

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）  
分担研究報告書

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192例とそれ以外の発達性てんかん性脳症76例の遺伝子解析を行った。てんかんと関係すると知られる109遺伝子での変異の有無をキャプチャードエクソームシーケンスで検索した。研究方法は福岡大学医の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約25%であった。一方発達性てんかん性脳症で病的変異が同定されたのは約29.0%であった。また、ミオクロニーてんかんの孤発例で初めての事例として、GABRB2 にp.T287Pのde novoヘテロ変異が発見された。さらに得られた情報を解析することにより、ドラベ症候群の遺伝子型と薬効を含めた臨床像の関係を明らかにすることができた。同様な手法により、PCDH19の遺伝子型と症状の重症度の関係を明らかにした。さらに発達性てんかん性脳症を来すKCNQ2遺伝子の変異情報を、予後予測に応用できる知見を得た。

研究協力者

石井敦士：福岡大学医学部

柴田磨己：てんかん分子研究所

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関連てんかん、さらに発達性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関連さらに発達性て

んかん性脳症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サーを用いた、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>チャネル遺伝子、GABRG2等のGABAA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。2019年1月には自動DNA抽出装置を導入して、解析のスピードアップを図った。

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 シークエンス法により、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 192 例で、てんかん脳症の症例は 76 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 SCN1A 76%、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% ずつ認められた。

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。

加えて、ドラベ症候群の正確な診断を可能にし、指定難病制度の公平な運用に役立てるため、遺伝子型と臨床表現型を明らかにするデータベース（SCN1A 遺伝子変異データベース：<https://www.scn1a.net>）を構築した。

これらの解析により、ドラベ症候群の遺伝子型と薬効を含めた臨床像の関係を明らかにすることができた。同様な手法により、PCDH19 の遺伝子型と症状の重症度の関係を明らかにした。さらに発達性てんかん性脳症を来す KCNQ2 遺伝子の変異情報を、予後予測に応用できる知見を得た。

#### 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も遺伝子変異の同定率は必ずしも高くなかった。

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。

ドラベ症候群の遺伝子型と薬効を含めた臨床像の関係を明らかにすることができた。同様な手法により、PCDH19 の遺伝子型と症状の重症度の関係を明らかにした。さらに発達性てんかん性脳症を来す KCNQ2 遺伝子の変異情報を、予後予測に応用できる知見を得た。

#### E . 結論

てんかんの患者で遺伝子を解析することは、個別の事例での臨床応用には限界があるが、全体像としてこの病型での臨床像と遺伝子

変異の関係が明らかになり、臨床に寄与し始めた。

#### 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. Takeda K, Miyamoto Y, Yamamoto H, Ishii A, Hirose S, Yamamoto H. Clinical features of early myoclonic encephalopathy caused by a CDKL5 mutation. *Brain Dev.* 2020;42(1):73-6.

2. Yoshitomi S, Takahashi Y, Yamaguchi T, Oboshi T, Horino A, Ikeda H, Imai K, Okanishi T, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N, Yoshimoto J, Fujita T, Ishii A, Hirose S, Inoue Y. Quinidine therapy and therapeutic drug monitoring in four patients with KCNT1 mutations. *Epileptic Disord.* 2019;21(1):48-54.

3. Yoshitomi S, Takahashi Y, Yamaguchi T, Imai K, Ishii A, Hirose S, Inoue Y. Efficacy and tolerability of perampanel in pediatric patients with Dravet syndrome. *Epilepsy Res.* 2019;154:34-8.

4. Yoshitomi S, Takahashi Y, Imai K, Koshimizu E, Miyatake S, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N, Kato M, Fujita T, Ishii A, Hirose S, Inoue Y. Different types of suppression-burst patterns in patients with epilepsy of infancy with migrating focal seizures (EIMFS). *Seizure.* 2019;65:118-23.

5. Okumura A, Shimojima K, Kurahashi H, Numoto S, Shimada S, Ishii A, Ohmori I, Takahashi S, Awaya T, Kubota T, Sakakibara T, Ishihara N, Hattori A, Torisu H, Tohyama

J, Inoue T, Haibara A, Nishida T, Yuhara Y, Miya K, Tanaka R, Hirose S, Yamamoto T. PRRT2 mutations in Japanese patients with benign infantile epilepsy and paroxysmal kinesigenic dyskinesia. *Seizure.* 2019;71:1-5.

6. Nakashima T, Yasuda K, Kobayashi M, Wada H, Ishii A, Hirose S. Heart rate variability in a patient with alternating hemiplegia. *Intractable Rare Dis Res.* 2019;8(2):134-7.

7. Momosaki K, Kido J, Yoshida S, Sugawara K, Miyamoto T, Inoue T, Okumiya T, Matsumoto S, Endo F, Hirose S, Nakamura K. Newborn screening for Pompe disease in Japan: report and literature review of mutations in the GAA gene in Japanese and Asian patients. *J Hum Genet.* 2019;64(8):741-55.

8. Hirabayashi K, Uehara DT, Abe H, Ishii A, Moriyama K, Hirose S, Inazawa J. Copy number variation analysis in 83 children with early-onset developmental and epileptic encephalopathy after targeted resequencing of a 109-epilepsy gene panel. *J Hum Genet.* 2019;64(11):1097-106.

9. Goto A, Ishii A, Shibata M, Ihara Y, Cooper EC, Hirose S. Characteristics of KCNQ2 variants causing either benign neonatal epilepsy or developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsia.* 2019;60(9):1870-80.

##### 2. 学会発表

1. The first report on newborn screening for MPS I and II in Fukuoka, Japan / Inoue T, Okuyama T, Endo F, Nakamura K, Hirose S. / The 7th Asian

Congress for Lysosomal Storage Disease Screening (2019.10.6.toyo, Japan)

2. A case of early myoclonic encephalopathy with an SLC27A3 gene mutation / Motonaga Y, Ishii A, Kawano H, Onda Y, Niimi T, Miyamoto T, Setoue T, nakamura M, Ohta E, Hirose S. / 15th Asian Oceanian Congress of Child Neurology / (2019.6.19-22 Kuala Lumpur)

3. Regional specificity of KCNQ2 missense variants causing benign or epileptic encephalopathy phenotype. / Ishii A, Goto A, Ihara Y, Hirose S, Ihara Y, Hirose S, / International Epilepsy Congress 国際てんかん学会 (2019.6.23-25 バンコク タイ)

4. Brain Magnetic Resonance Imaging Abnormalities Associated with Vigabatrin: Two Cases of infantile Spasm / Fujita T,

Ihara Y, Yamaguchi H, Hayashi H, Ishii A, Ideguchi H, Inoue T, Yasumoto S, Hirose S. / The 20th annual meeting of infantile seizure society. (2019.5.31-6.1 Nagoya Japan)

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