

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 25 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791011

研究課題名（和文） 本邦てんかん患者における *PCDH19* 遺伝子異常と臨床的スペクトラムの
解明研究課題名（英文） Genetic and Clinical Investigation of Japanese Females with *PCDH19*
Abnormality

研究代表者

日暮 憲道 (HIGURASHI NORIMICHI)

福岡大学・医学部・助手

研究者番号：40568820

研究成果の概要（和文）：本邦てんかん女児に対し *PCDH19* 遺伝子解析を行い、点変異 18 例、血縁罹患 4 例、遺伝子欠失 2 例、計 24 例を同定した。発症は 4-25 ヶ月齢で、しばしば、発熱に関連して短い発作の群発が出現した。発作型は部分発作か全身けいれんであった。4 例は軽症例で、発症が遅い傾向にあり、幼児期に発作消失し、発達良好であった。長期経過を終えた 5 例では、発作は 10 歳台以降に消失した。知的障害を 18 例、自閉を 7 例、多動を 3 例に認めた。

研究成果の概要（英文）： We performed genetic analysis of *PCDH19* in many Japanese females with epilepsies, and identified point mutations in 18 patients and 4 affected relatives and *PCDH19* deletion in 2 patients. Their seizures started at 4–25 months of age. The central clinical feature was recurrent seizure clusters associated with fever. The duration of each seizure was brief. Seizures were tonic, tonic-clonic, and focal seizures often with generalization. Seizures often persisted until puberty and disappeared mainly during the teenage years. The patients often showed intellectual disability, and, in some, autistic features and hyperactive behavior.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：てんかん、精神遅滞、女性、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

Epilepsy and mental retardation limited to females (EFMR)は、女性のみが発症するが、男性は無症状となる特徴的な罹患形式を示す、乳幼児期に発症するてんかんと知的障害

を特徴とする疾患である。X染色体に存在する *PCDH19* 遺伝子の異常が原因である。

我々は、本研究開始前に複数の症例で本遺伝子の異常を同定し、女性における早期発症

てんかんの原因として、本邦においても稀ではないことが推測された。しかし、本邦における研究実施施設は他になく、また、*PCDH19* 遺伝子異常を含め臨床的・遺伝的・疫学的情報は皆無であった。

2. 研究の目的

PCDH19 遺伝子異常をもつてんかん患者を数多く同定し、本邦における EFMR の臨床的特徴、遺伝子異常の特徴を把握する。さらに、遺伝子型と臨床的表現型との関連を検討する。

3. 研究の方法

(1) 症例収集

全国のてんかん診療医師より疑われる症例を収集した。疑われる症例とは①女性、②乳児期から幼児期、とくに前半にてんかんを発症、③しばしば知的障害や、発達の遅れを伴う、④発作は高頻度に発熱関連性をもち、群発や重積傾向を示すことが多い、⑤てんかん、知的障害の女性の特徴的な家族歴の存在、⑥頭部画像所見が正常。ただし、軽度の萎縮など発作等による二次的变化は含む。⑦客観的根拠をもって診断される既知の遺伝性・器質的疾患の診断がされていないもの、である。ただし、必要条件とはせず、広く症例収集を行った。また、本疾患は、ドラベ症候群を含め、*SCN1A* 遺伝子異常に伴うてんかんに類似した症状を呈する可能性があるため、本遺伝子解析目的として当施設に依頼のあった症例についても、同意を得た上で解析した。

(2) *PCDH19* 遺伝子解析

末梢血リンパ球中よりゲノム DNA を抽出し、*PCDH19* の全エクソン領域直接塩基配列決定を行った。これで異常を認めない症例については、独自にデザインしたプローブを用い

て、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法を行い、遺伝子欠失のスクリーニングを行った。欠失が疑われた症例については Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)や、Fluorescence in situ Hybridization (FISH)法により、確定診断を行った。

(3) 臨床的解析

遺伝子異常を同定した症例については、主治医に、直接連絡、質問用紙等により、詳細な臨床症状や経過を確認した。

4. 研究成果

(1) *PCDH19* 遺伝子解析

本研究開始以前の症例を合わせ、前述した症例について合計300例以上に全塩基配列決定を行った。さらに変異のない症例のうち実施可能であった約100例余に対しMLPA解析も行った。結果、遺伝子変異を18例同定した(17例は全てエクソン1の変異でミスセンス変異8例、ナンセンス変異5例、フレームシフト変異5例、1例ではこれまで未報告のエクソン2のナンセンス変異)。また、MLPAで*PCDH19*全欠失が2例に認められ、FISHやarray CGH法により確認した。さらに遺伝子変異をもつ発端者4例の血縁罹患患者各1例を含め、合計24例を同定し、女性の早期発症てんかんの原因として、EFMRが本邦においても決して稀ではなく、その重要性が確認できた。

(2) 臨床的特徴

表現形や重症度のばらつきはあるものの、多くの症例に以下のような特徴が認められた。全例乳幼児期(4-25ヶ月、平均9.5ヶ月)に発作を発症し、23例に発熱に伴う発作を、21例に経過中1回以上の発作群発を認めた。その大半の症例で発熱に伴い、持続数分以内に終了する短い発作が高率に群発して出現し、月か

ら年単位で反復していた。幼児期に1-2年発作がなくその後再発する症例もあった。発作群発の持続は、学童期以降は数日から1週程度のことが多かったが、発症早期には、しばしば断続的に数週間以上継続することも多かった。発作群発中でも発作間欠期の意識状態は、投薬などの影響を除いて清明であり、15分以上遷延する発作(4例)や30分以上続く重積(うち2例)は非常に稀であった。発作型は部分発作(しばしば二次性全般化を伴う)、あるいは全身性けいれん(強直、強直間代)であり、ミオクロニーや欠伸発作は認めなかった(海外の報告例ではあり)。

下記の軽症例を除き、全例複数の抗てんかん薬治療を受けていたが、発作群発の完全な予防は困難であり、難治に経過した。しかし、長期フォローできている5例では全例発作は停止しており、うち4例では10歳台に消失していた。

一方、数回の単発発作、あるいは軽度の発作群発を主に幼児期早期(20-25ヶ月、1例では熱性けいれん様発作が8ヶ月時)に発症し、抗てんかん薬治療を1-2剤投与されたものの、3歳以降には発作がなく、知的発達も良好な症例が4例認められた。

発作発症時の発達は正常であることが多かったが、4例で軽度の運動発達遅滞が認められた。知的障害は、しばしば発作発症後に進行し、6歳以降まで経過観察できた症例14例中、重度3例、中等度3例、軽度4例、程度不明2例であったが、2例では正常知能であった。

運動発達は初期にしばしば遅れていたものの、その後は順調に発達し、全例最終フォローアップ時に自律歩行が可能であった。

その他、自閉傾向が7例で、多動が3例で認められ、行動・発達障害も本症の特徴の一つであると考えられた。

(3) 遺伝子型-表現型相関

海外からの報告も併せ、明らかな相関は認

めなかった。同じ変異をもつ姉妹と一卵性双生児例を各1家系に認めたが、これらの姉妹間では重症度が大きく異なっており、その臨床的多様性には、他の遺伝的、環境的修飾因子の影響も大きいことが推測された。PCDH19 遺伝子欠失2例は本邦初であったが、点変異例と比較し有意な臨床的相違は認めなかった。

(4) 今後の展望

本研究により本遺伝子異常による中心的臨床特徴がより明らかとなり、これらを参考に解析対象症例を選定することにより、より効率的に本遺伝子異常を同定することが可能となった。しかし、発作が数回のみで幼児期に消失する例や、有熱時発作や群発のない例も存在し、このような軽症例は全例か家族性罹患例で同定されたが、通常、遺伝子解析に至らない孤発例も多数存在することが推測され実態の把握において今後の検討課題である。

今後も実態調査、臨床的、遺伝的調査を継続し有効な治療法についても検討する。さらにはモデル動物や細胞を用いた分子病態研究を進め、最終的に本症の患者、家族の福音となるような成果を目指していく。

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2件)

- ① 日暮憲道、廣瀬伸一、(総説) 女性に限定されるてんかんと精神遅滞一本邦患者の特徴と *PCDH19* 遺伝子解析を考慮するポイント、日本小児科学会雑誌、査読無、115巻、2011、1513-1523
- ② Higurashi N, Shi X, Yasumoto S, Oguni H, Sakauchi M, Itomi K, Miyamoto A, Shiraiishi H, Kato T, Makita Y, Hirose S, *PCDH19* mutation in Japanese females with epilepsy,

Epilepsy Res, 査読有, 99 卷, 2011,
28-37

[学会発表] (計 7 件)

- ① Higurashi N, Hirose S. Clinical presentations in early phase of PCDH19-related epilepsy. 9th Asian and Oceanian Epilepsy Congress (Manila, 2012.3)
- ② 日暮憲道, 廣瀬伸一. “どのような時に” 女性に限定されるてんかんと精神遅滞” を疑うか? 小児科学会福岡地方会 (福岡, 2011.10)
- ③ 日暮憲道, 臼井大介, 高橋幸利, 廣瀬伸一. 本邦女性てんかん患者における MLPA 法を用いたプロトカドヘリン 19 欠失の検索. 第 45 回日本てんかん学会 (新潟, 2011.10)
- ④ Higurashi N. Epilepsy and Mental Retardation Limited to Females -A Disease with Increasing Significance. The 1st international symposium of Research Institute for the Molecular Pathomechanisms of Epilepsy, Fukuoka University (福岡, 2011.7)
- ⑤ 日暮憲道, 安元佐和, 廣瀬伸一. 本邦女兒てんかん患者における PCDH19 遺伝子解析の現況. 第 53 回日本小児神経学会総会 (横浜, 2011.5)
- ⑥ Higurashi N, Hamachi A, Oguni H, Sakauchi M, Itomi K, Miyamoto A, Shiraishi H, Kato T, Hirose S. PCDH19 mutations and their phenotype in Japanese females with suspected SCN1A-related epilepsy. 第 52 回日本小児神経学会総会 (福岡. 2010.5)
- ⑦ Higurashi N, Hamachi A, Oguni H, Sakauchi M, Itomi K, Miyamoto A,

Shiraishi H, Kato T, Hirose S. PCDH19 mutations and their phenotype in Japanese females with suspected SCN1A-related epilepsy. 11th International Child Neurology Congress (Cairo, 2010.5)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日暮 憲道 (HIGURASHI NORIMICHI)

福岡大学・医学部・助手

研究者番号：40568820

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：