

染色体微細構造異常に基づく Dravet 症候群発症についての実態把握

分担研究者 中山 東城 東北大学医学部小児科・助教

研究要旨

Dravet 症候群(乳児重症ミオクロニーてんかん)は、熱誘発性のけいれん発作とミオクロニー発作、欠神発作を特徴とする小児難治性てんかんのひとつであり、精神運動発達遅滞を含む発達障害がほぼ全例に認められる。その約 70~80%に脳神経細胞の電位依存型 Na チャネルをコードする *SCN1A* 遺伝子のヘテロ変異が認められるが、残りの症例においては微小欠失・重複が見逃されている可能性がある。そこで MLPA 法による微小欠失・重複解析を施行した。7 症例において、*SCN1A* 翻訳領域を含むヘテロ欠失が認められた。また、*SCN1A* 翻訳全領域を巻き込む体細胞モザイク欠失と考えられる症例が、複数例存在することが判明した。今後、これらの結果の妥当性を検証し、Dravet 症候群の新たな疾患発症メカニズムとして提唱したいと考えている。

A. 研究目的

Dravet 症候群(乳児重症ミオクロニーてんかん)は、熱誘発性のけいれん発作とミオクロニー発作、欠神発作を特徴とする小児難治性てんかんのひとつであり、精神運動発達遅滞を含む発達障害がほぼ全例に認められる。その約 70~80%に脳神経細胞の電位依存型 Na チャネルをコードする *SCN1A* 遺伝子のヘテロ変異が認められる。*SCN1A* 変異は翻訳領域の塩基配列の点変異等であり、変異がチャネルの機能不全を引き起こすことによるハプロ不全が病因と考えられているが、変異を認めない残り約 20~30%の Dravet 症候群の遺伝学的病因はこれまで十分には解明されていなかった。

近年、染色体微細構造異常や体細胞モザイクに伴う疾患発症は、従来考えられていた以上に単一遺伝子疾患を含む、種々の疾患の原因となっていることが明らかとな

っている(Pham et al., Eur J Hum Genet 2014)。Dravet 症候群においても翻訳領域の微小欠失・重複が報告されているが(Marini et al., Epilepsia 2009)、その実態はまだ十分には把握されていない。本分担研究課題では、発達障害がほぼ必発する Dravet 症候群に着目し、染色体微細構造異常による疾患発症について実態を把握するべく研究を行った。

B. 研究方法

今回の研究における最重要課題のひとつは、十分な数の解析対象症例の確保である。本研究の症例収集に当たっては、福岡大学小児科の廣瀬伸一教授の研究協力を仰ぎ、福岡大学に収集されている、*SCN1A* 翻訳領域および、*PCDH19* 遺伝子変異解析で変異を認めない Dravet 症候群症例を研究対象とした。尚、本研究は、福岡大学附属病院倫理委員会、及び該当医

療機関の倫理委員会の承認を得て行った。

Dravet 症候群では *SCN1A* 遺伝子前後の非翻訳領域が *SCN1A* の転写翻訳に関わっていることが先行研究で明らかになっていたことから(Nakayama et al., Hum Genet 2010)、*SCN1A* 遺伝子前後の非翻訳領域をターゲットとしたプローブを作成し、収集した症例に対し MLPA 法による非翻訳領域の微小欠失・重複解析を施行した。欠失・重複を認め、もしくは疑われた症例に対しては変異の確認および領域長を決定するため、アレイ CGH 解析(Agilent 60K)、*SCN1A* 領域の BAC クローンをプローブとする FISH 解析を施行した。

C. 研究結果

2014 年 2 月までに、*SCN1A* および、*PCDH19* 遺伝子変異解析で変異を認めない Dravet 症候群症例 237 症例について、MLPA 法を用いた解析を施行した。その結果、7 症例において、*SCN1A* 翻訳領域を含むヘテロ欠失が認められた。これらの症例は *SCN1A* 翻訳領域をターゲットとした既成の MLPA プローブを用いても理論上は検出可能であったが、MLPA プローブ 1 か所のみの欠失や結果の再現性の問題から、ヘテロ欠失かどうか保留となっていた症例も含まれていた。また、*SCN1A* 翻訳全領域を巻き込む体細胞モザイク欠失と考えられる症例が、複数例存在することが判明した。体細胞モザイクが疑われた症例は、アレイ CGH による体細胞モザイク欠失の検証とモザイク欠失領域同定を行った。また一部の該当症例においては FISH によるモザイク欠失の確認を現在行っている。広範囲のヘ

テロ欠失が認められた症例やモザイク欠失が認められた症例はいずれも Dravet 症候群の診断基準を満たしており、疾患の重症度と変異型には明らかな相関関係は見られなかった。

D. 考察

Dravet 症候群における *SCN1A* 領域を巻き込むヘテロ欠失・重複の頻度は、変異が認められていない Dravet 症候群の約 12%、Dravet 症候群全体の 2~3%程度と推定されている(Marini et al., Epilepsia 2009)。本研究では、解析対象症例 237 例中、7 例(3%)にヘテロ欠失を認め、これらの 7 名はいわゆる通常の欠失・重複解析が終了した症例であった。このことは、MLPA 等の欠失・重複解析では、技術的な問題等から、一種類の解析手法では確実な同定が難しい症例が存在することを意味している。また、複数例に認められた *SCN1A* 翻訳領域を巻き込む体細胞モザイク欠失は、これまで未報告であり、本研究で初めて明らかとなった。従来の MLPA 法で正常コピー数に該当するピークをモザイク欠失かどうか判断するためには、複数の手法での検証が必要不可欠である。また、今回解析した DNA は白血球由来であるが、白血球中の DNA のモザイク率と、脳組織でのモザイク率は異なり得ることから、脳組織での体細胞モザイクの存在はあくまで推測の域を出ない。ただ一方で、複数症例で同様のことが見られることは、モザイク率は異なり得るものの、体細胞モザイク欠失が認められた症例の脳組織においても、疾患を発症し得る体細胞モザイク欠失があることを強く示唆している。今後、これらの結果の妥当性を検証し、Dravet 症候

群の新たな疾患発症メカニズムとして提唱
したいと考えている。

E. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 著書

該当なし

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