

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K17307

研究課題名（和文）次世代シーケンス解析を用いた新規てんかん遺伝子の探索

研究課題名（英文）Exploring novel genes causing epilepsy by next-generation sequencing analysis

研究代表者

東 慶輝（Azuma, Yoshiteru）

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号：60628593

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）：当研究では、次世代シーケンサーなどの先進的な手法で新規てんかん遺伝子を探索することを目的とした。期間中にてんかんなど神経疾患を中心とする症例76例の次世代シーケンス解析を担当した。このうち、26例に既報の責任遺伝子に変異を同定し、2例に病原性を有すると考えられるcopy number variationを同定した。過去に報告のなかった遺伝子にde novoのミスセンス変異を有する症例について、新規責任遺伝子の可能性を考えて国際的なデータベースに登録し、他施設の症例とあわせて報告の準備を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的解析を用いて、既報の遺伝子において過去に報告のない変異を含む病原性変異を同定し、さらに過去に病原性の報告のない遺伝子にde novo変異およびbi-allelicのrare variantのデータを蓄積することができた。また、これらの新たな知見の一部を報告し、学術的および社会的な意義をもたらすことができた。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study was to search for novel epilepsy genes using advanced methods such as next-generation sequencers. During the period, I have been charge of 76 cases of epilepsy and other neurological diseases using next-generation sequencing analysis. Of these, mutations were identified in the responsible genes previously reported in 26 cases, and copy number variations that were considered pathogenic were identified in 2 cases. The case with de novo missense mutation in a gene that have not been reported previously were registered in an international database for possible new responsible genes, and are being prepared for reporting together with cases from other institutions.

研究分野：小児科学

キーワード：次世代シーケンス解析 てんかん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 小児期発症のてんかんでは年齢依存性に発症する一連のてんかん症候群が知られている。

(2) 治療抵抗性の発作と精神運動発達遅滞を合併するてんかん性脳症について、遺伝学的な検索が現在も行われているが、既報遺伝子の検索では変異を同定できない症例も多く、未知の遺伝子を病因とする発症メカニズムの存在が推測される。

2. 研究の目的

(1) 当研究では、次世代シーケンサーなどの先進的な手法で新規てんかん遺伝子を探索することを目的とする。

(2) 候補遺伝子については分子生物学的手法を用いた実験を行い、病原性の証明および発症メカニズムを明らかにすることで、難治とされるてんかん症候群において、新規の治療法につながる結果を得ることを目指す。

3. 研究の方法

(1) 当研究では小児期発症を中心とする年齢依存性、治療抵抗性のてんかん症候群を中心とする症例について、次世代シーケンサーを用いた解析方法の一つである全エクソーム解析を行った。

(2) 解析はあらかじめ構築されたパイプラインを用い、専用のプログラムを用いてコールされた変異を、病原性予測ツールを用いた推測、頻度データベースによるフィルタリング、過去に報告された原因遺伝子/変異を収集したデータベースとの比較を行い、病原性を有する可能性がある変異の同定を試みた。

(3) さらに、隠れマルコフモデルに基づく xHMM プログラム、および Nord 法を用いた copy number variation の推測を全エクソームデータの解析方法として追加した。

4. 研究成果

(1) 期間中にてんかんなど神経疾患を中心とする症例 76 例の次世代シーケンス解析を担当した。

(2) このうち、26 例 (ABCG5・ALDH7A1・AR・CLTC・FLNA・GABBR2・GRIN1・GRIN2A・IRF2BPL・KCNQ2 2 例・MED13L・MORC2 2 例・SATB2・SCN1A・SCN2A・SCN8A・SETX・SPAST・STXBP1 2 例・VPS13D・WDR45 3 例) で既報の責任遺伝子に病原性を有すると考えられる変異を同定した。

(3) xHMM プログラムによる解析で、2 例に病原性を有すると考えられる copy number variation (8 番染色体、X 染色体) を同定した。

(4) このうち、FLNA 変異について、periventricular nodular heterotopia を伴わない症例として症例報告を行った。

(5) このうち、IRF2BPL 変異について、過去の報告が少数であり、症例報告を行った。

(6) このうち、STXBP1 変異について、2 つの isoform のうち 1 つの isoform のみ翻訳領域に位置する変異であった。軽症の表現型として症例報告を行った。

(7) 過去に報告のなかった VPS4A 遺伝子に de novo のミスセンス変異を有する症例について、新規責任遺伝子の可能性を考えて国際的なデータベースに登録し、他施設の症例とあわせて報告の準備を行っている。

(8) 他に、既報の責任遺伝子の変異を同定しなかった症例について、de novo 変異を中心に国際

的なデータベースに登録を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hiromoto Yoshitaka, Azuma Yoshiteru, Suzuki Yuichi, Hoshina Megumi, Uchiyama Yuri, Mitsuhashi Satomi, Miyatake Satoko, Mizuguchi Takeshi, Takata Atsushi, Miyake Noriko, Kato Mitsuhiro, Matsumoto Naomichi	4. 巻 7(1)
2. 論文標題 Hemizygous FLNA variant in West syndrome without periventricular nodular heterotopia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-020-00131-9	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 Uchiyama Yuri, Yamaguchi Daisuke, Iwama Kazuhiro, Miyatake Satoko, Hamanaka Kohei, Tsuchida Naomi, Aoi Hiromi, Azuma Yoshiteru, ... , Matsumoto Naomichi et al.	4. 巻 42
2. 論文標題 Efficient detection of copy number variations using exome data: Batch and sex based analyses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Mutation	6. 最初と最後の頁 50~65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/humu.24129	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 -

〔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 東 慶輝、宮武 聡子、塚本-宮城 愛、瓦井 俊孝、内山 由理、水口 剛、三橋 里美、高田 篤、三宅 紀子、松本 直通
2. 発表標題 一卵性双生児の発症者と非発症者ともに病的モザイク変異を認めたSETX-ALS4症例
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第64回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東 慶輝、吉田 登、高木 みずき、沼本 真吾、倉橋 宏和、奥村 彰久
2. 発表標題 全エクソーム解析でIRF2BPL遺伝子変異を同定したWest症候群の一例
3. 学会等名 第65回 日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 東 慶輝、高木 みずき、沼本 真吾、倉橋 宏和、奥村 彰久
2. 発表標題 Review of results of SCN1A genetic test after insurance coverage.
3. 学会等名 第56回日本てんかん学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 東 慶輝、高木 みずき、佐田淳、沼本 真吾、倉橋 宏和、奥村 彰久
2. 発表標題 ケトン食療法が著効したSTXBP1 変異の1例
3. 学会等名 第 15回日本てんかん学会東海北陸地方会
4. 発表年 2023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

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