

熱性けいれんに関与する遺伝子の解明 — てんかん遺伝子治療に関する基礎的臨床的研究 —

(研究課題番号 12670727)

平成12年度～平成13年度 科学研究費補助金 (基盤研究(C)(2))
研究成果報告書

平成15年3月

研究代表者 岩崎 信明

(筑波大学臨床医学系講師)

3.74

96

493.74
196
(40)

熱性けいれんに関与する遺伝子の解明

—てんかん遺伝子治療に関する基礎的臨床的研究—

(研究課題番号 12670727)

平成 12 年度～平成 13 年度 科学研究費補助金

(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成 15 年 3 月

研究代表者 岩崎信明

(筑波大学臨床医学系講師)



03601524

目次

I はしがき	1
II 研究組織	3
III 研究経費	3
IV 研究発表	
1 学会誌等	4
2 口頭発表	5
V 研究成果	
1 概要	7
2 研究の背景	9
3 研究の目的	10
4 研究方法	
4.1 対象	10
4.2 方法	
4.2.1 全ゲノムスクリーニング	10
4.2.2 候補遺伝子を対象とした遺伝子変異検索	11
4.2.3 既知の熱性けいれん関連遺伝子座と日本人熱性けいれん家系との関係	11
4.2.4 統計解析	12
5 結果	
5.1 熱性けいれん遺伝子座 (<i>FEB4</i>) の同定	13
5.2 表現型による遺伝的異質性の検討	13

5.3 既知の熱性けいれん関連遺伝子座と日本人熱性けいれん家系との関係	13
.....	
5.4 候補遺伝子の変異検索	14
6 考案	15
7 謝辞	16
8 参考文献	17
9表	19
VI 主要学術論文	22
1 Failure to find evidence for association between voltage-gated sodium channel gene SCN2A variants and febrile seizures in humans.	
2 Molecular genetics of febrile seizures.	
3 A nonsense mutation of the MASS1 gene in a family with febrile and afebrile seizures.	

I はしがき

熱性けいれんは発熱に伴って乳児期に生じる発作性疾患で、小児に見られるけいれん性疾患のうち最も頻度の高いものである。熱性けいれんの有病率は本邦では7～10%で、欧米における2～5%と比較して高い傾向が認められる。発症には遺伝素因の関与が考えられており、予後良好な疾患とされているが、一般集団に比較して、後にてんかんに移行する危険率は高いとされている。このように熱性けいれんは日本人にとって重要な疾患と考えられる。

近年、熱性けいれんを有する大家系において、分子遺伝学的手法によって責任遺伝子座の同定がなされ、痙攣性疾患の発症機序の解明につながることを期待されている。これまでに熱性けいれんについて *FEB1*～*FEB3*の3つの責任遺伝子座が、熱性けいれんの類縁疾患と考えられている家族性てんかんの「熱性けいれんプラスを持つ全般てんかん (generalized epilepsy with febrile seizure plus; GEFS+)」について type1～3の3つの責任遺伝子座が報告された。GEFS+の責任遺伝子として type1 では電位依存性ナトリウムチャンネル $\beta 1$ サブユニット遺伝子7)、type2 では電位依存性ナトリウムチャンネル α サブユニット遺伝子、type3 では GABA_A レセプター γ サブユニット2 遺伝子が想定された。Sugawara らも部分てんかんと熱性けいれんを伴う患者において電位依存性ナトリウムチャンネル $\alpha 2$ サブユニット遺伝子の異常を報告している。このように熱性けいれんと関連する一部のてんかんはイオンチャンネルの異常に基づくチャンネル病として位置づけられつつある。

しかし、これらの遺伝子の一部について日本人に多い通常の熱性けいれんとの関連が検討されたが、両者の間に明らかな関連は証明されていない。また、これらの熱性けいれんおよび GEFS+で見い出された遺伝子座は少数の大家系に対して連鎖解析を行って見い出された遺伝子座である。

我々は、日本人の多くみられる熱性けいれん家系に共通する遺伝子座およびその責任遺伝子を同定することを目的に、日本人熱性けいれん家系を用いて連鎖解析を行なった。見いだされた遺伝子座に関して遺伝的異質性の検討、候補遺伝子の変異検索および関連解析を行った。また、既知の熱性けいれん関連遺伝子座と日本人熱性けいれん家系との関係を合わせて検討した。

本報告書は平成12年度と平成13年度の文部科学省科学研究費補助金(基盤研究C)によっておこなった研究について、研究組織と経費、研究発表について記載し、研究の背景、目的、方法、結果、考案に区分してまとめた。更に、研究成果に関連した論文も添付して参考に供した。

II 研究組織

代表研究者：岩崎 信明(筑波大学臨床医学系)

研究分担者：有波 忠雄(筑波大学基礎医学系)

研究協力者：中山 純子(日本学術振興会特別研究員)

III 研究経費

交付決定額(配分額)

平成 12 年度 2,900 千円

平成 13 年度 1,100 千円

計 5,000 千円

IV 研究発表

1 学会誌等

- 1) Nakayama J, Yamamoto N, Hamano K, Iwasaki N, Ohta M, Nakahara S, Horigome Y, Nakahara C, Noguchi E, Shiono J, Shimakura Y, Yamakawa-Kobayashi K, Matsui A, Arinami T. Failure to find evidence for association between voltage-gated sodium channel gene SCN2A variants and febrile seizures in humans. *Neurosci Lett.* 2002; 329(2):249-51.
- 2) Iwasaki N, Nakayama J, Hamano K, Matsui A, Arinami T. Molecular genetics of febrile seizures. *Epilepsia.* 2002;43 Supp19:32-5.
- 3) Nakayama J, Fu YH, Clark AM, Nakahara S, Hamano K, Iwasaki N, Matsui A, Arinami T, Ptacek LJ. A nonsense mutation of the MASS1 gene in a family with febrile and afebrile seizures. *Ann Neurol.* 2002;52(5):654-7.

2 口頭発表

1) 第9回国際小児神経学会(2002年9月20-25日、中国、北京市)

Nakayama J, Yamamoto N, Hamano K, Iwasaki N, Nakahara S, Ohta M, Horigome Y, Matsui A, Arinami T: A genome-wide linkage analysis of febrile seizures in a Japanese affected sib-pair population.

2) 第4回アジア太平洋てんかん学会議(2002年9月1-14日、軽井沢、長野県)

Nakayama J, Fu YH, Clark AM, Nakahara S, Hamano K, Iwasaki N, Matsui A, Ptacek LJ, Arinami T: A nonsense mutation of the MASS1 gene in family with febrile and afebrile seizures.

3) 第24回茨城てんかん懇話会(2002年7月6日、つくば市)

大戸達之、岩崎信明、田中竜太、高橋実穂、松井陽: てんかん性無呼吸を呈した脳形成障害児の1例

4) 第23回茨城てんかん懇話会(つくば市、2001年7月)

中山純子、岩崎信明、田中竜太、浜野建三: 熱性けいれんプラスをもつ全般てんかん(GEFS+)の1家系

5) 第43回日本小児神経学会総会(岡山、2001年6月)

中山純子、浜野建三、岩崎信明、中原智子、堀米ゆみ、斉藤久子、大戸達之、太田正康、有波忠雄、松井陽: 日本人熱性けいれん家系における既知の熱性けいれん遺伝子座の同定

6) 第27回神奈川小児神経懇話会(横浜市、2001年1月)

岩崎信明: 熱性けいれんと特発性小児てんかんの分子遺伝学

7) 第34回日本てんかん学会総会(東京、2000年9月)

(1) 中山純子: Significant evidence for linkage for febrile seizures. 第23回 Juhn and Mary Wada 賞受賞後援

(2) 岩崎信明、中山純子、浜野建三、有波忠雄：熱性けいれんの分子遺伝学. シンポジウム

8) 第 42 回日本小児神経学会総会(大阪、2000 年 6 月)

中山純子、浜野建三、岩崎信明、中原智子、堀米ゆみ、斉藤久子、濱口秀夫、松井陽：新しい熱性けいれんの遺伝子座(FEB4)の同定と遺伝的異質性の検討

9) 第 103 回日本小児科学会総会(和歌山、2000 年 4 月)

中山純子、浜野建三、岩崎信明、中原智子、堀米ゆみ、斉藤久子、濱口秀夫、有波忠雄、松井 陽：熱性けいれん遺伝子座の同定

V 研究成果

1 概要(日本語)

5番染色体 q14-q15 に存在する *FEB4* は日本人家系において見いだされた熱性けいれん関連遺伝子座である。熱性けいれんを有する家系について熱性けいれんのみ、単純型熱性けいれんのみ、反復性熱性けいれんを有するサブグループにわけて *FEB4* に関する推定共有頻度比を比較した。ほぼ同様の傾向を示し遺伝的異質性は明らかでなかった。既知の熱性けいれん関連遺伝子座 *FEB1-3* および GEFS+type1-3 に存在する多型マーカーについて連鎖解析を施行した。連鎖が示唆される所見は得られなかった。D5S644 マーカー近傍の *PCSK1* 遺伝子、*CAST* 遺伝子、*A-LAP* 遺伝子上に 61 個の多型が検出され一部に TDT の偏りがあったが、これらの多型は機能的なものではなかった。現在のところ *FEB4* 責任遺伝子は確定されていない。

Summary (English)

FEB4 is a genetic locus on chromosome 5q14-q15, with linkage to the marker *D5S644*, that confers susceptibility to febrile seizures (FS). Significant linkage disequilibria with FS were observed at the markers *D5S644*, *D5S652* and *D5S2079* by the transmission disequilibrium test (TDT). Shared identity-by-descent at *D5S644*, *D5S652* and *D5S2079* does not suggest a contribution to the presence or absence of afebrile seizures, complex febrile seizures or recurrent febrile seizures. No linkage was found at the previously identified FS loci in nuclear FS families, including *FEB1* (*D8S530*), *FEB2* (*D19S1034*), *FEB3* / GEFS+ type2 (*D2S1353*), and GEFS+ type1 (*D19S224*). These findings indicate that these FS loci may not play an important role in the development of FS in this Japanese population. To identify responsible mutation(s) for FS, we screened three genes, proprotein convertase subtilisin/kexin-type 1 (*PCSK1*), calpastatin (*CAST*) and adipocyte-derived leucine aminopeptidase (*A-LAP*), which have been mapped to within 500kb of marker *D5S644*. A total of 61 polymorphisms/variants were identified in 48 unrelated Japanese patients with FS. We genotyped these polymorphisms in 48 FS families and performed TDT. The -103T allele of *PCSK1* and the IVS21-65A allele of *CAST* were more frequently transmitted to FS patients. We have no evidence that these polymorphisms cause functional alterations in the *PCSK1* and *CAST* proteins. Our data indicate that a FS-responsible gene exists between *PCSK1* and *CAST*, probably near the *D5S644* marker, though no known gene has been mapped around *D5S644*.