

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08900

研究課題名（和文）てんかん原因遺伝子の網羅的解析および心電図の診断有用性の検討

研究課題名（英文）The role of ECG and genetic variants in epilepsy

研究代表者

藍 智彦（AI, TOMOHIKO）

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：00570128

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：てんかんは、てんかん関連突然死など、予後に影響するだけでなく、事故による他者へ被害を及ぼす事がある。しかしながら、てんかんが何時発生するのか、てんかん関連突然死の原因が何なのかはわかっていない。脳と心臓は生理学的に関連が深いため、心電図による予後予測化可能かを検証しようとした。前向き研究はCOVIDで実施できなかったが、後ろ向き研究で、脳梗塞、脳出血、脳腫瘍などの脳器質的疾患を有する患者では、てんかん発作後に心臓再分極異常（QT時間延長など）が起こる事を見出した。また、側頭葉てんかん関連遺伝子DEPDC5をヒト由来iPS細胞で発現を減少させると以上興奮波の発生を観察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

てんかん発作が何時起こるかを予測する事は、脳波計測だけでは困難であった。また、てんかん関連突然死の原因は不明である。本研究成果では、心電図を用い、再分極過程（心臓興奮の回復過程）の異常を観察することで、てんかんの予後予測を行える可能性が示唆された。また、約90名のてんかん患者で発作直後に不整脈を起こしていた患者が認められなかった事より、てんかん関連突然死は、不整脈ではない可能性が示唆された。これらの結果は、心電図が、てんかん治療に有用である可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：Epilepsy can cause trauma and sudden death. It also hurts other people if attacks occur during driving. However, it is difficult to predict when seizure attacks happen. Since brains and hearts physiologically regulate each other, we sought to investigate an association between ECG and timing of seizure attacks. Due to the COVID-19 pandemic, we could not perform prospective studies. Retrospective studies revealed that the patients who have structural brain diseases such as strokes and tumors showed abnormal cardiac repolarization (e.g., QT-prolongation). We also found that none of the patients did not have arrhythmias at epileptic attacks. In a different project, we firstly found that reduction of DEPDC5 gene in human iPS cells caused abnormal Ca²⁺-bursts.

研究分野：電気生理学

キーワード：てんかん 心電図 予後予測

1. 研究開始当初の背景

てんかん発作は脳神経細胞の過剰な電気活動により引き起こされると考えられているが、そのメカニズムは充分には解明されていない。脳神経細胞に発現するイオンチャネルや細胞内カルシウム制御蛋白の一部は、心臓にも発現していると考えられ、脳神経細胞の電気生理的活動と心臓電気生理活動との関連性が示唆された。従って、心電図とてんかんとに相関関係がある可能性がある。先行研究として、遺伝性不整脈である QT 延長症候群(LQTS)患者に於いて、遅延整流 K チャネル(Kr)をコードする KCNH2 遺伝子に変異がある患者群で、不整脈を原因としない痙攣発作の頻度が増加することが報告されている。しかしながら、LQT1-3 (KCNQ1、KCNH2、SCN5A)以外の遺伝子変異と臨床像(てんかんの分類や予後)、や心電図所見との相関を詳細に検討した研究はない。

申請者らは、脳神経細胞の再分極過程に重要な働きをする Ca 活性型 K チャネル(SK2)が、ウサギや人間の不全心で増加し、活動電位が短縮することにより、不整脈が悪化することを明らかにした^{1,2}。逆に、ラット心不全モデルに於いて、心不全が視床下部神経細胞の SK2 チャネル発現に影響を及ぼすことも示されている³。従って、心臓の電気生理学的異常(例えば、不整脈)を有する患者は、脳神経細胞の異常脱分極を亢進することにより、てんかんを起こしやすい可能性があると考えた。

2. 研究の目的

心電図がてんかんの予後予測因子として使用できるかの判定を目的とした。同時に、それらの患者で網羅的遺伝子解析を行い、脳と心臓の両方に発現している病的遺伝子変異を検索する計画を立て、遺伝子変異が検出されれば、ヒト iPS 細胞でてんかんの起こる機序を解明する計画を立てた。

3. 研究の方法

(1) 当初、東京医科歯科大学てんかんセンターで経過観察されているてんかん患者や救命救急センターに搬送される患者の心電図を定期的に観察し、心電図変化とてんかんのタイミングや頻度を前向きに観察する予定であったが、COVID-19 の発生により、一切の臨床試験が長期にわたり中断されたため、数名の搬送患者の遺伝子検査のみを行った。また、側頭葉てんかん患者に多い複数の DEPDC5 変異が発見されていたので、実際に以上興奮を起こすかをヒト iPS 細胞の DEPDC5 をゲノム編集法を用いて減少させ、異常興奮が起こるかを検討した。

(2) 臨床試験の再開ができなかった為、東京医科歯科大学救命救急センターに搬送されたてんかん患者の内、心電図が記録されていた 96 名の患者の心電図を解析した。

(3) 東京医科歯科大学病院脳神経外科で、てんかんを有する脳腫瘍患者で術前後の心電図が記録されていた 26 名の患者の心電図を解析した。

4. 研究成果

(1) 5 名のてんかん患者では、明らかに病的意義を持つ遺伝子変異は検出されなかったため、iPS 細胞の樹立は行わなかった。そこで、側頭葉てんかんの主な原因となる DEPDC5 遺伝子欠損が共同研究機関で発見されているため、同遺伝子の発現を健常人から樹立した iPS 細胞で半減させたところ、異常カルシウム興奮波が観察された。ヒト神経細胞で、DEPDC5 欠損による異常興奮波が記録されたのは他に報告がなく、現在、更なる詳細な機序を調査している。

(2) 東京医科歯科大学救命救急センターに搬送されたてんかん患者で、発作直後の記録のある 96 名の心電図を解析した。女性 33 名(17 名は、古い脳梗塞や脳出血などの脳器質疾患を有する患者、16 名は脳器質的疾患が明らかでない患者)、および男性 63 名(44 名は、脳器質疾患を有する患者、19 名は脳器質的疾患が明らかでない患者)を抽出した。心電図のパラメーターは、心拍数、興奮時間(QRS)、回復期間(QT)を解析した。QT 時間の補正(QTc)は、Fridericia, Framingham, and Bazett 式を用いて行った。結果、器質的疾患を持たない患者に比し、器質的疾患を持つ患者では、発作直後に男女とも、器質的疾患を持つ患者で QTc 時間が有意に延長していた。重要な事に、96 名のてんかん患者のうち、救命車内と救命救急センター内で致死的不整脈を示した患者やはいなかった。この研究は、脳器質疾患を有する患者では、心電図がてんかん発作発生の予後予測因子として使用できる可能性を示唆しているが、現在、大規模な前向き調査を計画している。

(3) 東京医科歯科大学脳神経外科で、脳腫瘍に対し手術が施行された患者のなかで、術前後およ

びてんかん発症前後の心電図が記録されている症例で、脳腫瘍が心臓電気活動に与える影響を解析した。対象は2013年8月～2019年9月に脳腫瘍に対し摘出術を行い、術前後にてんかんを発症した症例。各症例の12誘導心電図の各種パラメーターを解析した。QTcはBazett formulaで計算し、統計解析をMann-Whitney U testで行った26例の患者を抽出した。年齢の中央値[四分位値]は65 [53-77]歳、男女比14:12、組織診断は膠芽腫19例、乏突起膠腫3例、星細胞腫3例の順であった。てんかん発症前後での心電図のQTc中央値比較では、発作前402 ms [371-419]、発作後407 ms [392-446]で、発作後に長い傾向にあった。また、脳腫瘍摘出手術前後でのQTc比較では、術前378.5 ms [370.5-401]、術後414 ms [397.5-428]で、術後で有意にQTcが長かった ($p<0.01$)。脳腫瘍の術前後の心電図比較では、術後のQTcが長い結果となったが、これは脳腫瘍の心臓電気活動への影響を示唆していると考えられた。本研究の結果も、(2)と同様で、脳内の構造や機能の変化が、心臓へ影響を及ぼしている事が示唆された。

文献

1. Chua SK, Chang PC, Maruyama M, Turker I, Shinohara T, Shen MJ, Chen Z, Shen C, Rubart-von der Lohe M, Lopshire JC, et al. Small-conductance calcium-activated potassium channel and recurrent ventricular fibrillation in failing rabbit ventricles. *Circ Res*. 2011;108:971-979. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.238386
2. Chang PC, Turker I, Lopshire JC, Masroor S, Nguyen BL, Tao W, Rubart M, Chen PS, Chen Z, Ai T. Heterogeneous upregulation of apamin-sensitive potassium currents in failing human ventricles. *J Am Heart Assoc*. 2013;2:e004713. doi: 10.1161/JAHA.112.004713
3. Ferreira-Neto HC, Biancardi VC, Stern JE. A reduction in SK channels contributes to increased activity of hypothalamic magnocellular neurons during heart failure. *J Physiol*. 2017;595:6429-6442. doi: 10.1113/JP274730

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ozawa J, Ohno S, Melgari D, Wang Q, Fukuyama M, Toyoda F, Makiyama T, Yoshinaga M, Suzuki H, Saitoh A, Ai T, Horie M.	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased Cav1.2 late current by a CACNA1C p.R412M variant causes an atypical Timothy syndrome without syndactyly.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 18984
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-23512-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Mori S, Hori A, Turker I, Inaji M, Bello-Pardo E, Miida T, Otomo Y, Ai T	4. 巻 10
2. 論文標題 Abnormal Cardiac Repolarization After Seizure Episodes in Structural Brain Diseases: Cardiac Manifestation of Electrical Remodeling in the Brain?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Am Heart Assoc	6. 最初と最後の頁 e019778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1161/JAHA.120.019778	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hori A, Ai T, Isshiki M, Motoi Y, Yano K, Tabe Y, Hattori N, Miida T	4. 巻 6
2. 論文標題 Novel Variants in the CLCN1, RYR2, and DCTN1 Found in Elderly Japanese Dementia Patients: A Case Series	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatrics (Basel)	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/geriatrics6010014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Turker I, Makiyama T, Ueyama T, Shimizu A, Yamakawa M, Chen PS, Vatta M, Horie M, Ai T	4. 巻 43
2. 論文標題 Telethonin variants found in Brugada syndrome, J-wave pattern ECG, and ARVC reduce peak Nav 1.5 currents in HEK-293 cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pacing Clin Electrophysiol	6. 最初と最後の頁 838-846
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pace.13996	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 該当する

1. 著者名 Morales A, Kinnamon DD, Jordan E, Platt J, Vatta M, Dorschner MO, Starkey CA, Mead JO, Ai T, Burke W, Gastier-Foster J, Jarvik GP, Rehm HL, Nickerson DA, Hershberger RE; DCM Precision Medicine study of the DCM Consortium	4. 巻 13
2. 論文標題 Variant Interpretation for Dilated Cardiomyopathy: Refinement of the American College of Medical Genetics and Genomics/ClinGen Guidelines for the DCM Precision Medicine Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circ Genom Precis Med	6. 最初と最後の頁 e002480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCGEN.119.002480	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 該当する

1. 著者名 Atsushi Hori, Haruka Inaba, Takashi Hato, Kimie Tanaka, Shoichi Sato, Mizuho Okamoto, Yuna Horiuchi, Faith Jessica Paran, Yoko Tabe, Shusuke Mori, Corina Rosales, Wado Akamatsu, Takashi Murayama, Nagomi Kurebayashi, Takashi Sakurai, Tomohiko Ai, Takashi Miida	4. 巻 -
2. 論文標題 Carvedilol suppresses ryanodine receptor-dependent Ca ²⁺ bursts in human neurons bearing PSEN1 variants found in early onset Alzheimer's disease	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 PLoS ONE	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) 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 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 1.堀 敦詞, 藍 智彦, 本井 ゆみ子, 一色 美和, 田部 陽子, 平山 哲, 三井田 孝
2. 発表標題 認知症患者で新たに発見されたCLCN1, RYR2及びDCTN1遺伝子変異: 認知症患者における遺伝子検査から得た教訓
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀 敦詞, 藍 智彦, 赤松 和土, 三井田 孝
2. 発表標題 CRISPR Cas9 法による DEPDC5 欠損ヒト iPS 細胞の作製の試み
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 周介, 藍 智彦, 大友康裕
2. 発表標題 器質的脳疾患を有する患者と有さない患者間でのけいれん発作後の心電図の比較
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Elizabeth Jordan, Daniel D. Kinnamon, Jonathan O. Mead, Garrie Haas, Tomohiko Ai, Laiken Peterson, Ray E. Hershberger
2. 発表標題 Variants In ARVC-Associated Genes Contribute To The Genetic Complexity Of Idiopathic DCM: An Initial Analysis From The DCM Precision Medicine Study
3. 学会等名 Heart Rhythm 2020 Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森 周介
2. 発表標題 けいれん発作後の心電図変化に関する検討
3. 学会等名 47回日本救急医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀 敦詞
2. 発表標題 アルツハイマー病関連遺伝子の次世代シーケンス解析を用いた網羅的検索
3. 学会等名 日本臨床検査医学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 周介、岩崎 陽平、稲次 基希、藍 智彦
2. 発表標題 てんかん患者における脳腫瘍手術が心臓電気活動に与える影響
3. 学会等名 51回日本救急医学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Haruka Inaba, Tomohiko Ai, Takeru Makiyama, Jingshan Gao, Takashi Miida.
2. 発表標題 Ca ²⁺ -dysregulation caused by a CALM2 variant can be associated with neurodevelopmental disorders in patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia.
3. 学会等名 Biophysical Meeting 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yuna Horiuchi, Haruka Inaba, Tetsuya Handoh, Tomohiko Ai, Takashi Miida
2. 発表標題 Knockout of DEPDC5, the gene associated with drug-resistant focal temporal epilepsy, causes abnormal Ca ²⁺ -waves in human iPS cell-induced neurons
3. 学会等名 American Physiology Summit 2024 (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yuna Horiuchi, Haruka Inaba, Tetsuya Handoh, Tomohiko Ai, Takashi Miida
2. 発表標題 薬剤抵抗性焦点性てんかん関連遺伝子であるDEPDC5のノックアウトは、ヒトiPS細胞由来神経細胞に異常なCa ²⁺ 波を引き起こす
3. 学会等名 第101回日本生理学大会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 堀江稔、藍智彦	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー	5. 総ページ数 238
3. 書名 不整脈2019 遺伝子病としての不整脈：遺伝子診断の光と影	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 アルツハイマー病を標的とした治療	発明者 Tomohiko Ai	権利者 順天堂大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-000610	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	森 周介 (Mori Shusuke) (20362072)	東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教 (12602)	
研究分担者	赤松 和土 (Akamatsu Wado) (60338184)	順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620)	
研究分担者	田部 陽子 (Tabe Yoko) (70306968)	順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620)	
研究分担者	三井田 孝 (Miida Takashi) (80260545)	順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620)	

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
---------	---------