

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：難治性てんかんを呈する希少疾患群の遺伝要因と分子病態の解明
2. 研究開発代表者：加藤光広（昭和大学医学部）
3. 研究開発の成果

難治性てんかんは知的障害や運動障害を併発し患者と家族の生活に大きな影響を与える。小児期発症で多くは希少疾患であるが、我々は世界に先駆けて多数の原因遺伝子を明らかにしてきた。難治性てんかんを呈する希少疾患群（てんかん性脳症、孔脳症、Aicardi 症候群、難治性脳形成障害、Coffin-Siris 症候群、Landau-Kleffner 症候群、傍シルビウス裂症候群、限局性皮質異形成、視床下部過誤腫、巨脳症-毛細血管奇形症）の遺伝要因と分子病態を解明し、難治性てんかんの新たな治療法開発のシーズを同定する。そのために、全国から DNA 検体と臨床情報（病歴・画像・脳波等）を収集し、全エクソーム解析を行い、遺伝子変異が与える影響を機能（電気生理）と形態（神経病理）の両面から解析した。その結果、今年度新たに、てんかん性脳症 254 例、孔脳症 17 例、Coffin-Siris 症候群 34 例など計 305 例の DNA と臨床情報を収集した。また、てんかん原性病巣の脳組織を 82 例収集した。全エクソーム解析を行い、新規に 4 つの原因遺伝子を同定した。Coffin-Siris 症候群に関しては 190 例中 124 例（65%）に既知の遺伝子変異を認め、二つの新規候補遺伝子を同定した。てんかん性脳症の原因遺伝子として新たに同定した *KCNB1* の機能解析では 2 つの *de novo* 変異（p. R306C と p. G401R）を Neuro2a 細胞に発現させ、パッチクランプ法で K 電流を解析したところ、p. R306C はチャンネルの電位感受性を強く障害し、p. G401R はイオン透過のチャンネル機能を失わせていた。両者は、マウス大脳皮質神経細胞の連続発火活動を強く阻害した。以上から錐体神経細胞の不十分な発火活動が神経回路網の発達と安定性の両方に悪影響を与え、疾患発症に至ることが示唆された。非定型レット症候群と未分類てんかん性脳症の 2 例において *GRIN2A* 変異を同定した。Landau-Kleffner 症候群を含む Epilepsy-aphasia syndromes (EAS) の原因として報告されていた *GRIN2A* 変異の疾患スペクトラムを広げる新たな知見であった。限局性皮質異形成 (FCD) IIb 型 9 例中 2 例にエクソーム解析で *MTOR* の体細胞変異を検出した。Targeted amplicon sequencing 法にて *MTOR* の deep sequencing を行ない、エクソーム解析の結果と合わせて FCD IIb 型 13 例中 6 例において *MTOR* の体細胞変異を同定した。*MTOR* 変異陽性の脳組織および変異体を発現させたプラスミドをトランスフェクションした細胞株では、mTOR の著しい活性化が認められ、PI3K-AKT3-mTOR 経路を賦活化する活性型変異であることが示唆された。FCD IIb 型の脳組織において、FCD IIb 型を特徴付けるグリア系異常細胞 (balloon cell) には p57/Kips が特異的に発現していることを明らかにした。p57/Kip2 の発現は FCD、結節性硬化症、片側巨脳症で異なり、その形成機序は同一ではないことを示した。皮質異形成の特殊型である片側前頭葉と脳梁に皮質異形成を示す 3 症例において、片側前頭葉と同側脳梁の肥大、連続した脳波異常、ミオクローヌス発作、軽度認知機能障害の特徴があることを明らかにした。

限局性皮質異形成において *MTOR* の体細胞モザイク変異を同定したことで、手術しか根本的治療法がなかった限局性皮質異形成に対し、mTOR 阻害剤による内科的治療の有効性が見込まれた。稀少難治性てんかんのレジストリ班と連携し、難治性てんかんの新たな治療法開発のシーズとして、シロリムスによる医師主導治験を計画中である。

4. その他