

## アレイ CGH を用いた小児中枢神経疾患における CNV 解析

分担研究者 奥村彰久 順天堂大学医学部小児科・准教授

### 研究要旨

小児神経疾患においてアレイ CGH を用いてコピー数変化(CNV)を同定することは、疾患の確定診断に結びつくのみならず、治療法の適切な選択が可能になり予後の改善に繋がることが期待される。今年度はCNVの関与が疑われる小児神経疾患に対しアレイ CGH を施行し、その意義を探索した。12例の様々な小児中枢神経疾患を対象としてアレイ CGH を行った。既知の疾患(Pelizaeus-Melzbacher 病および Cat eye 症候群)が疑われた2例では、アレイ CGH により確定診断が可能であった。臨床診断が困難であった10例中2例に病的な CNV を見出すことができ、診断が可能であった。1例は新生児期発症のてんかんで、20番染色体長腕に *KCNQ2* および *CHRNA4* を含む微小欠失を同定することができた。他の1例は自閉症と特異顔貌の児で、3番染色体短腕に微小欠失を同定することができた。アレイ CGH は既知の疾患のみならず臨床診断が困難な症例にも有用な情報をもたらすことができるため、今後ますますその臨床応用の進展が期待される。

### A. 研究目的

近年、遺伝学的解析は飛躍的な進歩を遂げ、詳細な解析を迅速かつ安価に行うことが可能になりつつある。また、臨床の現場に先進的な解析が浸透しつつあり、臨床的な診断方法の一つとして遺伝学的解析が行われる機会が増えている。

我々は、従来から様々な小児の神経疾患に対してアレイ CGH を用いたコピー数変化(copy number variations: CNV)の解析を導入している。CNV の同定は疾患の確定診断に結びつくのみならず、その結果から治療法の選択が可能になり予後を改善することができる症例も散見される。今年度はCNVの関与が疑われる小児神経疾患に対しアレイ CGH を施行し、その意義を探索した。

### B. 研究方法

12例の様々な中枢神経疾患を対象とした。対象となった症例は、精神遅滞や様々なてんかん、複数の小奇形、脳形成障害、頭部 MRI 異常などの所見を有していた。このうち2症例では既知の神経疾患の暫定診断がなされていた(Pelizaeus-Melzbacher 病1例、Cat eye 症候群1例)。保護者からインフォームドコンセントを取得した後、アレイ CGH を SurePrint G3 Hmn CGH 60k Oligo Microarray Kit を用いて施行した。

### C. 研究結果

(1) 既知の疾患の暫定診断がなされていた症例

暫定診断がなされていた Pelizaeus-Melzbacher 病および Cat eye 症

候群の診断が、アレイ CGH によってそれぞれ確定した。

Pelizaesus-Melzbacher 病については、母親にも同じ CNV が見いだされ、遺伝カウンセリングを通じて適切な情報提供を行うことが可能であった。Cat eye 症候群については、診断が確定したのみでなく CNV の範囲を明確にすることで、合併症の予測などの有用な臨床情報を得ることができた。

## (2) 診断がついていなかった症例

10 例中 2 例においてアレイ CGH で CNV を検出することが可能であった。

1 例は新生児期に発症したてんかんの患児であり、アレイ CGH によって 20 番染色体長腕に微小欠失を同定することができた。欠失部位には *KCNQ2* および *CHRNA4* を含む 32 遺伝子が含まれていた。てんかんとしての予後は良好であったが、発達に軽度の遅れを認めており、現在経過を追跡中である。

1 例は自閉症と特異顔貌を認める患児であり、3 番染色体短腕に微小欠失を同定することができた。欠失部位には 17 遺伝子が含まれていた。同様の CNV を呈する症例の報告は少ないため、各々の遺伝子の関与を詳細に決定することは困難であるが、新たな微小欠失症候群の候補となり得る知見と思われた。

## D. 考察

アレイ CGH は染色体の微小な欠失や重複を網羅的に検出する方法としてすでに定着し、膨大な知見の蓄積がなされている。アレイ CGH による CNV の情報は研究レベルだけではなく、既に臨床の現場で活用さ

れている。我々も新生児期に発症した難治焦点性てんかんにおいてアレイ CGH によって *SCN1A*・*SCN2A* を含む 2 番染色体の微小重複が判明し、抗てんかん薬の使用方法をその結果に基づいて変更し発作を抑制することができた経験がある。既に病的意義が判明している遺伝子を含む CNV においてはこのような臨床応用が可能であり、また今後さらなる知見が蓄積されると思われる。

一方、今後は未知の疾患についての応用も期待されている。今回の検討でも診断がついていなかった 10 例中 2 例で、アレイ CGH によって病的な CNV を見出すことができた。20 番染色体長腕に微小欠失を認めた新生児てんかんの児は外表奇形などの他の手掛かりがなく、アレイ CGH が極めて有用であった。また、3 番染色体短腕に微小欠失を認めた自閉症と特異顔貌の症例においてもこれまでの報告は少なく、臨床情報のみからの診断は困難である。このような情報の蓄積が、今後ますますアレイ CGH の意義を高めていくと思われる。

## E. 結論

12 例の小児神経疾患に対し、アレイ CGH による CNV の検出を試みた。既知の疾患が疑われた 2 例では、アレイ CGH により確定診断が可能であった。臨床診断が困難であった 10 例中 2 例に病的な CNV を見出すことができ、診断が可能であった。アレイ CGH の臨床応用が今後ますます進むことが期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Okumura A, Nakagawa S, Kawashima H, Morichi S, Muguruma T, Saito O, Fujimoto JI, Toida C, Kuga S, Imamura T, Shimizu T, Kondo N, Morishima T. Severe form of encephalopathy associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Japan. *J Clin Virol* 2013; 56(1): 25-30.
2. Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Shimojima K, Yamamoto T. Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* 2013; 35(3): 274–279.
3. Okumura A, Nakazawa M, Abe S, Shimizu T. Attitude toward epilepsy after media coverage of car accidents related to persons with epilepsy in Japan. *Epilepsy Behav* 2013; 27(1): 264-266.
4. Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T. PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev* 2013; 35(7): 641-646.
5. Okumura A, Nakagawa S, Kawashima H, Muguruma T, Saito O, Fujimoto J, Toida C, Kuga S, Imamura T, Shimizu T, Kondo N, Morishima T. Unexpected cardiopulmonary arrest associated with influenza: our experience during the 2009 pandemic in Japan. *Influenza Other Respi Viruses* 2013; 7(5): 759-760.
6. Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi JI, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology*. 2013; 33(5): 553-560.
7. Saito M, Okumura A, Kidokoro H, Kubota T, Abe S, Ikeno M, Hayakawa F, Shimizu T, Watanabe K. Amplitude spectral analyses of disorganized patterns on electroencephalograms in preterm infants. *Brain Dev* 2013; 35(1): 38-44.
8. Kato T, Okumura A, Hayakawa F, Tsuji T, Hayashi S, Natsume J. Amplitude-integrated electroencephalogram 1h after birth in a preterm infant with cystic periventricular leukomalacia. *Brain Dev* 2013; 35(1): 75-78.
9. Igarashi A, Okumura A, Kitamura Y, Jinbo K, Akatsuka S, Tanuma N, Shimizu T, Hayashi M. Acute limbic encephalitis with focal hyperperfusion on single photon emission computed tomography. *Brain Dev* 2013; 35(2): 181-184.
10. Suganuma H, Okumura A, Kitamura Y, Shoji H, Shimizu T. Effect of Hypoxic-Ischemic Insults on the Composition of Fatty Acids in the Brain of Neonatal Rats. *Ann Nutr Metab* 2013; 62(2): 123-128.

11. Yoneda Y, Haginoya K, Kato M, Osaka H, Yokochi K, Arai H, Kakita A, Yamamoto T, Otsuki Y, Shimizu S, Wada T, Koyama N, Mino Y, Kondo N, Takahashi S, Hirabayashi S, Takanashi J, Okumura A, Kumagai T, Hirai S, Nabetani M, Saitoh S, Hattori A, Yamasaki M, Kumakura A, Sugo Y, Nishiyama K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N, Saitsu H. Phenotypic spectrum of COL4A1 mutations: porencephaly to schizencephaly. *Ann Neurol* 2013; 73(1): 48-57.
  12. Kubota T, Fukasawa T, Kitamura E, Magota M, Kato Y, Natsume J, Okumura A. Epileptic seizures induced by dexmedetomidine in a neonate. *Brain Dev* 2013; 35(4):360-362.
  13. Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Ohta R, Kimura H, Okumura A. Human herpesvirus 6-associated encephalopathy in a child with Dravet syndrome. *Neuropediatrics* 2013; 44(3): 155-158.
  14. Kidokoro H, Kubota T, Hayakawa M, Kato Y, Okumura A. Neonatal seizure identification on reduced channel EEG. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2013; 98(4): F359-361.
  15. Nakazawa M, Okumura A, Nijima S, Yamashita S, Shimono K, Hirose S, Shimizu T. Oral mexiletine for lidocaine-responsive neonatal epilepsy. *Brain Dev.* 2013; 35(7): 667-669.
  16. Nakano T, Okumura A, Tanabe T, Niwa S, Fukushima M, Yonemochi R, Eda H, Tsutsumi H. Safety evaluation of laninamivir octanoate hydrate through analysis of adverse events reported during early post-marketing phase vigilance. *Scand J Infect Dis.* 2013; 45(6): 469-477.
  17. Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-Terminal Domain of ColQ in Endplate Acetylcholinesterase Deficiency Compromise ColQ-MuSK Interaction. *Hum Mutat* 2013; 34(7): 997-1004.
  18. Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T. A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene.* 2013; 531(2): 467-471.
2. 著書  
なし
  3. 学会発表
    1. Okumura A. Invited lecture: Proposal of semiological categorization of neonatal seizures. The 15th Annual Meeting of Infantile Seizure Society, Tokyo, Japan, 2013.4.13.
    2. 奥村彰久、中川聡、河島尚志、清水俊明、近藤直実、森島恒雄、新型インフルエンザ死亡例調査グループ. インフルエンザに伴う予期せぬ心肺停止: パンデミック 2009 小児死亡例の実態調査から.

- 第 116 回日本小児科学会学術集会、広島、2013.4.20
3. Okumura A. Current Clinical Approach to Neonatal Seizures. Pediatric Academic Societies 2013 Annual Meeting, Washington DC, USA, 2013.5.4.
  4. Okumura A. EEG in term babies. Joint Scientific Meeting of 9th Asian Society of Pediatric Research Congress and 20thh Malaysia Society of Pediatrics Annual Congress, Kuching. Malaysia, 2013.5.9.
  5. Okumura A. EEG in preterm babies. Joint Scientific Meeting of 9th Asian Society of Pediatric Research Congress and 20thh Malaysia Society of Pediatrics Annual Congress, Kuching. Malaysia, 2013.5.9.
  6. Okumura A. Neonatal Seizures. Diagonosis and treatment based on EEG. Joint Scientific Meeting of 9th Asian Society of Pediatric Research Congress and 20thh Malaysia Society of Pediatrics Annual Congress, Kuching. Malaysia, 2013.5.11.
  7. Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Abe S, Takanashi J, Okamoto N, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing identifies FLNB variant in a unique brain malformation. 第 55 回小児神経学会総会、大分、2013.5.30.
  8. 奥村彰久. 新生児脳障害と中枢神経モニタリング. 第 55 回小児神経学会総会、大分、2013.5.31.
  9. 奥村彰久. 急性脳症をいかに理解するか：今後の研究アプローチ 2. 脳波・aEEG. 第 55 回小児神経学会総会、大分、2013.6.1.
  10. Okumura A, Nakazawa M, Abe S, Shimizu T. Attitude toward Epilepsy after Media Coverage of Car Accidents Related to Persons with Epilepsy in Japan. 30th International Epilepsy Congress, Montreal, Canada, 2013.6.24.
  11. 奥村彰久、池野充、久田研、東海林宏道、清水俊明. 新生児発作に対するホスフェニトインの使用経験. 第 49 回日本周産期・新生児医学会学術集会、横浜、2013.7.15.
  12. OkumuraA, Nakazawa M, Abe S, Shimizu T. Attitude toward Epilepsy after Media Coverage of Car Accidents Related to Persons with Epilepsy in Japan. 第 47 回日本てんかん学会学術集会、北九州、2013.10.11.
  13. 奥村彰久. 新生児の脳機能研究. 第 43 回日本臨床神経心理学会、高知、2013.11.8.
  14. 奥村彰久、池野充、北村知宏、森真理、久田研、東海林宏道、清水俊明. 母体 IgM 抗体陰性であった先天性サイトメガロウイルス感染症. 第 58 回日本未熟児新生児学会、金沢、2013.12.1

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他