

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

#### B. 研究方法

研究分担者および研究協力者の診療施設およびこれまでに診療もしくは遺伝子解析の相談を受けた症例の臨床情報と、本研究班のレジストリデータベースRES-Rに登録された臨床情報をもとに診断基準と重症度分類を再検討する。診療ガイドラインは、MINDS診療ガイドライン作成マニュアルに基づいて作成を試みたが、希少疾患のため多くが症例報告やケースシリーズでエビデンスレベルが低く、また、①ガイドライン統括委員会、②ガイドライン作成グループ、③システマティックレビューチームの三層構造の担当組織の設置など困難な用件が多いため、可能な範囲でMINDS診療ガイドライン作成マニュアルに準じて作成した。Aicardi症候群(135)と先天性核上性球麻痺(132)については昨年度、診療ガイドライン案を作成しており、臨床現場で使用し、旧「傍シルビウス裂症候群」研究（平成23-25年度厚生労働科学研究費）班員間でメールを用いて討議し、実用性を検証した。神経細胞移動異常症(138)については、Pubmedと医中誌の検索結果に基づいて作

#### A. 研究目的

平成 27 年 7 月に指定難病に指定された Aicardi 症候群(135)、神経細胞移動異常症(138)、先天性核上性球麻痺(132)が新たに指定難病に指定された。本研究では 3 疾患の診断基準と重症度分類の見直し、診療ガイドラインの作成を主目的とする。また、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。本研究において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するとともに、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。

成した。Aicardi症候群の診療ガイドライン案を姫君会の代表を通じて全会員にメールで送付し意見を求めた。また神経細胞移動異常症の診療ガイドライン案を滑脳症親の会の代表を通じて全会員にメールで送付し意見を求めた。先天性核上性球麻痺の診療ガイドラインは日本小児神経学会に、Aicardi症候群、神経細胞移動異常症(138)の診療ガイドラインは日本小児神経学会と日本てんかん学会に外部評価を依頼した。

原因遺伝子検索は、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、レジストリ登録予定の既知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に病的候補変異にEpileptic encephalopathy, early infantile (EIEE)として登録されている遺伝子のほかに、これまで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ノステんかん、遺伝性GPI欠損症、mTOR経路、最新の論文報告を参考にして原案を作成し、本研究班員が確認修正を行った。その結果、てんかんの原因として166個の既知遺伝子をレジストリの登録項目として抽出し、病因と考えられる変異を探索した(Clinical exome)。Clinical exomeで病因と考えられる変異が同定されない場合には、両親および親族のエクソーム解析を行った(Trio exome)。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法でシーケンスし、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、山形大学医学部倫理審査委員会(平成24年度第71号)と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, 220, 1971)。

### C. 研究結果

先天性核上性球麻痺、Aicardi 症候群、神経細胞移動異常症(138)の診療ガイドラインを作成し、日本小児神経学会と日本てんかん学会の承認を得た(別添1, 2, 3)。

遺伝子解析を目的として、3年間で278家系874例(発端者278例、罹患親族41例、健常両親545例、健常親族12例)のDNA検体を収集した。これまで571例(発端者259例、罹患親族32例、健常両親274例、健常親族6例)のエクソーム解析を行ない、発端者208例のbioinformatics解析と、発端者と両親および親族のSanger法によるvalidationを終えた。Pathogenic 65家系、Likely pathogenic 22家系、unknown significance (VUS) 11家系、病因が疑われる変異なし 109家系であった。解析手法としてClinical exomeで69家系(同定率33.2%)、Trio exomeで18家系(14.9%)、計87家系(41.8%)にPathogenicもしくはLikely pathogenicの変異を同定した。Trio exomeでも103家系では病因と考えられる変異を同定できなかった。PathogenicとLikely pathogenicの87家系中、STXBP1を8家系、KCNQ2を6家系、SCN2A, SCN8Aを各4家系、CDKL5, KCNT1, GNAO1, KCNT1, を各3家系CACNA1A, GABRB2, ANKRD11, PACS2を各2家系に認め、他の家系は48遺伝子に分散していた。25遺伝子は本研究班の解析候補166遺伝子には未採用であった。De novo変異が80家系(うち2家系4例は双胎)、X連鎖の家族性(PIGA)が1家系、常染色体潜性(PLPBP, AP4S1, THG1L, UFC1)が4家系、常染色体顕性

の家族性発症 (KCNQ2, 父と姉; KCNQ3, 父と祖父) が2家系であった。

#### D. 考察

Aicardi症候群の診療ガイドライン案をステークホルダーである家族会会員に送り意見を求めたところ多数の質問と意見が寄せられた。診断や治療に対して現状の課題を実体験から指摘する意見があり、診療ガイドラインへの期待の大きさが推察された。神経細胞移動異常症の診療ガイドラインは国内でも海外でも検索できなかった。大脳皮質形成異常の診断手法については、2020年に欧米を中心とした国際的な勧告が発表されている [Oegema R. et al, Nat Rev Neurol, 2020;16:618-635]。本研究の診療ガイドライン作成でも参考にしたが、大脳皮質形成異常の原因診断は遺伝学的検査の占める割合が大きく、欧米と日本で遺伝学的検査体制が大きく異なる現状では、国内の体制に合ったガイドラインに修正が必要であった。

発達性てんかん性脳症における Target capture による解析では 20-45% [Segal, 2016, 27726903; Mercimek-Mahmutoglu, 2015, 25818041]、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 [Sanchez Fernandez, 2019, 30610098]。166 遺伝子の診断同定率は 33% で既報告と同等であり、本研究で抽出した 166 遺伝子は概ね妥当と考えられる。両親を加えた Trio 検体のエクソーム解析の原因遺伝子同定率は 42% に向上した。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ことが裏付けられた。Trio exome により登録対象外の遺伝子 (25 遺伝子で、同定された原因遺伝子の 42%) が多数同定され、Clinical exome の解析対象遺伝子

を見直す必要がある。4 遺伝子はてんかんや神経発達症での報告がなく、新規原因の可能性が考えられた。この 4 遺伝子については、遺伝子と表現型について一致例を照合する国際的な統合データベース GeneMatcher (<https://genematcher.org/>) に登録し情報収集集中である。

#### E. 結論

先天性核上性球麻痺とAicardi症候群、神経細胞移動異常症の診療ガイドラインをステークホルダーの意見に応じて修正し信頼性と実用性を担保し、関連学会の承認を得た。発達性てんかん性脳症の遺伝素因診断におけるクリニカルエクソームとトリオエクソーム解析の臨床的妥当性と臨床的有用性を明らかにした。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) Saida K, Chong PF, Yamaguchi A, Saito N, Ikehara H, Koshimizu E, Miyata R, Ishiko A, Nakamura K, Ohnishi H, Fujioka K, Sakakibara T, Asada H, Ogawa K, Kudo K, Ohashi E, Kawai M, Abe Y, Tsuchida N, Uchiyama Y, Hamanaka K, Fujita A, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyake N, Kato M, Kira R, Matsumoto N. Monogenic causes of pigmentary mosaicism. **Hum Genet.** 2022, 141:1771-1784
- 2) Abe K, Ando K, Kato M, Saitsu H, Nakashima M, Aoki S, Kimura T. A New Case With Cortical Malformation Caused by Biallelic Variants in LAMC3. **Neurol**

- Genet.** 2022, 8(3): e680.
- 3) Kobayashi H, Matsushige T, Hoshide M, Hidaka I, Ichiyama T, Kato M, Miya F, Hasegawa S. Discordant phenotypes in monozygotic twins with STXBPI mutation: A case report. **Seizure.** 2022, 101: 8-10.
  - 4) Hoshino H, Miya F, Kato M, Kanemura H. Efficacy of ethosuximide on atonic seizures with KCNB1 mutation. **Pediatr Int.** 2022, 64(1): e14871.
  - 5) Kato M, Kada A, Shiraishi H, Tohyama J, Nakagawa E, Takahashi Y, Akiyama T, Kakita A, Miyake N, Fujita A, Saito AM, Inoue Y. Sirolimus for epileptic seizures associated with focal cortical dysplasia type II. **Ann Clin Transl Neurol.** 2022, 9(2): 181-192.
  - 6) Hamanaka K, Miyoshi K, Sun JH, Hamada K, Komatsubara T, Saida K, Tsuchida N, Uchiyama Y, Fujita A, Mizuguchi T, Gerard B, Bayat A, Rinaldi B, Kato M, Tohyama J, Ogata K, Shi YS, Saito K, Miyatake S, Matsumoto N. Amelioration of a neurodevelopmental disorder by carbamazepine in a case having a gain-of-function GRIA3 variant. **Hum Genet.** 2022, 141(2): 283-293.
  - 7) Guerrini R, Mei D, Kerti-Szigeti K, Pepe S, Koenig MK, Von Allmen G, Cho MT, McDonald K, Baker J, Bhambhani V, Powis Z, Rodan L, Nabbout R, Barcia G, Rosenfeld JA, Bacino CA, Mignot C, Power LH, Harris CJ, Marjanovic D, Moller RS, Hammer TB, Study DDD, Keski Filppula R, Vieira P, Hildebrandt C, Sacharow S, Undiagnosed Diseases N, Maragliano L, Benfenati F, Lachlan K, Benneche A, Petit F, de Sainte Agathe JM, Hallinan B, Si Y, Wentzensen IM, Zou F, Narayanan V, Matsumoto N, Boncristiano A, la Marca G, Kato M, Anderson K, Barba C, Sturiale L, Garozzo D, Bei R, collaborators AVA, Masuelli L, Conti V, Novarino G, Fassio A. Phenotypic and genetic spectrum of ATP6V1A encephalopathy: a disorder of lysosomal homeostasis. **Brain.** 2022, 145(8): 2687-2703.
  - 8) Kishimoto K, Nabatame S, Kagitani-Shimono K, Kato M, Tohyama J, Nakashima M, Matsumoto N, Ozono K. Ketogenic diet for focal epilepsy with SPTAN1 encephalopathy. **Epileptic Disord.** 2022, 24(4): 726-728.
  - 9) Matsushita HB, Hiraide T, Hayakawa K, Okano S, Nakashima M, Saitsu H, Kato M. Compound heterozygous ADAMTS9 variants in Joubert syndrome-related disorders without renal manifestation. **Brain Dev.** 2022, Feb, 44(2): 161-165
- 学会発表
- 1) Mitsuhiro Kato: Rare epileptic diseases. 14th Asian & Oceanian Epilepsy Congress. Satellite Symposium. Improving epilepsy outcomes over lifetime: focus on special patient populations: Web 2022年11月18日
  - 2) 加藤光広: 限局性皮質異形成II型に対する新規抗てんかん薬開発. シンポジウム16: てんかん診療の近未来~デバイスと医薬品開発の最前線~ 第55回日本てんかん学

- 会学術集会：仙台+online 2022年9月20日  
- 22日
- 3) 加藤光広：発達性てんかん性脳症に対する疾患修飾治療. シンポジウム23：てんかんの Disease Modifying Therapy ～現在地と将来性を考える～ 第55回日本てんかん学会学術集会：仙台+online 2022年9月20日- 22日
- 4) 加藤光広：結節性硬化症と関連疾患の遺伝相談. シンポジウム25：てんかん遺伝コンサルティングの実践 第55回日本てんかん学会学術集会：仙台+online 2022年9月20日- 22日
- 5) 加藤光広：The Cons. ディベートセッション2：てんかんの遺伝性は厳密に伝えるべきである 第55回日本てんかん学会学術集会：仙台+online 2022年9月20日- 22日
- 6) 加藤光広：ATP1A3の多面性による機能異常と構造異常：発達性てんかん性脳症と多小脳回. シンポジウム15：ATP1A3変異の多面性と病態—AHC, CAPOS, RDP, DEE, PMG, etc.— 第64回日本小児神経学会学術大会：高崎+online 2022年6月4日
- 7) 加藤光広：mTOR活性化の多彩な臨床像とてんかん発作の分子標的治療薬. ホットトピックス6：小児神経疾患の分子機構最前線

～成人との架け橋 第63回日本神経学会  
学術大会：有楽町+online 2022年5月20日

#### 啓発にかかる活動

第62回日本小児神経学会学術集会において「遺伝子解析の現状と今後：研究から保険診療への課題」と題するシンポジウムを開催し、Dravet症候群家族会とWest症候群家族会の各会長に講演を依頼し、それぞれの家族に対するアンケート調査結果を報告していただき、家族会のメンバーと情報を共有した。

#### 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