

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16301

研究課題名(和文) 早産児の低酸素性脳傷害とてんかん発症を防御する遺伝子群の解明

研究課題名(英文) Genetic basis of hypoxic encephalopathy and epilepsy in preterm infants

研究代表者

鳥尾 倫子(Torio, Michiko)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：00725864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：出生体重1500g未満で出生し、てんかんと診断された35人の臨床像について検討した。焦点性てんかん群とInfantile spasm群の両者において、脳室周囲白質軟化症の合併率が高く、それぞれ44%および57%であった。単変量解析では、てんかん発症に関連するリスク因子は、小さい在胎週数、低出生体重、晩期循環不全、およびMRI異常であった。これは、知的発達症のリスクと共通していたが、ASD/ADHDのリスクとは共通しなかった。てんかんと発症した12人において、染色体CGHアレイ解析を施行した。1人において、8p23.2領域に2.2Mbの重複が同定され、てんかんの発症に関与した可能性が推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

てんかんの発症には、脳室周囲白質軟化症が関係していることが改めて確認された。また、てんかん発症に関連する周産期リスク因子は、知的発達症のリスク因子と共通していたことから、これらには共通する発症メカニズムが示唆された。一部の被験者からは、てんかんに関係する遺伝子のコピー数異常が認められたことから、早産児におけるてんかんの発生には、外的要因だけでなく、遺伝学的背景が関与している場合があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The clinical features of 35 patients born with a birth weight of less than 1500 g(Very low birth weight infant: VLBWI) and diagnosed with epilepsy were examined. Periventricular leukomalacia appeared at higher frequencies in both the focal epilepsy group and the infantile spasm group. Univariate analyses revealed that small gestational age, low birth weight, late-onset circulatory collapse, and MRI abnormalities showed an association with epilepsy. We found that all these factors were common with intellectual disability, but not with ASD / ADHD. Array CGH analysis was performed in 12 VLBWIs who developed epilepsy. A 2.2 Mb duplication in the 8p23.2 region was identified in one patient and was thought to have contributed to the development of epilepsy.

研究分野：小児神経、てんかん、脳性麻痺

キーワード：早産児 脳傷害 てんかん 遺伝学的背景

1. 研究開始当初の背景

周産期医学の進歩により、早産児の生存率は向上したが、神経学的合併症を有する極低出生体重児(very low birth infant, VLBWI)は必ずしも減少していない。申請者らは、国内データベースを集計し、VLBWI は3歳までに8%が脳性麻痺、13%が発達遅滞、1.7%がてんかんを発症することを報告した¹⁾。

近年、マウスを用いた研究で新生児HIEにともなう大脳白質損傷の生物学的メカニズムとして、特定の分子シグナルが関与すること、またこれらを規定する内在因子としての遺伝的背景がヒトで明らかにされた^{2,3)}。以上より、本研究では、てんかんを合併した早産児と非合併早産児を特徴づける臨床指標および遺伝的背景を抽出することを目的として、本研究を提案した。

2. 研究の目的

本研究では、(1)早産児に合併するてんかんの臨床像を明らかにする、(2)てんかんの発症に関連する周産期リスク因子を同定する、(3)てんかんを合併した早産児を特徴づける遺伝的背景を抽出することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)当科に通院中の出生体重 1500g 未満の児 (VLBWIs) のうち、てんかんと診断された 35 人の臨床像について後方視的に検討した。

(2)2003 年から 2009 年に当院で出生し NICU で管理した VLBWIs について、9 歳まで前向きに追跡した。母体と児の周産期情報をカルテから抽出した。9 歳まで追跡できた 119 人について、神経後遺症の有無を評価した。神経後遺症は、てんかん、知的発達症 (IQ<70)、自閉スペクトラム症 (ASD) および注意欠如・多動症 (ADHD) について調査した。統計解析には JMP ソフトウェアプログラム ver. 14.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用いた。連続変数はウィルコクソン順位和検定を用い、離散変数はフィッシャーの正確確率検定を用いた。P 値 0.05 未満を統計学的に有意と考えた。

(3)てんかんを発症した VLBWIs のうち、同意の得られた 12 人において、CGH アレイ解析を行った。解析には、Agilent 社の SurePrint G3 Human CGH マイクロアレイキット 8 x 60K を使用した。

4. 研究成果

(1)てんかん発症例の臨床像

てんかんを発症した 35 例を、焦点てんかん (FE) 群と Infantile spasm (IS) 群、およびその他群に分類し、背景を示す (表 1)。

表 1. てんかん病型別の背景

	焦点てんかん (n=19)	Infantile spasm (n=14)	その他* (n=2)
在胎週数	28.2 [3.6]	26.8 [2.5]	23, 35
出生体重	962 [340]	935 [323]	452, 1198
性別	男 11 : 女 8	男 12 : 女 2	男 1 : 女 1
発症月齢	34.8 (3-108)	8.2 (6.0-16)	2, 24

* : 分類不能型てんかん性能症、Lennox-Gastaut 症候群

[] : standard deviation, **: $p < 0.01$, 月齢は中央値

次に、参加症例の頭部 MRI 所見を検討したところ、FE 群も IS 群も、最多の所見は脳室周囲白質軟化症 (PVL) で、それぞれ 44%と 57%であった (図 1)。FE 群と IS 群における PVL の重症度を 3 段階で比較した場合、両群に明らかな差は見出せなかった。

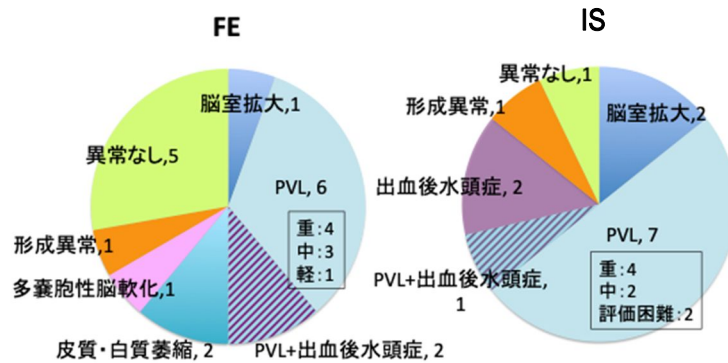


図 1.MRI 所見の内訳

(2)てんかん発症のリスク因子

119 人の VLBWIs のうち、9 歳までに 11 人 (9.2%) がてんかんを発症した。IQ <70 を示したのは、25 人 (21%) であった。14 人 (11.8%) が ASD または ADHD と診断されていた。これら神経後遺症の発症に関連するリスク因子を検討した。周産期因子には MRI 病変および神経後遺症に関連する既知の周産期リスク因子を用い、相関分析を行った(表 2)。

表 2. てんかん発症に関連する周産期因子

周産期情報	IQ		P 値	Epilepsy		P 値	ASD/ADHD		P 値
	IQ <70 N=25	IQ ≥70 N=94		with N=11	without N=108		with N=14	without N=105	
在胎週数 [SD]	27.4 [4.1]	29.5 [3.3]	0.0064	26.4 [3.7]	29.4 [3.5]	0.0069	28.6 [3.5]	29.2 [3.6]	0.82
出生体重 (g) [SD]	771 [313]	1080 [288]	<0.0001	714 [287]	1046 [306]	0.0016	913 [263]	1029 [323]	0.13
	人数 (%)			人数 (%)			人数 (%)		
男児	17 (68.0)	44 (46.8)	0.073	7 (63.6)	54 (50.0)	0.39	14 (100)	47 (44.8)	<0.0001
在胎不当過小	15 (60.0)	45 (47.9)	0.28	7 (63.6)	53 (49.0)	0.53	8 (57.1)	52 (49.5)	0.78
大きな先天奇形	2 (8.0)	0 (0)	0.042	0 (0)	2 (1.9)	1.00	0 (0)	2 (1.9)	1.00
アプガー値 <7 (5分)	14 (58.3)	25 (26.6)	0.0064	6 (60.0)	33 (30.6)	0.06	7 (50.0)	32 (30.8)	0.22
中等度および重度 BPD	7 (28.0)	6 (6.4)	0.0059	3 (27.3)	10 (9.2)	0.10	3 (21.4)	10 (9.5)	0.18
症候性 PDA	11 (44.0)	20 (21.3)	0.037	5 (45.5)	26 (24.0)	0.15	5 (35.7)	26 (24.8)	0.52
壊死性腸炎	5 (20.0)	3 (3.2)	0.010	2 (18.2)	6 (5.6)	0.16	1 (7.1)	7 (6.7)	1.00
晚期循環不全	7 (28.0)	5 (5.3)	0.0032	5 (45.5)	7 (6.5)	0.0015	1 (7.1)	11 (10.5)	1.00
頭部 MRI									
すべての病変	16 (64.0)	23 (25.6)	0.0006	9 (81.8)	30 (28.9)	0.0009	8 (57.1)	31 (30.7)	0.070
重度病変	10 (40.0)	14 (15.6)	0.012	8 (72.7)	16 (15.4)	0.0001	6 (42.9)	18 (17.8)	0.072
軽度病変	6 (24.0)	9 (10.0)	0.091	1 (9.1)	14 (13.5)	1.00	2 (14.3)	13 (12.9)	1.00

在胎週数と出生体重は中央値を示す。BPD = 気管支肺異形成症(bronchopulmonary dysplasia); PDA = 動脈管開存症(patent ductus arteriosus)

° ウィルコクソン順位和検定。他の項目の分析にはフィッシャー正確確率検定を使用した。太字: P<0.05。

単変量分析の結果、13 項目のうち 10 因子が IQ <70 と関連し、てんかんについては 5 つの因子 (在胎週数、出生体重、晚期循環不全、MRI・全ての病変、および MRI・重度脳病変) が関連を示した。てんかんの発症リスクと考えられた 5 因子の全てが、IQ<70 のリスク因子と共通していたことから、これらの病因プロセスには、共通するメカニズムが関与すると推測された。これらに対して、ASD/ADHD は、男児であることが唯一のリスク因子として同定され、これは IQ<70 およびてんかんのいずれとも重複しなかった。ロジスティック回帰分析による多変量解析を行ったが、各分類の数が小さいため、信頼できる数値が算出できなかった (データなし)。

上記結果をうけて、VLBWIs におけるてんかん、IQ <70 および ASD/ADHD の併存状況に特徴的な傾向があるかどうかを検討した。参加者を 9 歳時の IQ 値に従って 5 段階に階層化し、それぞれの群における、てんかんあるいは ASD/ADHD の頻度を調査した (図 2)。てんかんを発症した 11 人は全て IQ <70 群に属していたのに対し、ASD/ADHD と診断された 14 人は、IQ <70 群から高 IQ 群まで同様の頻度 (16% vs. 11%) で分布していた。本研究では、9 歳までにてんかんと ASD/ADHD の両者を合併した児はいなかった。これらの結果を英文誌に報告した⁵⁾。

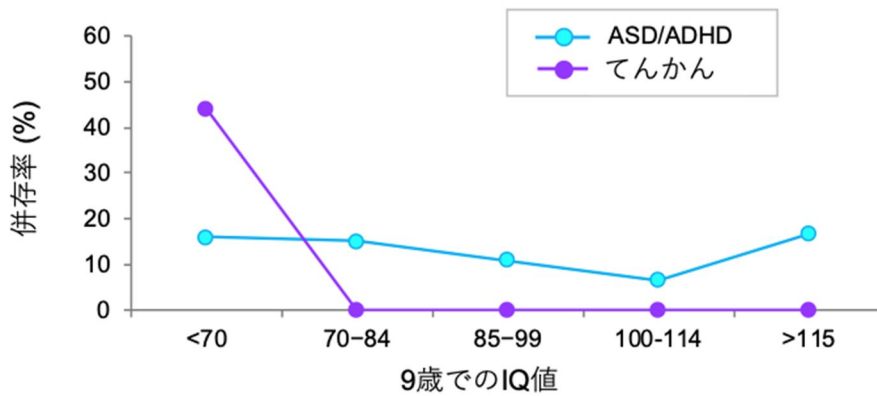


図2. 9歳時IQとてんかん、ASD/ADHDの併存状況

(3) 遺伝学的背景の検索

12例について染色体CGHアレイ解析を施行した。複数箇所の欠失領域(2p11.2, 15q11.1-q11.2, 15q13.2, 16p11.2)や重複領域(6p21.3, 8p23.2, 8p11.2, 10q11.2, 11p15.4, 11p14.3, 14q11.2)が同定された。データベースを用いて、RNAが中枢神経で発現する遺伝子に限定したところ、6q27.8, p23.2, および11p15.4領域の重複が候補であった。その中で、8p23.2領域の2.2Mbの重複は、CSMD1遺伝子を含んでおり、この遺伝子はてんかんと関連することが報告されていた⁴⁾。ただし、同領域の重複は健常の報告もあり、判断にはさらなる症例の蓄積が必要であるが、てんかんの発症に関与した可能性が示唆された。

今回の研究では、一部の児において、てんかんの発症への関与が示唆される遺伝学的背景が同定されたものの、他の児においては有意な所見は同定されなかった。

<引用文献>

1. Matsushita Y, Sakai Y, Torio M, et al. Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan. J Perinatol. 2019;39:1472-1479.
2. Salmaso N, et al. Neurobiology of premature brain injury. Nat neurosci. 2014 Mar;17(3):341-6.
3. Oskoui M, et al. Clinically relevant copy number variations detected in cerebral palsy. Nat Commun. 2015 Aug3;6;7949.
4. Naseer M. et al. Copy number variations in Saudi family with intellectual disability and epilepsy. BMC Genomics. 2016; 17(Suppl 9): 757.
5. Torio Michiko, Iwayama Mariko, Sawano Toru, Inoue Hirotsuke, Ochiai Masayuki, et al. Neurodevelopmental outcomes of high-risk preterm infants: A prospective study in Japan. Neurology: Clinical Practice. doi:10.1212/CPJ.0000000000000920

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Torio Michiko, Iwayama Mariko, Sawano Toru, Inoue Hirotsuke, Ochiai Masayuki, Taira Ryoji, Yonemoto Kousuke, Ichimiya Yuko, Sonoda Yuri, Sasazuki Momoko, Ishizaki Yoshito, Sanefuji Masafumi, Yamane Kenichi, Yamashita Hiroshi, Torisu Hiroyuki, Kira Ryutaro, Hara Toshiro, Kanba Shigenobu, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Neurodevelopmental outcomes of high-risk preterm infants: A prospective study in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurology: Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/CPJ.0000000000000920	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurokawa M, Torio M, Ohkubo K, Tocan V, Ohyama N, Toda N, Ishii K, Nishiyama K, Mushimoto Y, Sakamoto R, Nakaza M, Horie R, Kubota T, Takahashi MP, Sakai Y, Nomura M, Ohga S	4. 巻 8
2. 論文標題 The expanding phenotype of hypokalemic periodic paralysis in a Japanese family with p.Val876Glu mutation in CACNA1S	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Genet Genomic Med.	6. 最初と最後の頁 e1175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Adachi Shunichi, Torio Michiko, Okuzono Sayaka, Motomura Yoshitomo, Ichimiya Yuko, Sonoda Yuri, Nagata Jyunya, Okamoto Misato, Noutomi Shouji, Sanefuji Masafumi, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi	4. 巻 90
2. 論文標題 Vitamin A deficiency-associated corneal perforation in a boy with autism spectrum disorder: A case report and literature review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrition	6. 最初と最後の頁 111275 ~ 111275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nut.2021.111275	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Matsushita, Yasunari Sakai, Michiko Torio, Hirotsuke Inoue, Masayuki Ochiai, Kazuaki Yasuoka, Hiroaki Kurata, Junko Fujiyoshi, Masako Ichiyama, Tomoaki Taguchi, Kiyoko Kato, Shouichi Ohga	4. 巻 39
2. 論文標題 Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of perinatology	6. 最初と最後の頁 1472 ~ 1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohyama Noriko, Torio Michiko, Nakashima Kentaro, Koga Yuuki, Kanno Shunsuke, Nishio Hisanori, Nishiyama Kei, Sasazuki Momoko, Kato Haru, Asakura Hiroshi, Akamine Satoshi, Sanefuji Masafumi, Ishizaki Yoshito, Sakai Yasunari, Ohga Shouichi	4. 巻 16
2. 論文標題 A childhood-onset intestinal toxemia botulism during chemotherapy for relapsed acute leukemia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials	6. 最初と最後の頁 61 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12941-017-0240-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鳥尾倫子、岩山真理子、井上普介、落合正行、園田有里、石崎義人、實藤雅文、酒井康成、大賀正一
2. 発表標題 極低出生体重児の9歳時の神経学的予後：単施設の報告
3. 学会等名 第61回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鳥尾倫子、落合正行、園田有里、石崎義人、實藤雅文、酒井康成、大賀正一
2. 発表標題 極低出生体重児に合併するてんかんの特徴
3. 学会等名 第60回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鳥尾倫子、岩山真理子、井上普介、落合正行、平良遼志、米元耕輔、一宮優子、園田有里、實藤雅文、鳥巢浩幸、吉良龍太郎、酒井康成、大賀正一
2. 発表標題 ハイリスク早産児に合併するてんかんの特徴
3. 学会等名 第15回てんかん学会九州地方会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鳥尾倫子、磯部菜摘、一宮優子、井上普介、園田有里、實藤雅文、酒井康成、鳥巢浩幸、大賀正一
2. 発表標題 Kleefstra症候群および多彩な臨床徴候を示した日本人家系の3例
3. 学会等名 第62回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	酒井 康成 (Sakai Yasunari)		
研究協力者	落合 正行 (Ochiai Masayuki)		
研究協力者	井上 普介 (Inoue Hirosuke)		
研究協力者	岩山 真理子 (Iwayama Mariko)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------