

てんかんの分子病態の解析

Analysis of molecular biology of epilepsy

兼子 直 (KANeko Sunao)

弘前大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要

てんかんの責任遺伝子の同定及びその分子病態を解析し、患者の遺伝情報（受容体・イオンチャンネル・抗てんかん薬代謝酵素・トランスポーター多型など）に基づいたてんかんの個別化治療開発に必要な基本的資料・システムの提案が本研究の目的である。

研究分野： てんかん学

科研費の分科・細目： 内科系・神経内科

キーワード： てんかん, 遺伝子, 個別化治療, 分子病態, 抗てんかん薬, CYP, トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

てんかんは人口の0.6%が罹患する最も頻度が高い神経疾患で、その25-30%は抗てんかん薬（AED）で発作が抑制されず、現状のAED療法ではAED選択、至適投与量設定にはtry and errorが付きまとう。一方、1990年代に入り、家族性てんかんの遺伝子が一部同定されだした。

2. 研究の目的

てんかんの責任遺伝子を明らかにし、遺伝情報に基づいたてんかんの個別化治療開発に必要な基本的資料を提案する。

3. 研究の方法

てんかんの遺伝子異常の同定（phenotype-genotype解析）とその機能解析、AEDへの反応性予測に必要な遺伝要因を同定し、薬力学・薬物動態学的支援情報を組み込んだ個別化治療のデータベースを構築する。分子病態解析とその迅速化のため、モデル動物としての3基準を満たす遺伝子改変動物を作出し、てんかんの分子病態解析から根治療法開発の可能性を探る。

4. 研究の主な成果

- 1) 多数のてんかん類型で Na^+ チャンネル (SCN1A, SCN2A)、ニコチン性アセチルコリン受容体遺伝子 (CHRNA4)、 K^+ チャンネル(未公表も含む一連の KCQ2, KCNQ3)、 Ca^{2+} チャンネル(CACNA1G等)、EFHC1、Chorein、LGI4、GABA受容体遺伝子変異など、これまでに報告された変異の約20%以上と疾患感受性遺伝子群の座位を同定し、新たな遺伝子解析手法も確立した。同定した遺伝子の機能解析を行い、bioinformaticsにより新たな機能予測方法も開発した。
- 2) てんかんの分子病態に対応して AED の作用機序を解析し、AED 選択の根拠となるデータをまとめた。AED の標的部位での濃度を規定する CYP・transporter 遺伝子多型を解析し、CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4/5 が重要で、transporter は AED の臨床反応へのインパクトは小さいことを明らかにした。1000 人の日本人で既知のすべての CYP、transporter アリル頻度、遺伝子型頻度を決定し、日本人には存在しない多型、新たな多型を見出した。
- 3) モデル動物の3基準を満たす世界初の一連

のてんかんモデル動物の作出に成功し、その1種 S284L-TG (ADNFLE) を用い、CHRNA4 の変異によりシナプス、シナプス外 GABA 系の機能障害が生じ、睡眠中に発作が起こる原因としては覚醒から睡眠に移行する際の glutamate 系の低下が伴わないことを解明した。Epileptogenesis と ictogenesis を脳発達の観点から解析し、複数の脳内標的タンパク群を同定し、これらの機能を補正する compound XXX で治療するとてんかんは根治療法が可能であり、根治療法には臨界時期が存在し、XXX の治療により細胞機能も正常化することを確認した。より副作用の少ない治療薬を探索中である。作出した AP3M2 遺伝子欠損マウス(側頭葉てんかん)では GABA 細胞内輸送動態の変化と temporoammonic pathway の異常亢進が病態に関与することを明らかとした。4)AED のクリアランスを生理因子(年齢、性別、体重)、環境因子(AED 投与量、併用薬)、遺伝因子(CYP 多型)から算出するモデルを設定した。**世界初のプロトタイプ**のてんかん遺伝子診断用 DNA chip (re-sequencing type)を開発し(この chip で SCN1A の新たな変異の同定に成功)、個別化治療開発に必要な情報(AED の作用機序、てんかんの責任遺伝子、CYP, transporter、脳内作用点の多型、NONMEM による AED クリアランスモデルの設定)を統合し、遺伝子異常・多型毎の AED への反応性予測を database (<http://www.epigene.org/mutation/>) 化しつつある(システムの基本フレーム)。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

1)てんかんの既報責任遺伝子の約 20%の同定、孤発性てんかんの感受性遺伝子座位の絞り込み、世界初モデル動物としての3基準を満たす一連の遺伝子改変ラットの作出

(S284L-TG は特許取得、近く販売開始)は世界をリードしている。これらは新たな治療法の開発や新規 AED の効果判定に威力を発揮する。2)一連のヒト遺伝子導入モデルラットの分子病態解析から、脳内標的タンパク群を同定し、epileptogenesis、ictogenesis が構築される前に XXX で治療を開始すると発病は防止できる結果を得た。これは「発病前に治療を開始する」という治療のコペルニクス的転換となる。3)世界初のてんかんの遺伝子診断用 DNA Chip (proto-type)の開発や遺伝情報に基づく個別化治療システムの基本フレームは他疾患の個別化治療開発のモデルとなる。

6. 主な発表論文

- Kaneko S, Yoshida S, Kanai K, Yasui-Furukori N, & Iwasa H. Development of individualized medicine for epilepsy based on genetic information. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2008; 1(5): 661-81.
- Zhu G, Okada M, Yoshida S, Ueno S, Mori F, Takahata T, Saito R, Miura Y, Kishi A, Tomiyama M, Sato A, Kojima T, Fukuma G, Wakabayashi K, Hase K, Ohno H, Kijima H, Takano Y, Mitsudome A, Kaneko S, Hirose S. Rats harboring S284L Chrna4 mutation show attenuation of synaptic and extrasynaptic GABAergic transmission and exhibit the nocturnal frontal lobe epilepsy phenotype. *J Neurosci*. 2008; 28(47): 12465-76.
- Wang JW, Kurahashi H, Ishii A, Kojima T, Ohfu M, Inoue T, Ogawa A, Yasumoto S, Oguni H, Kure S, Fujii T, Ito M, Okuno T, Shirasaka Y, Natsume J, Hasegawa A, Konagaya A, Kaneko S, Hirose S. Microchromosomal deletions involving SCN1A and adjacent genes in severe myoclonic epilepsy in infancy. *Epilepsia* 2008;49(9):1528-34.
- Yoshida S, Okada M, Zhu G, Kaneko S. Carbamazepine prevents breakdown of neurotransmitter release induced by hyperactivation of ryanodine receptor. *Neuropharmacology*. 2007; 52(7): 1538-46.
- Kojima T, Mukai W, Fuma D, Ueda Y, Okada M, Sakaki Y, Kaneko S. Determination of genomic breakpoints in an epileptic patient using genotyping array. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 341:792-796.

homepage:<http://www.epigene.org/index.html>