



取扱注意		
解禁	テレビ・ラジオ・ 通信社・インターネット	日本時間 6月7日（金） 午後6時以降
	新聞	日本時間 6月8日（土）朝刊

令和元年 6月7日  
横浜市立大学  
日本医療研究開発機構

## 発達性およびてんかん性脳症（DEE）が単純なメンデル型遺伝病の 集合体ではないことを大規模エクソーム解析により発見

～『Nature Communications』に掲載（日本時間 6月7日午後6時付）～

### 研究成果のポイント

○発達性およびてんかん性脳症患者 743 名、健常対照群 2,366 名の大規模エクソーム（タンパク質コード領域全ての DNA 配列）データを統計的に解析し、既知の遺伝子、それら以外の遺伝子とともに、患者群ではタンパク質の機能を損なう、きわめて稀な変異が多いことを確認

○既知の遺伝子以外でタンパク質の機能を損なう、きわめて稀な変異が多いという事実は、分子診断の確定につながる病的変異を有する患者群でも認められ、これらの変異が既知遺伝子の異常に加えて、てんかんの発症に寄与している可能性を示唆（表現型修飾（modifier）因子の可能性）

○遺伝子毎の解析では、點頭てんかん（West 症候群）患者で、神経線維腫症Ⅰ型の原因遺伝子として知られる *NF1* にタンパク質の機能を損なう、きわめて稀な突然変異が有意に多いことを確認

○既知の遺伝子変異に加えて表現型修飾（modifier）変異の存在や、他の遺伝病の原因として知られる遺伝子が疾患の発症に関与することがわかり、この疾患群が単純なメンデル型遺伝病の集まった状態ではないことを示している。

横浜市立大学学術院医学群 遺伝学の高田篤講師、松本直通教授、浜松医科大学医学部 医化学講座の中島光子准教授、才津浩智教授、昭和大学 小児科学講座の加藤光広教授らの多施設共同研究グループは、発達性およびてんかん性脳症（developmental and epileptic encephalopathy: DEE）患者 743 名、健常対照群 2,366 名の大規模エクソーム解析\*1を行い、この疾患群が単純なメンデル型遺伝病\*2の集合体ではないことなどを明らかにしました。これらは、発達性およびてんかん性脳症の遺伝的構造の全体像のより良い理解や、将来のより正確な分子診断につながる知見です。

### 研究の背景

発達性およびてんかん性脳症（DEE）は、てんかん発作および脳波異常と、それらに起因すると考えられる発達の遅滞もしくは退行を特徴とする疾患群です。多くの場合、幼少期に発症し、様々な薬剤による治療の効果がなく、重篤な症状を伴うことから、患者およびその家族の生活に大きな影響を与えます。この疾患群は遺伝的に多様（様々な遺伝的原因による）で、これまでに 70 を超える原因遺伝子が報告されています。一方で、約半数の症例ではこれらの遺伝子に原因変異が認められません。また、同じ原因遺伝子に全く同じ変異を有しているにも関わらず、症状の重篤度が大きく違う場合もあります。そのため、DEE の遺伝的構造の全体像は未だ明らかにはなっておらず、大規模研究による知見の拡大が待ち望まれていました。

## 研究の内容

共同研究チームは、日本人 DEE 患者 743 名、健常対照群 2,366 名のエクソーム解析を行い、集団全体で一度しか発見されず、一般集団の遺伝子変異データベース\*3 に登録されていない「きわめて稀な遺伝子変異」に着目して解析を行いました。まず、きわめて稀な変異を予想されるタンパク質への影響別に解析したところ、タンパク質機能を大きく破壊されるタイプのきわめて稀な変異（以下 Damaging 変異と呼ぶ）が、患者群では有意に多いことが分かりました。Damaging 変異は、予想通り既知の DEE 遺伝子で特に多く、患者群では健常対照群の 10 倍以上の頻度で認められました。一方、既知の遺伝子以外でも Damaging 変異は罹患者群で有意に多く、これらの変異を有する遺伝子の中に、未知の原因遺伝子が潜んでいることが示唆されました。

引き続き研究チームは、既知の遺伝子の Damaging 変異、すなわち DEE の原因である可能性がきわめて高い変異を有する患者（変異保有群）と、それ以外の患者（変異非保有群）に分けて解析を行いました。既知の遺伝子の Damaging 変異が、それだけで DEE 発症の十分条件となる場合には、変異保有群では既知遺伝子以外の Damaging 変異が多いという所見が観察されないことが想定されましたが、予想に反して、既知遺伝子変異保有群、非保有群ともに、既知以外の遺伝子 Damaging 変異が多いという結果が得られました（図 1）。既知の遺伝子以外の Damaging 変異が多いという発見は、既知変異保有群の中でも、過去に DEE ではない比較的軽症の症例（てんかんを伴わない自閉スペクトラム症など異常が見つかった DEE の既知でない遺伝子）で原因として報告された変異と同じものを有する DEE 患者で顕著でした。このことから、既知以外の遺伝子変異が、異なる遺伝子の表現型（症状）に影響し（表現型修飾(modifier))、DEE という重篤な疾患の発症に関与していることが示唆されました。

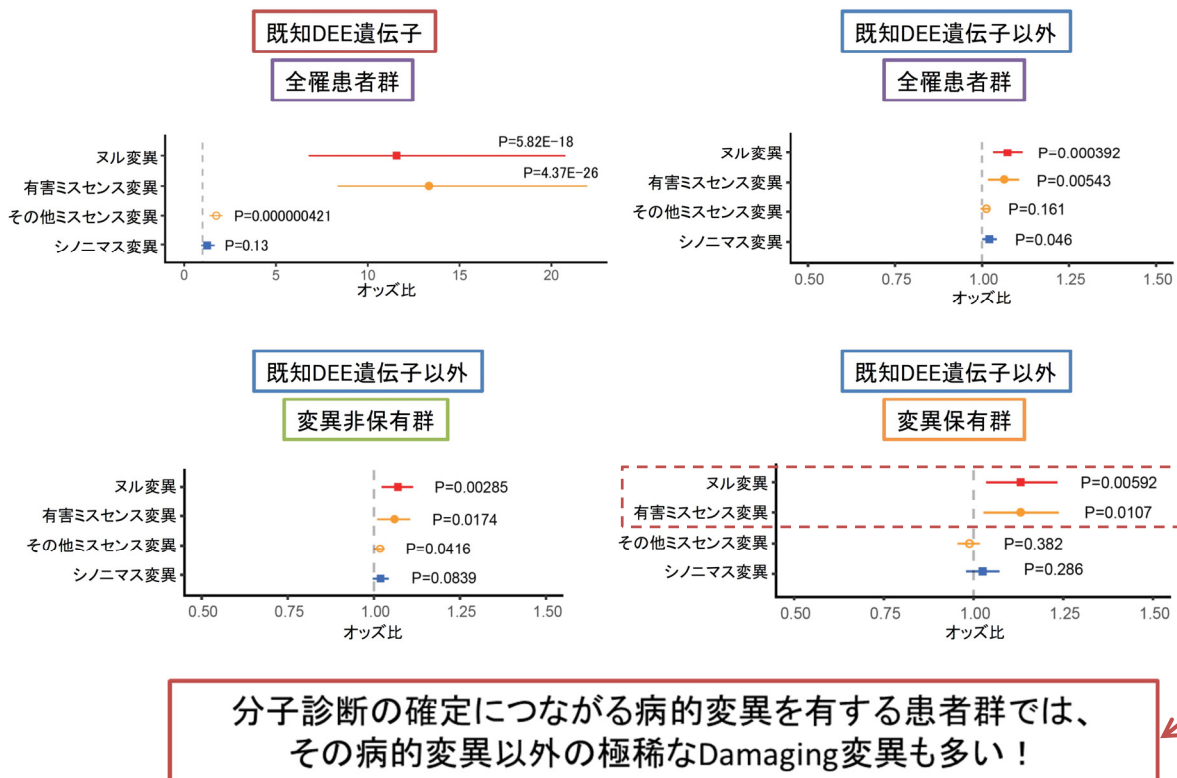


図 1 : DEE 群できわめて稀な変異が多いかどうかの検討結果。変異を、タンパク質機能を喪失させるタイプの変異（図中のヌル変異）、タンパク質のアミノ酸をひとつだけ変化させ有害と予測されるミスセンス変異（有害ミスセンス変異）、タンパク質のアミノ酸をひとつだけ変化させ有害と予測されない変異（その他ミスセンス変異）、タンパク質のアミノ酸を変化させない変異（シノニマス変異）に分類し解析を行った。解析は、既知 DEE 遺伝子と、その他の遺伝子に分けて行った。X 軸は、DEE 群できわめて稀な変異がどれぐらい多いかの指標であるオッズ比（横棒はデータのばらつきを考慮した信頼区間）を示しており、右側に行くほど DEE 群で多いことを示す。信頼区間が 1 をまたいでいない＝P 値が 0.05 未満だと、有意に DEE 群と対照群で差があることを意味する。まず、全罹患者群を対象とし（左上および右上）、その後、罹患者群を、既知遺伝子の Damaging 変異（ヌル変異もしくは有害ミスセンス変異）すなわち DEE の原因である可能性がきわめて高い変異を有する患者（変異保有群；左下）と、それ以外の患者（変異非保有群；右下）に分けて解析した。

また研究チームは、きわめて稀な **Damaging** 変異が患者群で有意に多いかどうかについての、遺伝子単位での解析を行いました (図 2)。その結果、**CDKL5**、**STXBP1**、**SCN1A**、**SCN2A**、**KCNQ2** の 5 遺伝子では、多重検定の補正\*4後も、有意に罹患群できわめて稀な **Damaging** 変異が多いことが分かりました。これらの 5 遺伝子はいずれも既に DEE の原因として報告がある遺伝子でした。これまでに、DEE との確実な関連が報告されていない遺伝子の中では、神経線維腫症 I 型\*5の原因遺伝子として知られる **NF1** などに、患者群できわめて稀な **Damaging** 変異が多いことを同定しました。

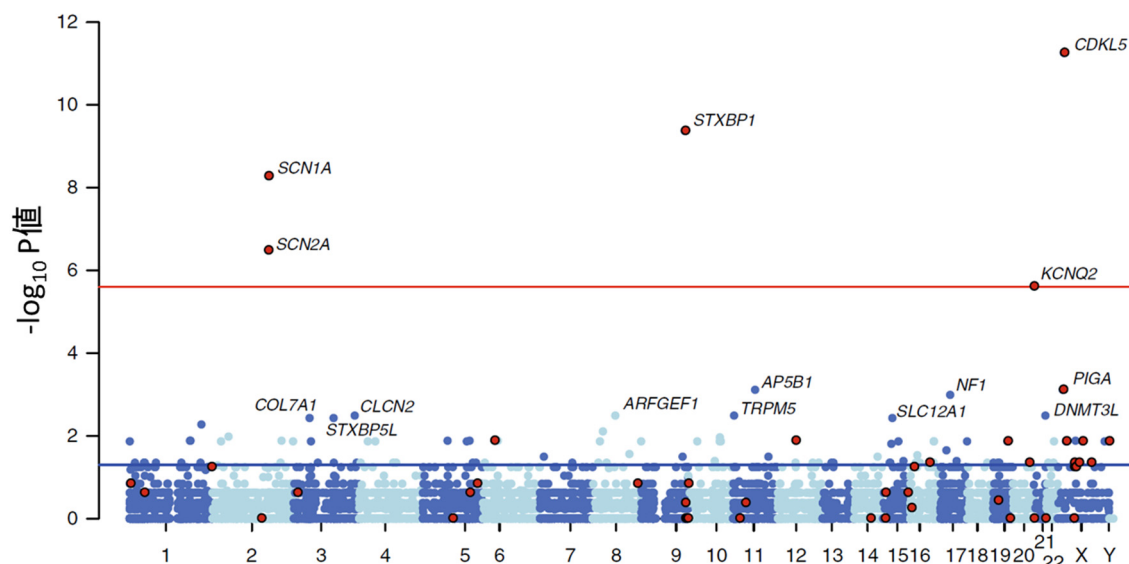


図 2 : 遺伝子単位の解析結果のプロット。それぞれのドットが各遺伝子を示す。X 軸はゲノム上のポジション、Y 軸は、DEE 群できわめて稀な **Damaging** 変異が多いかどうかを統計的に検討した結果の P 値を反映している。上に行くほど統計的に有意な遺伝子であることを示しており、赤線より上は、タンパク質コード遺伝子の数 (約 2 万個) で多重検定の補正を行った後も有意なもの、青線より上は、通常用いられる P 値の閾値 ( $P=0.05$ ) よりも有意なものとなっている。赤ドットは既知 DEE 遺伝子を示す。**CDKL5**、**STXBP1**、**SCN1A**、**SCN2A**、**KCNQ2** の 5 遺伝子が、多重検定の補正後も有意で、これらは全て既知遺伝子であった。既知遺伝子以外の中では、**NF1** (神経線維腫症 I 型の原因遺伝子)、**TRPM5**、**AP5B1**、**DNMT3L**、**ARFGEF1** の順で有意であった。

**NF1** の **Damaging** 変異についてさらに検討を行ったところ、3 人の點頭てんかん (West 症候群) \*6 患者で同定された変異は、いずれも *de novo* 変異\*7であることが分かりました。*de novo* 変異の生成確率は数千万から一億塩基の一つと言われており、今回解析対象とした 237 人の點頭てんかん患者のうち 3 人という高頻度で **NF1** に **Damaging** な *de novo* 変異が見られたことは、**NF1** はこれまで見逃されていた點頭てんかんの関連遺伝子であることを示唆しています。したがって、これまで DEE とは直接的な関連が示されていなかった神経線維腫症 I 型でも、點頭てんかんを含む DEE の合併に留意する必要があることが示されました。

## 今後の展開

既知遺伝子の変異に加えて、別の遺伝子の表現型 (症状) に影響するような遺伝子変異の存在、DEE ではない遺伝病の原因として知られる **NF1** が DEE のリスクにも関与することの同定は、いずれもこの疾患群が単純な疾患 (メンデル型遺伝病) の集まりではないことを示す発見です。今後、DEE や類似した症状を呈する神経発達障害の遺伝子診断をより正確に行うためには、疾患の主要因と考えられる変異以外にも注意を払う必要があることが示唆されます。また裏を返すと、単一遺伝子が原因の病であることを前提としたこれまでの解析では、原因遺伝子変異が同定できなかった症例について、多因子遺伝 (オリゴジェニックな遺伝形式) \*8 を想定した解析を行うことによって遺伝子診断が行える可能性を示しているともいえます。今後、オールジャパン体制で、また国際共同研究を通じて、さらに大規模な研究を推進していくことにより、DEE に関与する遺伝要因の全体像が明らかになることが期待されます。

## 用語説明

\*1 エクソーム解析：ゲノム中のタンパク質配列をコードする遺伝子領域（エクソン）の DNA 配列を、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析する方法。複数の患者の配列を比較することにより、タンパク質中の変異を検出することができる。

\*2 メンデル型遺伝病：一つの遺伝子によって決まる病気を単一遺伝子病といい、その遺伝様式は、一般的にメンデル遺伝の法則に従って伝達されるため、メンデル型遺伝病と呼ばれる。

\*3 一般集団の遺伝子変異データベース：特定の条件設定なしに広く集められた集団における、遺伝子変異の情報を収集したデータベース。これらのデータベースに登録されている変異は、幼少期発症の重篤な遺伝病の原因ではないと考えられる。代表的なものとして、日本人を対象とした ToMMo (<https://www.megabank.tohoku.ac.jp/tommo>)、多人種を対象とした ExAC (<http://exac.broadinstitute.org>)、gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>) などがある。

\*4 多重検定の補正：エクソーム解析のような網羅的な解析では、多数の遺伝子を同時に解析する (= 多重検定を行う)。そのため、通常用いる統計学的有意水準の閾値 (P 値=0.05) を用いると、疾患との関連が偶然検出される遺伝子が多数認められる。同時に解析した仮説の数 (この場合は遺伝子の数と同じ) に基づいて、P 値を適切に制御することを多重検定の補正と呼ぶ。代表的なものとして、Bonferroni 法や、Benjamini-Hochberg 法などが知られている。

\*5 神経線維腫症 I 型：カフェ・オ・レ斑、神経線維腫とよばれる皮膚の病変を特徴とする遺伝性疾患。骨、眼、神経系などにも症状を呈することが多いが、DEE の合併は 1%未満と報告されている。NF1 遺伝子が原因として知られている。ドイツの病理学者、Recklinghausen 氏がはじめて報告したことから Recklinghausen 病とも呼ばれる。

\*6 點頭てんかん (West 症候群)：通常乳児期に発症するてんかん症候群。DEE の一つ。てんかん性スパズム (両上肢・体幹の一瞬の硬直) と、ヒプスアリスミアと呼ばれる脳波異常を特徴とし、多くの患者では精神運動発達の遅れを認める。原因遺伝子は単一ではなく、CDKL5、ARX、SPTAN1 などの変異が、それぞれ點頭てんかんや他の DEE の原因となることが知られている。英国の West 医師がはじめて報告したことから West 症候群とも呼ばれる。

\*7 *de novo* 変異：“*de novo*”は、「新たに」という意味のラテン語。通常、子供は両親から半分ずつゲノム配列を受け継ぐが、DNA 複製時のエラーなどが原因となって、子のゲノムに親が持たない新たな変異が生じる場合がある。これを「*de novo* 変異」と呼ぶ。

\*8 多因子遺伝：単一の遺伝子変異でなく、複数の遺伝子変異の影響によって表現型 (疾患など) が説明されること。通常、複数だが限られた数の遺伝的要因が影響を及ぼす場合に用いられる。多数の遺伝的要因 (例えば、数百、数千個以上の遺伝子配列の個人差) によって表現型が説明されるときは、「ポリジェニックな遺伝形式」と表現される。

※本研究は、『Nature Communications』に掲載されます。(英国時間 6 月 7 日午前 10 時：日本時間 6 月 7 日午後 6 時付オンライン)

※本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の難治性疾患実用化研究事業「希少難病の高精度診断と病態解明のためのオミックス拠点の構築」(研究代表者：松本直通)、「希少難治性疾患の克服に結びつく病態解明研究」(研究代表者：高田篤)、脳科学研究戦略推進プログラム「臨床と基礎研究の連携強化による精神・神経疾患の克服」(研究代表者：高田篤)、厚生労働省、文部科学省、科学技術振興機構、日本学術振興会、武田科学振興財団、横浜総合医学振興財団、林女性自然科学者研究助成金、てんかん治療研究振興財団の支援を受けて行われました。

## 論文情報

### Comprehensive analysis of coding variants highlights genetic complexity in developmental and epileptic encephalopathy

Takata, Nakashima, Saitsu et al., *Nature Communications*, DOI <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10482-9>

#### <お問い合わせ先>



(本資料の内容に関するお問い合わせ)

公立大学法人横浜市立大学学術院医学群 遺伝学

教授 松本 直通

講師 高田 篤

TEL : 045-787-2606 FAX : 045-786-5219

E-mail : [naomat@yokohama-cu.ac.jp](mailto:naomat@yokohama-cu.ac.jp)

[atakata@yokohama-cu.ac.jp](mailto:atakata@yokohama-cu.ac.jp)

(取材対応窓口、詳細の資料請求など)

公立大学法人横浜市立大学 研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠

TEL : 045-787-2510 FAX : 045-787-2509

E-mail : [kenkyupr@yokohama-cu.ac.jp](mailto:kenkyupr@yokohama-cu.ac.jp)



(AMED の事業について)

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 戦略推進部 難病研究課

TEL : 03-6870-2223

E-mail : [nambyo-info@amed.go.jp](mailto:nambyo-info@amed.go.jp)

URL : <http://www.amed.go.jp/>

※E-mail は上記アドレス"AT"の部分を変えてください。