

平成 25 年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
分担研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

分担研究課題：年齢依存性てんかん性脳症の遺伝型と臨床型の関連性の解明

分担研究者 加藤光広 山形大学医学部小児科学講座

研究要旨：

昨年度、年齢依存性てんかん性脳症である大田原症候群 12 症例の全エクソーム解析を行い、3 症例で *KCNQ2* の新生変異をみいだした。*KCNQ2* は良性家族性新生児痙攣の原因遺伝子として知られていたが、早期発症の年齢依存性てんかん性脳症における *KCNQ2* 変異の寄与は不明な点が多く、変異率と臨床像を調査した。大田原症候群 51 例、早期ミオクロニー脳症 4 例、ウエスト症候群 104 例、その他の乳児期発症てんかん性脳症 80 例の計 239 例に対して *KCNQ2* の変異解析を行い、病的変異を示した 12 例（大田原症候群 10 例、分類不能の乳児期発症てんかん性脳症 2 例）の臨床型を解析した。全例で発作は新生児期に発症し、発作型は強直発作が多かった。脳波は 11 例がサブレッション・バーストを示した。8 例はカルバマゼピンやフェニトイン、トピラメート、バルプロ酸 Na で発作が消失したが、3 か月の死亡例を除き全例精神遅滞を併発した。*KCNQ2* 変異は大田原症候群の約 20%を占める主要な原因であり、発作予後は比較的良好だが、知能障害の改善が今後の課題である。

A．研究目的

年齢依存性てんかん性脳症は、発達期に応じた特徴的なてんかん発作と脳波所見を呈し、認知機能や運動障害などの発達障害を併発する。新生児期に発症する大田原症候群と乳児期に発症するウエスト症候群はその代表的疾患であり、私たちはこれまでに *ARX*, *STXBP1*, *SPTAN1* など複数の原因遺伝子を明らかにしてきた。Weckhuysenらは新生児もしくは乳児期発症の原因不明てんかん性脳症 80 例に対して、*KCNQ2* と *KCNQ3* の変異スクリーニング解析を行い、8 例に *KCNQ2* 変異を同定した(Weckhuysen et al. Ann Neurol 2013)。私たちも昨年度大田原症候群 12 症例の全エクソーム解析を行い、3 症例で *KCNQ2* の新生変異をみいだした(Saitou et al. Ann Neurol 2012)。*KCNQ2* は良性家族性新生児痙攣の原因遺伝子として知られていたが、早期発症の年齢依存性てんかん性脳症における *KCNQ2* 変異例については不明な点が多い。

本研究では、*KCNQ2* 遺伝子変異による臨床型を明らかにする事を目的とした。

B．研究方法

保護者の承諾を得て、脳形成異常や代謝異常、周産期障害による明らかな原因を除外された年齢依存性てんかん性脳症の患者 239 例（大田原症

候群 51 例、早期ミオクロニー脳症 4 例、ウエスト症候群 104 例、分類不能の乳児期発症てんかん性脳症 80 例）および変異陽性例については両親の血液から DNA を抽出し、さらに臨床情報（発作型・脳波・頭部 MRI・使用薬剤と効果・併発症など）を収集した。

*KCNQ2* 遺伝子の全コード領域を high resolution melting (HRM)法を用いて変異スクリーニングを行い、陽性例に対して直接塩基配列の解析を行った。大田原症候群 51 例中 30 例については全エクソーム解析を行ない、*KCNQ2* 変異とともに *KCNQ3* 変異の有無を確認した。なお、*STXBP1* 変異例と男性では *ARX* 変異例を除外した。

C．研究結果

12 例において 10 種類の *KCNQ2* 変異を同定した。すべてミスセンス変異であった。11 例は新生変異で、1 例は新生児期発症のてんかんを認める母がモザイク変異を有していた。

変異症例は、大田原症候群 10 例、分類不能の乳児期発症てんかん性脳症 2 例であった。9 例は生後 3 日以内に、発作や哺乳不良などの初期症状を示し、全例 2 週間以内にてんかん発作を発症した。時間単位もしくは日単位の強直発作が 11 例に認められた。初回脳波は 10 例でサブレッション・バーストを示し、うち 4 例は非対称性パター

ンを、さらに4例は平坦部分が短かった。てんかん性スバズム発作は4例に認められ、ヒプスアリスミアは3例に認められた。もっとも使用されていた薬剤はフェノバルビタールで、8例は単剤もしくは多剤併用療法、ACTH筋注療法で発作は抑制されていた。最終記録脳波は、8例で焦点性もしくは多焦点性突発波を示し、広汎性の突発波は2例のみであった。1例は生後3か月で亡くなっていた。全例中等度から最重度の知的障害を示した。2例は介助なしに歩行が可能であったが、7例は常時臥床状態であった。頭部MRIを入手した9例中6例に、淡蒼球の異常な高信号を認めた。3例で前頭葉の軽度萎縮と菲薄化した脳梁が経過後期に認められた。

#### D．考察

KCNQ2変異を認めた年齢依存性てんかん性脳症12例中10例は大田原症候群の臨床像を呈し、KCNQ2変異が大田原症候群の主要な原因の一つであることが明らかにされた。その一方、KCNQ3変異は全エクソーム解析を行った大田原症候群30例には認められず、Weckhuysenらの既報告同様、年齢依存性てんかん性脳症のなかの少なくとも大田原症候群におけるKCNQ3変異の寄与率は低いと考えられた。今回年齢依存性てんかん性脳症に認められたKCNQ2変異は全てミスセンス変異であり、良性家族性新生児痙攣で認められるフレームシフト変異やナンセンス変異とは異なっていた。良性家族性新生児痙攣ではKCNQ2でコードされるカリウムイオンチャネルのハプロ不全が疾患原因と推測されているが、良性家族性新生児痙攣の母と分類不能のてんかん性脳症の子に認められたp.Ser247Trp変異はドミナントネガティブ効果が報告されており、年齢依存性てんかん性脳症におけるKCNQ2変異の分子病態についてはさらに検討が必要である。

KCNQ2変異による年齢依存性てんかん性脳症と良性家族性新生児痙攣の臨床像を比較すると、胎生期と出産には異常を認めず、生後1週以内に強直発作で発症する点は共通であった。また良性家族性新生児痙攣でも報告があるように、発作が明白になる以前に顔面紅潮もしくは蒼白、無呼吸、哺乳不良などの自律神経症状と考えられる症状が出現していた。初期の発作頻度は、両者で明らかかな差を認めず、一部の良性家族性新生児痙攣では逆に年齢依存性てんかん性脳症よりも頻回の場合がある。

既報告と合わせKCNQ2変異による年齢依存性て

んかん性脳症23例中18例(78%)において、脳波はサブプレッション・バーストを示した。しかし非対称性や短い平坦部分など非典型的なサブプレッション・バーストが多く、KCNQ2変異の脳波特徴と考えられた。脳形成異常やARX変異、STXBP1変異による大田原症候群と比較し、KCNQ2変異による年齢依存性てんかん性脳症の特徴として、初期の発作消失率が高いこと、West症候群への移行例が少ないこと、カルバマゼピン、フェニトイン、バルプロ酸、トピラマートの有効例が多いことが挙げられる。有効だった4剤はいずれも電位依存性Naチャンネルブロック作用を有する。レチガビンはKCNQ2でコードされるカリウムイオンチャンネルKv7を選択的に開放することが知られており、KCNQ2変異例に対して、より有効な可能性がある。

#### E．結論

KCNQ2の新生変異は早期乳児に発症する年齢依存性てんかん性脳症の原因となり、臨床像として多くは大田原症候群を示す。抗てんかん薬に反応し発作予後は比較的良いが、運動・認知の予後は非常に不良であり、より効果的な治療法の開発が必要である。

#### F．健康危険情報

特になし。

#### G．研究発表

##### 1．論文発表

- 1) Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, Terashima H, Osaka H, Nakamura S, Tohyama J, Kumada T, Furukawa T, Iwata S, Shihara T, Kubota M, Miyatake S, Koshimizu E, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, Matsumoto N, Saitsu H: De Novo mutations in *GNAO1*, encoding a Galphao subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet* 93:496-505,2013.
- 2) Nakamura K, Kato M, Osaka H, Yamashita S, Nakagawa E, Haginoya K, Tohyama J, Okuda M, Wada T, Shimakawa S, Imai K, Takeshita S, Ishiwata H, Lev D, Lerman-Sagie T, Cervantes-Barragan DE, Villarroel CE, Ohfu M, Writzl K, Gnidovec Strazisar B, Hirabayashi S, Chitayat D, Myles Reid D, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hayasaka K,

- Matsumoto N, Saitsu H: Clinical spectrum of *SCN2A* mutations expanding to Ohtahara syndrome. *Neurology* 81:992-8,2013.
3. Koder H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G, Tohyama J, Nakamura K, Nakagawa E, Ikeda T, Ben-Zeev B, Lev D, Lerman-Sagie T, Strausberg R, Tanabe S, Ueda K, Amamoto M, Ohta S, Nonoda Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, King MC, Matsumoto N, Saitsu H: Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia* 54:1262-9,2013.
  4. Kato M, Yamagata T, Kubota M, Arai H, Yamashita S, Nakagawa T, Fujii T, Sugai K, Imai K, Uster T, Chitayat D, Weiss S, Kashii H, Kusano R, Matsumoto A, Nakamura K, Oyazato Y, Maeno M, Nishiyama K, Koder H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saito K, Hayasaka K, Matsumoto N, Saitsu H: Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by *KCNQ2* mutation. *Epilepsia* 54:1282-7,2013.
  - 3) Kato M, Saitsu H, Murakami Y, Kikuchi K, Watanabe S, Matsuura R, Takayama R, Hamano S, Kinoshita T, Hayasaka K, Matsumoto N: Early-onset epileptic encephalopathies caused by *PIGA* gene mutation. American Epilepsy Society Annual Meeting 2013, December 6-10, 2013, Washington, D.C., USA
  - 4) Murakami Y, Kato M, Saitsu H, Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Matsuura R, Takayama R, Ohba C, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Matsumoto N, Kinoshita T: Inherited GPI-anchor deficiencies caused by the hypomorphic mutations in *PIGA* gene: comparison to paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, December 7-10, 2013, New Orleans, USA

H . 知的財産権の出願・登録状況  
なし

#### 学会発表

- 1) Nakamura K, Saitsu H, Kato M, Osaka H, Yamashita S, Nakagawa E, Haginoya K, Tohyama J, Okuda M, Wada T, Shimakawa S, Imai K, Takeshita S, Ishiwata H, Lev D, Lerman-Sagie T, Cervantes-Barragán DE, Villarreal CE, Ohfu M, Writzl K, Stražišar BG, Hirabayashi S, Chitayat C, Reid DM, Nishiyama K, Koder H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N: Clinical spectrum of *SCN2A* mutations expanding to Ohtahara syndrome: Involvement of chromosomal aberrations in patients with early epileptic encephalopathy. 30th International Epilepsy Congress, June 23 – 27, 2013 Montreal, Canada
- 2) Tohyama J, Akasaka N, Writzl K, Nonoda Y, Hamdan FF, Michaud JL, Osaka H, Shimono M, Kato M, Matsumoto N, Saitsu H. Phenotypic spectrum of *SPTAN1* encephalopathy. 30th International Epilepsy Congress, June 23 – 27, 2013 Montreal, Canada