

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：13802

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890079

研究課題名（和文）

イオンチャンネル関連疾患における表現型予測法開発に関する研究

研究課題名（英文）

Development of phenotype prediction method from genotypes for channelopathy.

研究代表者

吉田 秀一（YOSHIDA SHUICHI）

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：10580574

研究成果の概要（和文）：*SCN1A* は、良性てんかんから難治てんかんまでの幅広い臨床スペクトラムを呈すてんかん症候群の原因遺伝子である。これまでに 650 以上の変異が報告され、遺伝子診断への応用が望まれる一方、遺伝子型-表現型の相関は不明確な部分も多い。本研究では、*SCN1A* 変異におけるアミノ酸の物理化学的特性変化と表現型との相関を解析し、新たな変異に対する表現型予測モデルを構築した。*SCN1A* 変異において、表現型との相関が得られた物理化学的性質変化を基に表現型予測モデルを構築したところ、高精度に重症型てんかんに関与する *SCN1A* 変異を分類できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：More than 650 mutations in the voltage-gated sodium channel subunit gene *SCN1A* have been identified in epileptic patients with benign and severe phenotype. However, the reason why similar missense mutations in *SCN1A* resulting in different phenotypes has not been fully clarified yet. We analyzed genotype-phenotype correlation and constructed *SCN1A*-related epilepsy phenotypes prediction model based on the effects of physicochemical property changes by amino acid substitution. In the results, we suggested that several physicochemical property related to the differentiation of epilepsy phenotypes, and the prediction model based on these physicochemical property can classify severe and benign epilepsy phenotypes with high accuracy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	880,000	264,000	1,144,000
2011 年度	640,000	192,000	832,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,520,000	456,000	1,976,000

研究分野：人類遺伝学

科研費の分科・細目：ゲノム医科学

キーワード：SCN1A 関連てんかん、ナトリウムイオンチャネル、ミスセンス変異、  
表現型予測

### 1. 研究開始当初の背景

SCN1A 遺伝子は、電位依存性ナトリウムイオン (Na<sup>+</sup>) チャネル (Nav1.1) をコードする遺伝子であり、熱性けいれん (FS)、全般てんかん熱性けいれんプラス (GEFS+)、乳児重症ミオクロニーてんかん (SMEI; Dravet 症候群) などといった多くのてんかんの原因遺伝子の 1 つである。同じ SCN1A 遺伝子の異常であっても、変異により予後良好な FS から非常に重篤で進行性のてんかん (SMEI など) まで幅広い臨床スペクトラム (多様な表現型) を呈す。

これまでに、650 以上の SCN1A 変異が報告され、SMEI では 80%以上の患者が、GEFS+ では 10%以上の患者が SCN1A 変異を有していることから遺伝子診断が期待される。にもかかわらず、遺伝子型-表現型の相関はいまだ不明確な部分も多く、SCN1A 関連てんかんの遺伝子型-表現型の相関と分子病態の早期解明が望まれる。研究代表者は、先行研究により、変異によるアミノ酸の物理化学的特性変化及び変異の局在が表現型と非常によく相関していることを見出した。SCN1A 関連てんかんにおける表現型の多様性および前述した先行研究の知見から、個々の変異により Nav1.1 チャネル機能へ与える影響も異なり、同じ遺伝子 SCN1A の変異であっても遺伝的なリスク因子の大きさが異なることが推測される。したがって、これらを事前に見積もることにより、新規 SCN1A 変異に対する SCN1A 関連てんかん表現型予測 (遺伝子診断・予後予測) への応用の可能性を検証する必要がある。

### 2. 研究の目的

前述した背景より本研究では、SCN1A 関連変異におけるアミノ酸の物理化学的特性変化と表現型との関連を基にバイオインフォマティクス的手法による表現型予測 (遺伝的リスク因子) モデルを構築・有用性を評価し、新たな遺伝子異常に対する表現型予測モデルの構築を目指した。

### 3. 研究の方法

これまでに文献等で報告されている SCN1A ミスセンス変異を対象に、変異前後でのアミノ酸の物理化学的特性変化及び変異の局在

といった観点から表現型との相関を解析した。次いで、表現型と有意な相関関係が得られたアミノ酸の物理化学的特性指標について、各々の確率モデルにより遺伝的要因からの表現型予測モデルを構築した。構築した表現型予測モデルの分類精度は、sensitivity, specificity, positive predictive value, ROC

(receiver operating characteristic curve) 分析により多角的に評価するとともに、アミノ酸保存性スコアなど他の予測指標を応用した表現型予測モデルなどとも予測精度の比較・評価を行った。

### 4. 研究成果

変異前後でのアミノ酸の物理化学的特性変化及び変異の局在といった観点から表現型との相関を解析した結果、SCN1A ミスセンス変異において、いくつかのアミノ酸の物理化学的性質変化の大きさが表現型との相関に有意にかかわっていることを見出した。

次いで、表現型との相関が得られた物理化学的性質変化を基に、確率モデルの一種である SVMs を用いた表現型予測モデルを構築し、表現型分類精度を評価したところ、本研究で構築した表現型予測モデルは、既存の位置特異的なアミノ酸保存性スコアを指標とした手法を適用した予測モデルと比べても高精度に重症型 SCN1A てんかんに関与する変異を分類することに成功した。また、表現型モデル構築の際に作成した SCN1A 遺伝子変異データセットに、種々の情報を付加し、CUI ベースのデータベースを構築した。

今後は、本研究により構築した遺伝子変異からの表現型予測アルゴリズムに加え、熱性けいれんの頻度、発作型などといった臨床情報を加えた表現型予測モデルを作成し、すでに臨床情報が得られている症例に対してより高精度に表現型を予測できる表現型予測アルゴリズムの提案を目指していく予定である。また、構築した CUI ベースのデータベースについては、現在 Web 公開に向けた GUI の開発を行っている。将来的には、SCN1A 関連てんかんに加え、その他チャネル病における新規変異に対して本手法を適用することで、その変異が表現型に及ぼす影響を一定程度推測することが可能となり、遺伝子診断および予後予測への応用が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1. Yoshida S, Sugawara T, Nishio T, Kaneko S, Personalized medicine for epilepsy based on the pharmacogenomic testing. Brain Nerve. 63:295-299, 2011. 査読有り
2. Yoshida S, Saruwatari J, Chen L, Liu F, Iwasa H, Sugawara T, Kaneko S, Individualized Medicine for Epilepsy -Based on Genetic Information-. Epilepsy&Seizure 3:34-50, 2010. 査読有り
3. Shi X, Huang MC, Ishii A, Yoshida S, Okada M, Morita K, Nagafuji H, Yasumoto S, Kaneko S, Kojima T, Hirose S, Mutational analysis of GABRG2 in a Japanese cohort with childhood epilepsies. J Hum Genet 55:375-378, 2010. 査読有り
4. 吉田秀一, 菅原貴征, 兼子直, 遺伝情報に基づくてんかんの個別化治療, 医学のあゆみ 232:951-955, 2010. 査読無し
5. 兼子直, 菅原貴征, 吉田秀一, てんかんの遺伝と遺伝子診断. Clinical Neuroscience 29:100-102, 2010. 査読無し

[学会発表] (計10件)

1. 菅原貴征, 吉田秀一, 和田一丸, 廣瀬伸一, 兼子直, 臨床応用を目指したてんかんの責任遺伝子診断用 DNA チップの開発, 第45回日本てんかん学会, 2011年10月6日, 新潟
2. Yoshida S, Sugawara T, Kojima T, Nishio T, Kaneko S. Analysis of MDR1 and MRP2 Polymorphisms in Drug-resistant Epilepsy (2nd report), 28th International Epilepsy Congress, 2011年8月29日, Rome(Italy)
3. Yoshida S, Wada K, Hirose S, Iwasa H, Kaneko S. The development of the DNA chip which aimed at the clinical application in epilepsy, 28th International Epilepsy Congress, 2011年8月29日, Rome(Italy)
4. Nishio T, Yoshida S, Kanai K, Sugawara T, Shimizu T, Kaneko S. Prediction Method for SCN1A-related Epilepsy Phenotypes Based on Amino-Acid Substitution. 28th International Epilepsy Congress 2011年8月29日, Rome(Italy)
5. Shimizu T, Yoshida S, Kanai K, Kaneko S, Nishio T. Predicting SCN1A-related epilepsy phenotypes based on the predicted

deleterious effect in SCN1A function with the amino-acid substitution, 28th International Epilepsy Congress, 2011年8月29日, Rome(Italy)

6. 菅原貴征, 吉田秀一, 和田一丸, 廣瀬伸一, 兼子直. DNA チップを用いた SMEI 症例における併存遺伝子変異の同定, 第44回日本てんかん学会, 2010年10月15日, 岡山
7. 兼子直, 吉田秀一. てんかんの遺伝子異常の同定とその後の展開, シンポジウム 脳疾患における遺伝子異常の Overview, 第11回日本脳神経外科学会, 2010年8月, 仙台
8. Yoshida S, Kanai K, Sugawara T, Shimizu T, Nishio T, Kaneko S. Analysis of prediction factor for SCN1A-related epilepsy phenotype based on amino acid substitution. CBRC2010, 2010年7月28日, Tokyo(Japan)

[図書] (計5件)

1. 吉田秀一, 菅原貴征, 兼子直. 遺伝情報に基づくてんかんの個別化治療. 別冊 医学のあゆみ, てんかん治療 Up date, 医歯薬出版, p5-9, 2011.

[産業財産権]

○取得状況 (計1件)

名称: リーシークエンス DNA チップおよび最適坑てんかん薬決定方法

発明者: 兼子直, 廣瀬伸一, 吉田秀一

権利者: 弘前大学、福岡大学

種類: 特許

番号: 特開 2011-188837

取得年月日: 平成 23 年 9 月 29

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉田 秀一 (YOSHIDA SHUICHI)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号: 10580574

(2)研究分担

なし

(3)連携研究者

兼子 直 (KANEKO SUNAO)  
弘前大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：40106852

西尾 卓広 (NISHIO TAKUHIRO)  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：0172626