

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 国際医療福祉大学・福岡保健医療学部・教授

研究要旨

急性脳症では、家族性の可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎脳症でMYRF遺伝子に病的バリエーションの報告以外に単一遺伝子は同定されていない。これまでNa⁺チャンネルの α サブユニットをコードするSCN1AやSCN2A遺伝子のバリエーションの関与が知られている。Na⁺チャンネルはドラベ症候群（DS）や他の発達性てんかん性脳症（DEE）の責任遺伝子であるため、DEEのバリエーションの急性脳症への関与が示唆される。2015～2021年に500症例（DS 337、DEE 163）を対象にNa⁺、K⁺、Cl⁻チャンネル、GABAA受容体等のイオンチャンネル、イオンチャンネル内蔵をコードする遺伝子のバリエーションを探索した。その結果、121症例（DS 95、DEE 26）に病的バリエーションを同定した。Na⁺チャンネルが最も多いが、K⁺チャンネル、GABAA受容体と抑制系のチャンネルが続き、抑制系チャンネルのバリエーションの関与も示唆された。

A. 研究目的

急性脳症での遺伝子の関与は示唆されているが、これまで家族性の可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎脳症で MYRF 遺伝子に病的バリエーションの報告以外に単一遺伝子は同定されていない。しかし、ドラベ症候群などのてんかん性脳症は、急性脳症の基礎疾患として知られている。発達性てんかん性脳症では、Na⁺チャンネルの α サブユニットをコードする SCN1A や SCN2A 遺伝子のバリエーションの関与が知られている。そこで、急性脳症の基礎疾患となる発達性てんかん性脳症でのバリエーションを持つチャンネル遺伝子の特徴を検証することを目的とした。

B. 研究方法

2015年から2021年に共同研究施設より遺伝子解析依頼を受けた、500症例の発達性てんかん性脳症症例を解析した。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。Na⁺、K⁺、Cl⁻チャンネル、GABAA受容体等

のイオンチャンネル、イオンチャンネル内蔵をコードする遺伝子を対象とした。

（倫理面への配慮）

本研究は福岡大学医の倫理、国際医療福祉大学倫理委員会での承認のもと、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

ドラベ症候群 337 症例、その他の発達性てんかん性脳症 163 症例の合計 500 症例で病的バリエーションを探索し、121 症例（ドラベ症候群 95 症例、発達性てんかん性脳症 26 症例）に病的バリエーションを同定した。トップ 5 の遺伝子は、SCN1A に 85 症例、SCN8A に 7 症例、KCNT1 に 5 症例、KCNQ2 に 4 症例、GABRB2 に 3 症例であった。チャンネル種類に分類すると、Na⁺チャンネルに 93 症例、K⁺チャンネルに 12 症例、GABA_A受容体に 7 症例であった。

D. 考察

Na⁺チャンネルが最も多いが、K⁺チャンネル、GABA_A受容体と抑制性のチャンネルが続き、抑制性チャンネルのバリエーションの関与も示唆された。

E. 結論

Polygenic, Oligogenic モデルを仮説として、遺伝子またはバリエーションを興奮性または抑制性チャンネルに分類することで特異的な遺伝背景が確認できる可能性がある

F. 健康危険情報

該当なし

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Epi25 Collaborative. Sub-genic in tolerance, ClinVar, and the epilepsies: A whole-exome sequencing study of 29,165 individuals. *Am J Hum Genet.* 2021 Jun 3;108(6):965-982. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.04.009..
2. Yoshitomi S, Hamano SI, Hayashi M, Sakuma H, Hirose S, Ishii A, Honda R, Ikeda A, Imai K, Jin K, Kada A, Kakita A, Kato M, Kawai K, Kawakami T, Kobayashi K, Matsuishi T, Matsuo T, Nabatame S, Okamoto N, Ito S, Okumura A, Saito A, Shiraishi H, Shirozu H, Saito T, Sugano H, Takahashi Y, Yamamoto H, Fukuyama T, Kuki I, Inoue Y. Current medico-psycho-social conditions of patients with West syndrome in Japan. *Epileptic Disord.* 2021 Aug 1;23(4):579-589. doi: 10.1684/epd.2021.1301
3. Kikuchi K, Hamano SI, Matsuura R, Nonoyama H, Daida A, Hirata Y, Koichihara R, Hirano D, Ishii A, Hirose S. The effectiveness of int

ravenous benzodiazepine for status epilepticus in Dravet syndrome.

Brain Dev. 2022 May;44(5):319-328. doi: 10.1016/j.braindev.2022.01.004.

4. Inoue Y, Hamano SI, Hayashi M, Sakuma H, Hirose S, Ishii A, Honda R, Ikeda A, Imai K, Jin K, Kada A, Kakita A, Kato M, Kawai K, Kawakami T, Kobayashi K, Matsuishi T, Matsuo T, Nabatame S, Okamoto N, Ito S, Okumura A, Saito A, Shiraishi H, Shirozu H, Saito T, Sugano H, Takahashi Y, Yamamoto H, Fukuyama T, Kuki I. Burden of seizures and comorbidities in patients with epilepsy: a survey based on the tertiary hospital-based Epilepsy Syndrome Registry in Japan. *Epileptic Disord.* 2022 Feb 1;24(1):82-94. doi: 10.1684/epd.2021.1361.

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