

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 研究成果報告書

平成21年6月30日

公立大学法人横浜市立大学
理事長 様

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 (W20007) で行った研究成果等は下記のとおりです。

記

1 研究者情報	研究代表者氏名 (所属・職位)	才津 浩智 (医学部環境分子医科学 (遺伝学)・助教)			
	2 事業情報	新規・継続の分け			
	研究費の区分	若手人材育成推進費 (自然科学)			
	研究課題名	乳児期早期発症の難治性てんかんにおける責任遺伝子単離とその病態解明			
	研究実施期間	平成20年7月1日 ~ 平成21年3月31日			
	研究ユニットの構成 ※研究代表者も含む ※研究計画書と相違のないようにご注意ください。	所属名・企業名等	役職名	氏名	役割
		医学部 環境分子医科学(遺伝学)	助教	才津 浩智	研究全般を行う
3 研究概要					
<p>新生児～乳児期発症の難治性てんかんには、大田原症候群(EIEE)や早期ミオクロニー脳症(EME)、West 症候群などがあり、EIEEとEMEの多くはWest 症候群に移行する。これらの疾患においては遺伝要因が関与し、家系例の解析から2つの責任遺伝子が同定されている。しかしながら、同定された責任遺伝子変異で原因が説明できない症例が数多く、他の遺伝子の関与が示唆される。これまで、家系例における連鎖解析が主な遺伝子変異同定の手法であったが、家系例が少ないためその解析には限界があった。本研究では、全ゲノム解析用マイクロアレイを用いて疾患に合併する染色体異常を発見し、染色体異常の領域から疾患責任遺伝子を同定するという手法で、新生児～乳児期発症の難治性てんかんの新しい責任遺伝子の単離を行うことを目的とする。</p>					

4 研究成果

※研究成果については、2,000 字程度で記入して下さい。(絵、図入りも可)

※地域貢献促進費の方は課題提案者に提出する報告書(必須)をご提出頂きますので、この欄は記載しないで結構です。その他の方は別紙を用意せず、この枠の中に記入するようにして下さい。(枚数は問いません)

1. 乳児期早期発症の難治性てんかん患者に合併する染色体異常の検出

これまでに全ゲノム解析用マイクロアレイ (Affymetrix GeneChip Mapping 250K NspI) を用いた染色体構造異常の検索を 30 名の患者で行い、複数の症例で Copy number variation (CNV, 正常人で検出されたコピー数変化の領域であり、正常多型と考えられる) の登録のないコピー数変化を検出した。マイクロアレイで認められた異常については、蛍光 *in situ* hybridization (FISH) 法や定量 PCR 法を用いてコピー数変化を確認した後、御両親の検体を依頼しており、1 症例で *de novo* 変化であることを確認した。この症例に認められたコピー数変化は病気の原因になっている可能性が非常に強い。他の構造異常についてはご両親のどちらかが同様の変化を有しており、病的意義が少ないと考えられた。

2. 疾患候補遺伝子の変異スクリーニング

上記の染色体構造異常症例における異常領域に位置する遺伝子、および既に大田原症候群の原因遺伝子として同定した STXBP1 と分子生物学的に関連が報告されている遺伝子を候補遺伝子として、14 遺伝子の変異スクリーニングを行った。解析対象症例は新生児～乳児期発症の難治性てんかん患者であり、研究期間中に 140 名に達した。変異スクリーニングは High resolution Melt を用いて行い、ヘテロ接合性の変異が疑われた症例に対してダイレクトシーケンスによる塩基変化の確認を行った。その結果、複数の遺伝子で非常に興味深い塩基変化を認めている。これら変異が認められた症例については、ご両親の検体を依頼しており、*de novo* 変化であることの確認を急いでいる。また、STXBP1 の遺伝子変異症例が 8 症例新たに見つかり、既に報告した 5 例と合わせて 13 症例に達した。これらの変異症例の臨床表現型を詳しく解析することにより、診療の現場で、STXBP1 変異症例の効率的な抽出が可能になると考えられる。STXBP1 変異を有する患児に適した抗てんかん薬の処方の研究につながる成果である。

3. 同定された疾患責任遺伝子変異によって引き起こされる病態の解明

我々が同定した STXBP1 遺伝子の異常がどのようなメカニズムでてんかんを発症させるのか、その病態生理について、培養細胞を用いて解析を行った。野生型および変異型の STXBP1cDNA を発現ベクターに組み込み、レチノイン酸で神経へ分化させた Neuro2A 細胞における発現を比較した。その結果、変異型 STXBP1 タンパク質は細胞内で分解されている所見を得た。この所見は、STXBP1 のハプロ不全によって大田原症候群がおこることを支持する所見である。

5 研究成果の活用(予定)

例) 平成 22 年度 科学研究費補助金(基盤 S) に申請予定

例) 第〇会 〇〇学会に論文発表予定

例) 研究成果が横浜市〇〇事業に活用され、当該事業の PR イベントが開催された際に広報チラシ等に「横浜市立大学 研究戦略プロジェクト事業」との関連を記載した。

・平成 22 年度 科学研究費補助金若手研究 (A) または (B) へ申請予定

※ページ数は増えても構いません。

以上