

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461542

研究課題名(和文) 潜因性ウエスト症候群家族内発症例の遺伝子解析研究

研究課題名(英文) Genetic analysis of Familial cryptogenic West syndrome.

研究代表者

石原 尚子 (ISHIHARA, Naoko)

藤田保健衛生大学・医学部・講師

研究者番号：30393143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：潜因性West症候群の家系内発症例の遺伝的要因を検索するため、2家系において次世代シーケンス解析を施行した。

家系1は兄弟発症の家系で、データベース上の頻度の低いX-linkedのSNVを認めた。

家系2は母子発症の家系で、発症者に共通したエクソン上の塩基変化を伴う変異のうち、公開されているヒトゲノムデータベースで頻度の高い変異を除外し、中枢神経系との関連が考慮される5つの遺伝子に絞り込みを行った。このうちの1つであるLG12は、子犬のてんかん原因遺伝子として報告があり、ヒトにおいて未報告であるものの、本家系の原因遺伝子として考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed genetic analysis of a familial case of West syndrome which has no neurological deficit before the onset of the seizures, and no sequela after the treatment.

Family 1: Two of three brothers were affected. We found low frequency X-linked SNV from the affected brothers and their mother.

Family 2: Mother and one of daughters were affected. Genetic analysis led to the identification of five candidate genes, and we found one of these genes (Leucine-rich gene glioma-inactivated 2; LG12) had reported as causal for familial epilepsy in childhood with dogs. There is no previous report of LG12 in human epilepsy syndromes, however we suggest that it may be one of the causal genes of familial West syndrome.

研究分野：神経疾患

キーワード：West症候群 網羅的遺伝子解析 LG12

1. 研究開始当初の背景

West 症候群は主に乳児期に発症する小児難治性てんかんで多くは精神発達遅滞をきたす。West 症候群はスパズム(頭をかくつと垂れる発作)、発達の退行や停止(笑わなくなるなど)、脳波でのヒプスアリスミアを3徴候とする症候群であり、さまざまな中枢神経疾患が West 症候群を起こし得る。周産期脳障害、神経皮膚症候群、脳形成異常などが West 症候群の病因となる一方で、周産期歴および発症時までの発達歴に問題がなく、発症時の診察や検査でも原因が不明なものが潜因性 West 症候群に分類される。潜因性 West 症候群には、病因が明らかな症例に比べると治療反応性がよく、てんかん、発達予後良好例が含まれる。

近年の分子生物学の進歩に伴い、てんかんの分野においてもいくつかの遺伝子変異が同定され、その原因遺伝子の機能解析に基づくてんかん病態の研究が盛んにおこなわれている。潜因性 West 症候群にはいくつかの病因が含まれると考えられるが、家族内発症例もあることから特定の遺伝子変異が発症因子となっている例が存在する可能性がある。West 症候群を合併する疾患の原因遺伝子として *CDKL5*、*ARX* などが報告されているが、いずれも治療抵抗性でてんかんおよび発達予後は不良な群であり、潜因性 West 症候群の臨床経過に合致しない。

2. 研究の目的

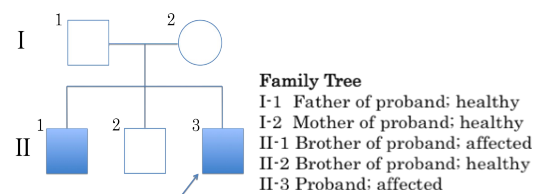
今回の研究の目的は、未だ不明な潜因性 West 症候群の遺伝子変異を見出し、この症候群を細分類することである。発症時の臨床像およびその後の経過と結びつけるときにこれまでの私たちの研究が有用と考える。さらに、この研究を端緒に West 症候群の発症機序および病態解析が進み、新たな治療アプローチが生まれる可能性がある。

3. 研究の方法

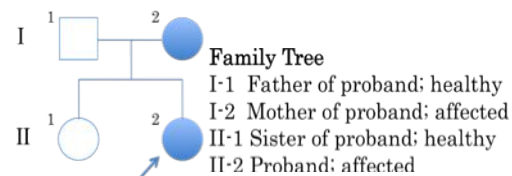
解析対象

2人以上の潜因性 West 症候群罹患者がいる家系を対象とした。潜因性 West 症候群の診断は、1. 発症までの発達が正常であること、2. 頭部 MRI 所見が正常であること、3. 先天代謝異常症が否定されていること、4. 染色体検査で異数性や構造異常を認めないこと、5. West 症候群の臨床所見を有すること(発作間歇期脳波が *hypsarrhythmia* であること、乳児期発症であること、発作型は *spasms in cluster* であること。発症後の発達退行の有無は問わない。)とした。本研究では、この基準に合致した2家系を解析対象とした。

家系1: 男3人兄弟のうち、長男と三男が潜因性 West 症候群を発症した。罹患者2人ともに、ACTH 療法を施行して発作は消失し、その後の知的発達も良好である。両親と次男は健康である。



家系2: 両親と女2人姉妹の家族で、母親と次女が潜因性 West 症候群罹患者である。罹患者2人ともに ACTH 療法で発作は消失した。母親は知的発達良好であるが、次女は軽度知的障害を認めている。父親と長女は健康である。



解析方法

家系1(5人)および家系2(4人)から血液を採取し、末梢血白血球からDNAを抽出した。次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析は Otogenetic Corporation に委託し施行した(illumina library preparation, Agilent SureSelect 51 Mb(V4) enrichment,

HiSeq2000 PE 100, minimum 100X coverage), 10 万以上の SNV (single nucleotide polymorphism) のうち、チャンネル関連遺伝子、てんかん関連遺伝子を含む 325 遺伝子パネルを作成し、エクソン上の蛋白変化を伴う変異について、発症者に共通する突然変異、ホモ接合変異、compound hetero 変異、X-linked 変異を検索した。

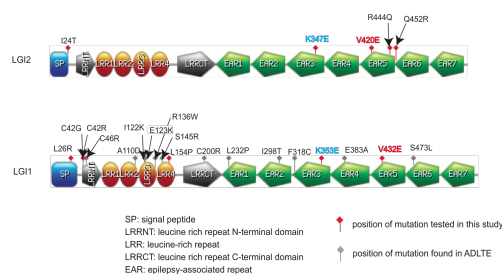
4. 研究成果

家系 1: 本家系は常染色体劣性遺伝を想定して解析を行ったが、filtering にて病因遺伝子と考えられる変異を認めなかった。データベース上の頻度の低い X-linked の SNV を認めており、病因の可能性が考えられる。

家系 2: 発症者に共通したエクソン上の塩基変化を伴う変異のうち、公開されているヒトゲノムデータベースで頻度の高い変異を除外し、中枢神経系との関連が考慮される 6 つの遺伝子を候補とした。このうちのひとつである Leucine-rich gene glioma-inactivated 2 (LGI2) 遺伝子は、子犬のてんかん原因遺伝子として報告があるが、ヒトでは未報告である。類似構造を持つ LGI1 はヒトの側頭葉てんかんの原因遺伝子として報告があり、本遺伝子が病因として有力と考えられた。一家系のみでは病因遺伝子として同定するには不十分なため、他施設の解析結果と情報共有を行っているが、現時点では同様の変異を有する潜因性 West 症候群を認めていない。

網羅的遺伝子解析による filtering 結果

Candidate gene	rs number	1000 genome	HGVD	Type of mutation	cDNA	Protein
LGI2	rs2324645	.	.	SNV	c.71T>C	p.Ile24Thr
TRAPPC10	.	.	.	SNV	.	.
ABHD6	.	.	0.0011	SNV	.	.
SLC12A9	.	.	.	SNV	.	.
SVOPL	rs138601132	.	0.026	3bp del	c.340_342 delAGA	p.Arg114del
GPR50	rs200542186	0.0018	.	SNV	c.1294C>T	p.Pro432Ser



gene	Mutation	Position	Secretion studies	Subcellular localization studies
LGI2	I24T	SP	-	-
	K347E	EAR	-	-
	R444Q	EAR	-	-
	Q452R	EAR	-	-
	V420E	EAR	+	ER-retention
LGI1	L26R	SP	+	ER-retention

Limviphuvadh et al. BMC Biochemistry 2010, 11:39 より抜粋

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 8 件)

Natsume J, Ogawa C, Fukasawa T, Yamamoto H, Ishihara N, Sakaguchi Y, Ito Y, Takeuchi T, Azuma Y, Ando N, Kubota T, Tsuji T, Kawai H, Naganawa S, Kidokoro H White Matter Abnormality Correlates with Developmental and Seizure Outcomes in West Syndrome of Unknown Etiology. AJNR Am J Neuroradiol. 2016 Apr;37(4):698-705 doi: 10.3174/ajnr.A4589. 査読あり

Ogawa C, Natsume J, Yamamoto H, Ishihara N, Tashiro A, Kidokoro H, Negoro T, Yoshida M, Watanabe K. Autopsy findings of a patient with acute encephalitis and refractory, repetitive partial seizures. Seizure. 2016 Feb;35:80-2 doi: 10.1016/j.seizure.2016.01.005. 査読あり

Yokoi S, Ishihara N, Miya F, Tsutsumi M, Yanagihara I, Fujita N, Yamamoto H, Kato M, Okamoto N, Tsunoda T, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K, Kojima S, Saitoh S, Kurahashi H, Natsume J. TUBA1A mutation can cause a hydranencephaly-like severe form of cortical dysgenesis. Sci Rep. 2015 Oct 23;5:15165 doi: 10.1038/srep15165. 査読あり

Yamamoto H, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Suzuki M, Tsuji T, Kubota T, Yamada A, Ozeki M, Kato Z, Kawamura Y, Yoshikawa T, Okumura A, Ando N, Saitoh S, Takahashi Y, Watanabe K, Kojima S

Clinical and neuroimaging findings in children with posterior reversible encephalopathy syndrome.

Eur J Paediatr Neurol. 2015 Nov;19(6):672-8. doi: 10.1016/j.ejpn.2015.07.005. 査読あり

Ito Y, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Azuma Y, Tsuji T, Okumura A, Kubota T, Ando N, Saitoh S, Miura K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S.

Seizure characteristics of epilepsy in childhood after acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.

Epilepsia. 2015 Aug;56(8):1286-93. doi: 10.1111/epi.13068. 査読あり

Azuma Y, Nakata T, Tanaka M, Shen XM, Ito M, Iwata S, Okuno T, Nomura Y, Ando N, Ishigaki K, Ohkawara B, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Sokabe M, Ohno K

Congenital myasthenic syndrome in Japan: ethnically unique mutations in muscle nicotinic acetylcholine receptor subunits.

Neuromuscul Disord. 2015 Jan;25(1):60-9. doi: 10.1016/j.nmd.2014.09.002. 査読あり

Natsume J, Maeda N, Itomi K, Kidokoro H, Ishihara N, Takada H, Okumura A, Kubota T, Miura K, Aso K, Morikawa T, Kato K, Negoro T, Watanabe K.

PET in infancy predicts long-term outcome during adolescence in cryptogenic West syndrome.

AJNR Am J Neuroradiol. 2014

Aug;35(8):1580-5. doi:

10.3174/ajnr.A3899. 査読あり

Fukasawa T, Suzuki M, Kato T, Hayakawa F, Miura K, Kidokoro H, Kubota T, Okumura A, Maruyama K, Hishikawa Y, Itomi K, Negoro T, Watanabe K, Natsume J

Characteristics of epilepsy occurring in the first four months.

Brain Dev. 2014 Oct;36(9):752-7. doi:

10.1016/j.braindev.2013.10.011. 査読あり

〔学会発表〕(計 7 件)

石原尚子 他、Clinical analysis of epilepsy patients with congenital metabolic disease. 第 49 回日本てんかん学会学術集会、2015.10.30-31、長崎ブリックホール(長崎)

石原尚子 他、A novel LGI2 heterozygous

mutation identified in a Japanese family with autosomal dominant cryptogenic West syndrome. American Society of Human Genetics 2015 annual meeting, 2015.10.6-10, Baltimore (USA)

石原尚子 他、Efficacy and tolerability of stiripentol to 3 patients with different SCN1A mutations. International Epilepsy Congress, 2015.9.5-9, Istanbul (Turkey)

石原尚子 他、Efficacy of everolimus in a patient with rapidly growing subependymal giant cell astrocytoma associated with tuberous sclerosis complex. 第 57 回日本小児神経学会学術集会 2015.5.28-30 帝国ホテル大阪(大阪)

石原尚子 他、Two cases of lissencephaly with marked hydrocephalus caused by TUBA1A mutation. American Society of Human Genetics 2014 annual meeting, October 18-22, 2014, San Diego (USA)

石原尚子 他、The effectiveness of Stiripentol to 3 patients with SCN1A abnormalities. 第 48 回日本てんかん学会学術集会、2014.10.2-3、京王プラザホテル(東京)

石原尚子 他、A case study of large deletion in chromosome 2q with severe epilepsy well controlled by stiripentol. 第 56 回日本小児神経学会 2014.5.29-31 アクトシティ浜松(浜松)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石原 尚子 (ISHIHARA, Naoko)
藤田保健衛生大学医学部・小児科・講師
研究者番号：30393143

(2) 研究分担者

夏目 淳 (NATSUME, Jun)
名古屋大学大学院医学系研究科・障害児者
医療学・教授
研究者番号：60422771

(3) 連携研究者

大野 欽司 (OHNO, Kinji)
名古屋大学大学院医学系研究科・神経遺伝
情報学・教授
研究者番号：80397455