

希少てんかんに関する調査研究

研究分担者 廣瀬伸一 福岡大学医学部 教授

研究概要

「希少てんかんレジストリ」に疾患遺伝子変異情報を提供するため、Dravet症候群/*PCDH19*関連てんかん160例と早期乳児てんかん性脳症69例の遺伝子解析を行った。キャプチャードエクソームシーケンスを109のてんかんで報告されている遺伝子の変異の有無を検索した。研究方法は福岡大学医の倫理委員会で審議され承認されている。Dravet症候群/*PCDH19*関連てんかんの症例のうち、病的変異が同定されたのは20例の25.6%であった。一方てんかん脳症の症例で病的変異が同定されたのは41例の29.0%であった。また、ミオクロニーてんかんの孤発例で*GABRB2* にp.T287Pのde novoヘテロ変異が発見された。今後も「希少てんかんレジストリ」に疾患遺伝子変異情報を提供予定である。

A．研究目的

「希少てんかんレジストリ」に疾患遺伝子変異情報を提供して、その情報をもとに、また他のレジストリと連携しつつ、てんかんが主症状である23の指定難病および類縁疾患について診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの策定・改訂を各学会と協力して行い、さらに、実態調査に基づいた包括的な難病医療ケア体制のサポート、関連研究基盤の整備、情報提供、教育・啓発活動を行う。このため、Dravet症候群/*PCDH19*関連さらに早期乳児てんかん性脳症の遺伝子解析を行う。

B．研究方法

Dravet症候群/*PCDH19*関連さらに早期乳児てんかん性脳症と診断された症例であった、と臨床診断された症例に対して、両親を含めたトリオ検体を収集した。

続いて次世代シーケンス法を用いた、キャプチャードエクソームシーケンスを実施した。具体的には発端者の検体に対しアジ

レントのハロプレックスを用いて、109のてんかんで報告されている遺伝子の変異の有無を検索した。109の遺伝子には、*KSCN1A*, *2A*, *8A*, *1B*等のNa<sup>+</sup>チャンネル遺伝子、*GABRG2*等のGABA受容体関連の遺伝子、*CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A*, *PRRT2*, *PCDH19*, *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*等様々な候補遺伝子が含まれている。シーケンスの後、独自のバイオインフォマティクスにより作成されたパイプラインにより、レアバリエント、アミノ酸置換、スプライスバリエントを来すと予想されるバリエントを絞りこみ、加えて民族特異的なdatabaseにより、変異と思われるバリエントを絞り込んだ。続いてサンガー法によるPCRシーケンス法により、これらのバリエントの確認を行った。この後in silico分析を用いて、変異の病的効果を検討した。さらに、父母のDNAでこれらの変異の有無を検索して、遺伝学的な意義づけを行った。一部の遺伝子に対しては、MLPA法を用いて関連遺伝子を含む、染色体の微小欠失を検索した。

(倫理面への配慮)

研究対象者に対する人権擁護上の配慮のため、本研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)を十分行ったのち、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)、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(平成26年文部科学省・厚生労働省告示第3号)に基づき、すべての検体を匿名化された状態で遺伝子解析を行った。本研究は福岡大学医の倫理委員会で承認された方法により行われた。

### C. 研究結果

福岡大学に寄せられたのは発端者数で、Dravet 症候群/PCDH19 関連てんかんの症例は160例で、てんかん脳症の症例は69例であった。

Dravet 症候群/PCDH19 関連てんかんの症例のうち、病的変異が同定されたのは20例の25.6%であった。遺伝子変異はSCN1A76%、PCDH19に7%等に同定された。そのほか変異は、GABR1AとCHD2が3%、SLC2A1、STXBP1、GABRG2に2%づつ認められた。

一方てんかん脳症の症例で病的変異が同定されたのは41例の29.0%であった。変異が同定された遺伝子はKCNT1、KCNQ2、SCN8A(それぞれ20%)、CDKL5、SLC2A、SLC12A5、SCN2A、PCDH19、GABRG2(それぞれ5%)等であった。

今回早期ミオクロニーてんかんの孤発例でGABRB2にp.T287Pのde novoヘテロ変異が発見された。

### D. 考察

てんかんで報告されている109の遺伝子で変異の有無を検索したが、Dravet 症候群/PCDH19 関連てんかんが疑われる症例で遺伝

子変異の同定率は高くなかった。

てんかん脳症の症例に係る遺伝子は多岐に亘り、また臨床症状よりその遺伝子を推測することは困難であった。

GABRB2の変異p.T287Pの詳細な検討の結果はGABAA受容体の細胞内輸送障害とチャネル機能異常を来すことが明らかとなった。本事例はGABRB2がヒトてんかんに関連していることが、明らかになった初めての事例であった。

### E. 結論

Dravet 症候群/PCDH19 関連てんかんまた、てんかん脳症の症例に係る遺伝子を検索した。GABRB2がヒトてんかんに関連していることを、初めて明らかにした。

### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

### G. 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 LS, 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.

## 2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Voltage-Gated sodium Ion Channels in Epileptic Encephalopathy /Hirose S /AOCN 2017/2017.5/4-5/7 日本

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)

The potential of stem cells in precision  
medicine ( プレシジョン・メディシンにおけ  
る幹細胞の可能性 ) / Hirose S/32ND  
International Epilepsy Congress  
(2017.9.2-6Barcelona, Spain)

Pediatric Research in Japan : Past and  
present / Hirose S. / 大韓小児科学会  
( 2017.10.26-27 韓国 )

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)

#### H . 知的財産権の出願・登録状況

( 予定を含む。 )

##### 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