

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006年度～2008年度

課題番号：18209035

研究課題名（和文）チャンネルを標的とした小児てんかんの遺伝子解析とモデル動物作出

研究課題名（英文）Genetic analyses and generation of genetic engineered animals for childhood epilepsy focusing on ion channel abnormalities.

研究代表者 廣瀬 伸一（HIROSE SHINICHI）  
福岡大学・医学部・教授  
研究者番号：60248515

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：小児神経学

#### 1. 研究計画の概要

**I.** てんかんの原因となる新規遺伝子変異の同定

てんかん遺伝子バンクの資料をもとに、てんかんの責任遺伝子を同定する

**II.** 遺伝子改変動物の作出

見出された遺伝子変異を有するモデル動物を作出し、その分子病態を明らかにする。

#### 2. 研究の進捗状況

**I.** てんかんの原因となる新規遺伝子変異の同定

全国より「遺伝子診断依頼」として寄せられた1000余名のてんかん・熱性けいれんの患者・家族の遺伝子から乳児重症ミオクロニーてんかんでの *SCN1A* の新規遺伝子異常を含め100種類以上の新しい遺伝子異常を同定した。これにより、てんかんにイオンチャンネルが関係するという“チャンネル病仮説”が、てんかんの遺伝子異常探索の作業仮説として有用であると実証した。（*Epilepsia*, 2008, *Brain & Dev*, 2008 他）

このほかにも、染色体の microdeletion が多くのてんかん病型にかかわっていることを、乳児重症ミオクロニーてんかん並びに、良性家族性新生児けいれんで明らかにした。

また、家族性がない新生児けいれんにも家族性のそれと同様に *KCNQ2* の遺伝子が見いだされることを明らかにした。（*Brain & Dev*, 2009）

良性家族性新生児けいれんで発見された *KCNQ3* の電気生理学的異常を *in vitro* で明らかにした。（*J Membr Biol*, 2008）

**II.** 遺伝子改変動物の作出

ヒトてんかんと同じ遺伝子異常を持つ遺伝

子組換えラットの作出に成功した。このラットの神経科学的解析により、アセチルコリン受容体変異が GABA 受容体のシナプス性、シナプス外性の異常を来すことを明らかにした。（*J Neurosci* 2008）

さらに *KCNQ2* 遺伝子に変異を持つ可変型ノックインマウス三系統の作出に成功した。この可変ノックインは変異 Cre-lox システムを応用した遺伝子改変マウス作出法である。（論文準備中）（特許出願済み）

#### 3. 現在までの達成度

**I.** てんかんの原因となる新規遺伝子変異の同定

①当初の計画以上に進展している。

〔理由〕当初の計画していた、遺伝子異常の数より遙かに多い遺伝子異常を発見できたこと。

当初予想していた以外の変異が見いだされ、その知見により、てんかんの分子病態の詳細が広がったこと。

発見された、イオンチャンネルの異常の電気生理学的解析から、変異イオンチャンネルの基礎的新知見が発見されたこと。

**II.** 遺伝子改変動物の作出

①当初の計画以上に進展している。

〔理由〕ヒトてんかんと同じ遺伝子異常を持つ遺伝子組換えラットの作出に成功したばかりでなく、同様な方法により数種のラット作出が進行していること。

この組換えラットの神経生理学的解析により、常染色体優性夜間前頭葉てんかんの分子病態の一部を明らかにできたこと。

全くの新技术（可変ノックインマウス）に

より、新しいタイプのヒトてんかんと同じ遺伝子異常を持つ可変ノックインマウスの作出に成功したこと。

これを利用してすでに、新しい遺伝子に数種の変異を導入した可変ノックインマウスの作出が進行中であること。

#### 4. 今後の研究の推進方策

今後も、遺伝子解析と動物作出によるてんかんの病態解明に努めるが、さらに、この一連の研究の最終目的である“分子病態に基づく革新的な治療法を開発”に展開する

#### 5. 代表的な研究成果

(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 23 件)

1. Ishii A, Fukuma G, Uehara A, Miyajima T, Makita Y, Hamachi A, Yasukochi M, Inoue T, Yasumoto S, Okada M, Kaneko S, Mitsudome A, Hirose S. A de novo KCNQ2 mutation detected in non-familial benign neonatal convulsions. *Brain Dev* 2009;31(1):27-33.
2. Sugiura Y, Nakatsu F, Hiroyasu K, Ishii A, Hirose S, Okada M, Jibiki I, Ohno H, Kaneko S, Ugawa Y. Lack of potassium current in W309R mutant KCNQ3 channel causing benign familial neonatal convulsions (BFNC). *Epilepsy Res* 2009;84(1):82-5.
3. Wang JW, Kurahashi H, Ishii A, Kojima T, Ohfu M, Inoue T, Ogawa A, Yasumoto S, Oguni H, Kure S, Fujii T, Ito M, Okuno T, Shirasaka Y, Natsume J, Hasegawa A, Konagaya A, Kaneko S, Hirose S. Microchromosomal deletions involving SCN1A and adjacent genes in severe myoclonic epilepsy in infancy. *Epilepsia* 2008;49(9):1528-34.
4. Zhu G, Okada M, Yoshida S, Ueno S, Mori F, Takahara T, Saito R, Miura Y, Kishi A, Tomiyama M, Sato A, Kojima T, Fukuma G, Wakabayashi K, Hase K, Ohno H, Kijima H, Takano Y, Mitsudome A, Kaneko S, Hirose S. Rats Harboring S284L ChRNA4 Mutation Show Attenuation of Synaptic and Extrasynaptic GABAergic Transmission and Exhibit the Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy Phenotype. *J Neurosci* 2008;28(47):12465-76.
5. Hirose S. A new paradigm of channelopathy in epilepsy syndromes: intracellular trafficking abnormality of channel molecules. *Epilepsy Res* 2006;70 Suppl 1:S206-17.

[学会発表] (計 21 件)

1. Update on the genetics of Epilepsy: Potential clinical applications/ Hirose S Annual meeting for Thai Child Neurology Society 2008. 12-18-22 Thailand

2. Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes following benign neonatal seizures resulting from a mutation of *KCNQ2* Hirose S, 8<sup>th</sup> European Congress on Epileptology (2008.9-18-26, Berlin)

3. Mutational analysis for repetitive febrile seizures and sporadic febrile seizures plus in Japanese Hirose S, 8th European Congress on Epileptology (2008.9-18-26, Berlin)

4. The Application of Genetic Tests for Epilepsy-are there Guidelines for Clinicians?/Hirose S, 7<sup>th</sup> Asian & Oceanian Epilepsy Congress Xiamen, China (2008-5.15-18, Xiamen)

5. Recent advances in the genetics of epilepsy Joint/Hirose S, 7<sup>th</sup> Human Genome Organization (HUGO) (2008.4. 1-7 セブ、フィリピン)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 変異導入遺伝子およびそれを導入したノックイン非ヒト動物

発明者: 廣瀬伸一, 弟子丸正伸, 荒木喜美

権利者: 廣瀬伸一

産業財産権の種類: 特許

番号: 特願 2008-273446

出願年月日: 2008 年 10 月 23 日

国内