

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791146

研究課題名(和文)ゲノムコピー数異常領域における、ウエスト症候群の原因遺伝子の同定

研究課題名(英文)Gene analysis of West syndrome using genome copy number variation

研究代表者

福與 なおみ(Hino-Fukuyo, Naomi)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：90400366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、ウエスト症候群の遺伝学的背景解明を目的に、小奇形と精神発達遅滞を伴った潜在性ウエスト症候群症例51例を対象に、マイクロアレイCGH法によるゲノムコピー数の異常の検出を行った。そのうち3例にゲノムコピー数の異常を認めた。一部のゲノムコピー数異常領域に存在する遺伝子の一つは、てんかんと精神遅滞を呈する症例において、遺伝子変異の報告がなされていた。高精度融解温度解析(high resolution melting; HRM)を用いた全エクソンの遺伝子変異スクリーニングを行ったところ、てんかんと皮質形成異常に関連する遺伝子異常が検出された。

研究成果の概要(英文)：To clarify genetic background of West syndrome, genome copy number variations were studied in 51 cases of West syndrome with minor anomalies and development delay by the microarray CGH method. The abnormalities of genome copy number were detected in three cases of those. One of those copy number abnormalities includes a gene reported in a case with epilepsy and mental retardation. By screening of all exons using high resolution melting (HRM), a gene mutation associated with epilepsy and cortical dysplasia was detected in the gene.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：ウエスト症候群 アレイCGH 小奇形 精神遅滞 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

ウエスト症候群は乳児期に発症し epileptic spasm、脳波上 hypsarrhythmia、重度の精神発達遅滞を特徴とする難治てんかんで、その遺伝学的背景の大部分は不明である。

最近精神遅滞の原因遺伝子がウエスト症候群患者にも発見された (ARX 遺伝子 (Nurology 2003:61:267-276, Kato et al.)、STK 9 遺伝子 (Am. J. Hum. Genet. 2003:72:1401-1411, Kalscheuer et al.)、CDKL5 遺伝子異常 (J. Med. Genet. 2005:42:103-107, Scala et al.))。よって、ウエスト症候群と精神遅滞は共通の遺伝学基盤を有する可能性がある。

申請者は G バンド法により染色体異常症 (Smith-Magenis 症候群) が明らかになった小奇形を伴うウエスト症候群の症例を初めて報告し (Journal of Child Neurology:24:868-873,2009) 原因不明の潜因性ウエスト症候群に小奇形を伴う症例が多いことに着目した。小奇形と精神遅滞を伴うことは、染色体異常の存在を示唆する現象であるが、通常の G バンド法で染色体異常が検出されることは稀である。そこで、微細ゲノムコピー数異常の検出に有効であるマイクロアレイ CGH 法による解析を行うことを考えた。

これまでに申請者は、宮城県の小児神経科医を通じてウエスト症候群の症例の検体を収集し、宮城県におけるウエスト症候群の発生率 (出生 1 万対 3-4) を初めて明らかにした (Epilepsy Research:87:299-301,2009)。

そこで、収集した小奇形と精神発達遅滞を伴った潜因性ウエスト症候群症例を対象に、マイクロアレイ CGH 法によるゲノムコピー数の異常の検出を行った。ある特定領域においてゲノムコピー数異常を検出できれば、その領域の遺伝子群の発現を検索し、これまでの報告で症状が確認されている既知の遺伝子の中から候補遺伝子を決定することが可能となる。申請者はこれまでに解析した 31 例のうち、3 例にゲノムコピー数の異常を認め、事実、一部のゲノムコピー数の異常領域に存在する遺伝子の一つは、てんかんと精神遅滞を呈する症例において、遺伝子変異の報告がなされていた。

今後、高精度融解温度解析 (high resolution melting; HRM) を用いた全エクソンの遺伝子変異スクリーニングを行う予定である。スクリーニングで検出されたエクソンにおける変異の有無を解析し、そのエクソンをシークエンスすることで、ウエスト症候群の候補遺伝子を特定できる可能性が高い。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ウエスト症候群の量的形

質の遺伝子 (疾患感受性遺伝子) を新たに同定し、その機能解析を行うことによって病態発症のメカニズムを解明することにある。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

対象は、年齢や性別を問わず、ウエスト症候群と診断された児とした。

ウエスト症候群の定義は、Ohtuska らの文献 (Epilepsia 1998:39:30-7) を参考にし、infantile spasms、精神運動発達の停止、hypsarrhythmia の 3 主徴をもつ場合の他、非典型的 hypsarrhythmia を呈する乳児期初期の難治性てんかん、2 歳以降に hypsarrhythmia を呈しシリーズ形成する spasms 症例 (late onset West syndrome) もウエスト症候群とした。

明らかに基礎疾患が特定できる症例、G バンド染色体検査にて染色体異常が明らかになった症例 (症候性ウエスト症候群) は除外した。

### (2) 症例の収集

すでに倫理委員会で本研究の承諾を得ている当院および県内外の関連病院の小児神経科の協力を得て症例を収集した。

上記以外の医療機関で該当症例がある場合、その研究協力病院の倫理委員会において本研究に関する申請を行い許可を得た。次に、東北大学医学系研究科の遺伝子検査に関する指針などにしたがって作成した同意書を用いて、主治医が患者もしくは家族よりインフォームドコンセントを得た。

その後、末梢血約 10ml を専用の試験管に採取してもらい、当院当科で末梢血より DNA を抽出して保存し、以後の検査にあてた。

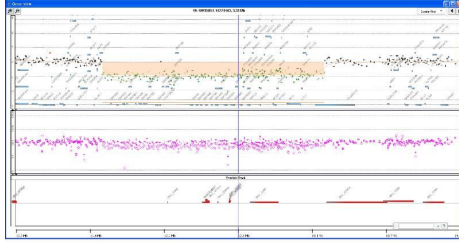
### (3) アレイ CGH 法を用いたスクリーニング検査

アレイ CGH 法により、全染色体を対象にしてゲノム DNA の過剰、欠失、増幅などのコピー数異常を検出した。検出したコピー数異常の領域の遺伝子群を検索し、候補となりえる遺伝子のリストの作成を行い、シークエンスを行い、遺伝子変異の有無を確認した。

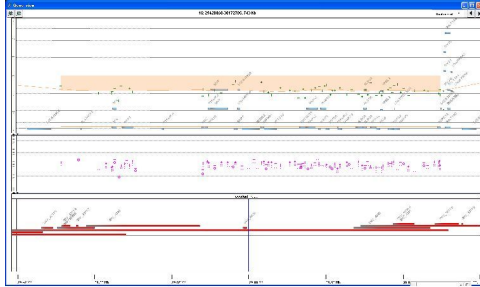
## 4. 研究成果

これまで解析してきた 31 例に加え、さらに 20 症例の小奇形と精神発達遅滞を伴った潜因性ウエスト症候群症例を収集し、マイクロアレイ CGH 法によるゲノムコピー数の異常の検出を行った。解析した 51 例のうち、3 例にゲノムコピー数の異常を認め、

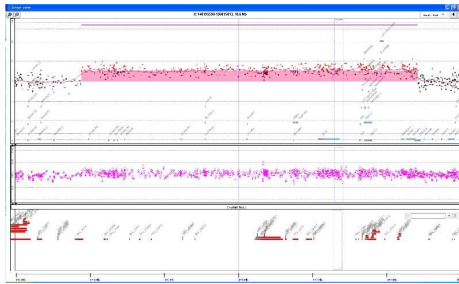
16pにおける610kbの欠失



19pにおける1.7 Mbの欠失



Xqにおける800 kbの重複



一部のゲノムコピー数の異常領域に存在する遺伝子の一つは、てんかんと精神遅滞を呈する症例において、遺伝子変異の報告がなされていた。今後高精度融解温度解析 (high resolution melting; HRM) を用いた全エクソンの遺伝子変異スクリーニングを行う予定である。スクリーニングで検出されたエクソンにおける変異の有無を解析し、そのエクソンをシークエンスすることで、ウエスト症候群の候補遺伝子を特定できる可能性が高い。

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. Hino-Fukuyo N 以下省略

Extremely low-dose vigabatrin for West syndrome with tuberous sclerosis  
Journal of pediatric Epilepsy  
2013;2:255-8 (査読有り)  
URL: <http://www.childscience.org/>

2. Kakisaka, Hino-Fukuyo 以下省略

Head turning associated with involuntary gaze deviation  
Pediatr Neurol 2013; 49: 144 (査読有り)  
DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.04.023

3. Kakisaka Y, Kobayashi T, Hino-Fukuyo N 以下省略

Periodic eye movements and epileptic spasms in West syndrome  
J Child Neurol 2013;28:1483-4 (査読有り)  
URL: <http://intl-jcn.sagepub.com>

4. Iwasaki M, Uematsu M, Nakayama T, Hino-Fukuyo N 以下省略

Parental satisfaction and seizure outcome after corpus callosotomy in Patients with infantile or early childhood epilepsy  
Seizure 2013;22:303-5 (査読有り)  
DOI: 10.1016/j.seizure.2013.01.005.

5. Kakisaka Y, Gupta A, 以下省略(9人中8番目)

Magnetoencephalography reveals a unique neurophysiological profile of focal-onset epileptic spasms  
Tohoku J Exp Med 2013;229:147-51 (査読有り)  
URL:  
<http://www.journal.med.tohoku.ac.jp/>

6. 中山東城、福與なおみ, 以下省略

てんかん症候群の疾患遺伝子 up to date  
日本小児科学会雑誌 Vol.116, No.9,2012. 1327-1336 (査読有り)

7. Hino-Fukuyo N, 以下省略

A female case of West syndrome with remission of spasms following multiple cerebral hemorrhages  
Brain Dev 2011;33:678-82 (査読有り)  
DOI: 10.1016/j.braindev.2010.10.010.

[学会発表](計6件)

1. 柿坂庸介、福與なおみ, 以下省略

発作時/発作間欠時活動をMEGで観察しえたてんかん性スパズムの2例  
東北小児神経学研究会 平成24年  
9月1日 仙台

2. 菊池敦生、鈴木理恵、中山東城、久保田由紀、広瀬美恵子、小林朋子、福與なおみ, 以下省略

リゴアルICGHによる小児神経領患者のスクリーニングの試み  
第55回日本小児神経学会総会 平成24

年 5 月 18 日 札幌

3. 小林朋子、植松貢、中山東城、鈴木理恵、遠藤若葉、佐藤亮、福與なおみ、以下省略  
スパズム発作を有する結節性硬化症を伴った難治性てんかんに対するピガバトリンの効果  
第 55 回日本小児神経学会総会 平成 24 年 5 月 17 日 札幌
4. 植松貢、中山東城、矢尾板全子、福與なおみ、以下省略  
核医学検査にて脳血流と糖代謝を評価した大田原症候群の 1 例  
第 45 回日本てんかん学会 平成 23 年 10 月 7 日 新潟
5. 福與なおみ、以下省略  
Smith-Magenis 症候群に合併したウエスト症候群後の難治てんかん 脳梁離断術後の経過  
第 45 回日本てんかん学会 平成 23 年 10 月 7 日 新潟
6. 佐藤優子、植松貢、中山東城、福與なおみ、以下省略  
West 症候群後の難治てんかんに対して全脳梁離断術が奏功した 4 例  
第 53 回日本小児神経学会 平成 23 年 5 月 27 日 横浜

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

福與 なおみ ( HINO-FUKUYO, NAOMI )  
東北大学・大学病院・助教  
研究者番号 : 90400366