

機関番号：11301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790968

研究課題名 (和文) 小奇形を伴うウエスト症候群の遺伝学的検索—CGH 法を用いた原因遺伝子解析—

研究課題名 (英文) Gene analysis of patients diagnosed as West syndrome with minor abnormalities and mental retardation using array-CGH

研究代表者

福與 なおみ (Naomi Hino-Fukuyo)

東北大学・病院・助教

研究者番号：90400366

研究成果の概要 (和文)：

ウエスト症候群の原因遺伝子を新たに同定することを目的に、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 31 例を対象に、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。3 例にゲノムコピー数の異常を認めた。ゲノムコピー数異常領域に存在する一部の遺伝子は、てんかんと精神遅滞に 1 症例で関連が報告されていた。全症例を対象に該当遺伝子のシーケンスを行った。現在のところ、遺伝子変異を認めなかった。

研究成果の概要 (英文)：

We did DNA screening in patients with West syndrome by using array-CGH in order to identify new gene mutation causing to West syndrome. We have identified putative copy-number variants, included one gene associated with epilepsy and mental retardation in previous report. We did not detected genomic mutation involving the gene in 31 cases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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、精神遅滞、マイクロアレイ、CGH法、ゲノムコピー数、染色体異常、てんかん、小奇形

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 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。ACTH 療法でけいれんのコントロールが出来てもその効果は一時的で、他の難治てんかんに移行する例が多い。ウエスト症候群のもうひとつの特徴は、高率に重度の精神発達遅滞を伴うことである。事実、ウエスト症候群の責任遺伝子報告されている、ARX 遺伝子 (Nurology 2003:61:267-276, Kato et al.), STK9 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.) は、いずれも精神遅滞の原因遺伝子としてすでに同定されていた遺伝子であった。

そこで申請者は、ウエスト症候群と精神遅滞は、共通の遺伝学的基盤を有しているのではないかと推測した。

申請者らは、潜因性ウエスト症候群の多くに鼻根部平坦や前額突出などの小奇形を伴うことに気が付いていた。小奇形と精神遅滞の合併から隣接遺伝子症候群の存在を示唆する現象である。これらの症例では通常の G バンド法では染色体異常が検出されない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ゲノムコピー数の検出に有効であるマイクロアレイ CGH 法を用いて、ウエスト症候群の原因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明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1) 検体収集

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する。

(2) 検体採取

本研究は東北大学医学部倫理委員会にて承認されている。患者用説明書に基づき担当医師が、患者もしくは代替者に遺伝子解析に伴う利益・不利益を説明し、文書で同意 (同意書に署名) を得て、患者から血液 5~7ml を採取し、DNA を抽出する。

(3) アレイ CGH

ヒトゲノム全域をカバーする 2×400K フォーマット (G4842A) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) を利用して、アレイ CGH を行う。アレイ CGH のデータ解析は、Cyto Genomics (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) を用いて行う。

(4) バイオインフォマティクスによる遺伝子同定

アレイ CGH 解析により検出されたゲノムコピー

数異常領域に存在する遺伝子群の中から、ウエスト症候群の原因遺伝子となる可能性の高い遺伝子を、バイオインフォマテイクスの手法で推定する。

(5) シークエンス

収集した全症例の抽出 DNA において、推定されたウエスト症候群の原因遺伝子の塩基配列解析を行い、正常塩基配列と対照し、変異を同定する。

4. 研究成果

(1) 宮城県の小児神経科医を通じてウエスト症候群の症例数を調査し、宮城県における発生率（出生1万対3-4）を初めて明らかにした。

(2) ウエスト症候群の症例数から、研究に同意を得ることのできた31例を解析の対象とした。

(3) 31例中3例にゲノムコピー数の異常を認めた。(4) 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。

(5) ゲノムコピー数の異常領域に存在する、てんかんと精神遅滞に関与する遺伝子に着目し、収集した症例全例を対象にシークエンスを行った。現在のところ、他症例における遺伝子の変異を認めなかった。

通常のGバンド法では不可能なゲノムコピー数

異常を9.7%の症例で検出できたことから、アレイCGHによるゲノム解析法は、小奇形を伴うウエスト症候群において非常に有効であると確認できた。現在もさらに症例数を増やし、アレイCGHによる解析を進めている。今後ウエスト症候群患者のゲノム上の特徴を抽出することで、ウエスト症候群の責任遺伝子を同定することが期待できる。

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5件）

① Acute encephalopathy with a truncation Mutation in the SCN1A gene: A case report. Takayanagi M, Haginoya K, Umehara N, Kitamura T, Numata Y, Wakusawa K, Hino-Fukuyo N, Mazaki E, Yamakawa K, Ohura T, Ohtake M. *Epilepsia* (in press) 2011（査読あり）

② Neuroepidemiology of West syndrome and early infantile epileptic encephalopathy in Miyagi Prefecture, Japan. Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Iinuma K, Uamatsu M, Tsuchiya S. *Epilepsy Res* 87:299-301;2009（査読あり）

③ Reduced levels of interleukin-1 antagonist in the cerebrospinal fluid in patients with West syndrome. Haginoya K, Noguchi R, Zhao Y, Munakata M, Yokoyama H, Tanaka S, Hino-Fukuyo N, Uamatsu M, Yamamoto K, Takayanagi M, Iinuma K, Tsuchiya S. *Epilepsy Res* 85:314-7;2009

④Smith-Magenis syndrome with West syndrome in a 5-year-old girl : a long-term follow up study. Hino-Fukuyo N, Haginoya K, Uematsu M, Nakayama T, Kikuchi A, Kure S, Kamada F, Abe Y, Arai N, Togashi N, Onuma A, Tsuchiya S. *J Child neurol* 24:868-73;2009 (査読あり)

⑤ Ictal vomiting as an initial symptom of severe myoclonic epilepsy in infancy: A case report. Naomi Hino-Fukuyo, Kazuhiro Haginoya, Noriko Togashi, Mitsugu Uematsu, Taro Kitamura, Yosuke Kakisaka, Mamiko Ishitobi, Keisuke Wakusawa, Kazuie Iinuma, Hirokazu Oguni, Kazuhiro Yamakawa, Shigeru Tsuchiya *Journal of Child Neurology* 24:228-30;2009 (査読あり)

[学会発表] (計2件)

①発表者名：菊地敦生、福與なおみ、佐藤育子、涌澤圭介、広瀬三恵子、植松貢、富樫紀子、奈良千恵子、萩野谷和裕、呉繁夫、土屋滋

発表演題：「多発奇形を伴う精神発達遅滞におけるサブテロメア欠失のMLPA法による検索1p36欠失症候群の1例」

学会名：第52回日本小児神経学会総会

発表年月日：平成22年5月20日

発表場所：福岡

②発表者名：福與なおみ、萩野谷和裕、植松貢、土屋滋。

発表演題：先天性第V因子欠損症による脳実質内と硬膜下の多発出血後、自然寛解したWest症候群の1女児例

学会名：第43回日本てんかん学会

発表年月日：平成21年10月23日

発表場所：弘前

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福與 なおみ (Naomi Hino-Fukuyo)

東北大学・病院・助教

研究者番号：90400366

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：