

—— 研究助成報告 ——

ミオクロニー失立てんかん（Doose症候群）の 治療反応性に関する遺伝的要因の解析

Analysis of genetic factors associated with the therapeutic response in patients with
myoclonic astatic epilepsy (Doose syndrome)

加藤 光 広^{1,2)}, 中村 和 幸¹⁾, 赤星 進二郎³⁾,
中島 光 子^{4,5)}, 松本 直 通⁴⁾

要旨：ミオクロニー失立てんかん（MAE：Doose症候群）は、2-5歳に発症し、強直間代発作、ミオクロニー脱力発作、非定型欠神発作をきたし、経過と共に脳波でシータ律動が認められる。MAEの原因と治療反応性の遺伝背景を解明するために、臨床情報解析とエクソーム解析を行った。21例のMAEの男女比は16：5で、5か月～5歳で発症し、発症時の発作は11例が強直発作、4例が強直間代発作、7例が他の発作型であった。経過中に脱力発作、ミオクロニー発作、非定型欠神発作を認めた。発作消失は4例のみで、発作持続例では運動障害を4例、知的障害を14例（境界4例、軽度9例、重度1例）、注意欠陥多動性障害を11例に認めた。MAEとDravet症候群の境界例でSCN1Aのde novo変異を、MAEの典型例でSLC6A1のde novo変異を同定した。変異陽性率は既報告とほぼ同じで、原因の多様性が高いと考えられる。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2017；28：91-96

Key Words：ミオクロニー失立てんかん、Doose症候群、SCN1A、SLC6A1

はじめに

ミオクロニー失立てんかん（Doose症候群：MAE）は、1970年にDooseらによってCentrencephalic myoclonic-astatic petit malとして初めて報告された¹⁾。発症前の発達 は正常で、7か月から6歳（多くは2歳から4歳）に発症し、10歳まで発症する小児てんかんの1-2.2%を占める。発作型は強直間代発作、ミオクロニー発作、ミオクロニー脱力発作、脱力発作、非定型欠神発作、非けいれん性重積を主体とし、脳波は経過と共に発作間欠期の覚醒閉眼時に頭頂部優位の

4-7Hz単律動 θ 波と後頭部の4Hz律動が特徴的に認められる。睡眠時には広汎性高振幅の1.5-2Hz棘徐波複合が出現する。男女比は2～3：1と男に多く、てんかん発作もしくは異常脳波の家族歴を14～32%と高率に認めることから遺伝素因の存在が当初から示唆されていた。最近、MAEの一部でSLC2A1遺伝子変異によるグルコーストランスポーター1（GLUT1）欠損が同定された²⁾。しかしその割合は5%のみであり、多くの症例では原因遺伝子は同定されておらず、男性優位の発症理由も説明されていない。MAEの治療としてバルプロ酸ナトリウム、エトスクシミ

¹⁾ 山形大学医学部附属病院・小児科

²⁾ 現) 昭和大学医学部・小児科学講座

[〒142-8666 東京都品川区旗の台1-5-8]

³⁾ 国立病院機構 鳥取医療センター・小児科

⁴⁾ 横浜市立大学大学院医学研究科・環境分子医科学

⁵⁾ 4月1日から浜松医科大学・医化学講座

Mitsuhiro Kato^{1,2)}, Kazuyuki Nakamura¹⁾, Shinjiro Akahoshi³⁾, Mitsuko Nakajima^{4,5)}, Naomichi Matsumoto⁴⁾

²⁾ Department of Pediatrics Showa University School of Medicine

[1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku, Tokyo 142-8666, Japan]

ド、ベンゾジアゼピン系薬剤、ラモトリギン、ケトン食などが有効であるが、発作予後は症例によって異なり、50-89%の患者は3年以内に治療に反応し発作が消失する（予後良好群）が、残りは発作が持続し知能も低下する予後不良群に二分される^{3,4)}。

本研究では、MAEの新たな原因遺伝子同定と治療反応性および予後の違いに関与する遺伝的要因を明らかにすることを目的とする。

対象と方法

対象は、全国の研究協力施設から遺伝子解析を目的として紹介された小児期発症のてんかん症候群の中で、発作及び脳波所見からMAEと診断された症例である。

方法は、以下の通りである。

1) 検体と臨床情報収集：すでに収集された検体の他、全国の研究協力施設に依頼し、同意を得て患者と両親から血液もしくは唾液を採取した。血液からのDNA抽出にはQuickGene-610L（クラボウ、大阪）を用い、唾液からのDNA抽出にはOragene・DNA採取キット（GNAgenotek, Canada）を用いた。併せて、投与薬剤とその効果、発作期間、発達予後に関する臨床情報を収集した。本研究は山形大学医学部および昭和大学医学部の倫理審査で承認された（研究課題名：てんかん症候群の原因解明と治療法開発）。

2) 既知遺伝子解析と3) 新規原因遺伝子同定：当初、直接シーケンス法により、MAEの原因遺伝子として同定されている*SLC2A1*の変異スクリーニングを行なう予定であったが、MAEの原因遺伝子として*SLC2A1*の他に、*SCN1A*, *SLC6A1*, *CHD2*, *CACNA1H*が報告され、サンガー法による個々の遺伝子解析よりエクソーム解析の費用対効果が良くなり、全例にエクソーム解析を行なうことにした。エクソーム解析は、SureSelect Human All Exon V5（Agilent Technologies, CA）で全エクソターゲットを濃縮後、HiSeq2500（Illumina, CA）でシーケンスを行った。

4) 遺伝型・表現型の相関解析：臨床情報をFileMaker Pro（FileMaker, CA）でデータ

ベース化し、遺伝子変異と予後との相関関係を解析した。

結果

1) 検体収集：2017年3月30日時点で脳形成異常等の構造異常を除く小児期発症のてんかん症候群820例中、MAEもしくはMAE疑い例は21例で、そのうち14例が本研究開始後に収集された。

2) 既知遺伝子と3) 新規原因遺伝子同定：20例にエクソーム解析を行い、19例の解析を終了した。*SCN1A*のミスセンス変異NM_001165963.1:c.580G>A（p.Asp194Asn）

（母には変異なし。父検体得られず）を1例（症例1）に、*SLC6A1*の*de novo*ミスセンス変異NM_003042.3:c.739C>G:p.(Pro247Ala)を1例（症例2）に、Xp22.31領域に*STS*を含む300Kbの*de novo*の欠失を1例（症例3）に認めた。

4) 遺伝型・表現型の相関解析：解析症例の臨床的な背景は、男16例、女5例で、年齢は7か月から16歳（平均8歳2か月）、診断はMAE（Doose症候群）が20例、Dravet症候群またはMAEが1例であった。家族で血族結婚はなく、家系内にてんかんの既往が3例、熱性けいれんが1例に認められた。周産期は全例異常なく、てんかん発作発症前の発達は概ね正常（8か月で発症した1例は、予定が6か月と遅れたが、独座7か月、独歩14か月）だった。てんかん発作の発症は5か月～5歳（平均2歳6か月）で、強直発作11例、強直間代発作4例（強直発作の併発1例）、他7例。経過中に脱力発作は12例、ミオクロニー発作10例、非定型欠伸発作8例に認められた。最終診察では発作消失は4例で、17例は発作が継続していた。運動障害は4例に、低緊張、軽度失調、巧緻性低下、運動誘発性ジスキネジアをそれぞれ認めた。1歳以上の20例は支持なしで歩行可能で、知能は正常が6例、境界4例、低下10例（9例が軽度、1例は重度）であった。注意欠陥多動性障害（ADHD）を11例に、自閉性を3例（2例はADHD併発）に認めた。

症例1（*SCN1A*変異例）は、女児で11か月有熱時痙攣で発症し、13か月から無熱時の強直発

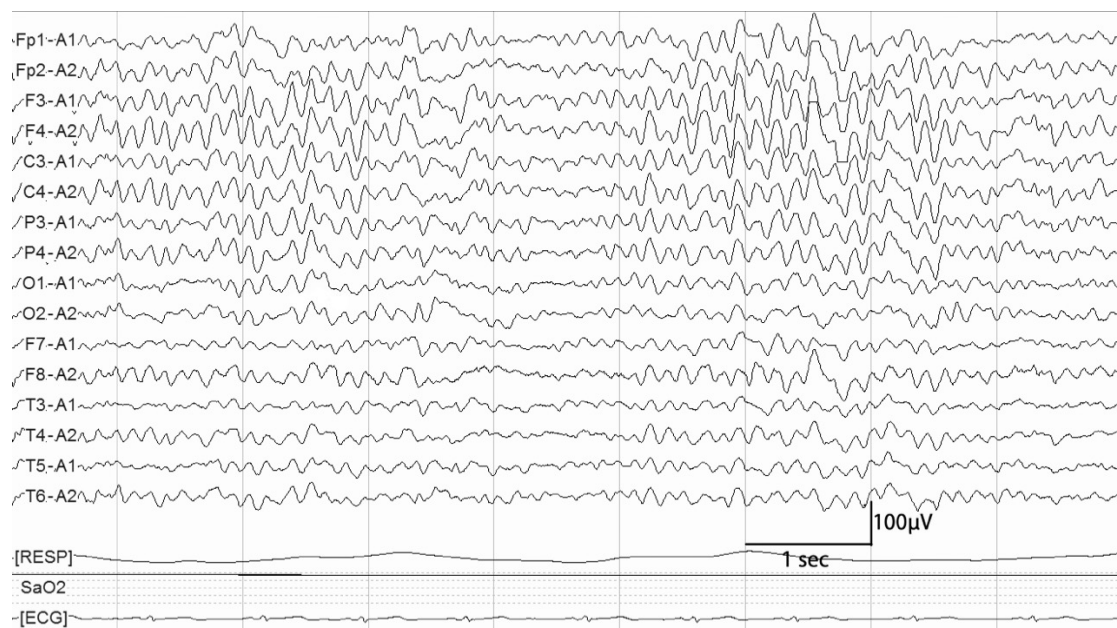


Fig. 1 症例2の16歳時の発作間欠期脳波。両側対称性にF-C-Pに7Hzのシータ律動が連続性に認められる

作と脱力発作を1日数回～数十回繰り返した。クロナゼパムで無熱時の発作は消失したが、5歳時、睡眠中に突然死した。MAEとDravet症候群の境界例であった。症例2 (*SLC6A1*変異)は16歳女性。3歳から脱力発作が出現し、強直発作やミオクロニー発作は認められなかった。4歳時の脳波では両側後頭の連続性棘徐波と、広汎性棘徐波を認め、16歳時の脳波では覚醒時に7Hzシータ律動が出現し (Fig. 1), 突発性の広汎性徐波を認めた。発作はニトラゼパムで消失したが、IQ61と軽度の知的障害を認めた。症例3 (Xp22.31欠失)は6歳男児だが、新生児期を含め皮膚症状がなく、欠失の病的意義は不明である。

考察

MAE21例の臨床的な特徴は、男女比、発症年齢、発作型は既報告とほぼ同様であったが、予後は発作消失例が4/21 (19%), 1歳以上の知能正常例が6/20 (30%)と既報告群と比較し、予後良好群が少なかった。本研究では遺伝子解析を主な目的として症例が集積されており、主治医および家族の研究参加への動機付けは、治療に難渋している症例の方が高いことが予想さ

れ、予後不良群に比べ予後良好群が少なかったと推測される。

19例のMAEにエクソーム解析を行い、*SCN1A*変異と*SLC6A1*変異を各1例に認めた。研究開始時点ではMAEの原因として報告されていた遺伝子は、*SCN1A*⁵⁾、*CACNA1H*⁶⁾、*SLC2A1*²⁾のみであったが、2015年に*CHD2*⁷⁾と*SLC6A1*⁸⁾、2016年に*STX1B*⁹⁾と*GABRB3*¹⁰⁾が報告され、現在7遺伝子との関連性が明らかになっている。変異の同定は、いずれもMAE症例の一部に限られ、比較的変異頻度が高い*SCN1A*、*SLC6A1*でもそれぞれ6例しか変異が報告されていない。今回のエクソーム解析による遺伝要因同定率は、病的意義が不明な1例を除き2/19 (11%), Dravet症候群との境界例を除くと、1/18 (6%)であった。*SLC6A1*変異の既報告ではMAE160例中6例 (4%)の変異陽性率であり⁸⁾、今回の結果とほぼ同等であった。MAEと症状が類縁するDravet症候群の中核群では約70-80%が*SCN1A*変異を有するのに対し^{11,12)}、MAEの中核群ではこれまでのところ変異陽性率は低く、かつ原因遺伝子も複数で特定の遺伝子に偏っておらず、遺伝的な多様性が高いと考えられる。

変異陽性症例が少なく、当初の目標であった治療反応性の違いに関与する遺伝的要因の解明は達成できなかったが、新規原因遺伝子が続々と報告されており、症例集積を進めて原因解明を行い、効果的な治療法開発につなげる必要がある。

文献

- 1) Dose H, Gerken H, Leonhardt R, Volzke E, Volz C: Centrencephalic myoclonic-astatic petit mal. Clinical and genetic investigation. *Neuropadiatrie* 1970 ; **2** : 59-78.
- 2) Mullen SA, Marini C, Suls A, Mei D, Della Giustina E, Buti D et al: Glucose transporter 1 deficiency as a treatable cause of myoclonic astatic epilepsy. *Arch Neurol* 2011 ; **68** : 1152-1155.
- 3) Caraballo RH, Chamorro N, Darra F, Fortini S, Arroyo H: Epilepsy with myoclonic atonic seizures: an electroclinical study of 69 patients. *Pediatr Neurol* 2013 ; **48** : 355-362.
- 4) Tang S, Pal DK: Dissecting the genetic basis of myoclonic-astatic epilepsy. *Epilepsia* 2012 ; **53** : 1303-1313.
- 5) Nabbout R, Kozlovski A, Gennaro E, Bahi-Buisson N, Zara F, Chiron C et al: Absence of mutations in major GEFS+ genes in myoclonic astatic epilepsy. *Epilepsy Res* 2003 ; **56** : 127-133.
- 6) Heron SE, Phillips HA, Mulley JC, Mazarib A, Neufeld MY, Berkovic SF et al: Genetic variation of *CACNA1H* in idiopathic generalized epilepsy. *Ann Neurol* 2004 ; **55** : 595-596.
- 7) Thomas RH, Zhang LM, Carvill GL, Archer JS, Heaven SB, Mandelstam SA et al: *CHD2* myoclonic encephalopathy is frequently associated with self-induced seizures. *Neurology* 2015 ; **84** : 951-958.
- 8) Carvill GL, McMahon JM, Schneider A, Zemel M, Myers CT, Saykally J et al: Mutations in the GABA transporter *SLC6A1* cause epilepsy with myoclonic-astatic seizures. *Am J Hum Genet* 2015 ; **96** : 808-815.
- 9) Vlaskamp DR, Rump P, Callenbach PM, Vos YJ, Sikkema-Raddatz B, van Ravenswaaij-Arts CM et al: Haploinsufficiency of the *STX1B* gene is associated with myoclonic astatic epilepsy. *Eur J Paediatr Neurol* 2016 ; **20** : 489-492.
- 10) Consortium EK: De novo mutations in *SLC1A2* and *CACNA1A* are important causes of epileptic encephalopathies. *Am J Hum Genet* 2016 ; **99** : 287-298.
- 11) Depienne C, Trouillard O, Saint-Martin C, Gourfinkel-An I, Bouteiller D, Carpentier W et al: Spectrum of *SCN1A* gene mutations associated with Dravet syndrome: analysis of 333 patients. *J Med Genet* 2009 ; **46** : 183-191.
- 12) Ishii A, Watkins JC, Chen D, Hirose S, Hammer MF: Clinical implications of *SCN1A* missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia* 2017 ; **58** : 282-290.

Summary

Analysis of genetic factors associated with the therapeutic response in patients with myoclonic astatic epilepsy (Dooze syndrome)

Mitsuhiro Kato, Kazuyuki Nakamura, Shinjiro Akahoshi, Mitsuko Nakajima, Naomichi Matsumoto

Myoclonic astatic epilepsy (MAE) (Dooze syndrome) develops at 2-5 years of age and is characterized by tonic-clonic seizures, myoclonic astatic seizures, and atypical absences. A characteristic theta rhythm on electroencephalogram is then recognized over time. To elucidate the genetic backgrounds associated with the etiology of MAE and therapeutic responses in patients with MAE, clinical information analysis and whole exome sequencing were performed. The male-to-female ratio of the 21 patients included was 16:5. They developed their first seizure at 5 months to 5 years of age. Eleven patients had tonic seizures, 4 had tonic-clonic seizures, and 7 had other seizure types. Astatic seizures, myoclonic seizures, and atypical absence seizures occurred during the courses of their diseases. Only 4 patients were seizure-free. Among the patients with persistent seizures, 4 had motor dysfunction, 14 had intellectual disorder (borderline in 4 cases, mild in 9, and severe in 1), and 11 had attention deficit hyperkinetic disorder. A *de novo* mutation in *SCN1A* was identified in a patient with features of both MAE and Dravet syndrome, and a *de novo* mutation of *SLC6A1* was identified in a patient with typical MAE. The prevalence rates of these mutations were similar to those previously reported. The etiology of MAE is thus considered to be heterogeneous.

Ann.Rep.Jpn.Epi.Res.Found. 2017 ; 28 : 91-96

