

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

分担研究報告書

Aicardi症候群、神経細胞移動異常症、先天性核上性球麻痺、遺伝子関連てんかんに関する研究

研究分担者 加藤光広 昭和大学医学部小児科学講座 教授

研究要旨

稀少てんかんの多くは発達性てんかん性脳症であり、遺伝子解析手法の発展とともに発達性てんかん性脳症の原因遺伝子が多数判明している。患者DNA検体を用い、RESRに登録された166遺伝子についてクリニカルエクソーム解析を行った。171家系524例の検体を収集し、191例のエクソーム解析を行ない、発端者93例について両親を含めたSanger法によるvalidationを終えた。ACMGガイドラインの分類では、Pathogenic 26家系、Likely pathogenic 7家系で、原因遺伝子同定率は35.5%であった。166遺伝子の診断同定率は既報告と同様であった。両親を加えたTrio検体のエクソーム解析によって診断率をさらに向上させることができると考えられ、両親のエクソーム解析を行うことが望ましい。

研究協力者

小倉加恵子：鳥取県庁家庭支援課

宮 冬樹：慶應義塾大学 臨床遺伝学センター 准教授

A. 研究目的

稀少てんかんの多くは発達性てんかん性脳症であり、遺伝子解析手法の発展とともに発達性てんかん性脳症の原因遺伝子が多数判明している。令和2年度から本研究班でも発達性てんかん性脳症の原因遺伝子検索を行い、遺伝学的な診断を行い遺伝相談に寄与してきた。本年度は、前年度からの発達性てんかん性脳症の原因遺伝子解析結果をまとめ報告する。将来的には遺伝子変異に応じた薬剤療法の開発に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

血液から抽出した患者DNA検体を用いエクソーム解析を行い、レジストリに登録された

てんかんの原因として既知の166遺伝子について病的候補変異を探索した。既知遺伝子の抽出については、OMIMにDevelopmental and epileptic encephalopathy (DEE)として登録されている遺伝子のほかに、RES-Rに登録されていた原因遺伝子を整理し、てんかん発作を併発する代謝性疾患や進行性ミオクロヌスてんかん、遺伝性GPI欠損症、mTOR経路、最新の論文報告を参考にして、本研究班員による確認修正を経てリスト化した。エクソーム解析で抽出された病的候補変異は、患者と両親のDNA検体をSanger法でシークエンスし、病原性予測アルゴリズムの結果やHuman Gene Mutation Database (HGMD)、ClinVarなどへの登録の有無を確認し、ACMGガイドラインに基づいて疾患原因かどうかを判定した。なお、各施設からの検体輸送については2012年に世界保健機関(WHO)が発行したGuidance on regulations for the transport of infectious substances 2013-2014: applicable as from 1 January 2013(感染性物質の輸送規則に関するガイダンス2013-2014版 日本語

版翻訳・監修 国立感染症研究所2013年) に基づいて、三重包装の安全輸送法をまとめた資料を作成し配付した。

(倫理面への配慮)

本研究は、昭和大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査および昭和大学における人を対象とする研究等に関する倫理委員会の承認を受けている(受付番号219)。

C. 研究結果

本研究班の遺伝子解析対象症例として、171家系524例(発端者171例、罹患親族19例、健常両親329例、健常親族5例)のDNA検体を収集した。これまで191例(発端者162例、罹患親族9例、健常両親20例)のエクソーム解析を行ない、発端者93例のbioinformatics解析と、発端者と両親のSanger法によるvalidationを終えた。ACMGガイドラインの分類では、Pathogenic 26家系、Likely pathogenic 7家系、unknown significance (VUS) 4家系、病因と考えられる変異未同定 56家系であった。PathogenicとLikely pathogenicの33家系中、*STXBPI*を6家系、*KCNQ2*を4家系、*CDKL5*, *KCNT1*を各2家系に認め、他の家系は19遺伝子に分散していた。De novo変異が30家系(うち1家系2例は双胎)、X連鎖の家族性(*PIGA*: 母保因者)が1家系、常染色体劣性(*PLPBP*: 両親保因者)が1家系、常染色体優性の家族性発症(*KCNQ2*: 父と姉)が1家系であった。

研究の実施経過: 平成3年4月27日と11月21日に班員に対して遺伝子解析の案内を行った(添付文書「RESR 遺伝子解析案内」)。8月3日担当3疾患について指定難病の疾患別個票の修正を行った。9月20日アイカルディ症候群の小児慢性特定疾病への追加申請を行った。10月18日担当3疾患について難病情報センターホームページの情報改訂を依頼した。11月28日日本小児神経学会へ担当3疾患の、11月30日日

本てんかん学会へアイカルディ症候群と神経細胞移動異常症の診療ガイドラインの外部評価と承認申請を行った。1月18日指定難病と小児慢性特定疾病の稀少てんかんに関する難病データ提供の依頼書類一式を送付した。1月30日難病データを利用することなどに関し研究内容変更願の倫理審査を昭和大学における人を対象とする研究等に関する倫理委員会に提出した。

D. 考察

原因遺伝子同定率は93家系中33家系35.5%であった。DEEにおけるTarget captureによる解析では20-45%、原因不明のてんかんにおける遺伝子診断率は全エクソーム解析で45%、てんかんパネルで23%、染色体マイクロアレイで8%と報告されている。166遺伝子の診断同定率は既報告と同様であるが、両親を加えたTrio検体のエクソーム解析によって診断率をさらに向上させることができると考えられる。

E. 結論

エクソーム解析の費用は低下しており、clinical exomeで同定されなかった症例は、両親のエクソーム解析を行うことが望ましい。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Miyamoto S, Kato M, Hiraide T, Shiohama T, Goto T, Hojo A, Ebata A, Suzuki M, Kobayashi K, Chong PF, Kira R, Matsushita HB, Ikeda H, Hoshino K, Matsufuji M, Moriyama N, Furuyama M, Yamamoto T, Nakashima M, Saitsu H: Comprehensive genetic analysis confers high diagnostic yield in 16 Japanese patients with corpus callosum anomalies. *J Hum Genet* 2021;66:1061

- 2) Matsumoto A, Kojima K, Miya F, Miyauchi A, Watanabe K, Iwamoto S, Kawai K, Kato M, Takahashi Y, Yamagata T: Two cases of *DYNC1H1* mutations with intractable epilepsy. *Brain Dev* 2021;43:857-862
- 3) Itai T, Miyatake S, Taguri M, Nozaki F, Ohta M, Osaka H, Morimoto M, Tandou T, Nohara F, Takami Y, Yoshioka F, Shimokawa S, Okuno-Yuguchi J, Motobayashi M, Takei Y, Fukuyama T, Kumada S, Miyata Y, Ogawa C, Maki Y, Togashi N, Ishikura T, Kinoshita M, Mitani Y, Kanemura Y, Omi T, Ando N, Hattori A, Saitoh S, Kitai Y, Hirai S, Arai H, Ishida F, Taniguchi H, Kitabatake Y, Ozono K, Nabatame S, Smigiel R, Kato M, Tanda K, Saito Y, Ishiyama A, Noguchi Y, Miura M, Nakano T, Hirano K, Honda R, Kuki I, Takanashi JI, Takeuchi A, Fukasawa T, Seiwa C, Harada A, Yachi Y, Higashiyama H, Terashima H, Kumagai T, Hada S, Abe Y, Miyagi E, Uchiyama Y, Fujita A, Imagawa E, Azuma Y, Hamanaka K, Koshimizu E, Mitsuhashi S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N: Prenatal clinical manifestations in individuals with *COL4A1/2* variants. *J Med Genet* 2021;58:505-513
- 4) Morichi S, Ishida Y, Yamanaka G, Kato M, Kawashima H: Epileptic encephalopathy patients with *SCN2A* variant initiated by neonatal seizure. *Pediatr Int* 2021;63:971-972
- 5) Watanabe K, Nakashima M, Kumada S, Mashimo H, Enokizono M, Yamada K, Kato M, Saitsu H: Identification of two novel de novo *TUBB* variants in cases with brain malformations: case reports and literature review. *J Hum Genet* 2021;66:1193-1197
- 6) Kobayashi Y, Tohyama J, Takahashi Y, Goto T, Haginoya K, Inoue T, Kubota M, Fujita H, Honda R, Ito M, Kishimoto K, Nakamura K, Sakai Y, Takanashi JI, Tanaka M, Tanda K, Tominaga K, Yoshioka S, Kato M, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N: Clinical manifestations and epilepsy treatment in Japanese patients with pathogenic *CDKL5* variants. *Brain Dev* 2021;43:505-514
- 7) Fatima A, Hoeber J, Schuster J, Koshimizu E, Maya-Gonzalez C, Keren B, Mignot C, Akram T, Ali Z, Miyatake S, Tanigawa J, Koike T, Kato M, Murakami Y, Abdullah U, Ali MA, Fadoul R, Laan L, Castillejo-Lopez C, Liik M, Jin Z, Birnir B, Matsumoto N, Baig SM, Klar J, Dahl N: Monoallelic and bi-allelic variants in *NCDN* cause neurodevelopmental delay, intellectual disability, and epilepsy. *Am J Hum Genet* 2021;108:739-748
- 8) Arisaka A, Nakashima M, Kumada S, Inoue K, Nishida H, Mashimo H, Kashii

- H, Kato M, Maruyama K, Okumura A, Saitsu H, Matsumoto N, Fukuda M: Association of early-onset epileptic encephalopathy with involuntary movements – Case series and literature review. *Epilepsy Behav Rep* 2021;15:100417
- 9) Miyatake S*, Kato M*, Kumamoto T, Hirose T, Koshimizu E, Matsui T, Takeuchi H, Doi H, Hamada K, Nakashima M, Sasaki K, Yamashita A, Takata A, Hamanaka K, Satoh M, Miyama T, Sonoda Y, Sasazuki M, Torisu H, Hara T, Sakai Y, Noguchi Y, Miura M, Nishimura Y, Nakamura K, Asai H, Hinokuma N, Miya F, Tsunoda T, Togawa M, Ikeda Y, Kimura N, Amemiya K, Horino A, Fukuoka M, Ikeda H, Merhav G, Ekhilevitch N, Miura M, Mizuguchi T, Miyake N, Suzuki A, Ohga S, Saitsu H, Takahashi H, Tanaka F, Ogata K, Ohtaka-Maruyama C, Matsumoto N: De novo *ATPIA3* variants cause polymicrogyria. *Sci Adv* 2021;7:eabd2368 (*co-first author)
- 10) Mizuno T, Miyata R, Hojo A, Tamura Y, Nakashima M, Mizuguchi T, Matsumoto N, Kato M: Clinical variations of epileptic syndrome associated with *PACS2* variant. *Brain Dev* 2021;43:343-347
- 11) Itai T, Hamanaka K, Sasaki K, Wagner M, Kotzaeridou U, Brosse I, Ries M, Kobayashi Y, Tohyama J, Kato M, Ong WP, Chew HB, Rethanavelu K, Ranza E, Blanc X, Uchiyama Y, Tsuchida N, Fujita A, Azuma Y, Koshimizu E, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Takahashi H, Miyagi E, Tsurusaki Y, Doi H, Taguri M, Antonarakis SE, Nakashima M, Saitsu H, Miyatake S, Matsumoto N: De novo variants in *CELF2* that disrupt the nuclear localization signal cause developmental and epileptic encephalopathy. *Hum Mutat* 2021;42:66-76
- 12) 大野綾香, 藤井裕士, 佐藤友紀, 谷本綾子, 山根侑子, 二神良治, 吉野修司, 下藺広行, 松原啓太, 岡野里香, 浅井秀幸, 日隈のどか, 加藤光広: *ATPIA3* 変異を認める発達性てんかん性脳症. 日本小児科学会誌 2021;125:612-618
- 学会発表
- 1) 加藤光広: てんかんの希少疾患の診断をめぐる. シンポジウム13: てんかんの希少疾患 第54回日本てんかん学会学術集会: Online 2021年9月23日- 25日
- 2) 加藤光広: てんかん症候群の遺伝子解析と遺伝子検査の現状. シンポジウム17: てんかん症候群診断における遺伝子解析の意義 第54回日本てんかん学会学術集会: Online 2021年9月23日- 25日
- 啓発にかかる活動
- なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
- なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし