

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
平成 30 年度分担研究報告書

チャンネル遺伝子変異に合併する脳症に関する研究

研究分担者 石井 敦士 福岡大学医学部小児科・講師

研究要旨

Dravet 症候群は、乳幼児期発症の発達性およびてんかん性脳症の一つで、他のてんかんに比較して高率に急性脳症を発症することが知られている。約 70%で電位依存性ナトリウムイオンチャンネル(Nav1.1)のサブユニットをコードする *SCN1A* 遺伝子に病的バリエーションをもつ。急性脳症においても *SCN1A* 遺伝子の異常や多型の関与が報告されており、遺伝子背景の関連性がみられる。今回、Dravet 症候群に対して *SCN1A* 以外のチャンネル遺伝子の異常を探索した。Dravet 症候群 49 症例中、合計 23 症例で病的バリエーションを同定した。17 症例は *SCN1A* 遺伝子に認め、他は 2 症例がプロトカドヘリン 19 をコードする *PCDH19* 遺伝子、残り 4 症例で各々カリウムイオンチャンネル (*KCNA2*)、GABA_A 受容体 1 サブユニット (*GABRA1*)、ATP 感受性 Na⁺/K⁺ チャンネル 2 サブユニット (*ATP1A2*)、グアニンヌクレオチド交換因子 (*IQSEC2*) の異常を認めた。イオンチャンネルをコードする *KCNA2*、*GABRA1*、*ATP1A2* 遺伝子も、急性脳症の病態に関与する可能性が示唆される。

A . 研究目的

急性脳症に至る原因としていくつかの基礎疾患が知られている。Dravet 症候群は、乳幼児期発症の発達性およびてんかん性脳症の一つである。他のてんかんに比較して高率に急性脳症を発症することが知られている。既に、電位依存性ナトリウムイオンチャンネル (Nav1.1) のサブユニットをコードする *SCN1A* 遺伝子異常が病因として知られている。Dravet 症候群の約 70%が、

SCN1A 遺伝子に病的バリエーションをもつが、*SCN1A* 遺伝子異常を持たない Dravet 症候群での遺伝子異常の同定と、関連性を目的とする。

B . 研究方法

共同研究施設より遺伝子解析依頼を受けた、てんかん症例のうち臨床的に Dravet 症候群と診断された 49 症例を抽出した。抹消リンパ球より抽出されたゲノム DNA を用いて、

てんかん関連の 114 遺伝子のエクソンを含む領域にプローブを設計しライブラリを作成した。次世代シーケンサーMiseq(イリミナ社)でシーケンスを行い、fastq file を参照ゲノム配列 hg19 を使用してバリエーションを抽出した vcf file を作成した。Annotation は ANNOVAR を使用し、1000 genome, ExAC データベースで新規バリエーションを抽出し、SIFT、PolyPhen2、CADD スコアで有害性が予測されるバリエーションを候補とした。候補バリエーションに対して、両親のゲノム DNA でバリエーションの有無を PCR サングー法で確認し、新生バリエーションを病的バリエーションとした。

(倫理面への配慮)

本研究は福岡大学医の倫理での承認のもと、書面で説明し、両親と患児代理として両親の同意を書面で得て実施した。

C . 研究結果

Dravet症候群49症例に対してナトリウムイオンチャンネル、カリウムイオンチャンネル、カルシウムイオンチャンネル、GABA受容体といったチャンネル、トランスポータを含む114種類のとんかん関連遺伝子に対して次世代シーケンサーでパネルシーケンスを行った。その結果、合計23症例で病的バリエーションを同定した。17症例は*SCN1A*遺伝子に認め、他は2症例がプロトカドヘリン19をコードする*PCDH19*遺伝子、残り4症例で各々カリウムイオンチャンネル(*KCNA2*)、GABA_A受容体 1サブユニット(*GABRA1*)、ATP 感受性 Na⁺/K⁺ チャンネル 2 サブユニット(*ATP1A2*)、グアニンヌクレオチド交換因子(*IQSEC2*)の異常を認めた。

D . 考察

Nav1.1 以外のチャンネルの異常によって生じる表現型は Nav1.1 の異常で生じる Dravet 症候群と酷似しており区別はできない。また、Dravet 症候群では薬剤への反応もカルバマゼピン、フェニトイン、ラモトリギンといったナトリウムイオンチャンネルブロッカーで増悪するが、効果がある薬剤は一定ではない。原因となる遺伝子の違いが、薬剤に対する反応の違いを生じている可能性が予測される。また、急性脳症で *SCN1A* 遺伝子の病的バリエーションや多型が報告されており、今回同定したイオンチャンネルをコードする *KCNA2*、*GABRA1*、*ATP1A2* 遺伝子も、急性脳症の病態に関与する可能性が示唆される。

E . 結論

114 種類のとんかん関連遺伝子のパネルシーケンスで Dravet 症候群 49 症例のうち、17 症例 (35%) に *SCN1A* 遺伝子異常を同定した。残り 6 症例のうち 3 症例でイオンチャンネルをコードする遺伝子 (*KCNA2*、*GABRA1*、*ATP1A2*) に病的バリエーションを認めた。これらのチャンネルの神経細胞での相互関係を検証することにより Dravet 症候群と急性脳症の関連性の解明が期待された。

F . 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshitomi S, Takahashi Y, Yamaguchi T, Oboshi T, Horino A, Ikeda H, et al. Quinidine therapy and therapeutic drug monitoring in four patients with KCNT1 mutations. *Epileptic disorders: International Epilepsy Journal with Videotape*. 2019;21(1):48-54.

2) Yoshitomi S, Takahashi Y, Imai K, Koshimizu E, Miyatake S, Nakashima M, et al. Different types of suppression-burst patterns in patients with epilepsy of infancy with migrating focal seizures (EIMFS). *Seizure*. 2019; 65:118-23.

3) Okumura A, Maruyama K, Shibata M, Kurahashi H, Ishii A, Numoto S, et al. A patient with a GNAO1 mutation with decreased spontaneous movements, hypotonia, and dystonic features. *Brain & development*. 2018;40(10):926-30.

2. 学会発表

1) Genetics in Epilepsy - Genetic

diagnosis for DEE. Atsushi Ishii. International KEC Meeting 2018 (June 15, 2018, Seoul)

2) Dravet syndrome - Phenotype and genotype correlation in Dravet syndrome. Atsushi Ishii. 12th Asian and Oceanian Epilepsy Congress (July 1, 2018, Bali)

G . 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