Genetic testing in the epilepsies—report of the ILAE Genetics Commission. Epilepsia 2010 ; 51 : 655-70.
13) 廣瀬伸一．良性家族性新生児痙攣．医学のあゆみ 2000；193：515-21.
14) 廣瀬伸一．良性家族性新生児けいれん(BFNC)の遺伝子異常．小児科診療 2001；42：1108-14.
15) 廣瀬伸一，満留昭久．良性家族性新生児痙攣：カリウムチャネロパチー．神経進歩2003；47：213-20.
16) Shi X, Yasumoto S, Nakagawa E, et al. Missense mutation of the sodium channel gene SCN2A causes Dravet syndrome. Brain Dev 2009 ; 31 : 758-62.
17) Ito M, Nagafuji H, Okazawa H, et al. Autosomal dominant epilepsy with febrile seizures plus with missense mutations of the (Na^+)-channel α1 subunit gene, SCN1A. Epilepsy Res 2002 ; 48 : 15-23.
18) Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies : Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. Epilepsia 2010 ; 51 : 676-85.
19) Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, et al. De novo mutations in the sodium-channel gene *SCN1A* cause severe myoclonic epilepsy of infancy. Am J Hum Genet 2001 ; 68 : 1327-32.
20) Fukuma G, Oguni H, Shirasaka Y, et al. Mutations of neuronal voltage-gated Na^+ channel α1 subunit gene *SCN1A* in core severe myoclonic epilepsy in infancy (SMEI) and in borderline SMEI (SMEB). Epilepsia 2004 ; 45 : 140-8.
21) Kurahashi H, Wang JW, Ishii A, et al. Deletions involving both KCNQ2 and CHRNA4 present with benign familial neonatal seizures. Neurology 2009 ; 73 : 1214-7.
22) Wang JW, Kurahashi H, Ishii A, et al. Microchromosomal deletions involving SCN1A and adjacent genes in severe myoclonic epilepsy in infancy. Epilepsia 2008 ; 49 : 1528-34.
23) Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, et al. Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. Nat Genet 2004 ; 36 : 842-9.
24) Weber YG, Storch A, Wuttke TV, et al. GLUT1 mutations are a cause of paroxysmal exertion-induced dyskinesias and induce hemolytic anemia by a cation leak. J Clin Invest 2008 ; 118 : 2157-68.
25) Stromme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, et al. Mutations in the human ortholog of Aristaless cause X-linked mental retardation and epilepsy. Nat Genet 2002 ; 30 : 441-5.
26) Kalscheuer VM, Tao J, Donnelly A, et al. Disruption of the serine/threonine kinase 9 gene causes severe X-linked infantile spasms and mental retardation. Am J Hum Genet 2003 ; 72 : 1401-11.
27) Molinari F, Raas-Rothschild A, Rio M, et al. Impaired mitochondrial glutamate transport in autosomal recessive neonatal myoclonic epilepsy. Am J Hum Genet 2005 ; 76 : 334-9.
28) Saitsu H, Kato M, Mizuguchi T, et al. De novo mutations in the gene encoding STXBP1 (MUNC18-1) cause early infantile epileptic encephalopathy. Nat Genet 2008 ; 40 : 782-8.
29) Dibbens LM, Tarpey PS, Hynes K, et al. X-linked protocadherin 19 mutations cause female-limited epilepsy and cognitive impairment. Nat Genet 2008 ; 40 : 776-81.
30) Depienne C, Bouteiller D, Keren B, et al. Sporadic infantile epileptic encephalopathy caused by mutations in PCDH19 resembles Dravet syndrome but mainly affects females. PLoS Genet 2009 ; 5 : e1000381.

*　　*　　*

表　題

著者名

週刊
医学のあゆみ　別　刷

第　巻・第　号：　　年　月　日号

てんかんの遺伝子研究の最前線
——てんかん分子研究の現況と展望
Revelation and Evolution of molecular research in epilepsy

石井敦士(写真)　廣瀬伸一
Atsushi Ishii and Shinichi Hirose
福岡大学医学部小児科学教室

◎てんかんは古代紀元前より知られる神経疾患であり，人口100人に1人が罹患する疾患でありながら分子生物学の介入を拒んできた．一方，1985年にMullisがPCR(ポリメラーゼ連鎖反応)法を発見して以来，遺伝子工学の技術は飛躍的進歩を遂げ，2003年にはヒトゲノム塩基配列の解読が一応完了した．てんかんもこの10年間にてんかんを起こす遺伝子異常が同定されはじめ，それらを足がかりとして，てんかんの分子病態に迫ることが可能となった．最近ではヒトのてんかんで発見された遺伝子異常をもつ動物が作出されている．今後は，病態に基づいたてんかんの診断や分類の改革や，その病態の一部に介入する革新的な治療法が期待される．

Key word：痙攣，チャネル，家族性，遺伝子診断，チャネロパチー

てんかんは紀元前に，脳の疾患として記載されていたという．このように古くから知られ，しかも頭痛に次いで多い神経疾患であるが，その遺伝子研究は最近の分子生物学の発達に取り残された感があった．それはてんかんが単一の疾患でなく，おそらく数百の疾患が包括される多様な症候群であるためであろう．

しかし最近になってようやく，明確な優性遺伝形式を呈する，まれな家族性てんかんを中心にその分子生物学的な解明が進みはじめた．本稿では，いままで明らかにされたてんかんの遺伝子異常に基づく分子病態について概説し，将来のてんかんの診断と治療の展望について考察する．

てんかんで見出される遺伝子異常

1. 進行性ミオクローヌスてんかん(表1)

進行性ミオクローヌスてんかんとは，おもに家族性で，小脳性運動失調，ミオクローヌス，てんかん，知的退行などの特異的な臨床症状をもつてんかんの総称である．本来，先天代謝異常症にあげるべき疾患も進行性ミオクローヌスてんかんには含まれる．このため，これらの疾患はてんかんという疾患概念とは趣を異にするが，特異的な症状や遺伝性が明確なこともあり，遺伝子異常の同定が最初に進んだ[1](表1)．

進行性ミオクロニーてんかんで同定された責任遺伝子に共通する点はないが，いずれも酵素やミトコンドリア遺伝子など全身に分布する細胞の生命維持機能に関係しているようにみえる．このため遺伝子異常に基づく神経細胞の変性が合併する神経症状引き起こすのかもしれない．

2. 家族性特発性てんかん

前項の進行性ミオクローヌスてんかんのように進行する知的退行や神経症状がなく，発作間欠期はおおむね臨床症状を欠く特発性てんかんで，責任遺伝子があいついで同定されはじめた[2-4](表2)．しかし，後述のように，表2にあげた病型でも遺伝子異常が同定される率はけっして高くない．そのなかでも遺伝子異常が発見される割合が5〜10%程度と比較的高いてんかん病型に絞って紹介する．

① 常染色体優性夜間前頭葉てんかん(ADN-

表 1　進行性ミオクローヌスてんかんと病因遺伝子

疾患名(McKusick カタログ番号)	遺伝子座位	責任遺伝子
Gaucher 病(230800)	1q21	acid β-glucosidase(GBA)
シアリドーシス(256550)	6p21.3	neuraminidase
シアル酸蓄積症：Salla 病(604369)	6q14-q15	*SLC17A5*, encoding a protein, sialin
ガラクトシアリドーシス(256540)	20q13.1	Protective protein for β-galactosidase(cathepsin A)
Tay-Sachs 病(272800)	15q23-q24	hexosamidase
セロイド・リポフスチノーシス(256730)	1p32	*CLN3*, 5 ほか
Northern てんかん(600143)	8pter-p22	*CLN8*
Underricht and Lundborg 病(254800)	21q22.3	Cystatin B
Lafora 病(254780)	6q24	*EPM2A*
Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers (MERRF：545000)	mtDNA	*MTTK*, *MTTL1*(mt 転移 RNA)
歯状核赤核・淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA：125370)	12q13.31	*DRPA*(CAG の反復＝トリプレットリピート病)

表 2　遺伝子異常が発見されたヒトてんかん(進行性ミオクロニーてんかんを除く)

疾患名(McKusick カタログ番号)	遺伝子座位	遺伝子(産物)
常染色体優性夜間前頭葉てんかん 1(MIM 6000513)	20q13.2-q13.3	*CHRNA4*(ACh 受容体)
常染色体優性夜間前頭葉てんかん 3(MIM 605375)	1p21	*CHRNB2*(ACh 受容体)
常染色体優性夜間前頭葉てんかん 4(MIM 610353)	8p21	*CHRNA2*(Ach 受容体)
良性家族性新生児痙攣 1(MIM 125370)	20q13.3	*KCNQ2*(K^+チャネル)
良性家族性新生児痙攣 2(MIM 121201)	8q24	*KCNQ3*(K^+チャネル)
周期性四肢麻痺一型(MIM 160120)に伴う部分発作	12p13	*KCNA1*(K^+チャネル)
全般てんかんと発作性ジスキネジア	10q22	*KCNMA1*(K^+チャネル)
聴覚症状を伴う常染色体優性部分てんかん(MIM 600512)	10q24	*LGI1*(K^+チャネル)
全般てんかん熱性痙攣プラス 1(MIM 604233)	19q13.1	*SCN1B*(Na^+チャネル)
全般てんかん熱性痙攣プラス 2(MIM 604233)	2q24	*SCN1A*(Na^+チャネル)
乳児重症ミオクロニーてんかん(MIM 607208)	2q24	*SCN1A*(Na^+チャネル)
熱性痙攣およびてんかん	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+チャネル)
乳児重症ミオクロニーてんかん(MIM 607208)	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+チャネル)
良性家族性新生児乳児痙攣(MIM 607745)	2q23-q24.3	*SCN2A*(Na^+チャネル)
常染色体優性若年ミオクロニーてんかん(MIM 606904)	5q34-q35	*GABRA1*($GABA_A$受容体)
全般てんかん熱性痙攣プラス 3(MIM 604233)	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
熱性痙攣プラスと欠神発作	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
乳児重症ミオクロニーてんかん(MIM 607208)	5q34	*GABRG2*($GABA_A$受容体)
周期性四肢麻痺二型(MIM 108500)に伴う全般性てんかん	19q13	*CACNA1A*(Ca^{2+}チャネル)
若年ミオクロニーてんかん(MIM 254770)	2q22-23	*CACNB4*(Ca^{2+}チャネル)
小児欠神てんかん	16p13.3	*CACNA1H*(Ca^{2+}チャネル)
特発性全般てんかん(MIM 600669)	2q22-23	*CACNB4*(Ca^{2+}チャネル)
特発性全般てんかん(MIM 600669)	3q26-qter	*CLCN2*(Cl^-チャネル)
熱性痙攣(MIM 604352)	5q14	*MASS1*(EAR/EPTP リピート分泌蛋白？)
若年ミオクロニーてんかん(MIM 254770)	6p12-11	*EFHC1*(EF ハンド蛋白)
家族性点頭てんかん(MIM 308350)	Xp22.13	*ARX*(ホメオボックス遺伝子)
家族性点頭てんかん(MIM 308350)	Xp22	*STK9*(セリントレオニンキナーゼ)

遺伝子異常は，乳児重症ミオクロニーてんかんを除いて，これらのてんかん病型のごく一部に見出されている．

FLE)……その名のとおり明確な常染色体優性遺伝形式をとり，多くは小児期よりみられる睡眠中の手足や身体各部分の大きな動きを伴う痙攣が特徴的である．寝ぼけや，睡眠障害による驚愕などと誤られているケースも多い．その一部の原因としてニューロンニコチン性アセチルコリン受容体を構成するα，βサブユニットのサブタイプのうちα4，α2とβ2サブユニット遺伝子のそれぞれ *CHRNA4*，*CHRNA2* と *CHRNB2* に異常が見出されている．この受容体はアセチルコリンにより開閉するイオンチャネルであり，見出された異常によりイオン流入孔(ポア)のアミノ酸が変化し，その電気的生理学的特性に異常をきたすことがわかった．

② 良性家族性新生児痙攣……生後数時間から数日の間の新生児に痙攣が発症する，はっきりとした常染色体優性遺伝形式をとる家族性のてんかんである．痙攣は1～3分と短いが群発する傾向をもつ．痙攣はその後，乳児期に自然消退し，その後に痙攣をきたさないので，良性の名をもつ．一部は脳内の K^+チャネルを形成する KCNQ2 と KCNQ3 サブユニットの遺伝子異常が発見される．KCNQ2 と KCNQ3 は脳内でヘテロ四量体となり K^+チャネルを形成し，M-current とよばれる抑制系の電流の産生に関与している．異常によりニューロンの興奮性が高まり，痙攣が誘発されるものと思われる．

③ 全般てんかん熱性痙攣プラス(GEFS+)〔常染色体優性てんかん熱性痙攣プラス(ADEFS+)〕

GEFS+は熱性痙攣(FS)の臨床一亜型で，常染色体優性遺伝形式をとる家族性てんかんである[5]．罹患者は6歳以前に FS を頻発するが，それ以後も有熱時痙攣が続いたり，無熱性のさまざまなてんかん発作をきたしたりする(FS プラス：FS+)．知的退行などは少なく，一般的に予後は不良ではない．GEFS+は全般てんかんの名をもつが，実際には部分発作が多く含まれている．このため著者らは，常染色体優性てんかん熱性痙攣プラス(autosomal dominant epilepsy with febrile seizures plus：ADEFS+)とよぶことを提唱している．ADEFS+の原因として脳内電位依存性 Na^+チャネルの，α1，α2とβ1サブユニットの遺伝子に，アミノ酸置換をきたすミスセンス変異が知られている．このチャネルはニューロンの活動電位の源であり，その異常で脳の電気的異常興奮，すなわちてんかんが起こるものと推測される．

3. 乳児重症ミオクロニーてんかん(SMEI)(Dravet症候群)

SMEI は乳児期の有熱時痙攣で発症し，しばしば重積化する．この後，乳幼児期早期よりミオクロニー発作や非定形欠神発作が加わるようになる．発症までの発達は正常であるが，1～2歳ごろより知的発達の停止を認め，難治性で予後不良である．このため，一般に孤発であり，その臨床像は上記した家族性の特発性てんかんと明らかに異なっている．

SMEI でも，ADEFS+で遺伝子異常が発見される Na^+チャネルのα1サブユニットに遺伝子異常が高頻度に認められることが明らかとなってきた．当初，SMEI の遺伝子異常はα1サブユニットの分子が寸断されたり消失したりするようなトランケーション変異ばかりで，ADEFS+で見出されるとミスセンス変異と異なると予想された．しかしその後，著者らを含めた複数の研究で，SMEI を起こす遺伝子異常にもミスセンス変異も高率に含まれていることが明らかになった．同じような遺伝子の異常でなぜ比較的軽症の ADEFS+と難治性の SMEI が引き起こされるかなど，今後検討すべきことが多い[5]．また，α1サブユニットの数エクソンが欠失する染色体微小欠失も報告されており，これは従来の直接シークエンス法では見逃されてしまうため遺伝子検査の際には注意が必要である．SMEI の遺伝子変異の大半は家族性ではなく突然変異であるが，無症状の親のモザイク変異が遺伝して発症した例が報告されている．

いずれにせよ，遺伝子異常は70%以上の SMEI で同定されるため，SMEI の早期診断に遺伝子解析は有用かもしれない．

チャネル病仮説

同定された遺伝子異常を俯瞰すると，例外はあるものの進行性ミオクロニーてんかんとそれ以外の特発性てんかんなどの関連遺伝子に大きな差があることがわかる．すなわち，先に述べたように，進行性ミオクロニーてんかんで同定された責任遺伝子は全身に分布する細胞の維持機能に関係しているようにみえる．これに対し特発性てんかんで見出された異常は，そのほとんどが脳で発現するイオンチャネル(チャネル)の遺伝子に見出されている．チャネルは生体電気の源であるから，チャネル機能異常は突発的で発作間欠期に神経症状を欠くてんかんの原因を説明するのに好都合かもしれない．もちろん，若年性ミオクローヌスてんかんなどではチャネル以外の遺伝子異常を発見されており，すべてのてんかんがチャネルの遺伝子異常に由来するものではないことは明らかである．

表 3　細胞内輸送障害がみられたGABA$_A$受容体の遺伝子異常

遺伝子	遺伝子またはアミノ酸変異	疾患名(McKusick カタログ番号)	輸送障害機序
GABRA1	A322D	常染色体優性若年ミオクロニーてんかん(MIM 606904)	ERAD
GABRA1	975delC, S326fs328X	小児欠神てんかん	NMD, ERAD
GABRG2	Q1X	乳児重症ミオクロニーてんかん(MIM 607208)	ER 蓄積, ERAD, ドミナントネガティブ効果
GABRG2	R43Q	熱性痙攣と欠神発作	ER 蓄積
GABRG2	Q351X	乳児重症ミオクロニーてんかんと小児欠神てんかん	ER 蓄積, ERAD, ドミナントネガティブ効果

しかし，特発性てんかんの一部にチャネル遺伝子異常が関与しているのではないかという作業仮説“チャネル病(チャネロパチー＝channelopathy)”仮説は妥当で，今後のてんかんの遺伝子異常研究に役立つと思われる[4,6]．

チャネル遺伝子異常によるてんかん発症にはすくなくとも 2 つの機序があると考えられる．ひとつは興奮性と抑制系神経のアンバランスによるもので，変異により興奮性神経系に関係するチャネルの機能亢進をきたしたり逆に抑制系のチャネルが機能低下をきたしたりすれば，全体のバランスは興奮性に傾き，神経の異常興奮，すなわちてんかんに至るという考えである．他方は変異により引き起こされるチャネル分子そのものの細胞内輸送障害により引き起こされる病態である．この場合，チャネル機能に異常が起こるばかりでなく，小胞体(ER)ストレスが惹起され，アポトーシスなどが起こり，てんかんの成因になることが考えられている[7]．

サイドメモ　イオンチャネルの細胞内輸送

正常なイオンチャネルは，イオンチャネルをコードする遺伝子が成熟 mRNA に転写され，粗面小胞体(ER)で翻訳されイオンチャネル蛋白となり，他のサブユニットなどと会合した後，Golgi 装置で糖鎖修飾を受け，細胞表面に小胞輸送されイオンチャネルとして機能する．イオンチャネルをコードする遺伝子のナンセンス変異は nonsense-mediated decay(NMD)にて mRNA レベルで破壊される．NMD を逃れた mRNA は不完全な寸断されたイオンチャネル蛋白となるが，ER 関連 degradation(ERAD)により分解処理される．また，一部のナンセンス変異もまた ERAD により分解される．この結果，イオンチャネルが細胞表面に発現していない，または発現量が減少する．ERAD が続くとついにはアポトーシスが誘発され，細胞死に至る．この過程は発熱や不明の因子で修飾されるかもしれない．

イオンチャネル細胞内輸送障害(表 3，「サイドメモ」参照)

SMEI のごく一部には GABA$_A$受容体の $\gamma 2$ サブユニットをコードする *GABRG2* の変異がみつかっている[8]．GABA$_A$受容体は中枢神経の主要な抑制系を担う，リガンド結合型の Cl^-チャネルである．いくつかのサブユニットから構成される五量体として機能しているが，ヒトの脳での主要な構成成分は 2 つずつの $\alpha 1$ と $\beta 2$ サブユニットで，$(\alpha 1)_2(\beta 2)_2(\gamma 2)$の形をなすと考えられている．

最初に SMEI で報告された *GABRG2* の異常はヘテロのナンセンス変異の p.Q351X であるが，その変異 $\gamma 2$ サブユニットをもつ GABA$_A$受容体は本来あるべき細胞膜表面に輸送されず，ER にとどまることが示唆された[8]．

さらに，SMEI ではないが FS と欠神発作などが認められる，いわば，FS＋の家系で，やはり *GABRG2* の変異が報告されている[9]．変異は p.R43Q であった．変異の部分は $\gamma 2$ サブユニットのベンゾジアゼピンの感受性が低下していることが示された．このため，その異常は成体に存在すると考えられているベンゾジアゼピン様物質のエンドゼピンに対す感受性の低下によりてんかんが起こるのではないかと予想された[9]．

しかし，その後の追試で $\gamma 2$ サブユニットに p.R43Q を有する GABA$_A$受容体はやはり細胞膜表面に輸送されず，ER 内にとどまることが示された[10-13]．すなわち，この変異もチャネルの細胞内輸送障害をきたすことが明らかにされたわけである．さらに最近，その細胞内輸送障害は温度の上昇により増悪することが示され，FS＋や SMEI など熱感受性があるてんかんの病態への関与が示唆された[14]．

現在のところ，てんかんに関与する遺伝子異常では *GABRA1* と *GABRG2* の変異に限られているものの，チャネルの遺伝子異常によりチャネル分子そのものの細胞内輸送障害が引き起こされる場合があることがしだいに明らかになってきた(表 3)[9-11,13,15-18]．チャネルが ER にとどまると細胞は ER 関連 degradation(ERAD)を利用して蓄積する異常チャネル分子を分解しようと試みる[19]．

前述の *GABRG2* での p.Q351X は，ER で他のサブユニットと会合・蓄積し ERAD により分解を受けることでドミナントネガティブ効果をもつことが示唆された[8,15]．著者らも SMEI で *GABRG2* に p.Q1X のトランケーション変異を見出した．変異を導入した *GABRG2* を他の $\alpha 1$，$\beta 2$ と正常な $\gamma 2$ サブユニットと発現させた場合，ER に蓄積しドミナントネガティブ効果を示すことを確認している．

また，ERAD の処理能力を超えて蓄積が続けば ER ストレスが生じ，ER ストレスはアポトーシスを誘導し，神経細胞にアポトーシスをきたす可能性もある[7]．すなわち，チャネルをコードする遺伝子変異は単にチャネルの電気生理学的異常をきたすばかりでなく，異常チャネル分子そのものによるアポトーシスを示すことが予想される．SMEI のようにさまざまな中枢神経症状を合併するてんかんの病態に関係している可能性が示唆される．

たとえば，SMEI と ADEFS＋は同じチャネル遺伝子に変異が発見されることから，いまのところ疾患のスペクトラムとして論じられているが，チャネルの変異による細胞内輸送障害，引き続く ER ストレス，アポトーシスといった病態概念はチャネロパチーとしてのてんかんの発症機序に新しいパラダイムをもたらすのかもしれない[7]．

遺伝子診断

てんかんの分子生物学的成因がしだいに明らかになってきたが，それを臨床，とくに診断に応用するためには留意しておかなければならない以下のような点がある．

現時点ではてんかんの遺伝子異常はまれなおもに家族性てんかんで発見されているにすぎない．てんかんの多くは実はさほど遺伝性が明確ではない．このような一般的なてんかんのいくつかの遺伝子異常が関係していると考えられ，さらに複雑であると予想される．

しかも，ここで紹介した家族性てんかん病型として臨床的に診断される症例のうち実際に遺伝子異常がみつかるケースは数％とごくわずかである．Na^+チャネル遺伝子に異常が高率に見出され，遺伝子診断も可能となってきた SMEI は現時点ではむしろ例外的といえる．

すなわち，臨床的には単一にみえるてんかん病型も，実は分子生物学的に非常に多様であることがわかる．つまり，いままでに報告された“てんかんの遺伝子異常”はてんかんに関係する遺伝子異常の氷山の一角であるといえる．これを知らないと，「既知の遺伝子異常が発見されなかった場合は臨床診断が間違っていたのか？」といった誤解も生じる．

このため，SMEI を除いててんかんの分子生物学的診断はいまだ現実的ではないといわざるをえない．しかし，今後の分子てんかんの分子生物学的研究が進むにつれ一部のてんかんでは遺伝子診断が可能となり，これに伴いてんかん分子生物学的知見に基づいた再分類もしだいに可能となってくるであろう．

分子病態に基づく革新的治療

チャネル遺伝子異常などてんかんの分子病態解明の糸口がみえてきた．もちろん関係するイオンチャネルの作動薬も開発されていくであろう．しかし，たとえばイオンチャネルの異常が最終的に特徴的なてんかんの臨床症状に至るのかはいまだ謎である．とはいえ，今後は遺伝子改変動物を利用した研究により原因遺伝子異常からてんかん発症までの分子生物学的なカスケードが急速に明ら

かになってくると思われる．すなわち，このカスケードが明らかになれば，各段階に関係する分子をブロックするような新規の治療法が期待できる．この場合，一般的な化学物質ばかりでなく，抗体による治療や，ワクチンによる治療も視野に入れるべきである．

さらに，分子生物学的な異常に介入しようとする試みもてんかんの革新的な治療へとつながると思われる．もちろん，進行性ミオクローヌスてんかんのような，特殊なてんかんの治療には遺伝子導入による治療も考えられるが，特発性てんかんには倫理的な問題や技術的な問題もあり，かならずしも実用的でないかもしれない．むしろ，たとえばSMEIで発見されるプレマチュアーコドンを読み飛ばすようなtranslation modulatorの使用や，細胞内分子輸送障害を矯正する化学シャペロンの応用などがより現実的であるように思える．

いずれにせよ，上記の革新的なてんかんの治療には，ヒトてんかんと同じ分子病態によりてんかんをきたす，真の意味でのてんかんのモデル動物となりうる遺伝子改変動物の作出が必須である．

おわりに

いくつかのてんかん病型で遺伝子異常が明らかになってきた．興味深いことに，特発性てんかんでの異常は中枢神経のチャネルの遺伝子にみつかったことである．チャネルが電気的神経興奮や抑制の源であることを考えれば，その異常が脳神経の異常興奮であるてんかんを引き起こすことが納得できる．ここから，すくなくともてんかんの一部はチャネルの病気チャネル病ではないかという仮説が生まれる．

しかし，現時点ではこういった遺伝子異常もSMEIを除けば，同定頻度が低く，遺伝子診断など臨床応用にはさらなる研究が必要である．

謝辞：本研究は日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究(A)，萌芽研究と私立大学学術研究高度化推進事業の助成による．

文献

1) Hirose, S. et al.：*Epilepsia*, 46(Suppl. 1)：38-43, 2005.
2) Hirose, S. et al.：*Epilepsia*, 43(Suppl. 9)：21-25, 2002.
3) Hirose, S. et al.：*Brain Dev.*, 24：211-222, 2002.
4) Hirose, S. et al.：*Epilepsy Res.*, 41：191-204, 2000.
5) Hirose, S. et al.：*Brain Dev.*, 25：304-312, 2003.
6) Kaneko, S. et al.：*Neurosci. Res.*, 44：11-30, 2002.
7) Hirose, S.：*Epilepsy Res.*, 70(Suppl. 1)：S206-S217, 2006.
8) Harkin, L. A. et al.：*Am. J. Hum. Genet.*, 70：530-536, 2002.
9) Wallace, R. H. et al.：*Nat. Genet.*, 28：49-52, 2001.
10) Gallagher, M. J. et al.：*J. Biol. Chem.*, 280：37995-38004, 2005.
11) Kang, J. Q. and Macdonald, R. L.：*J. Neurosci.*, 24：8672-8677, 2004.
12) Macdonald, R. L. et al.：*Biochem. Pharmacol.*, 68：1497-1506, 2004.
13) Sancar, F and Czajkowski, C.：*J. Biol. Chem.*, 279：47034-47039, 2004.
14) Kang, J. Q. et al.：*J. Neurosci.*, 26：2590-2597, 2006.
15) Kang, J. Q. et al.：*J. Neurosci.*, 29：2845-2856, 2009.
16) Kang, J. Q. et al.：*J. Neurosci.*, 29：2833-2844, 2009.
17) Maljevic, S. et al.：*Ann. Neurol.*, 59：983-987, 2006.
18) Cossette, P. et al.：*Nat. Genet.*, 31：184-189, 2002.
19) Meusser, B. et al.：*Nat. Cell Biol.*, 7：766-772, 2005.

新しい抗てんかん薬の概要

ラモトリギン

安元佐和　廣瀬伸一

Clinical Neuroscience 別冊

Vol. 29 No. 1　2011年1月1日発行

中 外 医 学 社

ラモトリギン

安元佐和　廣瀬伸一

はじめに

ラモトリギン(Lamotrigine；LTG)は1990年にアイルランドで承認されて以来，現在まで100ヵ国以上で承認されている．国内では2008年10月に，成人および小児の部分発作，強直間代発作，Lennox-Gastaut症候群の全般発作に対し併用療法として承認された．LTGの作用機序は，ナトリウムチャネルを頻度依存性，電位依存性に抑制することにより神経膜を安定化させ，グルタミン酸などの興奮性神経伝達物質の遊離を抑制することにより抗てんかん作用を示す[1]．またカルシウムチャネルの阻害作用を併せもつ[2]．

薬理動態と薬物相互作用

健康成人では経口摂取後ほぼ完全に吸収され，約3時間で最高血中濃度に達する．半減期は25～30時間で，肝でのグルクロン酸抱合で代謝され，尿中に排泄される[3]．妊娠中にはクリアランスが上昇し，肝機能，腎機能低下時には代謝が阻害される．LTGは肝のグルクロン酸抱合で代謝が競合するバルプロ酸(VPA)の併用で半減期が2倍に延長する[4]．グルクロン酸抱合を促進し酵素誘導をきたすカルバマゼピン(CBZ)，フェニトイン(PHT)，フェノバルビタール(PB)，プリミドン(PRM)でLTGの血中濃度が低下する．

臨床効果，副作用

国内での臨床治験では，成人の部分発作，特に二次性全般発作に対して効果が認められた[5]．小児難治性てんかんにおけるゾニサミドを対象とした単盲検比較試験では，ゾニサミドと同等の効果でありLennox-Gastaut症候群の全般発作にも有効性が認められた[6]．欧米のてんかん治療のガイドラインにおいては，全般性強直間代発作，強直発作，脱力発作，二次性全般発作，部分発作に第一選択薬となり，てんかん症候群では小児欠神てんかん，若年性欠神てんかん，若年性ミオクロニーてんかん，Lennox-Gastaut症候群，高齢者の部分てんかんに対して推奨されている[7～9]．

LTGは認知機能に対する影響が少なく[10]，また双極性障害への有効性[11]や，小児のてんかん患者における精神症状，行動異常に対する有用性も報告されている[12]．

催奇形性については，単剤療法におけるLTGの奇形発生率は2.91％で，てんかんのない女性と同程度で，併用療法でも他の薬剤に比し低値であった[13]．抗てんかん薬の胎児への影響について3歳時のIQを検討した報告では，LTG内服群での平均IQは100以上であった[14]．

国内臨床治験における主な副作用は，傾眠，めまい，肝機能障害，発疹であった．重大な副作用としては，Stevens-Johnson症候群や中毒性表皮壊死症(TEN)，再生不良性貧血，

やすもと さわ　福岡大学講師/小児科
ひろせ しんいち　同 教授

0289-0585/11/¥500/論文/JCOPY

併用薬によるLTGの代謝と投与量

LTGの代謝薬剤	①阻害する VPA	②どちらでもない ZNS, CLB, GBP, TPM, CZP, DZP	③促進する CBZ, PB, PHT, PRM
成　人	1～2週 1回25 mg 隔日 3～4週 25 mg 1日1回 5週～ 1～2週毎25～50 mg増量 維持量 100～200 mg/日		1～2週 50 mg/日 分1 3～4週 100 mg/日 分2 5週～ 1～2週毎100 mg増量 維持量 200～400 mg/日
小　児	1～2週 0.15 mg/kg/日 分1 3～4週 0.3 mg/kg/日 分1 5週～ 1～2週毎0.3 mg/kg/日増量 ①+③ 1～5 mg/kg/日 ①のみ 1～3 mg/kg/日 ①+② 1～3 mg/kg/日 (最大200 mg/日)		1～2週 0.6 mg/kg/日 分2 3～4週 1.2 mg/kg/日 分2 5週～ 1～2週毎 最大1.2 mg/kg/日増量 維持量 5～15 mg/kg/日 (最大400 mg/日)

(文献15より改変)

汎血球減少，無顆粒球症，肝機能障害，黄疸，無菌性髄膜炎がある．特にLTGに伴う発疹は投与2ヵ月以内がほとんどで，承認用量を超える初回用量や漸増用量，VPA併用例，小児で危険性が高い[15]．

用法，用量[15]

皮膚障害などを避けるため，初期には緩徐漸増法が推奨されている．

成人および小児の実際の投与法を表に示す．併用する薬剤により用量を調節する必要があり注意を要する．

文　献

1) Leach MJ, Marden CM, Miller AA. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug : Ⅱ. Neurochemical studies on the mechanism of action. Epilepsia. 1986 ; 27 : 490-7.
2) Wang SJ, Huang CC, Hsu KS, et al. Inhibition of N-type calcium currents by lamotrigine in rat amygdalar neurones. NeuroReport. 1996 ; 7 : 3037-40.
3) Biton V. Pharmacokinetics, toxicology and safety of lamotrigine in epilepsy. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2006 ; 2 : 1009-18.
4) Anderson GD, Yau MK, Gidal BE, et al. Bidirectional interaction of valproate and lamotrigine in healthy subjects. Clin Pharmacol Ther. 1996 ; 60 : 145-56.
5) 村崎光邦，八木和一，稲見允昭．Lamotrigineの成人難治てんかんにおける後期第Ⅱ相臨床治験―多施設間共同研究による用量比較試験．臨床精神薬理．2008 ; 11 : 99-115.
6) 大田原俊輔，飯沼一宇，藤原建樹，他．ラモトリギンの難治性てんかんに対する単盲検比較試験―ゾニサミドを対象とした小児第Ⅲ相比較試験．てんかん研究．2008 ; 25 : 425-40.
7) French JA, Kanner AM, Bautista J, et al. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs Ⅰ : treatment of new onset epilepsy : report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. Neurology. 2004 ; 62 : 1252-60.
8) French JA, Kanner AM, Bautista J, et al. Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs Ⅱ : treatment of refractory epilepsy : report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee and Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. Neurology. 2004 ; 62 : 1261-73.
9) Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, et al. ILAE treatment guidelines : evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. Epilepsia. 2006 ; 47 : 1094-120.
10) Pressler RM, Binnie CD, Coleshill SG, et al. Effect of lamotrigine on cognition in children with epilepsy. Neurology. 2006 ; 66 : 1495-9.
11) Fakhoury TA, Barry JJ, Mitchell Miller J, et al. Lamotrigine in patients with epilepsy and comorbid depressive symptoms. Epilepsy Behav. 2007 ; 10 : 155-62.
12) McKee JR, Sunder TR, FineSmith R, et al. Lamotrigine as adjunctive therapy in patients with refractory epilepsy and mental retardation. Epilepsy Behav. 2003 ; 4 : 386-94.
13) Morrow J, Russell A, Guthrie E, et al. Malformation risks of antiepileptic drugs in pregnancy : a prospective study from the UK Epilepsy and Pregnancy Register. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006 ; 77 : 193-8.
14) Meador KJ, Baker GA, Browning N, et al. Cognitive function at 3 years of age after fetal exposure to antiepileptic drugs. N Engl J Med. 2009 ; 360 : 1597-605.
15) グラクソ・スミスクライン株式会社．ラミクタール®錠添付文書．2008.

脳浮腫，頭蓋内圧亢進の治療法は

井上貴仁　安元佐和　廣瀬伸一

小児内科　第43巻　第3号　別刷

（2011年3月）

東京医学社　〒113-0033 東京都文京区本郷3-35-4
電話 03(3811)4119(代表)

＜用法・用量＞

10%グリセロール 5～10 ml/kg/回を 1 日 3～4 回，30 分～1 時間で点滴静注する。

＜副作用・注意点＞

原因不明の代謝性アシドーシスや低血糖，高乳酸血症，けいれん重積，意識障害が認められる症例では，代謝異常症（先天性のグリセリン・果糖代謝異常症，シトルリン血症，ミトコンドリア異常症など）の疑いがもたれるので，その場合はグリセロールを投与せずマンニトールを選択する[4]。また，脂肪酸代謝異常の推定される Reye 症候群でも投与を避ける[5]。糖代謝に干渉するので高血糖をひき起こす可能性があり，血糖のモニターをする[5]。

2）ステロイド薬

a）デキサメサゾン（販売名：デカドロンほか）

＜作用機序＞

副腎皮質ホルモンによる抗炎症作用，損傷脳毛細管の透過性亢進の防止，脳血液関門の安定化と修復作用，脳循環代謝の改善，脳脊髄液の産生の抑制などの作用により血管性浮腫に対して有効である。細胞性浮腫には無効とされている[2,3]。

＜用法・用量＞

デキサメサゾンを初回 0.2 mg/kg/回を静注し，以後，0.1 mg/kg/回を 1 日 4 回静注する。

＜副作用・注意点＞

消化性潰瘍の合併予防に H_2ブロッカーなどの抗潰瘍薬を併用する。そのほか高血圧や高血糖，易感染性に注意する。

b）メチルプレドニゾロン（販売名：ソル・メドロールほか）

＜作用機序＞

メチルプレドニゾロンの中枢神経系への移行は良好で，中枢神経系内の高サイトカイン状態や高サイトカイン血症の抑制に有効と考えられる。また，脳浮腫を軽減する効果もある。インフルエンザ脳症の全国調査の解析から，早期（脳症発症 1～2 日目）にメチルプレドニゾロンパルス療法を行った症例で予後が比較的良好であったというデータが得られている[6]。

＜用法・用量＞

メチルプレドニゾロン 30 mg/kg/回（最大量 1 日 1 g）を 2 時間かけて点滴静注する。原則として 3 日間投与し，1 週間ごとに 2～3 クール行う。

＜副作用・注意点＞

ステロイド薬により凝固が亢進するため，血栓形成の予防として，パルス療法終了翌日までヘパリン 100～150 IU/kg/日，持続点滴による抗凝固療法を併用する。

3）静注バルビタール薬

抗けいれん療法だけでなく，鎮静による脳保護療法として用いられるが，通常人工呼吸管理下に投与する。なお，頻用されていたペントバルビタール（販売名：ネンブタール）は 2007 年をもって製造・販売が中止された。

a）チオペンタールナトリウム（販売名：ラボナール）

＜作用機序＞

即効性がある静脈麻酔薬である。脳代謝の低下や脳血管を収縮させ脳血流が低下することにより，頭蓋内圧を低下させる。そのほか細胞膜安定化作用も有する。

＜用法・用量＞

初回 0.5 mg/kg をゆっくり静注し，以後 2～5 mg/kg/時で持続点滴する（最大 10 mg/kg/時まで）。10 mg/ml になるように調整し（チオペンタールナトリウム 1A〔500 mg〕20 ml＋注射用蒸留水 30 ml），シリンジポンプで持続点滴すると管理しやすい。

＜副作用・注意点＞

呼吸抑制，血圧低下，腸蠕動抑制には注意を要する。

輸液や他の薬剤との混合により白色の沈殿を生じルートが閉塞するため，単独ルートから投与する。本剤は強アルカリ（pH 10～11）のため，静脈外漏出による組織壊死や静脈炎を生じるため，中心静脈からの投与が望ましい。そのほか Na を多く含むため高 Na 血症に注意する。

4）脳保護薬

a）エダラボン（販売名：ラジカット）

＜作用機序＞

エダラボンは，脳血管や神経細胞の障害因子であるフリーラジカルを消去することにより脳保護作用を示す。本剤は発症後 24 時間以内の急性期脳梗塞に伴う神経徴候，日常生活動作障害，機能障害の改善に効果を示すとされ，小児においても脳梗塞やインフルエンザ脳症，急性脳症などの小児急性神経疾患の治療に本剤を試みた症例報告が散見されるようになった。

＜用法・用量＞

本剤は現時点で小児では保険適用外であり，小児に対する用法・用量は決定されていない。小児に対し投与した報告では，エダラボン 0.5～1.5 mg/kg/日を生理食塩水に溶解し，1 日 2 回の点滴静注，7～14 日間投与していた施設が多かったとされている[7]。

＜副作用・注意点＞

小児例における副作用発現率は 5.04%（6 例/119 例）で，肝機能異常が 2.52%（3 例）で最も多かったが，小児特有の副作用はみられなかったと報告されている[7]。

糖を含む輸液と混合すると，本剤の濃度低下をきたすことがあるため，生理食塩水で希釈する。

4．外科的治療

保存的療法で頭蓋内圧の制御が困難な場合，外科的治療を選択することになる。その適応については小児科医のみならず，脳神経外科医との十分な連携が不可欠である。

1）基礎疾患の治療

2）外減圧術

3）内減圧術

4）脳室ドレナージ

Key Points

❶ 基礎疾患の治療と並行し，迅速に対応することが重要である。

❷ 原因となる疾患が判明している場合，その疾患に対する治療が最優先される。

❸ 呼吸，循環，体温，栄養管理などの全身管理が重要である。

文　献

1) Dennis LJ, Mayer SA：Diagnosis and management of increased intracranial pressure. Neurol India **49**（Suppl 1）：35-50, 2001
2) 舘野昭彦，澤　佳世：脳浮腫治療薬・脳保護薬．小児科臨床 **60**：2279-2305, 2007
3) 伊藤昌弘：脳浮腫，頭蓋内圧亢進の治療は．小児内科 **38**：284-288, 2006
4) 安元佐和，満留昭久：小児の意識障害の原因と治療．臨牀と研究 **82**：1808-1811, 2005
5) 山本克弥：浸透圧脳圧降下薬の作用機序と使用上の注意点．小児内科 **38**：320-322, 2006
6) 厚生労働省 インフルエンザ脳症研究班；森島恒雄：インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版，2009 http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou04/info_medical.html よりダウンロード可能
7) 鳥山哲志，景山元嗣，木村史典，他：エダラボン（ラジカット注 30 mg）の小児脳梗塞に対する市販後調査結果．小児科臨床 **61**：155-164, 2008

*　　*　　*

Journal of Human Genetics (2011) 56, 609–612
© 2011 The Japan Society of Human Genetics All rights reserved 1434-5161/11 $32.00
www.nature.com/jhg

ORIGINAL ARTICLE

Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: a genotypic comparative study of Japanese and Korean families carrying the *CHRNA4* Ser284Leu mutation

Su-Kyeong Hwang[1], Yoshio Makita[2], Hirokazu Kurahashi[3], Yong-Won Cho[4] and Shinichi Hirose[1]

Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy is a familial partial epilepsy syndrome and the first human idiopathic epilepsy known to be related to specific gene defects. Clinically available molecular genetic testing reveals mutations in three genes, *CHRNA4*, *CHRNB2* and *CHRNA2*. Mutations in *CHRNA4* have been found in families from different countries; the Ser280Phe in an Australian, Spanish, Norwegian and Scottish families, and the Ser284Leu in a Japanese, Korean, Polish and Lebanese families. Clear evidence for founder effect was not reported among them, including a haplotype study carried out on the Australian and Norwegian families. Japanese and Koreans, because of their geographical closeness and historical interactions, show greater genetic similarities than do the populations of other countries where the mutation is found. Haplotype analysis in the two previously reported families showed, however, independent occurrence of the Ser284Leu mutation. The affected nucleotide was highly conserved and associated with a CpG hypermutable site, while other *CHRNA4* mutations were not in mutation hot spots. Association with a CpG site accounts for independent occurrence of the Ser284Leu mutation.
Journal of Human Genetics (2011) **56**, 609–612; doi:10.1038/jhg.2011.69; published online 14 July 2011

Keywords: acetylcholine receptor; autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy; epilepsy; founder effect; mutation

INTRODUCTION

Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE; MIM 118504) is a familial partial epilepsy syndrome characterised by clusters of brief frontal lobe motor seizures during drowsiness or sleep.[1,2] Seizures—often misdiagnosed as other nocturnal motor activities such as parasomnia or night terror[1–4]—vary from simple arousals to hyperkinetic activity with tonic or dystonic features. Onset usually occurs during the first two decades (mean age 10 years), but later onset has also been reported.[5]

ADNFLE is the first human idiopathic epilepsy known to be related to specific gene defects.[6] Clinically available molecular genetic testing reveals mutations in three genes encoding the α4, β2 and α2 subunits of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor (*CHRNA4*, *CHRNB2* and *CHRNA2*, respectively).[7–9] Overall mutations are found in less than 20% of individuals with ADNFLE/NFLE phenotypes, suggesting their genetic heterogeneity.[10] Approximately 10–20% of patients have a positive family history and fewer than 5% a negative one.[11]

Among the four mutations in *CHRNA4* (Ser280Phe, Ser284Leu, Leu291dup and Thr293Ile), Ser280Phe and Ser284Leu have been identified in several unrelated families (mutation names may be different from those of previous papers; we use NP_000735.1): the Ser280Phe in an Australian, Spanish, Norwegian and Scottish families,[12–15] and the Ser284Leu in a Japanese, Korean, Polish and Lebanese families.[16–19] It has been assumed that founder effect is not relevant to ADNFLE, because most of the families studied come from different countries,[20] and a previous haplotype study of the Australian and Norwegian family[14] showed no genetic connection.

Japanese and Koreans, because of their geographical closeness and historical interactions, show greater genetic similarities than do the populations of other countries where the mutation is found; indeed, previous studies between Japanese and Koreans have shown a closer genetic similarities than that between other east Asians.[21,22] Founder effects between the two countries have also been reported in several autosomal recessive diseases,[23,24] however, not in autosomal dominant ones. For ADNFLE patients, however, propagating their pathological genes is easier than it is for individuals with other more visible epilepsy syndromes. They have no seizures during the daytime, show normal neurological examinations and have a normal life expectancy and reproductive capacity. In addition, family members or the affected individual himself may believe that his symptoms are not an indication of illness and thus may not seek medical attention (or, knowing himself to be ill, he may deliberately refuse to reveal his condition to others).[25] To determine whether founder effect is present

[1]Department of Pediatrics, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan; [2]Education Center, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan; [3]Department of Pediatric Neurology, Aichi Prefectural Colony Central Hospital, Kasugai, Japan and [4]Department of Neurology, Dongsan Medical Center, Keimyung University, Daegu, Korea
Correspondence: Professor S Hirose, Department of Pediatrics, School of Medicine, Fukuoka University, 45-1, 7-chome Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan.
E-mail: hirose@fukuoka-u.ac.jp
Received 30 March 2011; revised 19 May 2011; accepted 29 May 2011; published online 14 July 2011

in ADNFLE, we compare haplotype structures in the two previously reported Japanese and Korean families.

MATERIALS AND METHODS

We reviewed the medical histories and electroencephalogram findings of a three-generational family from Japan and one from Korea (pedigrees in Figure 1).

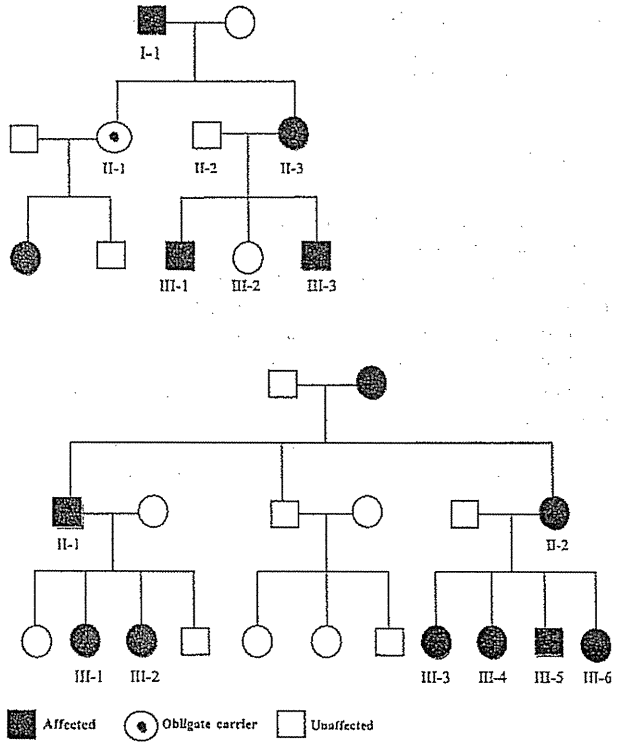

Figure 1 Pedigrees of a Japanese (the upper) and Korean (the lower) ADNFLE family. Only members-assigned numbers were evaluated.

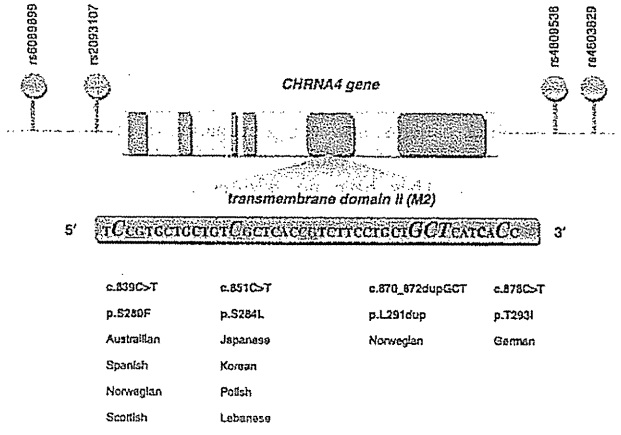

Figure 2 Schematic representation of SNPs around the *CHRNA4* gene and overview of all CHRNA4 mutations identified in ADNFLE. All the mutations are located in the second transmembrane domain (M2). Affected nucleotides are in larger italic fonts and CpG dinucleotide sites are underlined.

Samples were collected from the two families and DNA was extracted from whole blood using standard protocols. A genetic analysis was carried out for seven members of the Japanese and eight of the Korean family. Among them, four of the Japanese had ADNFLE, as did eight of the Koreans. Four single nucleotide polymorphisms (SNPs) around the *CHRNA4* were selected from a database of Japanese single nucleotide polymorphisms (JSNPS: http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/index_ja.html). To identify SNP-based haplotypes, four SNPs including rs 6089899, rs2093107, rs4809538 and rs4603829 (Figure 2) were typed by fluorescent sequencing on an automated DNA sequencer. Sequencing was carried out in both directions using four primer pairs. For comparison, the genotype frequencies of HapMap-JPT are listed in Table 1a.

We next examined the evolutionary conservation and phenotypic effect of Ser280Phe and Ser284Leu, which have shown recurrent occurrence in *CHRNA4*. The evolutionary conservation was estimated using phyloP score, available from UCSC Genome Browser (UCSC Genome Bioinformatics: http://genome.ucsc.edu/). The phenotypic effect of mutant protein was predicted using SIFT score (http://sift.jcvi.org/). In the phyloP, the conserved nucleotides are assigned positive scores, and the fast-evolving ones negative scores; the SIFT score ranges from 0 to 1. Deleterious amino-acid substitutions are assigned the scores of <0.05; tolerable substitutions are $\geqslant 0.05$.

We also checked hypermutable sites in *CHRNA4*. In the hypermutable sites analysis, we focused on CpG hypermutability. CpG is known as one of the major causes of codon substitution in mammalian genes, and is used to refer to cytosine followed by guanine in the Watson–Crick pair of a cytosine and guanine. The coding sequence of *CHRNA4* was analysed and the adjacent nucleotides were taken into account to distinguish CpG hypermutations from non-CpG transitions.

RESULTS

As shown in the pedigrees (Figure 1), there were five affected members and an obligated carrier in the Japanese family and nine affected members in the Korean one. Mutation in the two pedigrees showed an autosomal dominant mode with incomplete penetrance. All the affected individuals had a seizure semiology consistent with frontal lobe epilepsy and carried the Ser284Leu mutation in the *CHRNA4*. Both families had similar clinical manifestations, and their electroencephalogram findings were consistent with those of ADNFLE. They had brief motor seizures during sleep and no auras were reported. They shared features such as drug resistance and mental retardation, which are uncommon findings in ADNFLE. Still, SNP-based haplotypes were different in each family (Table 1b).

Ser280Phe and Ser284Leu showed higher phyloP scores (5.88 and 5.80, respectively) than the other nucleotides in *CHRNA4* (mean, 0.08). SIFT scores were lesser than 0.05 (0.00, each). CpG dinucleotide sites are shown in Figure 2. Nine CpG dinucleotide sites were detected in the coding sequence of *CHRNA4*, three of them in the second transmembrane domain (M2). Among the four *CHRNA4* mutations, only Ser284Leu mutation is associated with a CpG hypermutable site.

DISCUSSION

All *CHRNA4* mutations identified so far in ADNFLE have been located only in the M2 region, which has one of the most important functional roles in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor. This receptor has a pentameric structure comprised of various combinations of alpha and beta subunits encoded by *CHRNA4* and *CHRNB2*. The overall tertiary structure of nicotinic acetylcholine receptor subunits is similar; each subunit comprises four segments (M1 to M4) of the transmembrane domain and the N and C termini on the extracellular side of the membrane. M2 lines the central pore of the receptor and determines the ion selectivity of the receptor.[26]

Table 1 Genotype frequency (a) and SNP-based haplotypes in the two families (b)

RefSNP	*HGVS names*	*Genotype frequency (HapMap-JPT)*		
(a)				
rs6089899	NT_011333.6:g.735939G>A	AA	AG	GG
		0.13	0.40	0.47
rs2093107	NG_011931.1:g.3754T>C NT_011333.6:g.730573A>G	AA	AG	GG
		0.11	0.53	0.36
rs4809538	NT_011333.6:g.706807G>A	AA	AG	GG
		0.11	0.47	0.42
rs4603829	NT_011333.6:g.705523C>T	CC	CT	TT
		0.13	0.53	0.33

	rs 6089899	*rs 2093107*	*rs 4809538*	*rs 4603829*
(b)				
Japanese family	**G**	**G**	**G**	**T**
I-1	G/G	G/G	G/G	T/T
II-1	G/G	G/G	A/G	C/T
II-2	G/G	G/G	G/G	T/T
II-3	ND	G/G	ND	T/T
III-1	A/G	G/G	G/G	T/T
III-2	A/A	G/G	G/G	T/T
III-3	ND	G/G	G/G	T/T
Korean family	**G**	**A**	**A**	**C**
II-1	A/G	G/A	ND	C/T
II-2	G/G	A/A	A/A	C/C
III-1	G/G	G/A	A/G	C/T
III-2	G/G	G/A	A/G	C/T
III-3	G/G	A/A	A/A	C/C
III-4	G/G	A/A	A/A	C/C
III-5	G/G	A/A	A/A	C/C
III-6	G/G	A/A	A/A	C/C

Abbreviations: HGVS, Human Genome Variation Society (http://www.hgvs.org/); SNP, single nucleotide polymorphism.
Bold letters represent the most common allele of each SNPs.

The results obtained here do not support the hypothesis that the Ser284Leu mutations originated with a common founder. Association with a CpG site accounts for the independent occurrence of the Ser284Leu mutation. The other three mutations, however, are not associated with hypermutable sites such as homonucleotide runs, direct and inverted repeats and CpG dinucleotide sites.[27] Thus, the repetitive occurrence of Ser280Phe is not easily understood.

To explain it, we need to take into account ADNFLE development. One possible explanation is that ADNFLE is caused by mutations on a few functionally important sites within the M2.[14] Together with S280F, *in vitro* expression studies indicate that all CHRNA4 mutations increase receptor sensitivity to acethylcholine, suggesting gain of function.[28,29] In our results, both S280F and S284L showed high phyloP scores and low SIFT scores, indicating that the affected nucleotides are highly conserved and that their amino-acid substitutions will be deleterious.

Another explanation is that rare mutations have strong phenotypic effects in complex disorders.[30] A recent report uncovered significant excess of rare variants in neurological disorders, providing a 'rare allele-major effect model', and suggesting that the rare variants or *de novo* mutations in neurologically expressed genes are more likely to accumulate.

This is the first report comparing the haplotype structure of Japanese and Korean ADNFLE families. Further functional studies will be required to ascertain the ADNFLE's pathophysiology.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the members of the family for their cooperation in this study and Akiyo Hamachi and Minako Yonetani for technical assistance. This work was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research (A) 21249062; Japan Society for the Promotion of Science(JSPS); 'High-Tech Research Center' Project for Private Universities—matching fund subsidy from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology; 2006–2010—'The Research Center for the Molecular Pathomechanisms of Epilepsy, Fukuoka University'; research Grants (21B-5) for Nervous and Mental Disorder from the Ministry of Health, Labor and Welfare; Health and Labor Science Research Grant (21210301); KB220001 from the Ministry of Health, Labor and Welfare; Adaptable and Seamless Technology Transfer Program through target-driven R&D (A-STEP) exploratory research; Japan Science and Technology Agency (JSP); International Research Fund for Subsidy of Kyushu University School of Medicine Alumini; The Japan Epilepsy Research Foundation (H22-005); and research Grant from Keimyung University, Korea.

1 Scheffer, I. E., Bhatia, K. P., Lopes-Cendes, I., Fish, D. R., Marsden, C. D., Andermann, F. *et al.* Autosomal dominant frontal epilepsy misdiagnosed as sleep disorder. *Lancet* **343**, 515–517 (1994).
2 Scheffer, I. E., Bhatia, K. P., Lopes-Cendes, I., Fish, D. R., Marsden, C. D., Andermann, E. *et al.* Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. A distinctive clinical disorder. *Brain* **118** (Pt 1), 61–73 (1995).
3 Oldani, A., Zucconi, M., Ferini-Strambi, L., Bizzozero, D. & Smirne, S. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: electroclinical picture. *Epilepsia.* **37**, 964–976 (1996).
4 Hayman, M., Scheffer, I. E., Chinvarun, Y., Berlangieri, S. U. & Berkovic, S. F. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy: demonstration of focal frontal onset and intrafamilial variation. *Neurology* **49**, 969–975 (1997).
5 Steinlein, O. K. Neuronal nicotinic receptors in human epilepsy. *Eur. J. Pharmacol.* **393**, 243–247 (2000).
6 Steinlein, O. K., Mulley, J. C., Propping, P., Wallace, R. H., Phillips, H. A., Sutherland, G. R. *et al.* A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat. Genet.* **11**, 201–203 (1995).
7 Steinlein, O., Sander, T., Stoodt, J., Kretz, R., Janz, D. & Propping, P. Possible association of a silent polymorphism in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha4 with common idiopathic generalized epilepsies. *Am. J. Med. Genet.* **74**, 445–449 (1997).
8 De Fusco, M., Becchetti, A., Patrignani, A., Annesi, G., Gambardella, A., Quattrone, A. *et al.* The nicotinic receptor beta 2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat. Genet.* **26**, 275–276 (2000).
9 Aridon, P., Marini, C., Di Resta, C., Brilli, E., De Fusco, M., Politi, F. *et al.* Increased sensitivity of the neuronal nicotinic receptor alpha 2 subunit causes familial epilepsy with nocturnal wandering and ictal fear. *Am. J. Hum. Genet.* **79**, 342–350 (2006).
10 Ottman, R., Hirose, S., Jain, S., Lerche, H., Lopes-Cendes, I., Noebels, J. L. *et al.* Genetic testing in the epilepsies—report of the ILAE Genetics Commission. *Epilepsia.* **51**, 655–670 (2010).
11 Hirose, S. & Kurahashi, H. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (April 2010) *GeneReviews at GeneTests*: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle, 1997–2010. Available at http://www.genetests.org.
12 Phillips, H. A., Scheffer, I. E., Berkovic, S. F., Hollway, G. E., Sutherland, G. R., Mulley, J. C. *et al.* Localization of a gene for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy to chromosome 20q 13.2. *Nat. Genet.* **10**, 117–118 (1995).
13 Saenz, A., Galan, J., Caloustian, C., Lorenzo, F., Marquez, C., Rodriguez, N. *et al.* Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy in a Spanish family with a Ser252Phe mutation in the CHRNA4 gene. *Arch. Neurol.* **56**, 1004–1009 (1999).
14 Steinlein, O. K., Stoodt, J., Mulley, J., Berkovic, S., Scheffer, I. E. & Brodtkorb, E. Independent occurrence of the CHRNA4 Ser248Phe mutation in a Norwegian family with nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia.* **41**, 529–535 (2000).
15 McLellan, A., Phillips, H. A., Rittey, C., Kirkpatrick, M., Mulley, J. C., Goudie, D. *et al.* Phenotypic comparison of two Scottish families with mutations in different genes causing autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia.* **44**, 613–617 (2003).
16 Hirose, S., Iwata, H., Akiyoshi, H., Kobayashi, K., Ito, M., Wada, K. *et al.* A novel mutation of CHRNA4 responsible for autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* **53**, 1749–1753 (1999).
17 Cho, Y. W., Motamedi, G. K., Laufenberg, I., Sohn, S. I., Lim, J. G., Lee, H. *et al.* A Korean kindred with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy and mental retardation. *Arch. Neurol.* **60**, 1625–1632 (2003).
18 Phillips, H. A., Marini, C., Scheffer, I. E., Sutherland, G. R., Mulley, J. C. & Berkovic, S. F. A *de novo* mutation in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy. *Ann. Neurol.* **48**, 264–267 (2000).
19 Rozycka, A., Skorupska, E., Kostyrko, A. & Trzeciak, W. H. Evidence for S284L mutation of the CHRNA4 in a white family with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia.* **44**, 1113–1117 (2003).
20 Combi, R., Dalpra, L., Tenchini, M. L. & Ferini-Strambi, L. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy—a critical overview. *J. Neurol.* **251**, 923–934 (2004).
21 Saha, N. & Tay, J. S. Origin of the Koreans: a population genetic study. *Am. J. Phys. Anthropol.* **88**, 27–36 (1992).
22 Kim, J. J., Verdu, P., Pakstis, A. J., Speed, W. C., Kidd, J. R. & Kidd, K. K. Use of autosomal loci for clustering individuals and populations of East Asian origin. *Hum. Genet.* **117**, 511–519 (2005).
23 Inagaki, K., Suzuki, T., Ito, S., Suzuki, N., Fukai, K., Horiuchi, T. *et al.* OCA4: evidence for a founder effect for the p.D157N mutation of the MATP gene in Japanese and Korean. *Pigment Cell. Res.* **18**, 385–388 (2005).
24 Khajoee, V., Ihara, K., Kira, R., Takemoto, M., Torisu, H., Sakai, Y. *et al.* Founder effect of the C9 R95X mutation in Orientals. *Hum. Genet.* **112**, 244–248 (2003).
25 Thomas, P., Picard, F., Hirsch, E., Chatel, M. & Marescaux, C. Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Rev. Neurol. (Paris)* **154**, 228–235 (1998).
26 Unwin, N. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* **373**, 37–43 (1995).
27 Rogozin, I. B. & Pavlov, Y. I. Theoretical analysis of mutation hotspots and their DNA sequence context specificity. *Mutat. Res.* **544**, 65–85 (2003).
28 Moulard, B., Picard, F., le Hellard, S., Agulhon, C., Weiland, S., Favre, I. *et al.* Ion channel variation causes epilepsies. *Brain Res. Rev.* **36**, 275–284 (2001).
29 Bertrand, D., Picard, F., Le Hellard, S., Weiland, S., Favre, I., Phillips, H. *et al.* How mutations in the nAChRs can cause ADNFLE epilepsy. *Epilepsia.* **43**(Suppl 5), 112–122 (2002).
30 Myers, R. A., Casals, F., Gauthier, J., Hamdan, F. F., Keebler, J., Boyko, A. R. *et al.* A population genetic approach to mapping neurological disorder genes using deep resequencing. *PLoS. Genet.* **7**, e1001318 (2011).

Epilepsia, 52(6):1144–1149, 2011
doi: 10.1111/j.1528-1167.2011.03053.x

FULL-LENGTH ORIGINAL RESEARCH

Retrospective multiinstitutional study of the prevalence of early death in Dravet syndrome

*[1]Masako Sakauchi, *[1]Hirokazu Oguni, *Ikuko Kato, *[1]Makiko Osawa, †[1]Shinichi Hirose, ‡Sunao Kaneko, §[1]Yukitoshi Takahashi, §Rumiko Takayama, and §Tateki Fujiwara

*Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; †Department of Pediatrics, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan; ‡Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Hirosaki University, Aomori, Japan; and §National Epilepsy Center, Shizuoka Institute of Epilepsy and Neurological Disorder, Shizuoka, Japan

Summary

Purpose: A questionnaire survey was conducted in Japan to investigate the causes and prevalence of death related to Dravet syndrome.

Methods: A questionnaire was delivered to 246 hospitals at which physicians were treating childhood epilepsy to gain information about the total number of patients with Dravet syndrome and their prevalence of early death.

Key Findings: Responses to the survey were collected from 91 hospitals, and a total of 63 of 623 patients with Dravet syndrome died. Data from 59 of these patients were analyzed. The patients' ages at death ranged from 13 months to 24 years and 11 months, with a median age of 6 years and 8 months. The analysis showed that the risk of mortality remained high up to approximately 12 years of age. The causes of mortality included sudden death in 31 patients (53%), acute encephalopathy with status epilepticus (SE) in 21 patients (36%), drowning in 6 patients (10%), and acute hepatopathy in one patient (1%). The incidence of sudden death reached a first peak at 1–3 years of age and reached a second peak at 18 years and older. In contrast, the incidence of acute encephalopathy with SE reached a sharp peak at 6 years of age. Seven of 10 patients who underwent an *SCN1A* mutation analysis exhibited positive mutations without a specific mutation site.

Significance: In the present study, the prevalence of Dravet syndrome–related mortality was 10.1%. The incidence of sudden death and acute encephalopathy with SE was the highest in infancy (1–3 years) and at early school ages (with a peak at 6 years), respectively. After approximately 12 years of age, the risk of mortality declined sharply. Neither the treatment nor the number of seizures was associated with any cause of mortality. In addition, it is difficult to predict which factors lead to a fatal outcome.

KEY WORDS: Dravet syndrome, Severe myoclonic epilepsy in infants, Mortality, Sudden death, Acute encephalopathy.

Dravet syndrome is one of the most malignant epileptic syndromes among the various types of childhood epilepsy (Oguni et al., 2001; Dravet et al., 2005). Recent advances in molecular biology have demonstrated that *SCN1A* mutations cause this rare but catastrophic epilepsy and have increased our understanding of its pathogenesis (Claes et al., 2001). This disorder exhibits specific clinical features: Seizures are easily provoked by a rise in the body temperature; various types of seizures are combined with one another; and strong photosensitivities and pattern sensitivities are involved. Furthermore, sudden death from unknown causes and mortality or serious sequelae associated with lethal status epilepticus (SE) have been reported, accounting for a percentage that is constant from author to author (Oguni et al., 2001; Dravet et al., 2005). The number of patients diagnosed with Dravet syndrome has increased throughout the world (Dravet et al., 2005); the *SCN1A* mutation test facilitates a definitive diagnosis in the early stage of the condition, and characteristic clinical features have been widely recognized among pediatric neurologists. In contrast, the seizures and mental prognosis do not seem to improve despite various treatment trials that have been conducted. In addition, unexpected death during the treatment course for this catastrophic disorder may have influenced the reliance of patients' families on physicians (So et al., 2009). Until now, no systematic study has been conducted to clarify the incidence of unexpected death or the prognostic factors associated with this mortality. Because Dravet syndrome is a rare type of epileptic syndrome, an analysis involving a number of patients in a single hospital is difficult, necessitating a nationwide survey. In this study, we conducted a nationwide questionnaire survey regarding Dravet syndrome–related mortality in Japan and investigated the

Accepted February 2, 2011; Early View publication April 11, 2011.
Address correspondence to Hirokazu Oguni, Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan. E-mail: hoguni@ped.twmu.ac.jp
[1]Dravet Syndrome Prognosis Research Group (see Appendix).

Wiley Periodicals, Inc.
© 2011 International League Against Epilepsy