

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
令和元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・准教授

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 39 症例と他のてんかん性脳症 14 症例に対して遺伝子異常を探索した。合計 20 症例で病的バリエーションを同定した。14 症例は *SCN1A* 遺伝子に認め、他は 2 症例が Nav1.6 をコードする *SCN8A* 遺伝子、残り 4 症例で各々カリウムイオンチャンネル (*KCNH5*)、クロライドイオンチャンネル (*CLCN4*)、サイクリン依存性キナーゼ様 5 (*CDKL5*)、シナプス Ras GTPase 活性蛋白 1 (*SYNGAP1*) の異常を認めた。イオンチャンネルをコードする遺伝子以外も、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 39 症例と他のてんかん性脳症 14 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 (イルミナ社) 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, gnomAD 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 サンガー法で確認し、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39症例と他のてんかん性脳症14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、トランスポーターを含む114種類のて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20症例で病的バリエーションを同定した。14症例は*SCN1A*遺伝子に認め、他は2症例が*Nav1.6*をコードする*SCN8A*遺伝子、残り4症例で各々カリウムイオンチャンネル (*KCNH5*)、クロライドイオンチャンネル (*CLCN4*)、サイクリン依存性キナーゼ様5 (*CDKL5*)、シナプスRas GTPase活性蛋白1 (*SYNGAP1*) の異常を認めた。Dravet症候群では2症例が*SCN1A*以外の*KCNH5*と*CDKL5*遺伝子の異常であった。Dravet症候群以外のてんかん性脳症では、2症例に*SCN8A*、他に1症例ずつ*CLCN4*と*SYNGAP1*遺伝子の異常であった

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、他のてんかん性脳症では *SCN1A* 遺伝子の異常はなく、*SCN1A* 遺伝子異常が見られる Dravet 症候群は他のてんかん性脳症とは区別可能なことが示唆される。*SCN1A* 遺伝子以外にも、イオンチャンネルをコードする *KCNH5*、*SCN8A* 遺伝子、非イオンチャンネルをコードする *CDKL5*、*SYNGAP1* も、急性脳症の病態に關与する可能性が示唆される。

E . 結論

114 種類のてんかん関連遺伝子のパネルシーケンスで Dravet 症候群 39 症例と他のてんかん性脳症 14 症例のうち 20 症例 (37%) で遺伝子異常を同定した。Dravet 症候群 39 症例のうち、14 症例 (36%) に *SCN1A* 遺伝子異常を同定した。残り 2 症例で *KCNH5* と *CDKL5* 遺伝子に病的バリエーションを認めた。Dravet 症候群以外のてんかん性脳症 14 症例では、2 症例に *SCN8A*、他に 1 症例ずつ *CLCN4* と *SYNGAP1* 遺伝子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。また、パネルシーケンスで病的バリエーションが同定できなかった症例では他に關連される遺伝子が存在することが期待される。

F . 研究発表

1. 論文発表

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 research*. 2019;154:34-8.

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.

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.

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. *Journal of human genetics*. 2019;64(11):1097-106.

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.

Takeda K, Miyamoto Y, Yamamoto H, Ishii A, Hirose S, Yamamoto H. Clinical features of early myoclonic encephalopathy caused by a CDKL5 mutation. *Brain & development*. 2020;71:1-5.

2. 学会発表

Regional specificity of KCNQ2 missense variants causing benign or epileptic encephalopathy phenotype. 33rd International Epilepsy Congress. Bangkok, Thailand. 19th April 2019.

Genetic etiology of neonatal epilepsies by causes other than abnormalities of sodium ion channels. The 20th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. Nagoya. 31 May 2019.

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