

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26870781

研究課題名(和文) KCNQ2遺伝子変異に起因する小児てんかんの病態解明

研究課題名(英文) Abnormal GABA neurotransmission in a Kcnq2 model of early onset epilepsy

研究代表者

内田 琢(Uchida, Taku)

宮崎大学・医学部・助教

研究者番号：60464137

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：KCNQ2(電位依存性K⁺チャンネルサブユニット)の遺伝子変異は新生児発症てんかんの原因として知られており、ある種のK⁺チャンネルの機能低下を引き起こす。この疾患の発症時期は神経伝達物質 - アミノ酪酸(GABA)が興奮性として働く時期と一致するため、GABAが疾患に関与する可能性がある。そこで患者から発見された変異と同様の遺伝子変異を持つマウスを作成し、海馬のGABA神経回路に関する電気生理学実験を行った。その結果 GABA作動性神経細胞におけるK⁺チャンネルの機能が遺伝子変異により低下し、GABA放出を亢進することを発見した。過剰なGABAは新生児発症てんかんに寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Mutations of the KCNQ2 gene, which encodes the Kv7.2 subunit of voltage-gated M-type potassium channels (M-channels), have been associated with epilepsy in the neonatal period. Neonatal brain is unique in that the neurotransmitter GABA triggers excitatory action. To examine whether KCNQ2-related neuronal hyperexcitability involves neonatally excitatory GABA, we examined one-week-old knock-in mice expressing the Kv7.2 variant p.Tyr284Cys (Y284C). Brain slice electrophysiology revealed elevated CA1 hippocampal GABAergic interneuron activity with respect to presynaptic firing and postsynaptic current frequency. Blockade with the GABA_A receptor antagonist bicuculline decreased ictal bursting in divalent ion-challenged brain slices, which is consistent with GABA mediating an excitatory function that contributes to the hyperexcitability observed in mutant animals. We conclude that excitatory GABA contributes to the phenotype in these animals.

研究分野：神経科学

キーワード：小児てんかん 電位依存性カリウムイオンチャンネル KCNQ2 GABA作動性神経細胞 ノックインマウス
電気生理 パッチクランプ

1. 研究開始当初の背景

良性家族性新生児てんかん (benign familial neonatal epilepsy) 患者およびその家族からアミノ酸置換を伴う *KCNQ2* 遺伝子変異が発見されている¹⁾ (BFNE, OMIM #121200)。BFNE に見られる変異は常染色体優先遺伝形式をとり、症状は生後一週齢以内に発作を開始し、3~4か月で自然に寛解する。

KCNQ2 遺伝子は電位依存性カリウムチャネルサブユニットである *KCNQ2* をコードしており、*KCNQ2* は *KCNQ3* とともにヘテロ4量体を形成し、M-channel を形成する²⁾。M-channel は神経細胞軸索起始部に多く存在しており³⁻⁵⁾、活動電位の発生制御に寄与していると考えられる⁶⁻⁸⁾。M-channel は海馬を含む中枢神経細胞の興奮抑制に関与しており⁹⁾、神経伝達物質 GABA が抑制性ではない未熟な神経細胞ではこの機能が低下することで神経細胞の興奮性が高まり、てんかんが発症すると考えられてきた。

これまで *KCNQ2* 遺伝子と小児てんかんの関連性を調べるために knock-out や knock-in マウスが作出されており、*Kcnq2* knock-out マウスのホモ変異マウス^{8,10)} や truncation 変異マウス¹¹⁾ は生後致死性であるが、てんかん性けいれんとの関連性は不明である。knock-out や knock-in マウスのヘテロ変異マウスは生後3週齢以降で薬剤誘発によるてんかん発作への脆弱性が認められている¹²⁻¹⁴⁾。

新生児期の未熟な神経細胞では塩素イオントランスポーター機能のバランスが成熟した神経細胞と異なるため、GABA が興奮性に働くことが知られている¹⁵⁾。この興奮性は神経が発達するうえで重要な働きを担っているが、過剰な GABA による興奮性はてんかん原性になりうる^{16,17)}。そこで BFNE で見つかった *KCNQ2* 遺伝子変異が GABA に関与する神経伝達機構に何らかの影響を与えるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

これまで *Kcnq2* 遺伝子変異マウス新生仔およびその GABA 神経伝達機構に注目した報告はなかった。そこで本研究は幼若期マウス海馬において *Kcnq2* 遺伝子変異が GABA 神経伝達機構に与える影響について電気生理学的に調べた。生理条件下で GABA 作動性神経細胞を同定するために GABA 作動性神経細胞特異的に Venus 蛍光タンパクを発現する VGAT-Venus マウス¹⁸⁾ を用い、*Kcnq2* 遺伝子変異 (p.Y284C) マウス^{14,19)} と交配して実験を行った。

3. 研究の方法

①. 動物

本研究における遺伝子組み換え実験計画および動物実験計画は福岡大学動物実験倫理委員会により承認され (承認番号 1510880)、すべての実験手順は福岡大学アニマルセンターガイドラインに従って行われた。使用する動物の数や苦痛は最小限に抑えられるよう実験が行われた。

Kcnq2 (p.Y284C) 変異マウスおよび VGAT-Venus マウスは C57BL/6 のバックグラ

ウンドを持ち、福岡大学医学部アニマルセンターにて繁殖された。実験は生後1週齢 (P6-8) のマウスを使用した。すべての動物は VGAT-Venus の homozygous であり、*Kcnq2* 遺伝子変異は実験後採取した尾より抽出した遺伝子を polymerase chain reaction (PCR) 法により増幅しアガロース電気泳動パターンにより遺伝子型を確認した。

②. RT-qPCR

マウスはペントバルビタールナトリウム (50 mg kg⁻¹, 腹腔内投与) により深麻酔を施し、断頭後フィルター済み氷冷 PBS 内で素早く海馬を取り出した。水気を取り除いた海馬は液体窒素により急速に冷凍し -80°C で保存した。半解凍した組織は遠心フィルター BioMasher® (Nippi Inc., Ibaragi, Japan) によりホモジナイズした後 Sepasol®-RNA I Super G (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan) により Total RNA を抽出した。RNA は DEPC 処理水に溶解した後に SuperScript® VILO™ Master Mix (Life technologies Japan Inc., Tokyo, Japan) を用いて逆転写反応を行い cDNA を合成した。

リアルタイム PCR 反応は LightCycler 480 Instrument II (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) にて SYBR® Premix Ex Taq™ II (Takara) を使用して行い、それぞれの反応の C_p 値は second-derivative maximum 法により求めた。

③. 免疫組織化学染色

深麻酔を施したマウスは心臓にカニューレを挿入し、かん流により PBS/クエン酸緩衝液で血液を取り除いた後に 4% パラホルムアルデヒド/PBS によってかん流固定した。その後脳を取り出し 20% スクロース水溶液に浸潤して冷蔵庫に保管した。Leica CM3050 S (Leica) により厚さ 10-20 μm の横断面に凍結脳切片を作成し、MAS コート済みスライドガラスに付着させた。免疫組織染色には一次抗体として抗 *KCNQ2* 抗体 (ab22897, abcam, 7.2 μg/ml, or または SP5352P, Acris Antibodies GmbH, 1-10 μg/ml) および抗 GFP 抗体 (ab13970, abcam, 10 μg/ml) を使用した。二次抗体は抗ウサギ Cy3 接合抗体と抗ニワトリ AlexaFluor 488 接合抗体を使用した。また、4',6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI; 1 μg/ml; Dojindo) を用いて細胞核を染色した。蛍光染色をした組織は FluoView FV1000 confocal laser scanning microscope system (Olympus) を用いて観察・撮影した。

④. 急性脳スライス作成

深麻酔を施したマウスから断頭後に脳を取り出し、氷冷かつ 95%/5% O₂/CO₂ で十分バブリングした高浸透圧人口脳脊髄液 (in mM: 250 Sucrose, 26 NaHCO₃, 11 Glucose, 2.5 KCl, 10 MgSO₄, 0.2 CaCl₂, and 1.25 NaH₂PO₄) に浸潤した。脳は振動刃ミクロトーム (VT1200S; Leica) を用いて 350-450 μm の厚さの横断面にスライスし、人工脳脊髄液 (in mM: 126 NaCl, 26 NaHCO₃, 10 Glucose, 2.5 KCl, 2.0 MgSO₄, 2.0 CaCl₂, and 1.25 NaH₂PO₄) 内で実験まで 30 分以上温置 (32 ± 1 °C) した。

⑤. 電気生理記録

電気生理記録は正立落射蛍光顕微鏡 BX51WI (Olympus) 上で行い、細胞の赤外微分干渉像および蛍光画像は 4.0 倍水浸レンズを通して CMOS センサーカメラ

(ORCA-Flash2.8, Hamamatsu Photonics) で撮影し、専用ソフトにてPC上で観察した。電気生理記録に用いたガラス電極 borosilicate glass capillaries (Sutter Instrument) は Flaming-Brown micropipette puller (P-97; Sutter Instrument Co.) にて作成した。記録は MultiClamp 700B amplifier (Molecular Devices) にて増幅され、Axon Digidata 1440A digitizer (Molecular Devices) にてデジタル変換された後にPCに保存された。得られたデータは pCLAMP 10 (Molecular Devices) により解析された。

M-電流記録は海馬 CA1 領域 Venus 蛍光タンパク発現細胞に対して行われた。Amphotericin B (Sigma-Aldrich, 0.45–0.5 mg/mL) を電極内液 (in mM: 150 K-methane sulfonate, 10 Hepes, 5 KCl, 1 EGTA, and 3 MgCl₂ at pH 7.3 adjust pH with KOH) に溶解し使用した。人工脳脊髄液には picrotoxin (50 μM; Sigma-Aldrich) と 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2, 3-dione (CNQX; 10 μM) を溶解して使用した。記録は電位固定モード、5 kHz で行い、固定電位 -20 mV から -40, -50, -60, and -70 mV に変化させたときに生ずるテール電流の大きさを解析した。電流値をそれぞれの細胞の膜容量で除算した値 (電流密度 pA/pF) を群間で比較した。

細胞接着法は Venus 蛍光タンパク発現細胞に対して行われた。電極内液は 150 mM NaCl を用いた。記録は電位固定モード、20-50 kHz で行い、固定電位は 0 mV に固定した。活動電位発生頻度およびイベント間隔はそれぞれの細胞 180 秒間の記録を解析し、頻度 (Hz) を群間で比較した。

ホールセルパッチクランプは Venus 蛍光タンパク非発現細胞かつ形状より判断した錐体細胞に対して行われた。電極内液は以下の組成を使用した (in mM: 120 Cs-methane sulfonate, 3 MgCl₂, 0.07 CaCl₂, 4 EGTA, 10 HEPES, 1 Mg-ATP, 4 Na-GTP, and 10 Phosphocreatine di(tris), pH was adjusted with CsOH at 7.3)。人工脳脊髄液には CNQX (10 μM; Sigma-Aldrich), D-(-)-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid (D-AP5, 50 μM), および CGP55845 (3 μM; Sigma-Aldrich) を溶解して使用した。記録は電位固定モード 0 mV、20-50 kHz で行った。自発的 GABA 性後シナプス電流の半値幅(ms)、減衰時間(ms)、振幅(pA)、頻度(Hz)はそれぞれの細胞 180 秒間の記録を解析し、群間で比較した。

細胞外電位記録には以下の組成の電極内液を使用した(in mM: 150 NaCl, 10 HEPES, adjusted pH with NaOH at 7.3)。低 Mg²⁺濃度人工脳脊髄液は以下の組成 (in mM: 126 NaCl, 26 NaHCO₃, 10 Glucose, 2.5 KCl, 3.3 CaCl₂, and 1.25 NaH₂PO₄) で 30 分経過後てんかん性バースト発火が見られるまで観察した。てんかん

性バースト発火が見られた脳スライスには bicuculline methiodide (BMI, 50 μM) を溶解した低 Mg²⁺濃度人工脳脊髄液を使用してさらに 20 分間記録した。記録は電流固定モード、20kHz にて行われた。

4. 研究成果

生後 1 週齢 (P6-7) マウスの海馬における *Kcnq2* 遺伝子発現量を RT-qPCR にて確認したところ遺伝子変異による影響は確認されなかった (図 1A)。また、海馬 CA1 領域において GABA 作動性神経細胞に KCNQ2 タンパク質の発現を免疫蛍光染色により確認した (図 1B)。

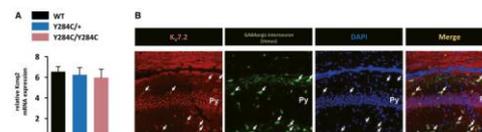


図 1

GABA 作動性神経細胞における M-channel 機能を調べるために、急性脳スライスを作成して Venus 発現細胞に対してアンホテリシン B を用いて穿孔パッチクランプを行った。電位固定 -20mV から -40--70mV の幅で電位を変化させたところ -50mV のところで最大の M 電流が観察された (図 2A)。Kcnq2 遺伝子変異マウスでは GABA 作動性神経細胞の M 電流密度は対照群に比べて有意に減少していた (図 2B)。

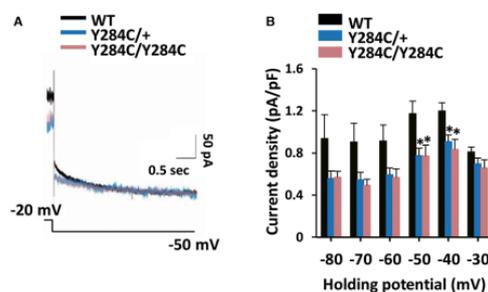


図 2

M-channel の機能低下による神経細胞の興奮性への影響を調べるために Venus 発現細胞に対して細胞接着法を用いて活動電位電流 (図 3A) の単位時間当たりの発生頻度を調べたところ、Kcnq2 遺伝子変異マウスではこれが対照群に比べて有意に増加していた (図 3B)。このことから *Kcnq2* 遺伝子変異により GABA 作動性神経細胞の興奮性が亢進したと考えられる。

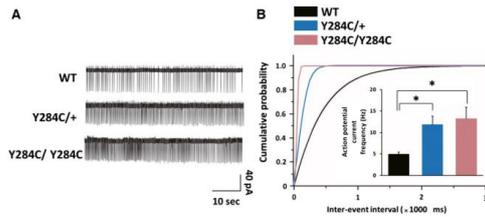


図 3

GABA 作動性神経細胞の興奮性が亢進した結果、シナプス前からの GABA 放出が影響を受けるか調べるために、海馬 CA1 領域錐体細胞に対してホールセルパッチクランプを行い、自発的 GABA 性シナプス後電流 (GABAergic post-synaptic current; GPSC) を記録した (図 4)。Kcnq2 遺伝子変異マウス GPSC の半値幅、減衰時間、振幅は対照群と比べて差がなかったが、単位時間当たりの電流発生頻度は有意に増加していた (図 4B,C)。このことから後シナプス機能は変化せず前シナプスからの GABA 放出頻度が影響を受けたと考えられる。

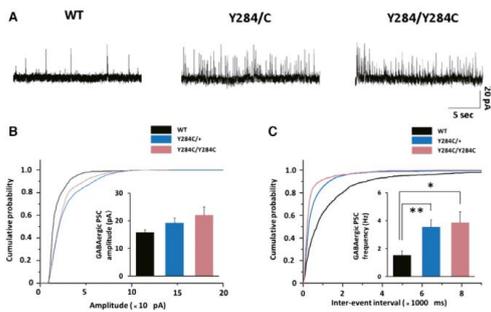


図 4

内因性 GABA が幼若マウスの海馬 CA1 領域におけるてんかん性発火にどのような影響を与えるか調べるために、Kcnq2 遺伝子変異マウス脳スライスに対して人工脳脊髄液中のマグネシウムイオンを取り除き急性脳スライスてんかんモデルを作成した。てんかん性バースト発火が見られた脳スライスモデルに対して GABA_A 受容体アンタゴニストを細胞外液に加えたところ、てんかん性発火の持続時間が短縮した (図 5C)。このことから内因性 GABA は幼若期マウス海馬 CA1 領域におけるてんかん性発火の持続時間に関与していると考えられる。

脳発達期の GABA による神経細胞の過剰興奮はてんかんに寄与する^{20,21}。加えて、未熟な神経ネットワークでは、グルタミン酸性シナプス入力はてんかん原性となるには十分ではないことが示唆されている²²。KCNQ2 は GABA 作動性神経細胞のみならず錐体細胞にも多く発現していたが (図 1B)、幼若期の中枢神経においては成熟した神経ネットワークとは別の機序でてんかんが起こる可能性がある。ヒトの中枢神経では妊娠 22-24 週の胎児ですでに KCNQ2 遺伝子は発現している²³ が、げっ歯類では出産後に同遺伝子の発現が開始される^{24,25}。諸説あるが、ヒ

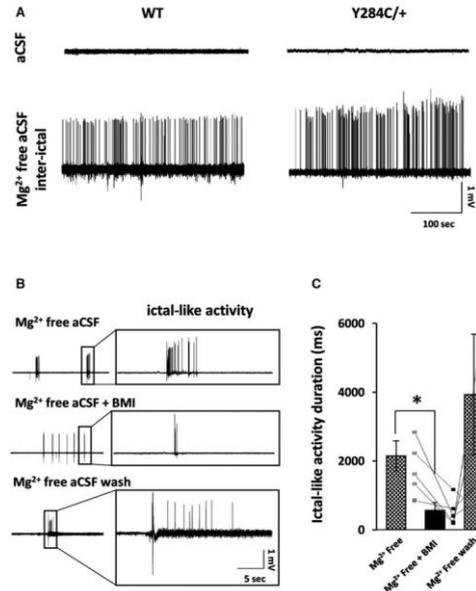


図 5

トでの新生児期はマウスではおおむね 1-2 週齢であると考えられている。したがって、本研究で使用されたマウスの週齢はヒト新生児期を模したものであると考えられる。

本研究で使用された Y284C 変異は M-channel のイオン通過孔に位置し、これによって M-電流が減少することはすでに知られている^{26,27}。培養細胞の発現実験この変異による heterozygous と homozygous の間には有意な差があった。しかしながら、マウスの結果では heterozygous と homozygous の間に有意な差はなかった (図 2)。これは Kcnq2 と Kcna3 の発現バランスやそれぞれのサブユニットによるヘテロ 4 量体の形成パターンが in vitro と in vivo で異なることに由来するドミナントネガティブ効果によるものであると考えられる。

M-channel の機能低下による細胞の興奮性の亢進が GABA 作動性神経細胞で観察された (図 3)。我々は神経細胞の興奮性を評価するために細胞接着法を用いた。M-channel 機能はホールセルパッチクランプによる細胞内液かん流に非常に敏感であるため、細胞内をインタクトな状態に保ったまま実験を行うためにこの方法を使用した。

M-channel 機能は前シナプス細胞からの GABA を含む神経伝達物質放出に影響する^{28,29}。この傾向は幼若期により強い傾向がみられる³⁰。したがって Kcnq2 遺伝子変異マウスに見られる自発的 GPSC 頻度の増加は GABA 作動性神経細胞上の M-channel 機能低下によるものであると考えられる (図 4)。また、半値幅、減衰時間、振幅には影響が見られなかったことから後シナプスの GABA_A 受容体の機能には影響がないと考えられる。急性脳スライス上でてんかんを再現するために、無 Mg²⁺ 人工脳脊髄液を使用して細胞外電位記録を行った (図 5)。通常このモデルは同時にカリウムチャンネルをブロックして作成することが多いが²⁵、本研究では Kcnq2 遺伝子変異マウスを使用することでこれを

補完した。てんかん性バースト発火の発生率は必ずしも高くなかった(36%)が、これは急性脳スライス作成による神経ダメージおよびネットワーク切断によるシナプス入力低下の影響が考えられる³¹⁾。スライス培養サンプルを用いることでこの問題を解決できる可能性がある。GABA_A受容体アンタゴニストによりてんかん性バースト発火持続時間が短縮したことから、GABAがこの時期のてんかん性神経細胞発火に関与していることが考えられる。

【結論】

本研究では幼若期 *Kcnq2* 遺伝子変異マウスの海馬 CA1 領域における GABA 作動性神経細胞の M-channel 機能の低下による同細胞の興奮性更新と GABA 放出増加を示した。また、急性脳スライスモデルで幼若期における GABA 興奮性のてんかん性バースト発火への寄与を示した。Marguet らによると NKCC1 トランスポーター阻害剤であるブメタニドにより、細胞内塩素イオン濃度の低下、すなわち GABA の作用を興奮性から抑制性にすることで *Kcnq2* 遺伝子変異マウスの海馬における異常を回復することができた³²⁾。このことは *KCNQ2* 遺伝子変異によるてんかんが GABA の興奮性と関係することを強く示唆する。また、Miceli らは新生児てんかん性脳症患者から M-channel 機能亢進型の *KCNQ2* 変異を発見した³³⁾。このことは *KCNQ2* 遺伝子変異による M-channel 機能変化が神経ネットワークを介しててんかんを発症する可能性を示している。今後はさらに別の *Kcnq2* 遺伝子変異について継続して変異マウスの研究を進めていく必要があると考える。

〈引用文献〉

- Singh NA, et al., A novel potassium channel gene, *KCNQ2*, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genetics* 1998 ; 18 : 2529.
- Wang HS, et al., *KCNQ2* and *KCNQ3* potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel. *Science* 1998 ; 282 : 1890-1893
- Pan Z, et al., A common ankyrin-G-based mechanism retains *KCNQ* and *NaV* channels at electrically active domains of the axon. *J Neurosci* 2006 ; 26 : 2599-2613.
- Rasmussen HB, et al., Requirement of subunit co-assembly and ankyrin-G for M-channel localization at the axon initial segment. *J Cell Sci* 2007 ; 120 : 953-963.
- Timmer JS. Subcellular localization of K⁺ channels in mammalian brain neurons: remarkable precision in the midst of extraordinary complexity. *Neuron* 2015 ; 85 : 238-256.
- Rogawski MA. *KCNQ2/KCNQ3* K⁺ channels and the molecular pathogenesis of epilepsy: implications for therapy. *Trends Neurosci* 2000 ; 23 : 393-398.
- Jentsch TJ. Neuronal *KCNQ* potassium channels: physiology and role in disease. *Nat Rev Neurosci* 2000 ; 1 : 21-30.
- Shoh H, et al., Conditional deletions of epilepsy-associated *KCNQ2* and *KCNQ3* channels from cerebral cortex cause differential effects on neuronal excitability. *J Neurosci* 2014 ; 34 : 5311-5321.
- Cooper EC, et al., *Neurosci* 2001 ; 21 : 9529-9540.
- Watanabe H, et al., Disruption of the epilepsy *KCNQ2* gene results in neural hyperexcitability. *J Neurochem* 2001 ; 75 : 28-33.
- Robbins J, et al., Effects of *KCNQ2* gene truncation on M-type Kv7 potassium currents. *PLoS One* 2013 ; 8 : e71809.
- Singh NA, et al., Mouse models of human *KCNQ2* and *KCNQ3* mutations for benign familial neonatal convulsions show seizures and neuronal plasticity without synaptic reorganization. *J Physiol* 2008 ; 586 : 3405-3423.
- Otto JF, et al., Electroconvulsive seizure thresholds and kindling acquisition rates are altered in mouse models of human *KCNQ2* and *KCNQ3* mutations for benign familial neonatal convulsions. *Epilepsia* 2009 ; 50 : 1752-1759.
- Tomonoh Y, et al., The kick-in system: a novel rapid knock-in strategy. *PLoS One* 2014 ; 9 : e88549.
- Ben-Ari Y. The GABA excitatory/inhibitory developmental sequence: a personal journey. *Neuroscience* 2014 ; 279 : 187-219.
- Ben-Ari Y, Holmes GL. Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 1055-1063.
- Ben-Ari Y, Khalilov I, Kahle KT, Cherubini E. The GABA excitatory/inhibitory shift in brain maturation and neurological disorders. *Neuroscientist* 2012;18:467-486.
- Wang Y, et al., Fluorescent labeling of both GABAergic and glycinergic neurons in vesicular GABA transporter (VGAT)-venus transgenic mouse. *Neuroscience* 2009 ; 164 : 10311043.
- Ihara Y, et al., Retigabine, a Kv7.2/Kv7.3-Channel Opener, Attenuates Drug-Induced Seizures in Knock-In Mice Harboring *Kcnq2* Mutations. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0150095.
- Dzhala VI, Staley KJ. Excitatory actions of endogenously released GABA contribute to initiation of ictal epileptiform activity in the developing hippocampus. *J Neurosci* 2003 ; 23 : 18401846.
- Dzhala et al., NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nat Med* 2005 ; 11 : 1205-1213.
- Khalilov I, et al., Epileptogenic actions of GABA and fast oscillations in the developing hippocampus. *Neuron* 2005 ; 48 : 787-796.
- Kanaumi T, et al., Mitsudome A, Hirose S. Developmental changes in *KCNQ2* and *KCNQ3* expression in human brain: possible contribution to the agedependent etiology of benign familial neonatal convulsions. *Brain Dev* 2008 ; 30 : 362-369.
- Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev* 1979 ; 3 : 79-83.
- Qiu C, et al., K⁺ M-current regulates the transition to seizures in immature and adult hippocampus. *Epilepsia* 2007 ; 48 : 20472058.
- Schroeder BC, et al., Moderate loss of function of cyclic-AMPmodulated *KCNQ2/KCNQ3* K⁺ channels causes epilepsy. *Nature* 1998 ; 396 : 687-690.
- Singh NA, et al., *KCNQ2* and *KCNQ3* potassium channel genes in benign familial neonatal convulsions: expansion of the functional and mutation spectrum. *Brain* 2003 ; 126 : 27262737.
- Peretz A, et al., Pre- and postsynaptic activation of M-channels by a novel opener dampens

- neuronal firing and transmitter release. *J Neurophysiol* 2007 ; 97 : 283-295.
- 29) Martire M, et al., M channels containing KCNQ2 subunits modulate norepinephrine, aspartate, and GABA release from hippocampal nerve terminals. *J Neurosci* 2004 ; 24 : 592-597.
- 30) Okada M, et al., Age-dependent modulation of hippocampal excitability by KCNQ-channels. *Epilepsy Res* 2003 ; 53 : 81-94.
- 31) Heinemann U, Staley KJ. What is the clinical relevance of in vitro epileptiform activity? *Adv Exp Med Biol* 2014 ; 813 : 25-41.
- 32) Marguet SL, et al., Treatment during a vulnerable developmental period rescues a genetic epilepsy. *Nat Med* 2015 ; 21 : 1436-1444.
- 33) Miceli F, et al., Earlyonset epileptic encephalopathy caused by gain-of-function mutations in the voltage sensor of Kv7.2 and Kv7.3 potassium channel subunits. *J Neurosci* 2015 ; 35 : 3782-3793.

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 3 件)

- ① Uchida T, Lossin C, Ihara Y, Deshimaru M, Yanagawa Y, Koyama S, Hirose S. Abnormal γ -aminobutyric acid neurotransmission in a Kcnq2 model of early onset epilepsy, *Epilepsia* (査読有), 58(8):1430-1439, 2017
- ② Ihara Y, Tomonoh Y, Deshimaru M, Zhang B, Uchida T, Ishii A, Hirose S. Retigabine, a Kv7.2/Kv7.3-Channel Opener, Attenuates Drug-Induced Seizures in Knock-In Mice Harboring Kcnq2 Mutations, *PLoS One* (査読有), 11(2):e0150095, 2016
- ③ Tomonoh Y, Deshimaru M, Araki K, Miyazaki Y, Arasaki T, Tanaka Y, Kitamura H, Mori F, Wakabayashi K, Yamashita S, Saito R, Itoh M, Uchida T, Yamada J, Migita K, Ueno S, Kitaura H, Kakita A, Lossin C, Takano Y, Hirose S. A Novel Rapid Knock-In Strategy. *PLoS One* (査読有), 9(2): e88549, 2014

[学会発表] (計 9 件)

- ① Taku Uchida, Christoph Lossin, Yukiko Ihara, Masanobu Deshimaru, Yuchio Yanagawa, Susumu Koyama, Shinichi Hirose., Abnormal GABA neurotransmission in a Kcnq2 model of early-onset epilepsy, The 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (国際学会) 福岡、2017 年
- ② Yusuke I SHIMIZU, Masanori ITO, Taku UCHIDA, Hajime YANO, Junya TANAKA, Eiichi ISHII, Shinichi HIROSE, and Mitsumasa FUKUDA, Study of Characteristics and Antiepileptic Drug Response in Lister Hooded Rats with Audiogenic Seizure, The 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (国際学会) 福岡、2017 年
- ③ Taku Uchida, Masanobu Deshimaru, Yuchio Yanagawa, Susumu Koyama, Shinichi Hirose. Abnormal GABA neurotransmission in a Kcnq2 model of early-onset epilepsy. 第40回日本神経科学大会, 千葉、2017 年
- ④ Norimichi Higurashi, Fuyuko Takata, Ayako Goto, Taku Uchida et al. Generation of heterozygous (Pcdh19 +/-) female rats as a model for PCDH19 related. 第50回日本てんかん学会, 静岡、2016 年
- ⑤ Uchida T., Deshimaru M., Yanagawa Y., Koyama

S., Hirose S. A Kcnq2 mutation facilitates firing and GABA release of GABAergic interneurons in the neonatal hippocampus. The 69th Annual Meeting of the American Epilepsy Society (招待講演) (国際学会) Pennsylvania Convention Center, Philadelphia PA, 2015 年

- ⑥ Uchida T., Deshimaru M., Yanagawa Y., Koyama S., Hirose S. A Kcnq2 mutation enhances firing and GABA release of GABAergic interneurons in the neonatal hippocampus. The 11th AOCCN (国際学会) 6F-9. No.2 Jian 8th Rd. Zhonghe District New Taipei City 235 Taiwan, 2015 年
- ⑦ Tanaka Y., Sone T., Higurashi N., Uchida T., Ishikawa M., Okano H., Hirose S. Genome editing of SCN1A in induced pluripotent stem cells to study the pathomechanisms of Dravet syndrome. The 11th AOCCN (国際学会) 6F-9. No.2 Jian 8th Rd. Zhonghe District New Taipei City 235 Taiwan, 2015 年
- ⑧ 内田 琢、弟子丸正伸、柳川右千夫、小山進、廣瀬伸一、Kcnq2 遺伝子変異マウスに見られる発達期海馬のGABAネットワーク異常, 第42回日本脳科学会, 宮崎, 2015 年
- ⑨ 内田琢、弟子丸正伸、小山進、柳川右千夫、廣瀬伸一、KCNQ2 遺伝子変異と小児てんかん (Kcnq2 遺伝子変異マウスに見られる神経細胞機能異常) 第41回日本脳科学会、福井、2014 年

[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
内田 琢 (UCHIDA, Taku)
宮崎大学・医学部・助教
研究者番号：60464137

(2) 研究分担者 ()
研究者番号：

(3) 連携研究者 ()
研究者番号：

(4) 研究協力者 ()