30-6 運動症状を主症状とする小児期発症稀少難治性神経疾患研究

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター 佐々木征行

総括研究報告

1. 研究目的

小児の①Movement disorders(ジストニアなどの不随意運動症),②小脳性運動失調症、③痙性対麻痺、そして④発達性てんかん性脳症(DEE: Developmental and epileptic encephalopathy. 大田原症候群;EIEE、West症候群など)を主な対象とする。いずれも発症頻度が低く通常検査で原因確定困難である。近年これらの疾患では、原因遺伝子が確定され分子レベルで病態が解明されつつある。本研究班では以下の研究を行う。

- 1) 患者疫学調査。上記該当患者を登録して臨床像 (神経学的所見、頭部画像所見等)を記録。
- 2) 患者参加型の登録レジストリの確立。
- 3) 次世代シークエンサーによる遺伝子解析で原因 遺伝子探索を行う。ターゲットスクリーニングや必 要に応じて全エクソーム解析を実施。
- 4) 遺伝子診断などで確定した疾患について、その 臨床像から診断ガイドライン(診断マニュアル)を 作成。遺伝子情報から分子生物学的病態について検 討し、治療研究を目指す。

2. 研究組織

主任研究者: 佐々木征行 国立精神・神経医療研究 センター病院小児神経科

分担研究者:

加藤光広 昭和大学医学部小児科

遠山 潤 国立病院機構西新潟中央病院神経小児科

松本直通 横浜市立大学医学研究科遺伝学

井上 健 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究2部

佐藤典子 国立精神・神経医療研究センター病院

放射線診療部

齋藤貴志 国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科

石山昭彦 同上

竹下絵里 同上

本橋裕子 同上

3. 研究成果

- 1) 小児の小脳性運動失調症の全国調査をまとめ論 文発表した¹⁾。続いて小児のジストニアの疫学調査 を実施準備している.
- 2) 発達性てんかん性脳症(DEE)において、新規原因遺伝子を複数(PRUNE1, SMC1A²⁾など)見出した。DEE の原因遺伝子探索のため全エクソーム解析を実施し、新たな異常を見出しつつある³⁾。全エクソーム解析(WES)は短鎖シーケンスを用いることが一般的であるが、この方法では診断できず、長鎖シーケンスを用いて初めて異常を見出した進行性ミオクローヌスてんかん家系を経験し、長鎖シーケンスを用いた WES の有用性を示した⁴⁾。
- 3) Pelizaeus-Merzbacher 病で PLP 蛋白の産生や 組み立てに影響を与えるクルクミン治療を試みた。1年間の治験を 9 例で行い結果を集計中である。
- 4) *CACNA1A* 異常を呈す発作性失調症 2 型患者に 単線維針筋電図で jitter を見出し⁵⁾、電気生理学的 検査で本遺伝子異常を疑えることを示した。

4. 研究成果刊行一覧

- 1. Ono H, Shimizu-Motohashi Y, Maruo K, Takeshita E, Ishiyama A, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M: Childhood-onset cerebellar ataxia in Japan: A questionnaire-based survey. Brain Behav. 2019, Oct;9(10):e01392. doi: 10.1002/brb3.1392.
- Oguni H, Nishikawa A, Sato Y, Otani Y, Ito S, Nagata S, <u>Kato M</u>, Hamanaka K, Miyatake S, <u>Matsumoto N</u>. A missense variant of *SMC1A* causes periodic pharmaco-resistant cluster seizures similar to *PCDH19*-related epilepsy. Epilepsy Res. 2019 Sep;155:106149. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2019.06.001.
- 3. Takata A, <u>Tohyama J</u>, <u>Sasaki M</u>, <u>Kato M</u>, <u>Matsumoto N</u>, et al. Comprehensive analysis of coding variants highlights genetic complexity in

- developmental and epileptic encephalopathy. Nat Commun. 2019 Jun 7;10(1):2506. doi: 10.1038/s41467-019-10482-9.
- 4. Mizuguchi T, Suzuki T, Abe C, Umemura A, Tokunaga K, Kawai Y, Nakamura M, Nagasaki M, Kinoshita K, Okamura Y, Miyatake S, Miyake N, Matsumoto N. A 12-kb structural variation in progressive myoclonic epilepsy was newly identified by long-read whole-genome sequencing. J Hum Genet. 2019 May;64(5):359-368. doi: 10.1038/s10038-019-0569-5.
- 5. Hirasawa-Inoue A, <u>Ishiyama A</u>, <u>Takeshita E</u>, <u>Shimizu-Motohashi Y</u>, <u>Saito T</u>, Komaki H, Nakagawa E, Yuasa S, Saitsu H, Hamanaka K, Miyatake S, <u>Matsumoto N</u>, <u>Sasaki M</u>. Single-fiber electromyography-based diagnosis of *CACNA1A* mutation in children: A potential role of the electrodiagnosis in the era of whole exome sequencing. Brain Dev. 2019 Nov; 41(10): 905-909. doi: 10.1016/j.braindev.

ATP1A3 関連神経疾患で認める小脳萎縮

分担研究者:国立精神・神経医療研究センター病 院小児神経科 佐々木征行

研究協力者:同上 石山昭彦、本橋裕子、

竹下絵里、齋藤貴志、住友典子

同放射線診療部 佐藤典子

福岡大学医学部小児科 石井敦士、廣瀬伸一横浜市大遺伝学 松本直通

【はじめに】 ATP1A3 関連神経疾患には、①小児交互性片麻痺 1) (AHC: Alternating hemiplegia of childhood)、② RDP2) (Rapid-onset dystonia-Parkinsonism: DYT12)、③CAPOS3) (Cerebellar ataxia with pes cavus, optic atrophy, and sensory neural hearing loss)、④熱誘発性発作性脱力・脳症 4) (FIPWE: Fever-induced paroxysmal weakness and encephalopathy) / 小脳失調を伴う 再発性脳炎 5) (RECA: Relapsing encephalopathy with cerebellar ataxia)、⑤新生児期発症重度でんかん性脳症 6)などの病型が報告されている。

我々は、一昨年度はこれらの診断基準を整理した 7 。昨年度はATP1A3遺伝子変異を「反復する麻痺発作を伴わず緩徐進行性小脳失調症を主症状とした2小児例」に見出し、これまでに報告のない「緩徐進行性小脳失調型ATP1A3変異: Slowly progressive cerebellar ataxia: SPCA型」と呼ぶことを提案した 8 。

ATP1A3 関連神経疾患においては、頭部画像学的検討では脳形態に異常を来さないということがこれまで大きな特徴とされてきた。しかし、昨年我々が報告した SPCA 型の 2 症例においては、すでに小児期より小脳萎縮を認めていた。

今年度は、ATP1A3 関連神経疾患での小脳萎縮の有無と、小脳萎縮を認める際の小脳形態の特徴について検討した。

【対象と方法】当小児神経科を受診し、遺伝子検査で ATP1A3 異常を認めた 20 例を対象とした。年齢は 2 歳から 50 歳にわたっていた。臨床診断は、AHC 15 例、RECA 1 例、SPCA 2 例である。それぞれの患者で頭部 MRI を施行し、小脳萎縮の有無を検討した。

【結果】AHC においては 9 例で小脳萎縮を認めた。RECA 例には小脳萎縮を認めず、SPCA の 2 例はいずれも軽度の小脳皮質萎縮を認めた。

小脳萎縮を認めた 11 例では全般的な小脳皮質萎縮が共通した所見であった。この中で純粋な小脳萎縮だけを認めた例が 4 例、小脳萎縮に加えて前頭葉および海馬萎縮を伴った例が 7 例あった。後者の 7 例はいずれもけいれん重積を繰り返し、知的退行および運動退行が著しくいずれも常時臥床の状態であった。

一方小脳萎縮だけを認めた 4 例では、いずれも 緩徐進行性の小脳性運動失調を認めた。

【考察】ATP1A3がコードする Na+/K+-ATPase α3 サブユニットは大脳皮質・基底核および小脳皮質に多く発現していることが知られている ๑。そのため ATP1A3の変異により Na+/K+-ATPase α3 サブユニットの発現量や機能に異常を来し、ATP1A3 関連神経疾患では大脳皮質、基底核あるいは小脳の異常に由来する症状を呈すると考えられる。本症においては、てんかん・知的障害・不随意運動症・小脳失調などを組み合わせた様々な症状が起き得ることは、この遺伝子産物の発現部位と大いに関連があるといっていいだろう。

ATP1A3関連神経疾患では発症当初は頭部MRIで脳形態異常がないことがほとんどであるが、その進行過程でとくに小脳性運動失調症を来す例では緩徐進行性小脳皮質萎縮を来す症例が半数近くある100ことから、小脳皮質萎縮は本症では比較的ありふれた画像所見である可能性が想定される。

ATP1A3 関連神経疾患では、突発性あるいは反

復性の臨床症状が疾患の大きな特徴と考えられていた。しかし我々の報告した SPCA 型が存在することから考えて、必ずしも突発性あるいは反復性が *ATP1A3* 関連神経疾患で絶対必要な条件とは限らないことが分かった。つい最近は小児の統合失調症 ¹¹⁾や自閉スペクトラム症 ¹²⁾の患者からも *ATP1A3* 異常が見出され、疾患概念が広がりつつある。

SPCA型 ATP1A3 関連神経疾患は臨床的には孤発性小脳性運動失調症であった。おそらく、原因不明で家族歴のない小脳性運動失調症の中に本遺伝子異常を持つ症例も含まれている可能性がある。

【参考文献】

- Sasaki M, Ishii A, Saito Y, et al. Genotypephenotype correlations in alternating hemiplegia of childhood. *Neurology*. 2014; 82: 482-490.
- Brashear A, Dobyns WB, de Carvalho Aguiar P, et al. The phenotypic spectrum of rapidonset dystonia-parkinsonism (RDP) and mutations in the ATP1A3 gene. *Brain*. 2007;130:828-835.
- 3. Demos MK, van Karnebeek CD, Ross CJ, et al. A novel recurrent mutation in ATP1A3 causes CAPOS syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2014;9:15.
- 4. Yano ST, Silver K, Young R, et al. Fever-Induced paroxysmal weakness and encephalopathy, a new phenotype of *ATP1A3* mutation. *Pediatr Neurol.* 2017;73:101-105.
- 5. Dard R, Mignot C, Durr A, Lesca G, Sanlaville D, Roze E, Mochel F. Relapsing encephalopathy with cerebellar ataxia related to an ATP1A3 mutation. Dev Med Child Neurol. 2015 Dec;57(12):1183-1186.
- 6. Paciorkowski AR, McDaniel SS, Jansen LA, et al. Novel mutations in *ATP1A3* associated

- with catastrophic early life epilepsy, episodic prolonged apnea, and postnatal microcephaly. *Epilepsia*. 2015;56:422-430.
- 7. <u>佐々木征行</u>. 小児期に発症する小脳失調症を来す疾患に関する研究. 精神・神経疾患研究開発費 27-5 「運動症状を主症状とする先天性発達期脳障害に関する研究」総括研究報告書. 62-69, 2018, 3 月.
- 8. <u>佐々木征行</u>. 緩徐進行性小脳失調を主症状とする、これまでに報告のない *ATP1A3* 関連神経疾患. 精神・神経疾患研究開発費 30-6 「運動症状を主症状とする小児期発症希少難治性神経疾患研究」平成 30 年度報告会抄録集. 6-7, 2018, 12 月
- McGrail KM, Phillips JM, Sweadner KJ.
 Immunofluorescent localization of three Na,
 K-ATPase isozymes in the rat central nervous system: both neurons and glia can express more than one Na K-ATPase. J Neurosc 1991;11:381–391.
- 10. <u>Sasaki M</u>, Ishii A, Saito Y, Hirose S. Progressive brain atrophy in alternating hemiplegia of childhood. *Mov Disord Clin Prac* 2017;4:406-411.
- 11. Smedemark-Margulies N, Brownstein CA, Vargas S, et al. A novel de novo mutation in *ATP1A3* and childhood-onset schizophrenia. *Cold Spring Harb Mol Case Stud.* 2016 Sep;2(5):a001008.
- 12. Torres A, Brownstein CA, Tembulkar SK, et al. *De novo ATP1A3* and compound heterozygous *NLRP3* mutations in a child with autism spectrum disorder, episodic fatigue and somnolence, and muckle-wells syndrome. *Mol Genet Metab Rep.* 2018 Jun 15;16:23-29.

精神·神経研究開発費 30-6

演題名:福山型先天性筋ジストロフィー患者 における新しいMR知見

氏名 佐藤典子、井上綾香、重本蓉子、木村有 喜男、石山明彦、竹下絵里、森まどか、大矢寧、 高橋祐二、小牧宏文、佐々木正行

所属 国立精神・神経医療研究センター病院 放射線診療部、小児神経科、神経内科

諸言

福山型筋ジストロフィーは Fukutin 遺伝子変異を来す先天性筋ジストロフィーで、症状は筋緊張低下や発達障害を主とし、また特徴的な MR 所見を示す。1990 年代に相田等は、大脳や小脳の皮質形成異常、小脳の嚢胞、白質の異常信号などの MR 所見について詳細に検討・報告しているが、それ以降まとまった報告はない。最近我々は T2, FLAIR, DIR (double inversion recovery)にて脳幹の異常信号や、SWI (susceptibility-weighted image)にて大脳の静脈の異常や出血などの、今まで報告されていない MR 所見に気づいた。今回我々は過去の MR 画像を、上記所見を含め後方視的に検討した。

対象と方法

NCNP に 2006 年から 2018 年の間に受信した患者の内、臨床的・遺伝子学的に福山型筋ジストロフィーと診断された症例は 54 例であった。脳幹評価のために axial T2WI と FLAIR を必須と定義し、それ等のシークエンスがない27 例を除外し、最終的には 27 例を評価の対象とした。27 例全例に 3D あるいは 2D T1WIと、axial T2WIと FLAIR が撮像されている。

またその内 6 例の患者にて DIR が、5 例にて SWI が撮像されていた。評価項目と評価にて 使用したシークエンスは以下である。脳幹の 表面のけば立った構造 (T2WI)、脳幹表面の異常高信号 (T2WI, FLAIR, DIR)、皮質表面直下を 走行する異常血管 (T2WI)、表在と深部静脈の 異常 (SWI)、実質内の出血 (T2WI, SWI)。そ の他脳幹の低形成や大脳の皮質形成異常、小脳の嚢胞、白質の異常信号等も評価した。

結果

脳幹は27例全例低形成で、脳幹表面の毛羽立ちは26/27例(96%)に認めた。脳幹表面の異常高信号はT2WI,FLAIR,DIRで、それぞれ26/27例(96%)、23/27例(85%)、6/6例(100%)認めた。皮質表面直下を走行する異常血管は3/27例(11%)に、SWIにて前頭部の表在静脈の低形成は5/5例(100%)に、深部静脈の拡張を2/5(40%)に認めた。脳内出血はT2WIで3/27(11%)に、SWIでは2/5(40%)に認めた。小脳の嚢胞は27例全例に、大脳の多少脳回様の異常皮質も27例全例に、肥厚脳回は4/27例(15%)に、大脳白質の異常信号は全例に認めた。

考察

福山型筋ジストロフィーは muscle-eye-brain disease, Walker-Warburg disease などと共に、 α -dystroglycan (DG) を伴う先天性筋ジストロフィーの疾患群に含まれる。この疾患群は α - DG の糖鎖修飾の異常のために、基底膜への laminin の assembly がうまくおこなわれず,グリア境界膜—基底膜複合体の破綻が生じて、神経細胞のクモ膜下腔への過遊走,大脳の層構造の乱れ,さらには脳回形成の異常などが生じる疾患群である。この現象は大脳だけでなく、脳幹にも認められ、今回指摘

した脳幹表面の構造や信号異状はその病理を 反映したものである。また出血も高い頻度で 認めた。その理由は、静脈の還流異常あるい は血管壁そのものの異常が考えられる。

結論

脳幹表面の異常構造や信号、大脳の静脈システムの異常は福山型筋ジストロフィーの特徴的なMR所見で、画像診断において有用である。またこの疾患は高率に脳内出血も合併することにも留意すべきである。

参考文献

- Aida N, et al. Brain MR in Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy AJNR Am J Neuroradiol 17:605-613, 1996
- Aida N, et al. Cerebellar MR in Fukuyama congenital muscular dystrophy: polymicrogyria with cystic lesions AJNR Am J Neuroradiol 15(9):1755-9,1994
- 3. Saito Y, et al. Aberrant Neuronal Migration in the Brainstem of Fukuyama-Type Congenital Muscular Dystrophy. J of Neuropathology and Experimental Neurology 62(5):497-508,2003

Pelizaeus-Merzbcher 病に対するクルクミンによる新規治療法開発に関する研究

分担研究者:

国立精神・神経医療研究センター 神経研 究所 疾病研究第二部 井上 健 研究協力者:

国立精神・神経医療研究センター病院小児 神経科 山本晃代、本橋裕子、石山昭彦、 佐々木征行

【緒言】

PMDは、重度の運動発達遅滞を伴う遺伝 性小児神経疾患である。これまでに症状を 緩和する対症療法以外に、疾患の原因を標 的とした根治療法は見出されていない。原 因遺伝子は CNS 特異的な髄鞘膜蛋白質をコ ードする PLP1 で、最も頻度が高いゲノム 重複変異や主にアミノ酸置換を伴う点変異 が知られている。これまでにモデル動物を 用いた解析により、重複及び点変異の両方 にウコンに含まれる活性ポリフェノール成 分であるクルクミンの有効性が示唆されて いる(1,2)。クルクミンは、食品として広 く市販され、小児においても安全性の高い ものである。本研究でその有効性が確立さ れれば、極めて安全性が高く、かつコスト も安価であり、すぐに実用化することが可 能であることから、臨床的な有用性が極め て高い。そこで本研究では、ヒト PMD 患者 に対するクルクミンの有効性を検証するた めに、オープンラベル臨床試験を実施し、 臨床評価尺度、MRI 画像による髄鞘化評 価、電気生理学的検査により治療効果の検 証を行う。

【方法】

本研究は自己対照症例オープン試験で、同一患者群の介入前後比較によるコホート研究となる。クルクミンの有効性ならびに安全性の確認をエンドポイントとする。未治療時を対照とし、用量漸増を実施する。対象者は、点変異および重複変異のいずれかのPLP1遺伝子変異を有するPMD患者10名である。年齢は5歳以上20歳未満とする。患者のリクルートは患者親の会を通じて行なう。臨床情報は、所定の臨床情報提供書を用いて収集し、臨床症状の変化については臨床評価尺度(運動機能の評価尺度:粗大運

動能力尺度 Gross Motor Function Measure: GMFM、日常生活動作を含む臨床症状の評価尺度: PMD 機能障害スコア PMD Functional Disability Score:PMD-FDS) を用いて経時的に評価する。髄鞘化の評価は頭部MRI 画像から得られる髄鞘化尺度により評価する。電気生理学的検査は聴覚脳幹反応を用いる。ともに投与開始前と後で評価し、投与前からの変化量を統計学的に検定する。試験期間は12ヶ月で、低用量投与(2ヶ月、1mg/kg/day、1日1回経口投与)、高用量投与(10ヶ月、4mg/kg/day、1日1回経口投与)とする。

【結果】

昨年までに本センター倫理委員会にて承認を得た。本年度は、新臨床研究法に準拠し、特定臨床研究として申請と承認を得た。9名の患者をリクルートし、臨床試験を開始した。変異の内訳は、点変異3名(うち1名はnull変異による軽症型)、重複5名、三重複1名である。全ての症例において、有害事象なく、服用を完遂し、評価を終了した。

【結論】

本年度は、9名の研究参加者について、 オープンラベル試験による臨床研究を終了 した。有害事象は見られず、途中脱落もな かった。現在、治療効果についての詳細な 評価を行なっているところである。

【考察】

クルクミンを用いた PMD に対する治療研究を 9名の参加者について、実施し、中途での脱落なく終了した。有害事象は見られなかった。本研究の実施により有効性が確認された場合には、本邦発世界初の PMD 治療薬としての実用化が期待される。

【参考文献】

- Yu L-H, Morimura T, Numata Y, Yamamoto R, Inoue N, Antalfy B, Goto Y, Deguchi K, Osaka H, Inoue K. Effect of curcumin in a mouse model of Pelizaeus-Merzbacher disease. Mol Genet Metab 2012;106:108-114.
- Epplen, D.B., Prukop, T., Nientiedt, T., Albrecht, P., Arlt, F.A., Stassart, R.M., et al. (2015). Curcumin therapy in a Plp1 transgenic mouse model of Pelizaeus-Merzbacher disease. Ann Clin Transl Neurol 2(8), 787-796.

分担研究者

国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科 齋藤 貴志

【目的】結節性硬化症および、片側巨脳症、限局性皮質異形成では、PI3K-AKT-mTOR系の異常が発症に関与し、てんかん発作をはじめとする運動症状、知的障害、発達障害などの原因となることが明らかになってきている。しかし、PI3K-AKT-mTOR系の異常がてんかんの発症、また、結節性硬化症ではそれに加え行動異常をはじめとする症状をきたす病態は、不明な部分が多く残されている。このため、難治てんかんの治療として行われたてんかん外科手術として得られた試料を用いて、PI3K-AKT-mTOR系異常の代表的疾患である結節性硬化症の病態を探索することを計画した。

PI3K-AKT-mTOR 系異常による代表的な 中枢神経疾患である結節性硬化症および限 局性皮質異形成 2b 型では、dysmorphic neuron、balloon cell と呼ばれる特異な形状 を持つ細胞の出現が特徴的であり、これら の細胞は、mTOR 系の活性を強く示す。中 でも balloon cell は、神経細胞あるいはアス トロサイトとも分類さず、vimentin、PAX6、 SOX2 などの radial glia の性質を示す蛋白 を発現している、という特徴が見られる。 特に、PI3K-AKT-mTOR の活性亢進によっ て出現する異常細胞である Balloon cell は、 中枢神経の発生期における PI3K-AKTmTOR の細胞への影響を考察する上で重 要であり、特性について明らかにすること を考えた。

なお、本研究は倫理委員会 (A2019-004) およびバイオバンク利活用委員会 (NCNPBB-0072)の承認を受けた。

【方法】(1)てんかん外科手術症例をバイオバンクに登録する。2017 年 11 月以降の手術例は登録されているが、それ以前に治療された例は登録されていない。このため、同時期以前の症例のバイオバンクへの登録を行った。(2)バイオバンクに登録した症例の組織学的検討を行う。

【結果】(1)2019年11月までに、新たに44例の登録を行った。(2)バイオバンクに登録した症例の試料を用いて現在、結節性硬化症(8例)、限局性皮質異形成2a(5例)および2b型(8例)の症例の免疫組織化学的検討を行っている。

【その他】

SPASTは、spastic paraplegia 4 型(SPG4)の原因遺伝子として知られる。本遺伝子のp.Arg499His 変異により、14 か月時に下肢の痙性が出現、3 歳時には二語文以上の発語が可能であったが、徐々に症状が下肢から上行性に進行し、9 歳時に上肢の麻痺、および構音障害が出現し、12 歳で失構音が出現した。頭部 MRI の T2 強調像では、加齢と共に内包後脚の高信号が認められた。臨床的に、infantile onset ascending hereditary spastic paralysis (IAHSP)と診断した。全エキソーム遺伝子解析では SPAST にp.Arg499His の変異が明らかとなった。こ

の変異は、過去にも IAHSP1 例、および早期発症の形成追麻痺の原因として報告されている。本症例もこれらの報告に一部共通する特徴を持っており、SPASTのp.Arg499His変異は、SPG4とは異なる臨床型と関連していると考えられた $^{1)}$ 。

文献

1) Ogasawara, M., Saito, T., Koshimizu, E., Akasaka, N., & Sasaki, M. A p.Arg499His Mutation in SPAST Is Associated with Infantile Onset Ascending Spastic Paralysis Complicated with Dysarthria and Anarthria. Neuropediatrics 2019; 50(06): 391-394.

運動症状を主症状とする小児期発症稀少難 治性神経疾患の診断マニュアル作成 -CACNA1A 変異による表現型の評価にお ける単一筋線維筋電図の有用性についての 検討-

分担研究者 石山昭彦 所属機関名 国立精神・神経医療研究セン ター病院 小児神経科

【緒言】小児期発症の稀少難治性神経疾患 領域では、近年の遺伝子解析技術の進歩に より新しい原因遺伝子が同定され、分子生 物学レベルでの新しい病態が明らかになっ てきている。一方で臨床的な側面では、病態 解析に遅れをとっていると言わざるを得な いのが現状であり、臨床的な視点に立って の表現型の分類や検査所見との関連、分子 生物学的な病態と身体所見との関連につい ての見直しの必要性に迫られている。この ように稀少疾患で知り得た新しい知見を実 臨床の場で役立つ形にするためには、新し い知見により知り得た病態に基づき、臨床 的特徴、病型を再考し、ガイドライン(診断 マニュアル)等の作成が求められる。今回 は、その1つとして、CACNAIAにおける 臨床病型評価について検討を行った。 CACNAIA はシナプス前終末における P/Q 型カルシウムチャネルをコードし、反 復発作性運動失調症 2 型 (EA2)、脊髄小脳 失調症 6型 (SCA6)、てんかん性脳症、家 族性片頭痛といった神経疾患に関与するこ とが知られている。単一筋線維筋電図は神 経筋接合部機能を評価する手法であるが、

P/Q 型カルシウムチャネルの評価にも用いられる。

【方法】当院において、CACNA1A変異が同定された3例(2-7歳、男児1名、女児2名)を後方視的に見直し、遺伝子変異の確定に至るまでの診断背景、臨床像の特徴について検討を行った。臨床像の評価にあたり、客観的な根拠となりうる電気生理学的評価としての単一筋線維筋電図(single fiber electromyography; SFEMG)では、筋内軸索を電気刺激し得られた single fiber potentialを計測する stimulated SFEMG にて行った。

【結果】 CACNAIA 変異が同定された 3 例 の遺伝子確定前の臨床診断は、反復発作性 運動失調症 2 型、てんかん性脳症、小児交 互性片麻痺であった。SFEMG の jitter の評 価項目である mean consecutive difference (MCD)値はいずれの症例も 41.6-68.7 us (range 14.5-169.8 us)であり、>25 us と異常 所見を呈しており、 CANNAIA 変異が有意であることを示す客観的根拠となりえた。

反復発作性運動失調症 2 型と診断していた 1 例は SFEMG 後に遺伝子変異が確定しているが、他の 2 例では CACNA1A 変異同定後に表現型として矛盾ないかの評価を改めて行う目的で SFEMG を実施していた。遺伝子診断確定前に小児交互性片麻痺と診断していた 1 例では、CACNA1A 変異確定後、診断再考のために SFEMG を実施し、反復発作性運動失調症 2 型の診断に至っていた。遺伝子変異同定前に反復発作性運動失調症と診断していた例では、両親の遺伝子解析のための検体採取が困難であった例でsegregation studyを実施することが出来

なかった症例であり、客観的評価としての SFEMG が有用であった。

【考察】次世代シークエンスによる解析で遺伝子変異の解析が可能となった昨今において、遺伝子が大きく新規変異の場合、時に臨床評価の再考も大切であるが、その再評価に際して単一筋線維筋電図の有用性も再認識された。また、ATP1A3変異による運動症状を主症状とするような小児交互性片麻痺のような疾患においては、反復発作性運動失調症も鑑別として挙げる必要があり、通常の診断評価としても見直されるべき検査法ではないかと考えられた。

種々の遺伝子変異と臨床的評価法の検討 を行いつつ、引き続き、有用性のある診断マ ニュアル作成を継続していく。

【参考文献】

1. Hirasawa-Inoue A, Ishiyama A, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Yuasa S, Saitsu H, Hamanaka K, Miyatake S, Matsumoto N, Sasaki M. Single-fiber electromyography-based diagnosis of *CACNA1A* mutation in children: A potential role of the electrodiagnosis in the era of whole exome sequencing. Brain Dev. 2019; 41(10): 905-909.

知的障害や不随意運動を合併する小児期発症の小脳性運動失調症患者に対する SARA と ICARS の有用性に関する研究

分担研究者:国立精神・神経医療研究センター病 院小児神経科 本橋裕子

共同研究者:同上 住友典子、石山昭彦、竹下絵 里、齋藤貴志、佐々木征行

【はじめに】小児期発症の小脳性運動失調症は多様な原因疾患を含む病態であり、原因疾患として脊髄小脳変性症、先天性の脳形成障害、代謝性疾患、腫瘍、感染などが挙げられる。運動失調の客観的重症度評価系としてInternational Cooperative Ataxia Rating scale (ICARS)やScale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)などがある。これらの評価系には、患者の年齢、筋力の程度、他の不随意運動の存在が得点に影響を与えることが報告されている [1-3]。特に、幼少児では得点が高く出る傾向があり(得点が高い=運動失調が重症)、更に値の変動も大きいとされている [1]。

我々はこれまでに「小児期発症の小脳性運動失調 症患者に関する質問票調査」(精神・神経疾患研究 開発費、課題番号 27-5「運動症状を主症状とする 先天性発達期脳障害に関する研究」)を実施してお り、日本小児神経学会が認定する小児神経専門医 への質問票調査を行うことで小児期発症の小脳性 運動失調症患者の診療実態を調査した。その結果、 小児期発症の小脳性運動失調症の原因として本邦 で最も多いのは DRPLA、ataxia telangiectasia、 Joubert syndrome and related disorders である ことが明らかとなった[4]。これらの患者には、知 的障害や不随意運動を合併することが多い。その ため、本邦で見られる小児期発症の小脳性運動失 調症患者に対して SARA や ICARS を使用する際に は、年齢だけでなく不随意運動や知的障害の影響 を加味した評価が必要であることが多い、という

ことになる。

【目的】知的障害や不随意運動が SARA や ICARS へどのような影響を与え得るかを検討する。

【方法】対象患者は知的障害のみを有する患者、不随意運動のみを有する患者、小脳性運動失調症を有する患者(知的障害・不随意運動の有無は問わない)に対して、2名以上の医師によって SARAと ICARS 評価を実施する。知的障害・不随意運動群においては、得られた得点と、IQ や不随意運動の種類との相関を解析する(本来であれば知的障害・不随意運動群では失調がないので得点はゼロとなるはず)。また、全ての患者群において得られた評価者 2名による得点の、inter-rater reliability を解析する。

【結果】2019 年度までに、5 名の小児患者(6-14歳; DQ/IQ20-65) で SARA と ICARS を実施した。3 名は未診断で、1 名は Glut 1 deficiency、1 名は SCA29 であった。全例、臨床的に失調症状を認めていた。各患者において SARA と ICARS の値に大きな乖離はなかった。

【考察】小児で、何らかの発達の課題を有する患者でも、SARA と ICARS は実施することができた。また、別々の検査である SARA と ICARS の数値に大きな乖離はなく、小児の発達課題を有する場合でも、これらは小脳失調の定量評価指標として有用である可能性が示唆された。今後、評価する数を増やしていく予定である。の不随意運動を有する患者においては未評価であり、今後実施をしていきたい。

【結論】SARA と ICARS は小児の発達課題を有する患者においても、有用であることが示唆された。

【参考文献】

 Lawerman TF, Brandsma R, van Geffen JT, Lunsing RJ, Burger H, Tijssen MA, de Vries JJ, de Koning TJ, Sival DA:

Reliability of phenotypic early-onset

ataxia assessment: a pilot study.

Developmental medicine and child neurology 2016, **58**(1):70-76.

- 2. Sival DA, Pouwels ME, Van Brederode A,
 Maurits NM, Verschuuren-Bemelmans
 CC, Brunt ER, Du Marchie Sarvaas GJ,
 Verbeek RJ, Brouwer OF, Van Der Hoeven
 JH: In children with Friedreich ataxia,
 muscle and ataxia parameters are
 associated. Developmental medicine and
 child neurology 2011, 53(6):529-534.
- 3. Brandsma R, Spits AH, Kuiper MJ,
 Lunsing RJ, Burger H, Kremer HP, Sival
 DA: Ataxia rating scales are agedependent in healthy children.

 Developmental medicine and child
 neurology 2014, 56(6):556-563.
- 4. Ono H, Shimizu-Motohashi Y, Maruo K,
 Takeshita E, Ishiyama A, Saito T, Komaki
 H, Nakagawa E, Sasaki M: Childhoodonset cerebellar ataxia in Japan: A
 questionnaire-based survey. Brain and
 behavior 2019, 9(10):e01392.

小児期発症のジストニアに関する診療録調 査

分担研究者:国立精神・神経医療研究センター病 院小児神経科 竹下絵里

共同研究者:同上 土岐平、本橋裕子、齋藤貴志、 石山昭彦、佐々木征行

【はじめに】小児期にジストニアを発症する疾患 は多岐に渡る。日本では2018年にジストニア診 療ガイドラインが発刊され、臨床特徴と病因から 病型分類を行うことが提唱されている。病因ごと には、遺伝性(DYT シリーズ、NBIA シリー ズ、そのほかの遺伝性疾患)、後天性(周産期脳 障害、感染症、薬剤性など)、特発性(原因不 明) に分類されている。近年、次世代シークエン サーを用いた網羅的遺伝子解析技術の進歩によ り、原因不明とされていた疾患の責任遺伝子が 次々に明らかになっており、特発性とされていた ジストニアの病因が判明する場合もある。過去に 日本で小児期発症のジストニアの臨床像を多数調 査した研究は限られ、2008年、2009年に舟塚ら が小児神経専門医を対象とした質問票調査の結果 を学会発表しているのみで、近年報告はない。

【目的】日本で小児期発症のジストニアに関する 疫学調査を行う。今年度はまず当科での小児期発 症のジストニアの診療実態を明らかにする。

【対象・方法】2014年1月~2019年10月に当科に受診歴のある患者のうち、20歳以下でジストニアを発症した症例を対象に、診療録を後方視的に調査し、症例数、性別、調査時年齢、発症年齢、病因、病状の経過、頭部画像所見、治療について検討した。なお、本研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会にて承認(A2019-117)を得た上で実施した。

【結果】当科の小児期発症のジストニア患者は 152 例 (男 85 例、女 67 例) で、調査時年齢 1 歳 6 か月~54 歳 2 か月 (中央値 15 歳 0 か月)、発症 年齢 0 歳 1 か月~14 歳 6 か月(中央値 2 歳 0 か 月) だった。病因は、遺伝性 104 例 (DYT シリー ズ 45 例 (DYT5 が 8 例、DYT10 が 19 例、DYT12 が 17 例)、NBIA シリーズ 6 例、その他の遺伝性 疾患53例(ミトコンドリア病6例、両側線条体壊 死 5 例、染色体異常 4 例))、後天性 47 例(周産期 脳障害25例、急性脳症後遺症7例、血管性5例)、 特発性1例だった。病状の経過は、停止性88例、 進行性 64 例だった。頭部画像では、異常所見なし 49 例、皮質・白質・基底核病変あり 49 例、基底 核病変あり24例、白質病変あり25例、皮質病変 あり5例だった。ジストニア治療は、内服1剤が 51 例、2 剤が 23 例、3 剤以上が 78 例、うち 42 例 が抗コリン薬を使用し、ほかに8例がボツリヌス 療法、2例がバクロフェン持続髄腔内投与療法、3 例が脳深部刺激療法、1 例が視床凝固術を行って いた。

【考察】当科の小児期発症ジストニア患者では、 遺伝性が約 7 割で、特に DYT10 と DYT12 が多か った。その他の遺伝性疾患や後天性では基底核病 変をきたす疾患が多く、頭部画像異常例では約半 数は基底核病変を伴っていた。内科的治療は抗コ リン薬の使用頻度が多く、少数例には特殊治療が 実施されていた。日本での過去の疫学調査(2008 年、舟塚ら)では、小児期発症ジストニア患者は 579 例であり、病型は一次性 146 例 (25%)、二次 性 433 例 (75%) であった。一次性は遺伝性 103 例 (DYT1 が 12 例)、二次性は脳性麻痺 196 例、 神経変性疾患 153 例、代謝性疾患 23 例であった。 このうち、163 例の患者の臨床像についてさらに 検討しており、性別は男性85例(52%)、女性76 例(47%)、不明2例、発症年齢は平均4歳4か月 ±4 歳 1 か月、治療はジアゼパム 59 例 (35 例有 効)、ドパミン刺激薬 52 例中(28 例有効)、筋弛

緩薬(有効性少ない)、ボツリヌス療法4例、外科 的治療8例中(5例有効)であった。また、心因性 との誤診歴が19例いたと報告している。本研究で 遺伝性ジストニアの占める割合が多かった一因と して、舟塚らの調査から約10年が経過しており、 当時は原因不明だったジストニアの責任遺伝子が 同定されている症例が増えている点や、当時はジ ストニアを一次性、二次性に分類していたが、現 在は病因ごとに分類する方法が一般的であること も影響している可能性があった。治療法は舟塚ら の調査でも本研究でも内服薬が多いという点は共 通しており、特殊治療は一般的ではなかった。本 研究は当センターの診療録調査であるという単施 設の調査であるという限界があり、今後日本全体 の診療録調査を実施し、より詳細に現状の小児期 発症のジストニア診療実態について検討する必要 がある。

【今後の予定】小児神経専門医を対象に、小児期発症のジストニアに関する質問票調査を実施し、日本での診療実態を明らかにする。調査は一次調査で病因に基づく患者頻度、二次調査で小児期発症ジストニア患者の病因、性別、現在の年齢、ジストニア発症時の年齢、家族歴、ジストニアの部位、経過、変動性、ジストニア以外の運動徴候、ジストニア以外の症状、検査所見(血液検査、尿検査、髄液検査)、頭部画像所見(CT、MRI、その他の画像)、治療と効果について詳細に情報収集する。現在、約1200名の専門医に郵送の準備中である。当科の診療録調査および小児神経専門医を対象とした質問票調査の結果を踏まえて、小児期発症のジストニアに関する診療の手引きを提案する。

【参考文献】

1. 日本神経学会監修,「ジストニア診療ガイドライン」作成委員会編集,ジストニア診療ガイドライン 2018. 南江堂.

- 2. 遺伝性ジストニア (指定難病 120) 難病情報センター http://www.nanbyou.or.jp/entry/4898
- 2. 舟塚真, 加藤郁子, 大澤真木子. 小児神経科専門医に対する小児期発症ジストニアの疫学調査. 脳と発達. 2008;40(Suppl.):S269.
- 3. 舟塚真, 加藤郁子, 大澤真木子. 小児期発症ジストニアの疫学調査 各ジストニア病型に対する薬物療法の有効性に関して. 脳と発達. 2009;41(Suppl.):S395.

進行性ミオクローヌスてんかんの原因となる 12-kb 欠失:長鎖シーケンスの活用法

分担研究者:横浜市立大学医学研究科遺伝学 松本直通

協力研究者:水口剛¹、鈴木健史²、阿部ちひろ²、梅村紋子²、徳永勝士³、河合洋介³、中村稔⁴、長﨑正朗⁵、木下賢吾^{6,7,8}、岡村容伸^{7,8}、宮武聡子^{1,9}、三宅紀子¹

- 1横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学
- ² 愛知県心身障害者コロニー中央病院 小 児神経科
- ³ 東京大学大学院 医学系研究科人類遺伝 学分野
- 4長崎医療センター 臨床研究センター
- 5 京都大学 バイオメディカル情報解析分野
- 6東北大学 情報科学研究科
- 7東北メディカル・メガバンク機構
- 8東北大学 未来型医療創成センター
- 9横浜市立大学附属病院 遺伝子診療科

【はじめに】

短鎖シーケンスを用いた whole exome sequencing (WES)を用いて様々な遺伝性疾患の解明が進んでいる。WES での遺伝性疾患の解明率はおおよそ 3 割程度で、逆に7割は未解明となる。この未解明の症例に対してどのようなアプローチで原因を特定していくのかは様々な議論がある。我々は

WES で変異未同定の進行性ミオクローヌスてんかん (progressive myoclonus epilepsy, PME) の兄妹発症例をロングリードシーケンスを用いて解析し、原因特定に到った。

【方法】

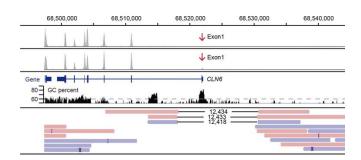
対象は兄妹罹患例で、ともに 4 歳頃より運動失調、ミオクローヌス、全般てんかん発作を発症し、神経学的退行により寝たきりであった。遺伝子変異スクリーニング、酵素診断、皮膚生検を用いた電子顕微鏡所見で異常を認めず、WESを実施したが原因の同定は出来なかった。しかし同様の臨床経過をたどる難治、進行性のPME兄妹例であり遺伝要因が強く示唆された。WESでカバーされない領域(イントロンや遺伝子間領域)やゲノム難読領域に病的変化がある可能性が想定された。

本家系の罹患者に対し PacBio 社の Sequel を用いてロングリード whole genome sequencing (WGS)を施行した。全ゲノムに対しておよそ 6x 程度(20.9 Gb)のデータを産出し、SMRT-link に付属する PBSV を用いて参照ゲノム配列にアラインし 50 bp 以上の CNV を抽出した。正常対照の 3 例を用いて"正常な"CNV を除外し、異常な CNV を絞り込んだ。

【結果】

症例に認めた CNV のうち、正常対照 3 例に 認めた CNV と重複する CNV は全て多型と して除外した。17,165 個の構造変化がコールされ(9,949 個の挿入、7,216 個の欠失)、Refseq 遺伝子、exon、タンパク質コード領域のみ、常染色体劣性遺伝性疾患遺伝子に焦点を当て異常 CNV 候補を絞りこみ、原因と考えられる病的欠失を同定に到った。この欠失は、既知の神経変性性疾患セロイドリポフスチン症の原因遺伝子 CLN6の exon 1 を含んだ 12-kb の欠失で、ホモ接合性欠失であった。両親及び罹患同胞にも同じ欠失が、それぞれへテロ接合性、ホモ接合性に認められ、本家系に発症した進行性ミオクローヌスてんかんの原因として妥当であると結論づけた。

全エクソーム解析でなぜ検出できなかった かについてゲノム配列の特徴を検討したと ころ該当領域は高 GC 含量、多数のリピー トエレメントに特徴づけられるゲノム領域 でショートリードシーケンスで解読困難な 領域であることが明らかとなった。(下図)



【考察と結論】

WES で原因解明ができなかった進行性ミオクローヌスてんかん家系の原因をロングリード WGS を用いて明らかにした。本研究

は、ショートリード WES の限界を明確に示し、かつ長鎖シーケンス等を用いた WGS の有用性を明らかにした。

【参考文献】

 Mizuguchi T, Suzuki T, Abe C, Umemura A, Tokunaga K, Kawai Y, Nakamura M, Nagasaki M, Kinoshita K, Okamura Y, Miyatake S, Miyake N, <u>Matsumoto N</u>*. A 12kb structural variation in progressive myoclonic epilepsy was newly identified by long-read whole-genome sequencing. J Hum Genet. 2019 May;64(5):359-368. doi: 10.1038/s10038-019-0569-5.

ミオクローヌスを呈する発達性てん かん性脳症に対する治療法の検討

分担研究者:国立病院機構西新潟中央病院 神経 小児科 遠山 潤

研究協力者:同上 小林 悠,大野 武,放上萌美,平岩明子,岡崎健一

横浜市立大学遺伝学 松本直通 昭和大学小児科 加藤光広

【はじめに】小児発達期に不随意運動や失調症状を伴うてんかん性脳症症例には様々な遺伝性疾患が含まれ、多種類にわたり、かつ頻度は非常に稀であると思われる.原因不明症例の臨床症状を詳細に検討することから、症状-原因の関係を確立することが適確な診断と治療のために必要である.私共はこれまでの研究で、不随意運動をともなうてんかん性脳症の臨床症状および遺伝的要因を検討し、症状と原因遺伝子の関係および、特異的治療について検討してきた.疾患特異的な治療を開発することにより罹患者によりよい QOL がもたらされると思われる.

最近、進行性ミオクローヌスてんかん症例に非競 合 α-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) 型グルタミン酸受容体拮抗剤 perampanel (PER)の有効性が報告されている. これまで、Lafora 病、Unverricht-Lundborg 病, 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA)な どに有効であるという報告がある. 今回の研究で は、ミオクローヌスを呈する Angelman 症候群 (AS) とミオクローヌスを示す発達性てんかん 性脳症症例に対して PER の有効性を検討した. 【対象と方法】対象は当院で加療中の AS5 例 (男1例、女4例. 15q11-13欠失型4例,メチ ル化異常 1 例), DRPLA 2 例, DHDDS 変異を持 つ発達性てんかん性脳症1例、SEMA6B変異に よる進行性ミオクローヌスてんかん1例である. PER0.5~2mg で投与を開始し、てんかん発作、

不随意運動,副作用などの症状に応じて増量した. AS 例の 1 例は 8 歳であり、保護者に治療について説明し同意を得た後に 0.5mg/日で投与開始した. それぞれの症例について、てんかん発作及びミオクローヌスの状態、その他の症状、副作用について後方視的に検討した.

【結果】AS 例については全例でてんかん発作は PER 投与前よりほぼコントロールされている が、頻発あるいは持続するミオクローヌスを認め ていた. 5例中4例でミオクローヌスの改善を認 め,維持量は1~4mg (1mg 1 例, 2mg 2 例, 4mg1例)であった. うち1例は併用抗てんかん 薬の減量が可能であった. その他の1例では PER 開始後問題行動が出現し、増量によりミオ クローヌス重積が悪化したため投与を中止した. 2 例で睡眠リズムの改善が得られ、1 例で食欲増 進, 体重増加を認めた. てんかん発作の悪化はみ られなかった. DRPLA 症例 2 例では、ミオクロ ーヌスがほぼ消失し強直間代発作も減少した. DHDDS変異を持つ発達性てんかん性脳症例で は, 投与前はほぼ連日強直間代発作がみられた が、投与後では体調不良時などにみられる程度で ほぼ消失した. 眼瞼ミオクローヌスも持続的にみ られたが治療により著明に減少した. ただし増量 により不機嫌、癇癪が悪化し減量により改善し た. SEMA6B変異による進行性ミオクローヌス てんかん症例でも強直間代発作とミオクローヌス は50%以上減少した.

【考察】今回の検討では、ASのミオクローヌスに対しては5例中4例にPERが有効であった.1例では悪化を認めその理由は不明であるが注意が必要である。ASに対する睡眠リズムの改善にも有効であった。また、DRPLAやその他の遺伝子異常によるミオクローヌスをともなうてんかん性脳症例でも強直間代発作やミオクローヌスに対して有効であり、特にDHDDS変異症例では難治発作がほぼ消失するなど著効した。AMPA受容体は、主に興奮性神経に存在する受容体であ

り、興奮性神経伝達物質であるグルタミンにより シグナルを脳内に伝達し作用すると考えられてい る. 進行性ミオクローヌスてんかんでは主にこの 受容体を介して主な症状が出現していると推定さ れるため拮抗薬である PER が有効であると考え られる. 今回の検討からは AS のミオクローヌス もこの受容体が関与していることが推定された. 今回の検討例では、投与により問題行動や不機 嫌、癇癪などがみられる例もあり、これが疾患特 異的な症状かどうかは今後の検討課題である. 今 後、さらなる多症例や他疾患での検討、長期経過 観察、副作用のコントロールなどが必要となると 思われた.

【参考文献】

- Kobayashi Y, <u>Tohyama J</u>, Kato M, Akasaka N, Magara S, Kawashima H, Ohashi T, Shiraishi H, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N. High prevalence of genetic alterations in early-onset epileptic encephalopathies associated with infantile movement disorders. Brain Dev 2016; 38: 285-292.
- 遠山潤,小林悠,眞柄慎一,小松原孝夫,放上萌美,才津浩智,加藤光広,松本直通. GRIN1 変異による発達性てんかん性脳症への個別治療. てんかん研究 2018; 36: 455.
- 3. Goldsmith D, Minassian BA. Efficacy and tolerability of perampanel in ten patients with Lafora disease. Epilepsy Behav 2016;62:132-135.
- Crespel A, Gelisse P, Tang NP, Genton P. Perampanel in 12 patients with Unverricht-Lundborg disease. Epilepsia 2017; 58:543-547
- Shiraishi H, Egawa K, Ito T, Kawano O, Asahina N, Kohsaka S. Efficacy of perampanel for controlling seizures and improving neurological dysfunction in a

- patient with dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA). Epilepsy Behav Case Rep 2017; 26:44-46.
- 6. <u>遠山 潤</u>. 国際抗てんかん連盟, NICE ガイドラインに基づく新規抗てんかん薬の使い方. 脳と発達 2019; 51: 97-100.
- Kawano O, Egawa K, Shiraishi H.
 Perampanel for nonepileptic myoclonus in Angelman syndrome. Brain Dev 2020; 42: 389-392.
- 8. Hamanaka K, Imagawa E, Koshimizu E, Miyatake S, Tohyama J, Yamagata T, Miyauchi A, Ekhilevitch N, Nakamura F, Kawashima T, Goshima Y, Mohamed AR, Ch'ng GS, Fujita A, Azuma Y, Yasuda K, Imamura S, Nakashima M, Saitsu H, Mitsuhashi S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Matsumoto N. *De novo* truncating variants in the last exon of *SEMA6B* cause progressive myoclonic epilepsy. Am J Hum Genet 2020; 106: 549-558.

運動障害を伴う脳発達障害の臨床像 と病態解明

分担研究者:昭和大学医学部小児科学講座 加藤光広

研究協力者:同上 小林梢、北條彰 国立病院機構熊本再春荘病院小児科 現)熊本託麻台リハビリテーション病院 上野弘恵

東京女子医科大学小児科 小国弘量 横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学 宮武聡子、高田篤、松本直通 浜松医科大学医学部医化学講座 中島光子、才津浩智

緒言

運動障害を伴う脳発達障害の原因はさま ざまであり、原因によって脳の構造異常を 示す場合(形態異常)と示さない場合(機能 異常)がある。分担研究者はこれまで、形態 異常をきたす脳形成異常と機能異常が中心 のてんかん性脳症について、画像を含む臨 床像の解析と遺伝学的原因の同定による分 子病態の解明を行ない、両者に関する多数 の原因遺伝子を明らかにしてきた。介在ニ ューロンの発生に深く関わる ARX 遺伝子 の機能喪失変異は滑脳症などの形態異常を きたす一方、機能獲得変異はジストニアを 伴う知的障害や発達性てんかん性脳症(大 田原症候群、West 症候群)など脳構造異常 を示さずに機能異常をきたす。近年、脳形成 異常と発達性てんかん性脳症の原因遺伝子 と遺伝的多面性が明らかになるにつれ、再 び形態異常と機能異常との関連性が注目さ れている。本研究では、これまでに集積した 脳形成異常約 1200 例(DNA 収集 871 例)と

てんかん症候群(その多くは発達性てんか ん性脳症)約 1000 例(全例 DNA 収集)の症 例と新規追加症例についての臨床情報をも とに、運動障害を伴う脳発達障害の臨床像 と病態解明を行う。3年間の計画として、初 年度にデータベース整理を行い、二年度は 既知遺伝子の臨床像を明らかにし、三年度 は全エクソーム解析を行い原因遺伝子を同 定する。初年度の昨年度はてんかん症候群 を中心にデータベースを見直し、757家系 について病歴と発作型、脳波所見に基づき 臨床診断を整理し1、SCN3Aの特異的変異 (p.I875T)による多小脳回例を報告した²。 最終的には運動障害を伴う脳発達障害、特 に脳形成異常とてんかん性脳症に対して, 画像・遺伝子・てんかん・リハビリ・全身管 理を含む診断・治療・病態に関する包括的な 情報提供システムを構築する。

方法

患児もしくは保護者から同意を得て血液 (一部唾液)と臨床情報 (病歴および脳形成 異常では頭部 MRI)を収集した。臨床情報 は脳形成異常とてんかん症候群のそれぞれ の症例登録データベースに入力した。DNA を抽出後、臨床情報によって ARX, LIS1, DCX, TUBA1A については Sanger 法で直接塩基配列解析を行った。それ以外は、てんかん症候群についてはカスタムターゲットキャプチャー法もしくはエクソーム解析を行った。エクソーム解析は横浜市立大学院 医学研究科遺伝学講座もしくは浜松医科大学医化学講座で行われた。

結果

2019年は11月16日時点で、脳形成異常

84 例、てんかん症候群 103 例を追加収集し た。分類不能な発達性てんかん性脳症の 2 家系 3 例で *SMC1A* 変異を同定した ^{3,4}。2 家系の臨床像は次の通りである。**症例 1** (c.2683C > G:pArg895Gly): 8 歳女児。母 (症例2)がてんかんと知的障害。周産期異 常なし。生後9か月から発達遅滞を認め、独 歩は1歳9か月で、歩行は失調性で、未発 語。鼻根部平坦、単頸、軽度太い眉を認める 他に、多毛や裂手など de Lange 症候群を示 唆する所見はなかった。2歳1か月から焦 点性運動発作を発症した。発作は左もしく は右腕から始まり全般化し、2-4週間毎に一 日に数回から 10 回の群発が 2-3 日間続い た。抗てんかん薬を多剤投与したが難治で、 6 歳まで 24 回の入院を要した。熱感受性等 の誘因はなかった。脳波では覚醒時に律動 性に乏しい広汎性徐波(4-5Hz)を認める他、 発作間欠期には異常がなかった。8歳時の 発作時脳波では、睡眠中突然覚醒し呼吸困 難と自動症を示す自律神経発作に一致し、 両側前頭に限局する速波と、覚醒中突然倒 れる脱力発作に一致し、右優位の広汎性速 波を認めた。頭部 MRI は脳梁の軽度菲薄化 の他は異常なかった。症例 2 (c.2683C > G:pArg895Gly):45 歳女性(症例 1 の母)。 12歳まで発達は正常で、その後1か月おき に月経に一致し、凝視から始まる過運動発 作を群発した。発作は難治で、20歳過ぎに は頭部 MRI で小脳萎縮を認めたが、失調は なかった。20代後半から凝視もしくは運動 停止発作となり、月~年単位に減少した。 28 歳時の脳波は広汎性高振幅棘徐波を示 した。de Lange 症候群を示す所見はなかっ た。 **症例 3** (c.2647delG:p.Glu883Lysfs*2):5 歳女児。両親と兄は健康。周産期異常なし。

独歩は1歳8か月で、2歳を過ぎても有意 語がなかった。3歳での新版 K 式発達検査 の全領域の発達指数は64で、知的障害、自 閉スペクトラム症と診断された。太い眉と 多毛以外、顔貌異常や外表奇形はなかった。 2 歳 3 か月てんかん発作を初発。3 歳 3 か 月から 1-2 日間に数回から十数回群発する 焦点発作および二次性全般化発作を月数回、 レベチラセタム開始後は月1回群発した。 ラモトリギン追加後、2か月に1回の群発 に減少した。脳波では、3歳時に右前頭~中 心部優位の 3.5Hz の δ 波、5 歳時に 4-5Hz の θ 波を背景活動異常として認める以外は、 発作間欠期の異常はなかった。頭部 MRI は 正常。5 歳児の田中 Binet 式知能検査では IQ 69 であった。

考察

本研究における SMC1A 変異は、ミスセン ス変異が1家系2例、フレームシフトによ るナル変異が1例に認められ、いずれも女 性であった。 SMC1A (Structural maintenance of chromosomes 1A)は、コヒ ーシン複合体を構成し、体細胞分裂の過程 で DNA 複製後の姉妹染色分体の接着・分 割・分離と、DNA 修復に関与する。 SMC1A などコヒーシン複合体のサブユニットをコ ードする NIPBL, SMC3, RAD21 およびコ ヒーシンの制御因子である HDAC8 の変異 は Cornelia de Lange 症候群(CdLS)をきた す。SMC1A変異はCdLSの約5%で認めら れ、NIPBL変異(80%)に次いで多い。CdLS をきたす SMC1A 変異はミスセンスまたは インフレームの欠失が多く, 女性は男性よ り軽い症状を示す。その一方、SMC1Aのナ ル変異として、2015年以降スプライス異常

やフレームシフト変異の報告がこれまで 15 例報告され、すべて女児であり、男児は 胎生致死と考えられている。興味深いこと に、SMC1Aのナル変異では典型的な CdLS 徴候を認めず、てんかん発作と知的障害が 主症状であり、症例 3 の所見に合致する。 *SMC1A*のナル変異 16 例の臨床症状をまと めると、てんかん発作の発症時期は生後 1 か月以内から28か月(平均8か月)で、12 例(75%)に発作の群発を認める。発作が消失 したのは 4 例のみであり、多くは難治性で あった。全例に知的障害を認め、軽度は1例 のみで15例が中等度から重度であった。ミ スセンス変異の症例1と2の母娘例も、ナ ル変異の症例と同様にてんかん発作の群発 傾向を認め、PCDH19変異による臨床像に 類似していた。

結論

SMCIAはCdLSに加え、発達性てんかん性脳症の原因遺伝子でもあり、発作の群発が特徴である。

参考文献

- Takata A, Nakashima M, Saitsu H, et al.
 Comprehensive analysis of coding
 variants highlights genetic complexity in
 developmental and epileptic
 encephalopathy. Nat Commun
 2019;10:2506.
- 2. Miyatake S, Kato M, Sawaishi Y, et al. Recurrent *SCN3A* p.Ile875Thr variant in patients with polymicrogyria. *Ann Neurol* 2018;84:159-161.
- 3. Oguni H, Nishikawa A, Sato Y, et al. A missense variant of *SMC1A* causes

- periodic pharmaco-resistant cluster seizures similar to *PCDH19*-related epilepsy. *Epilepsy Res* 2019;155:106149.
- 上野弘恵、岡田拓巳、藏田洋文, et al. てんかん発作群発と軽度知的障害を呈し、新規 SMC1A 遺伝子変異を認めた女児例. 脳と発達 2019;51:309-313.

30-6

The Studies on Congenital Developmental Brain Dysfunction presenting mainly Motor Symptoms Masayuki Sasaki, M.D., Department of Child Neurology, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

(1) The main purpose of the studies

The main purposes of the studies are to clarify the pathogenesis of the congenital developmental brain dysfunction presenting mainly motor symptoms such as involuntary movements (dystonia, myoclonus, etc), cerebellar ataxia, spastic paraplegia, or paroxysmal symptoms (spasms, tonic seizures, atonic seizures, transient hemiplegia, etc) including developmental and epileptic encephalopathy (DEE). There are so many disorders which display these motor symptoms. Among those disorders, there are not a few patients who have not yet been diagnosed correctly. It is sometimes difficult to diagnose those patients with congenital developmental brain dysfunction presenting motor symptoms precisely only by both neuroradiological and biochemical studies. Using developed gene analysis methods including Next Generation Sequencing (NGS), we will try to elucidate pathogenesis of undiagnosed rare disorders in children with motor symptoms.

(2) The study group

The members are as follows, Masayuki Sasaki, Takashi Saitoh, Akihiko Ishiyama, Yuko Motohashi, Eri Takeshita (Department of Child Neurology, NCNP), Noriko Sato (Department of Radiology, NCNP), Ken Inoue (Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, NCNP), Naomichi Matsumoto (Yokohama City University), Mitsuhiro Kato (Showa University), and Jun Tohyama (NHO Nishi-Niigata Central Hospital)

(3) Results

- 1) Childhood patients who present cerebellar ataxia were surveyed from all over Japan. This survey disclosed that dentatorubral pallidoluysian atrophy (DRPLA), Mitochondrial disorders, Joubert syndrome, and Ataxia-telangiectasia are major cerebellar ataxia in children in Japan.
- 2) The studies using NGS have found several new pathological gene abnormalities presenting developmental and epileptic encephalopathies (DEE).
- 3) New clinical trial has been started: Curcumin for patients with Pelizaeus-Merzbacher disease.