

2001年5月18日
独立行政法人 理化学研究所
福岡大学

新規てんかん原因遺伝子の発見

- てんかん・熱性けいれんのより良い診断／治療への新たな一歩 -

理化学研究所（小林俊一理事長）は、福岡大学医学部と共同で新規てんかん原因遺伝子を同定しました。理研脳科学総合研究センター（伊藤正男所長）神経遺伝研究チームの山川和弘チームリーダー、菅原隆研究員、福岡大学医学部小児科学教室の広瀬伸一助教授らの研究グループによる研究成果です。本研究は、「てんかん遺伝子共同研究グループ^{*1}（代表：兼子直・弘前大学教授）」の活動の一環として行われました。

本研究では、熱性痙攣（けいれん）から非熱性のてんかん発作に進展する特定の型の“てんかん”を有する患者において、神経膜タンパク質である“ナトリウムチャンネル^{*2}・ α サブユニット 2 型”の突然変異を同定し、さらにこの変異タンパクが先天性パラミオトニア^{*3}、QT 延長症候群^{*4}などでみられるナトリウムチャンネルの機能異常に類似の変化を引き起こすことを見いだしました。この変化がナトリウムイオンの流入量の増加を招き、神経の過剰興奮、ひいてはてんかん発作につながっているものと考えられます。これらの知見は、てんかん発症の分子機構の理解、さらにはオーダーメイド治療など、より良い診断・治療法の開発に寄与するものです。

本研究成果は、米国の科学アカデミー紀要「Proceedings of the National Academy of Sciences USA : PNAS (5月22日号)」で発表されます。

1. 背景

痙攣（けいれん）、強直発作、失神発作などの症状で知られる“てんかん”は、全人口の1～2%が生涯を通じ、一度は罹患する病気です。また、幼児期、熱によって引き起こされる熱性痙攣はさらに多く、日本では全人口の7～9%が罹患します。こういった発作は、繰り返し起こる急激で過剰、かつ無秩序な中枢神経細胞群の放電により引き起こされると考えられていますが、分子レベルでの発症メカニズムはいまだ不明な点が多いのが事実です。

“てんかん”は、てんかん発作のみを症状とする“特発性てんかん”と、失調症や痴呆などをともない、進行性でより重症な“症候性てんかん”に大きく分けられますが、患者数では“特発性てんかん”がその多くを占めています。“てんかん”は、けがや感染症でも起こります。しかし、その多くは遺伝的な背景を有するものと考えられています。

今般の遺伝学、分子生物学の進展にともない、てんかん原因遺伝子の存在が予想される60を越える染色体領域が今までに報告されました。さらに、遺伝子そのものの同定がここ数年相次いでいます。これら原因遺伝子の機能と、てんかん発症に果たす役割とを探ることにより、その発症メカニズムの解明や治療法の開発につながることを期待されています。しかしながら、遺伝形式の複雑さなどから遺伝子の同定は依然として難しく、同定された遺伝子の数は約20個と、いまだ限られたも

のとなっています。特に、てんかん患者の大部分を占める“特発性てんかん”では、現在までに9個が報告されているにすぎません。わが国でも、早くから全国レベルでの研究グループを組織し、日本人の熱性痙攣・てんかんの原因遺伝子の探求を進めてきましたが、大家系を必要とするこの分野では今まで海外に遅れをとることが多かったといえます。

2. 研究手法

理研脳科学総合研究センター（BSI）神経遺伝研究チームと、福岡大学医学部小児科学教室の研究グループでは、“特発性てんかん”の多くにはイオンチャネルやその関連分子の異常が関係しているとする「チャネル病仮説」に基づいて研究を進めています。同研究グループは、滋賀県立小児保健医療センターの伊藤正利博士らとともに、熱性痙攣から非熱性のてんかん発作に進展する特定の型の“てんかん”を有する家系で神経細胞膜に存在するナトリウムチャネルの変異を検索しました。さらに、理研BSI記憶学習機構研究チームの永田啓一研究員らの協力を得て、チャネル機能を解析し、疾患との関係を探ってきました。

研究に使用した血液サンプルは、福岡大学などの共同研究機関の承認を得た様式に従い、熱性痙攣から非熱性のてんかん発作をとまなう患者、およびその家族よりインフォームドコンセントを取り、提供を受けました。これらの血液よりDNAを精製し、複数のナトリウムチャネルサブユニットに関して突然変異の検索を行いました。見いだされた変異のうち、“ α サブユニット2型ナトリウムチャネル”で見いだされたものに関して、パッチクランプ法により電気生理学的なチャネルの性質の機能的変化を検討しました。

パッチクランプ法とは、チャネルを強制発現させた培養細胞に、先端口径1mm程度のガラス電極を押しつけて穏やかに吸引すると膜と電極が密着して電氣的に絶縁され、膜表面上に存在するチャネルを通る電流を精度良く測定できる方法です。

3. 研究成果

19家系の解析の結果、複数種のナトリウムチャネルサブユニットのうち、 α サブユニット2型のナトリウムチャネルでは、3種類のアミノ酸変化をとまなう変異が見いだされました。このうち、187番目のアミノ酸が、アルギニンからトリプトファンへ変化する突然変異（R187W）のみが患者だけに発見され、ほかの2種の変異（R19K、R524Q）は少数ですが患者でない人においてもその存在が確認されました。また、R19Kの19番目のアルギニンは、12種類の α サブユニットファミリーメンバーで部分的にしか保存されておらず、さらにR524Qの524番目のアルギニンは、ほとんど保存されていません。これに対して、187番目のアルギニンは完全に保存されています。このことは187番目のアルギニンが機能的に重要であり、R187Wが機能異常につながり疾患の原因となっていることを示唆しました。

さらに、これらの変異を導入したチャネルを培養細胞で発現させ、パッチクランプ法によりイオンチャネルの機能を検討しました。解析の結果、先に述べた突然変異R187Wを有する α サブユニット2型ナトリウムチャネルのみで、チャネル不活化の遅延、定常時不活化曲線の過分極側へのずれなど特有の異常が確認されました。R19K、R524Q突然変異を有するチャネルでは、これらの異常は見られませんでした。

た。R187W を有するチャンネルでみられた異常は、先天性パラミオトニア、家族性QT 延長症候群などで確認された 4 型および 5 型ナトリウムチャンネルの異常に似ており、この変化がナトリウムイオンの流入量の増加を招き、神経の過剰興奮、ひいてはてんかん発作につながっているものと考えられます。

これらの結果から、R187W 変異が熱性痙攣から非熱性のてんかん発作に進展する特定の型のてんかんの原因となっていること、ひいては“ α サブユニット 2 型ナトリウムチャンネル”の異常がてんかんの発症につながりうることで世界で初めて示されました。

4. 今後への期待

本研究成果は、“特発性てんかん”の原因遺伝子として 10 番目の報告となるものであり、てんかんの新しい診断・治療法の開発につながる非常に重要な発見です。原因遺伝子が明らかになった結果、この遺伝子にコードされるタンパク質に特に注目した薬理学的実験や、この遺伝子を改変したてんかんモデル動物の作成・解析も可能になります。これらの研究によって得られる成果は、てんかん発症機構の分子レベルでの理解に寄与するものでしょう。今後、この遺伝子に関する突然変異の報告が増え、変異型と表現型（症状）との関連まで検討できるようになり、さらには個人個人に合った最適な治療（オーダーメイド治療）の開発にも結びつく事が期待されます。

（問い合わせ先）

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 神経遺伝研究チーム

チームリーダー 医学博士

山川 和弘

脳科学総合研究センター

脳科学研究推進部

田中 朗彦

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

（報道担当）

独立行政法人理化学研究所 広報室

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

<補足説明>

※1 てんかん遺伝子共同研究グループ

弘前大学神経精神医学講座の兼子直（かねこすなお）教授により 1993 年に設立された、全国規模の共同研究グループ。てんかん・熱性けいれん関連遺伝子の同定を目的とし、家系収集とその遺伝的解析などを行っている。弘前大学、新潟大学、東京大学、理研脳科学総合研究センター、愛媛大学、福岡大学を含む 30 以上の機関が参加している。

※2 ナトリウムチャンネル

神経細胞膜上には、ナトリウムチャンネル、カリウムチャンネル、カルシウムチャンネルなど、さまざまなイオンチャンネルが存在し、神経細胞の興奮、抑制などをつかさどっている。特にナトリウムチャンネルは、神経細胞の興奮に主要な働きをする。ナトリウムチャンネルは、ポア（イオンの通過孔）を形成する α サブユニットと、その開閉などを制御する β サブユニットからなっており、 α サブユニットは、1～6、8～11型までが同定されている。例えば1型は脳・脊髄に、5型は心筋にというように、それぞれ発現部位が異なる。 β サブユニットは、1、2型が知られている。

※3 先天性パラミオトニア

先天的な筋緊張症。筋肉を寒冷にさらすことにより誘発される筋緊張を特徴とする非進行性疾患。間欠性弛緩性麻痺のエピソードはあるが、筋の萎縮と肥大はない。常染色体優性遺伝。ナトリウムチャンネル α サブユニット4型の異常により引き起こされる。

※4 家族性QT延長症候群

家族性突然死症候群。突然、脈が乱れて立ち眩みや意識を失う発作が起こる遺伝性の疾患。意識を失う発作が止まらない場合は死亡することもある。非発作時は自覚症状なし。心電図におけるQT波形部の延長を特徴とする。ナトリウムチャンネル α サブユニット5型の異常により引き起こされる。

ヒトてんかん原因遺伝子 (矢印: ナトリウムチャンネル)

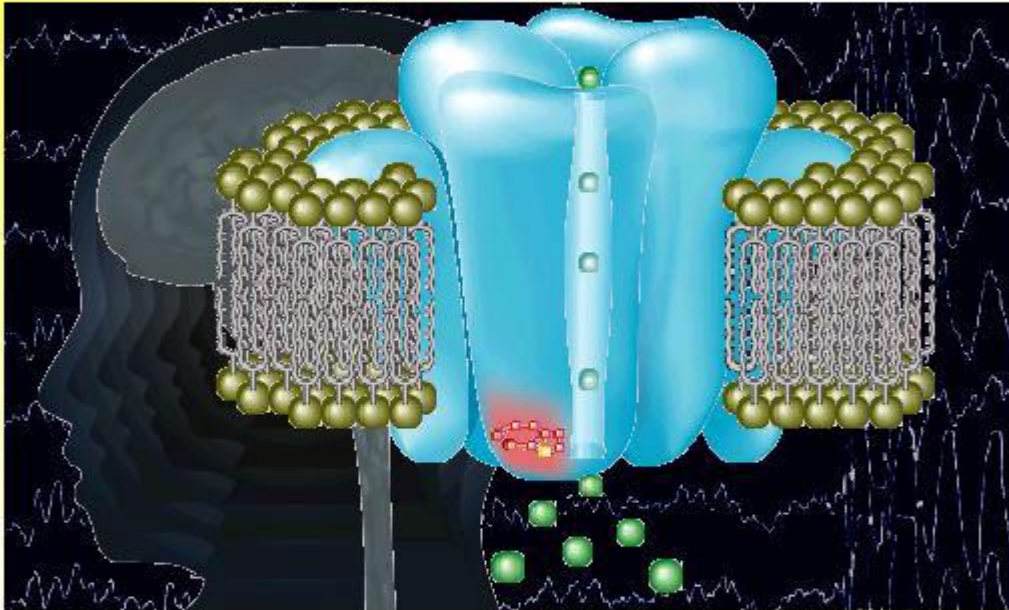
	locus	gene
Idiopathic epilepsy		
Childhood absence evolving to JME	1p	?
Nocturnal frontal lobe epilepsy	1p21	CHRN2
Benign Rolandic epilepsy	1q	?
IGE	2q36	?
Familial partial Epilepsy with variable loci (FPEVF)	2q	?
Familial generalized epilepsy with febrile seizures plus	2q24	Nav1.1 (SCN1A)
Familial generalized epilepsy with febrile seizures plus	2q24	Nav1.2 (SCN2A)
JME	2q22-23	CACNB4(lethargic)
IGE	3q26	?
Familial febrile seizures (FEB4)	5q14-q15	?
Pyridoxine-D dependent Epilepsy	5q31	?
Childhood absence epilepsy and febrile seizures	5q34	GABRG2
Juvenile myoclonus epilepsy (EJM1)	6p21.2-p11	?
Adolescent-onset idiopathic generalized epilepsy	8p11.2	?
Familial febrile seizures (FEB1)	8q13-q21	?
Benign adult type familial myoclonus epilepsy (BAFME)	8q23-q24	?
Benign neonatal epilepsy type 2 (EBN2)	8q24	KCNQ3
Childhood absence epilepsy (CAE)	8q24	?
Temporal lobe epilepsy (EPT)	10q23.3-q24.1	?
Episodic ataxia type-1 with partial epilepsy	12p13	KCNA1
IGE	14q23	?
Juvenile myoclonus epilepsy	15q14	?
Nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE)-2	15q24	?
Rolandic epilepsy with writer's cramp	16	?
Infantile convulsions and paroxysmal choreoathetosis	16p12-q12	?
Autosomal Recessive Idiopathic Myoclonic Epilepsy	16p13	?
Familial febrile convulsions (FEB2)	19p13.3	?
Benign familial infantile convulsion	19q12	?
Febrile seizures and generalized epilepsy	19q13.1	SCN1B
Benign neonatal epilepsy type 1 (EBN1)	20q13.2	KCNQ2
Nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE)-1	20q13.2	CHRNA4
Familial partial epilepsy with variable loci	22q11-q12	?
Progressive myoclonus epilepsy		
Gaucher's disease (type II & III)	1q21-q31	β -glucocerebrosidase
Sialidoses type I & II	6p21.3	lysosomal neuraminidase
Sialic acid storage diseases (SASD); Salla disease	6q14-q15	AST(anion transporter)
Galactosialidosis	20q13.1	lysosomal protective protein/cathepsin A
Tay-Sachs disease (GM2 gangliosidosis type I & III)	15q23-q24	hexosaminidase α -s subunit
PME (progressive myoclonus epilepsy) of Lafora type	6q24	EPM2A
PME of Unverricht-Lundborg type (EPM1)	21q22.3	cystatin B
MERRF	mitochondria	tRNA(Lys)
Northern epilepsy syndrome (EPMR)	8pter-p22	CLN8
Ceroid lipofuscinosis, infantile type (CLN1)	1p32	palmitoyl-protein thioesterase
Ceroid lipofuscinosis, late infantile type (CLN2)	11p15	lysosomal peptidase
Ceroid lipofuscinosis, juvenile type (CLN3)	16p12	CLN3
Ceroid lipofuscinosis, late infantile (CLN5)	13q21.1-q32	CLN5
Ceroid lipofuscinosis, late infantile variant (CLN6)	15q21-q23?	
<u>Others</u>		
Childhood progressive epilepsy	8p	?
Dentatorubral pallidolysian atrophy (DRPLA)	12p13.31	Drp1a
Angelman syndrome	15q11-q13	UBE3A
Prader-Willi syndrome	15q11-q13	?
Myoclonus-Dystonia	7q21-q31	?

今回の報告

ナトリウムチャンネルの構造-1



ナトリウムチャンネルの構造-2



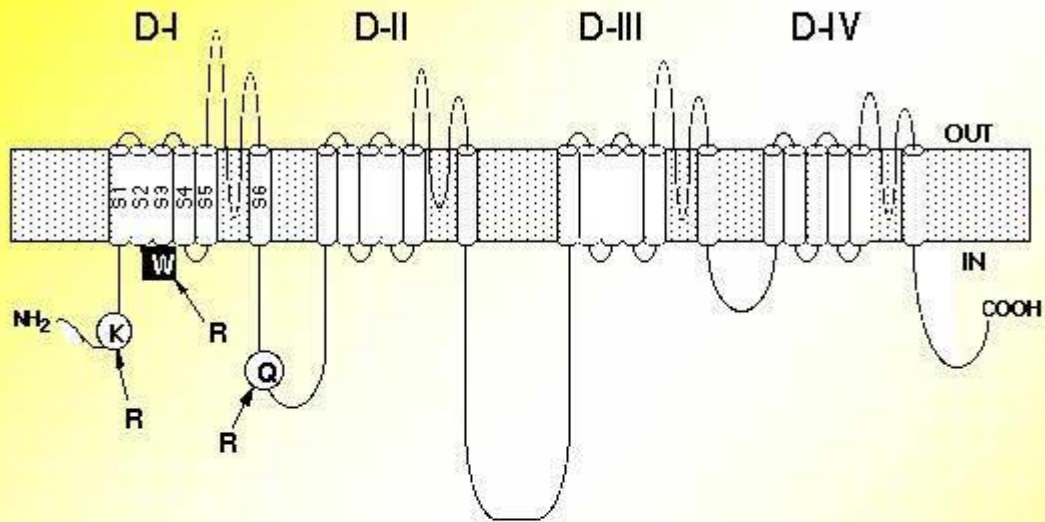
膜電位依存性ナトリウムチャンネル α サブユニット

	別名など	染色体座	発現部位	疾患
Nav1.1 (SCN1A)	Brain type I	2q24	脳、脊髄	GEFS+
Nav1.2 (SCN2A)	Brain type II	2q24	脳、脊髄	GEFS+
Nav1.3 (SCN3A)	Brain type III	2q24	脳、脊髄	
Nav1.4 (SCN4A)	Na α 1 H1	17q23-25	骨格筋	先天性パラミオトニア 周期性四肢麻痺
Nav1.5 (SCN5A)	Na α 2 SkM1	3q21	心筋	QT延長症候群
Nav1.6 (SCN6A/SCN7A)	Na-G SCL-11	2q21-23	心臓、子宮 神経節	
Nav1.8 (SCN8A)	NaCh6	12q13	脳、脊髄、 神経節	(マウス運動神経異常)
Nav1.9 (SCN9A)	hNE-Na PN1	2q24	後根神経節 副腎、甲状腺	
Nav1.10 (SCN10A)	SNT-TTxi PN3, SNS	3q21	後根神経節	
Nav1.11 (SCN11A)	NaN SNS2	-	後根神経節 三叉神経節	

膜電位依存性ナトリウムチャンネル β サブユニット

	別名など	ヒト	発現部位	疾患
β 1-subunit (SCN1B)		19q13.1	脳、脊髄、心筋 骨格筋	GEFS+
β 2-subunit (SCN2B)		11q23	脳、他?	

GEFS+の患者さんで見つかったNav1.2変異



1. R19K
2. R187W (疾患変異)
3. R524Q

Sugawara et al. PNAS 2001

GEFS+の患者さんで見られた ナトリウムチャンネルの変異

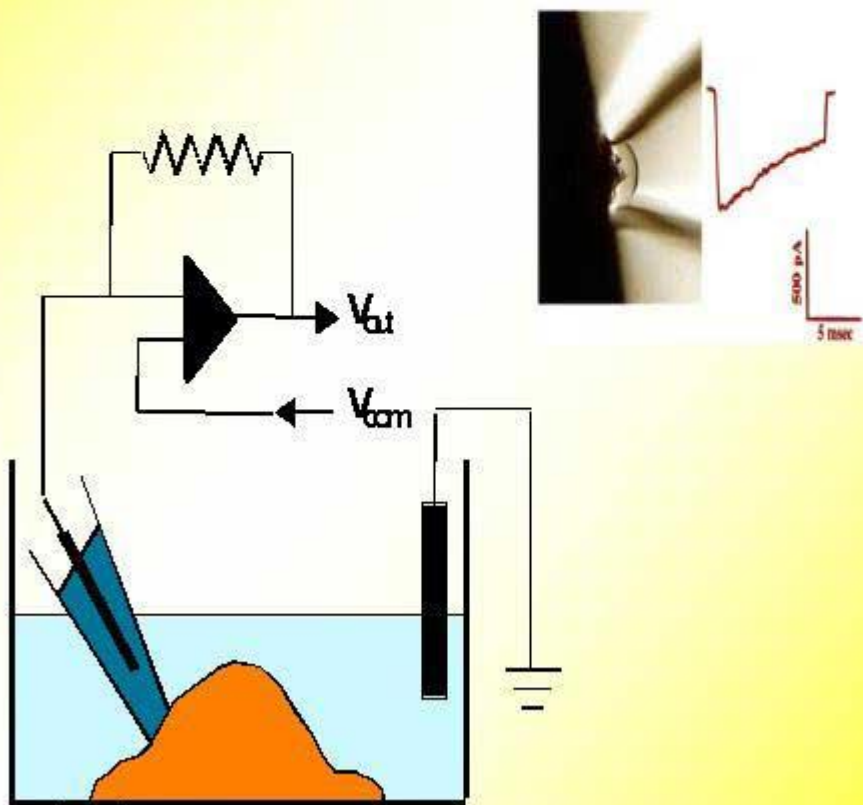
Patient	Missense Mutation						
	<i>Nav1.2</i>			<i>Nav1.1</i>			<i>beta</i>
P1	Ex 1 Arg19Lys	Ex 4 Arg187Trp	Ex 10 Arg524Gln	-	-	-	-
P2	-	-	Ex 10 Arg524Gln	-	-	Ex26 Ala1683Val	-
P3	Ex 1 Arg19Lys	-	-	-	-	-	-
P4	Ex 1 Arg19Lys	-	-	-	-	-	-
P5	Ex 1 Arg19Lys	-	-	-	-	-	-
P6	Ex 1 Arg19Lys	-	-	-	-	-	-
P7	-	-	-	Ex16 Thr1067Ala	Ex21 Val1428C	-	-
P8	-	-	-	Ex16 Thr1067Ala	-	-	-
P9-P19	-	-	-	-	-	-	-
control	9/12	0/12	1/162	20/103(hetero) 2/103(homo)	0/12	0/12	-
conserve	medium	100%	medium	low	100%	high	

Bold characters indicate disease mutations.

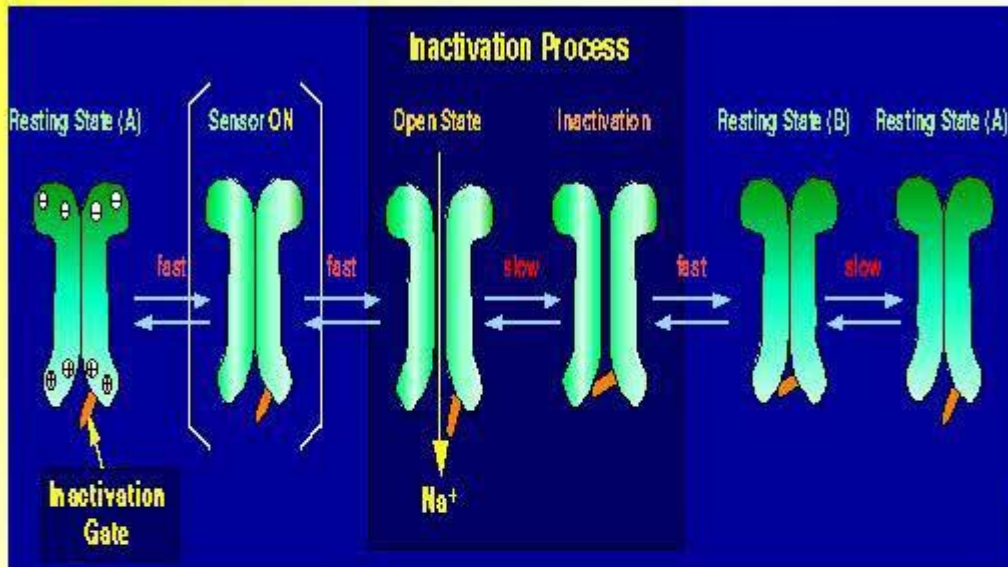
-: No mutation was detected.

パッチクランプ法

ナトリウムチャンネルを強制発現させた培養細胞に、先端口径 $1\mu\text{m}$ 程度のガラス電極を押しつけて穏やかに吸引すると膜と電極が密着して電氣的に絶縁され、膜表面上に存在するチャンネルを通る電流を測定することが出来る。

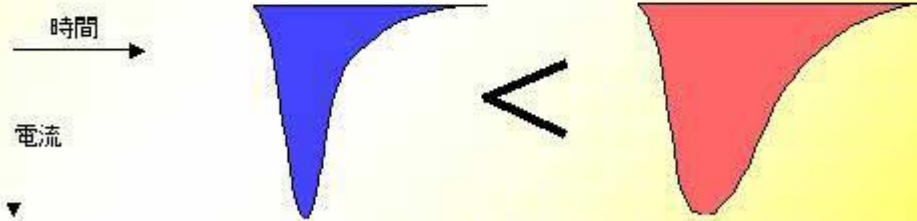


ナトリウムチャンネルの活性化・不活化



野生型

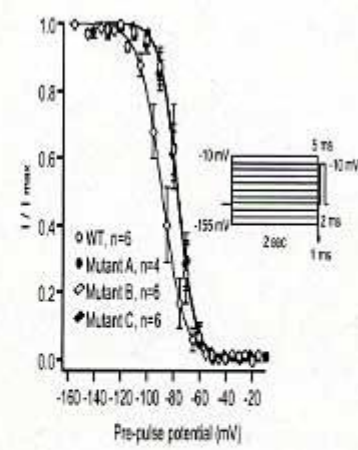
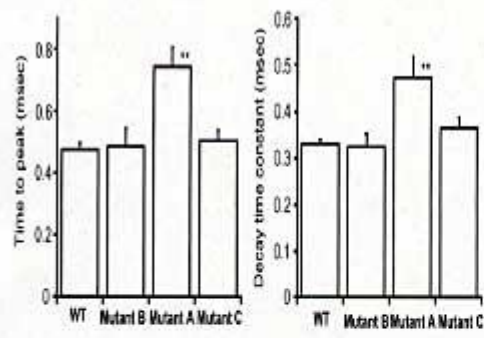
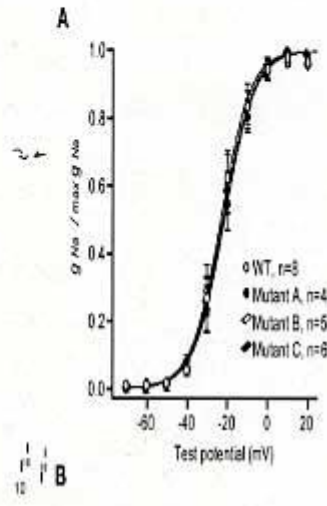
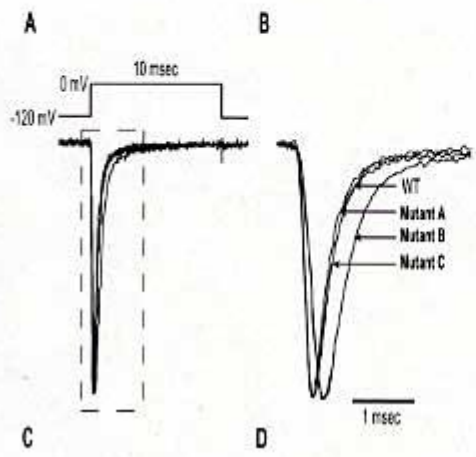
変異型



QT延長症候群、先天性
パラミオトニアで見ら
れるナトリウムチャン
ネルの機能異常

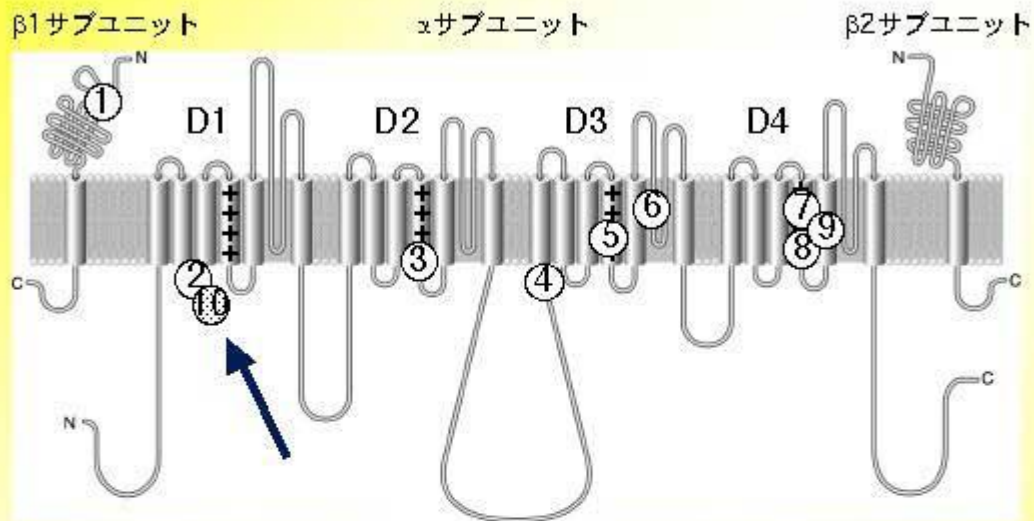
Nav1.2-R187W疾患変異の パッチクランプ解析データ

Mutant B: R187W



これらのデータ（チャンネル不活化の遅延、定常時不活化曲線の過分極側へのずれ）は、R187Wが疾患変異であることを示している。

β 1 , Nav1.1, Nav1.2で見つかった疾患変異



- ① : 今までに報告されたβ 1 の疾患変異
- ②～⑨ : 今までに報告されたNav1.1の疾患変異

⑩: 今回同定したNav1.2の疾患変異
R187W
(Sugawara et al. PNAS 2001)

Nav1.2での疾患変異の報告は世界初

ナトリウムチャンネルの機能ドメイン

