

小児の急性脳症・けいれん重積状態に関係する遺伝子異常に関する研究

研究分担者 廣瀬 伸一 福岡大学医学部小児科 教授

研究要旨

小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子に関係することが示唆されていた。このため、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするため、小児の急性脳症の症例とけいれん重積を来しうるてんかんで遺伝子解析を実施した。当初はサンガーシークエンサーを用いての解析であったが、その後ターゲットキャプチャーシークエンス法を実施して網羅的な遺伝子解析を行った。患者遺伝子変異解析は福岡大学病院倫理委員会で改定認可された方法で実施した。600例以上の主に難治性てんかんの症例で、多くのてんかん遺伝子に様々な遺伝子異常を見いだした。さらに、小児の急性脳症とNa⁺チャネルの 1 と 2 サブユニットをコードするそれぞれSCN1AとSCN2A遺伝子の遺伝子多型との関係を明らかとした。すなわち、小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子に関係することを裏づけた。また、その遺伝子情報を基にSCN1A遺伝子の変異での遺伝子型と表現型の関係を多数の日本人Dravet症候群で明らかにした。これら成果により、診療並びに、厚生労働行政に資する所見が得られた。

A．研究目的

小児の急性脳症・けいれん重積状態は患児に重大な精神運動発達障害を来すことが多い。その病態を明らかにして、予防、治療などの診療に資することは厚生労働行政にとって重要な課題の一つである。

小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景に、難治性てんかんを引き起こす遺伝子に関係することが示唆されている。このため、難治性てんかんを引き起こす遺伝子と小児の急性脳症・けいれん重積状態の遺伝学的背景との関連を明らかにするため網羅的な遺伝子解析を実施する。さらにその情報を利用して、Dravet 症候群を引き起こす変異が同定され、また急性脳症との関係が示唆される SCN1A 遺伝子変異での遺伝子型と表現型の関係を明らかにする。

B．研究方法

民族差による遺伝子的多様性を少なくするため、多数の日本人の小児の急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例から、できう

る限り両親を含むトリオ検体として DNA を収集した。

研究開始当初はサンガーシークエンサーを用いて、主にイオンチャネルをコードする遺伝子を対象に遺伝子解析を行った。その後、次世代シークエンサーを利用したキャプチャードシークエンスを行い、てんかんで遺伝子変異が報告されている遺伝子に対して網羅的に解析を行った。

対象とした急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかん症例の詳細な臨床症状を併せて収集し、得られた遺伝子変異との関係を明らかにした。

（倫理面への配慮）

患者遺伝子変異解析を行うにあたり、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 25 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）」に基づき、施設間の譲渡書の作成、同意書の改定、説明文書の準備および遺伝カウンセラーの設置などをバンク参加施設で統一し、さらに「個人情報の保護に関する法律」（平成 15 年 5 月 30 日法律第 57 号）を受け、同意書の整備、匿名化の再評価を実施した。以上の指針・法律に基づき、患者遺伝子変異解析は福岡大学病院倫理委員会で改定認可された方法で実施した。

C. 研究結果

全国から収集された症例の600例以上で様々な遺伝子異常が見いだされた。最も多くの変異が見いだされた遺伝子は中枢神経の電位依存性Na⁺チャンネルNav1.1の1サブユニットをコードするSCN1Aであった。この他、同2サブユニットをコードするSCN2A遺伝子、K⁺チャンネルをコードするKCNQ2、プロトカドヘリンファミリー分子をコードするPCDH19等様々な遺伝子に遺伝子変異が同定された。

また、この中で、急性脳症の症例にSCN1AとSCN2A遺伝子多型が関係していることが明らかとなった。さらに、SCN1A遺伝子変異を有する多数の日本人Dravet症候群の患者で遺伝型と臨床型の調査から、その予後や抗てんかん薬に対する反応性が遺伝型で予想できることが明らかとなった。

D. 考察

多数の日本人の急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例での、網羅的遺伝子解析とその臨床像の比較検討により、急性脳症の発症にSCN1A遺伝子やSCN2A遺伝子が関与していることが裏付けられた。また、SCN1A遺伝子変異を有する多数の日本人Dravet症候群の患者の解析から、遺伝子型からDravet症候群の予後や抗けいれん薬への反応性が予想できることが明らかになり、遺伝子型が診療に寄与することが示された。以上より、急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例で、臨床に還元可能な知見が得られた。

E. 結論

三年間を通じて、急性脳症の症例とけいれん重積を来し得るてんかんの症例での遺伝子解析を行い、急性脳症の発症に関する遺伝子多型とけいれん重積を来し得るてんかんのDravet症候群で遺伝子型が、予後や抗てんかん薬への反応などの予測に役立つことが示された。以上の結果は小児の急性脳症・けいれん重積状態の厚生労働行政にとっても資するものと思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tanaka Y, Sone T, Higurashi N, Sakuma T, Suzuki S, Ishikawa M, Yamamoto T, Mitsui J, Tsuji H, Okano H, Hirose S. Generation of D1-1 TALEN isogenic control cell line from Dravet syndrome patient iPSCs using TALEN-mediated editing of the SCN1A gene. *Stem Cell Res.* 2018;28:100-4.
2. Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, Nasu H, Shimojima K, Yamamoto T, Kure S, Hirose S. Somatic mosaic deletions involving SCN1A cause Dravet syndrome. *Am J Med Genet A.* 2018;176(3):657-62.
3. Ito T, Narugami M, Egawa K, Yamamoto H, Asahina N, Kohsaka S, Ishii A, Hirose S, Shiraishi H. Long-term follow up of an

adult with alternating hemiplegia of childhood and a p.Gly755Ser mutation in the ATP1A3 gene. *Brain Dev.* 2018;40(3):226-8.

4. Hayashida T, Saito Y, Ishii A, Yamada H, Itakura A, Minato T, Fukuyama T, Maegaki Y, Hirose S. CACNA1A-related early-onset encephalopathy with myoclonic epilepsy: A case report. *Brain Dev.* 2018;40(2):130-3.
5. Uchida T, Lossin C, Ihara Y, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. Abnormal gamma-aminobutyric acid neurotransmission in a Kcnq2 model of early onset epilepsy. *Epilepsia.* 2017;58(8):1430-9.
6. Takaori T, Kumakura A, Ishii A, Hirose S, Hata D. Two mild cases of Dravet syndrome with truncating mutation of SCN1A. *Brain Dev.* 2017;39(1):72-4.
7. Saito T, Ishii A, Sugai K, Sasaki M, Hirose S. A de novo missense mutation in SLC12A5 found in a compound heterozygote patient with epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Clin Genet.* 2017;92(6):654-8.
8. Numata T, Tsumoto K, Yamada K, Kurokawa T, Hirose S, Nomura H, Kawano M, Kurachi Y, Inoue R, Mori Y. Integrative Approach with Electrophysiological and Theoretical Methods Reveals a New Role of S4 Positively Charged Residues in PKD2L1 Channel Voltage-Sensing. *Sci Rep.* 2017;7(1):9760.
9. Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF. Clinical implications of SCN1A missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia.* 2017;58(2):282-90.
10. Ishii A, Kang JQ, Schornak CC, Hernandez CC, Shen W, Watkins JC, Macdonald RL, Hirose S. A de novo missense mutation of GABRB2 causes early myoclonic encephalopathy. *J Med Genet.* 2017;54(3):202-11.
11. Ishii A, Hirose S. Genetic Background of Encephalopathy. In: Yamanouchi H, Moshe L S, Okumura A, editors. *Acute Encephalopathy and Encephalitis in Infancy and Its Related Disorders.* Elsevier: USA; 2017. p. 45-52.
12. Ishii A, Hirose S. New Genes for Epilepsy - Autism Comorbidity. *J Pediatr Neurol.*

- 2017;15:105-14.
13. Hanaya R, Niantiaro FH, Kashida Y, Hosoyama H, Maruyama S, Otsubo T, Tanaka K, Ishii A, Hirose S, Arita K. Vagus nerve stimulation for genetic epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) accompanying seizures with impaired consciousness. *Epilepsy Behav Case Rep.* 2017;7:16-9.
 14. Hammer MF, Ishii A, Johnstone L, Tchourbanov A, Lau B, Sprissler R, Hallmark B, Zhang M, Zhou J, Watkins J, Hirose S. Rare variants of small effect size in neuronal excitability genes influence clinical outcome in Japanese cases of SCN1A truncation-positive Dravet syndrome. *PLoS ONE.* 2017;12(7):e0180485.
 15. Shi XY, Tomonoh Y, Wang WZ, Ishii A, Higurashi N, Kurahashi H, Kaneko S, Hirose S, Epilepsy Genetic Study Group J. Efficacy of antiepileptic drugs for the treatment of Dravet syndrome with different genotypes. *Brain Dev.* 2016;38(1):40-6.
 16. Meisler MH, Helman G, Hammer MF, Fureman BE, Gaillard WD, Goldin AL, Hirose S, Ishii A, Kroner BL, Lossin C, Mefford HC, Parent JM, Patel M, Schreiber J, Stewart R, Whittemore V, Wilcox K, Wagnon JL, Pearl PL, Vanderver A, Scheffer IE. SCN8A encephalopathy: Research progress and prospects. *Epilepsia.* 2016;57(7):1027-35.
 17. Ju J, Hirose S, Shi XY, Ishii A, Hu LY, Zou LP. Treatment with Oral ATP decreases alternating hemiplegia of childhood with de novo ATP1A3 Mutation. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11(1):55.
 18. Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Zhang B, Uchida T, Ishii A, Hirose S. Retigabine, a Kv7.2/Kv7.3-Channel Opener, Attenuates Drug-Induced Seizures in Knock-In Mice Harboring Kcnq2 Mutations. *PLoS ONE.* 2016;11(2):e0150095.
 19. Yamamoto T, Shimojima K, Sangu N, Komoike Y, Ishii A, Abe S, Yamashita S, Imai K, Kubota T, Fukasawa T, Okanishi T, Enoki H, Tanabe T, Saito A, Furukawa T, Shimizu T, Milligan CJ, Petrou S, Heron SE, Dibbens LM, Hirose S, Okumura A. Single Nucleotide Variations in CLCN6 Identified in Patients with Benign Partial Epilepsies in Infancy and/or Febrile Seizures. *PLoS ONE.* 2015;10(3):e0118946.
 20. Tada H, Takanashi J, Okuno H, Kubota M, Yamagata T, Kawano G, Shiihara T, Hamano S, Hirose S, Hayashi T, Osaka H, Mizuguchi M. Predictive score for early diagnosis of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD). *J Neurol Sci* 2015;358(1-2):62-5.
 21. Shi XY, Yang XF, Tomonoh Y, Hu LY, Ju J, Hirose S, Zou LP. Development of a mouse model of infantile spasms induced by N-methyl-d-aspartate. *Epilepsy Res.* 2015;118:29-33.
 22. Saitoh M, Shinohara M, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Shiomi M, Kawawaki H, Kubota M, Yamagata T, Miyamoto A, Yamanaka G, Amemiya K, Kikuchi K, Kamei A, Akasaka M, Anzai Y, Mizuguchi M. Clinical and genetic features of acute encephalopathy in children taking theophylline. *Brain Dev.* 2015;37:463-70.
 23. Saitoh M, Ishii A, Ihara Y, Hoshino A, Terashima H, Kubota M, Kikuchi K, Yamanaka G, Amemiya K, Hirose S, Mizuguchi M. Missense mutations in sodium channel SCN1A and SCN2A predispose children to encephalopathy with severe febrile seizures. *Epilepsy Res.* 2015;117:1-6.
 24. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. *Brain Dev.* 2015;37(2):243-9.
 25. Kano S, Yuan M, Cardarelli RA, Maegawa G, Higurashi N, Gaval-Cruz M, Wilson AM, Tristan C, Kondo MA, Chen Y, Koga M, Obie C, Ishizuka K, Seshadri S, Srivastava R, Kato TA, Horiuchi Y, Sedlak TW, Lee Y, Rapoport JL, Hirose S, Okano H, Valle D, O'Donnell P, Sawa A, Kai M. Clinical utility of neuronal cells directly converted from fibroblasts of patients for neuropsychiatric disorders: studies of lysosomal storage diseases and channelopathy. *Curr Mol Med.* 2015;15(2):138-45.
 26. Ishii A, Hirose S. Ring Chromosome 20 Syndrome and Epilepsy. *J Pediatr Epilepsy.* 2015;4:47-52.
 27. Higurashi N, Takahashi Y, Kashimada A,

- Sugawara Y, Sakuma H, Tomonoh Y, Inoue T, Hoshina M, Satomi R, Ohfu M, Itomi K, Takano K, Kirino T, Hirose S. Immediate suppression of seizure clusters by corticosteroids in PCDH19 female epilepsy. *Seizure*. 2015;27:1-5.
28. Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Saitoh M, Mizuguchi M, Ihara Y, Ishii A, Hirose S. A case of recurrent encephalopathy with SCN2A missense mutation. *Brain Dev*. 2015;37(6):631-4.
2. 学会発表
1. Voltage-Gated sodium Ion Channels in Epileptic Encephalopathy Hirose S AOCCN 2017, 2017.5/4-5/7 日本
 2. Status epilepticus in genetic epilepsies Hirose S, Ishii A/Joint CNSP-PLAE Symposium on Status Epilepticus & 9th National Epilepsy Congress (2017.7/17-7/19 Cebu, Philippines)
 3. The potential of stem cells in precision medicine Hirose S. 32nd International Epilepsy Congress (2017.9.2-6Barcelona, Spain)
 4. Pediatric Research in Japan : Past and present Hirose S. 大韓小児科学会 (2017.10.26-27 韓国)
 5. Genetics of epileptic encephalopathy Hirose S, Souvenir, 4th National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics(SIAMG)(2017.12.8-10.インド)
 6. Cme in management of genetic disorders Newborn screening for LSD Hirose S, Souvenir, 4th National Conference of Society for Indian Academy of Medical Genetics (SIAMG) (2017.12.8-10.インド)
 7. "How to interpret the results of a genetic test for epilepsy:What are the Limitations?" Hirose S. Epilepsy Research Symposium, 韓国 2016. 3/17
 8. How to interpret the results of a genetic test for epilepsy, Hirose S. 11th Asian & Oceanian epilepsy congress, Hong Kong 2016. 5/13-16
 9. Channelopathy in Early- life Seizures. Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, Tipei, Taiwan, 2015.5.14-17 , Tipei, Taiwan
 10. Identification of a De Novo KCNT1 Mutaion in a Girl with Infantile Spasms, Inoue T, Ishii A, Tsurusawa R, Nakamura N, Kanaumi T, Saitu H, Kato M, Hirose S, Ogawa A. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17, Taipei, Taiwan
 11. Retigabine, a Kv7.2 Channel Opener, Attenuated Drug-induced Seizures in Knock-in Mice Harboring KCNQ2 Mutations. Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 12. A Case of Hashimoto Encephalopathy with Grave's Disease. Yamaguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Yoshimura K, Ideguchi H, Inoue T, Takahashi Y, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei, Taiwan
 13. Peripheral Neuropathy and Orthostatic Dysregulation Associated with Multiple Autoantibodies. Kawatani E, Fujita T, Onozawa K, Tomonoh Y, Ideguchi H, Inoue T, Shimono M, Koike H, Yasumoto S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17Taipei, Taiwan
 14. Neurological Complications of in-patients with Exanthem Subitum. Fujita T, Ideguchi H, Kawatani E, Tomonoh Y, Ihara Y, Kanaumi T, Inoue T, Takahashi Y, Hirose S, Yasumoto S. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 15. A KCNQ2 Mutation Enhances Firing and GABA Release of GABAergic Interneurons in the Neonatal Hippocampus. Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 16. Immediate Suppression of Seizure Clusters by Corticosteroids in PCDH19 Female Epilepsy. Higurashi N, Takahashi Y, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan
 17. Genome Editing of SCN1A in iPS Cells to Study the Pahomechanisms of Dravet Syndorome. Tanaka Y, Sone T, Uchida T, Higurashi N, Ishikawa M, Okano H, Hirose S. The 13th Asian and Oceanian Congress od Child Neurology, 2015.5.14-17 , Taipei,Taiwan,
 18. A Kcnq2 mutation facilitates firing and GABA release of GABAergic interneurons in the neonatal hippocampus , Uchida T, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. AMERICAN EPILEPSY Society ,69th Annual meeting , 2015.12.4-8, Philadelphia, America
- G . 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし