

文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会他
名古屋教育医療記者会と同時発表

公立大学法人名古屋市立大学
国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

側頭葉てんかん責任遺伝子の同定と発症メカニズムの解明 (海馬への興奮性入力の増加が原因)

研究成果は、英国科学誌「*Scientific Reports* (サイエンティフィック・リポーツ)」電子版に
2022年5月17日午前10時(英国時間)掲載(日本時間2022年5月17日午後6時)

【研究のポイント】

- ・海馬硬化を伴う内側側頭葉てんかんの複数の患者において、変異を示す新規責任遺伝子 **CUX2**、**CASP** を発見しました。
- ・けいれん感受性が高いことなど、てんかん症状の一部をモデルマウスで再現しました。
- ・発症メカニズムの一つとして、海馬への興奮性入力の増加を提案しました。
- ・本研究成果は、ヒトのてんかん病態の理解や治療法の開発・改良に貢献する可能性があります。

【研究成果の概要】

名古屋市立大学大学院医学研究科 脳神経科学研究所 神経発達症遺伝学分野の山川和弘 教授、鈴木俊光 講師、福岡大学 医学部 廣瀬伸一 教授、湊病院北東北てんかんセンター 兼子直 医師、静岡てんかん・神経医療センター 井上有史 医師、理化学研究所 脳神経科学研究センター Adrian Moore チームリーダーらの共同研究グループは、以下の内容を見出しました。

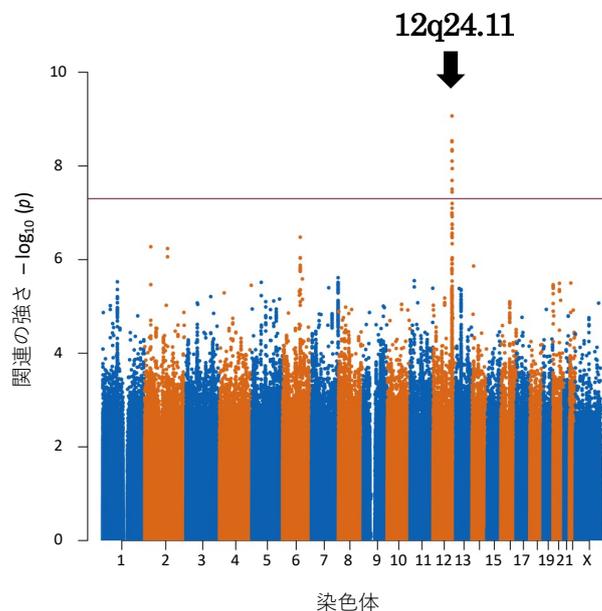
- 1) 様々な種類のてんかんを有する 271 名の患者のゲノム DNA を用いた変異解析において、同研究グループが以前に同定したてんかん関連領域¹⁾に存在し、神経細胞の発生・機能に関わる転写因子²⁾をコードする **CUX2** 遺伝子およびその類似遺伝子 **CASP** の複数の変異が、側頭葉てんかん患者において集中して見出されること。
- 2) **CUX2** 疾患変異を有するタンパクがヒト培養細胞において異常な細胞内分布を示すこと。
- 3) ショウジョウバエ神経細胞において、一部の患者変異が **CUX2** の本来持つ樹状突起伸長能を損なうこと。
- 4) **Cux2** および **Casp** 欠損マウスがともにけいれん誘発剤であり、側頭葉てんかんモデル作成にも用いられるカイニン酸に対し大きな感受性の増大を示すこと。
- 5) 両遺伝子欠損マウスにおいて、海馬への興奮性シナプス入力が大きく増加していること。

これらの結果は、**CUX2** および **CASP** が側頭葉てんかん原因・関連遺伝子の有力な候補であり、

側頭葉てんかんの発症メカニズムの一つが、海馬への興奮性入力が増加であることを提案するものです。これらの知見は側頭葉てんかんの遺伝子診断、発症メカニズムの理解、治療法の開発に大きく役立つものと思われます。

【背景】

海馬硬化を伴う内側側頭葉てんかんは、国内においておよそ5万人が発症する難治てんかんです。本研究では、内側側頭葉てんかんの新規責任遺伝子の同定と、それら遺伝子の異常によって引き起こされる本疾患の発症メカニズムを検討しました。山川教授らの研究グループは昨年(2021年)、約2,000人の様々な種類のてんかん患者ゲノムDNAを用いた全ゲノム関連解析(GWAS)³⁾により、てんかん発症に関わる新規遺伝子領域を12番染色体長腕(12q24)から同定し報告しました¹⁾(図1)。しかし、その領域内には24個の候補遺伝子が位置しており、責任遺伝子は未同定のまま残されていました。



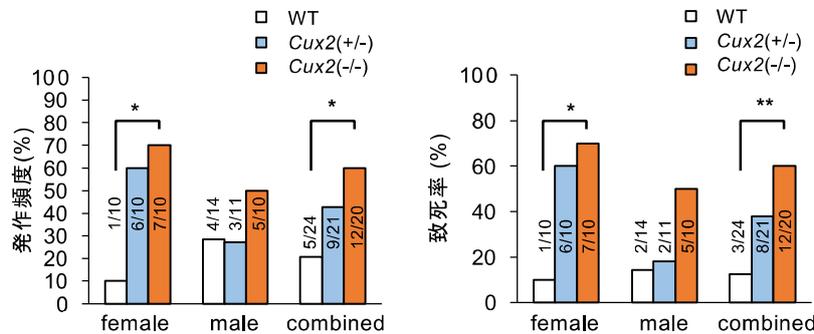
【図1】 てんかんの全ゲノム関連解析(GWAS)の結果。横軸にヒト染色体上の位置、縦軸に各SNPのてんかんと関連の強さを示した図です。12番染色体に全ゲノム関連解析の有意水準を満たすシグナルを同定しました。グラフの上にあるほど関連が高いことを示します。赤い線は全ゲノム関連解析の有意水準($P < 5.0 \times 10^{-8}$)を示します。

今回、同研究グループは、様々なてんかん患者のゲノムDNAを用いた変異解析、ショウジョウバエモデルの神経細胞樹状突起の形態解析、遺伝子欠損マウスのけいれん感受性の評価および海馬の電気生理学的解析などを行い、てんかん発症に関わるメカニズムの解明を試みました。

【研究の成果】

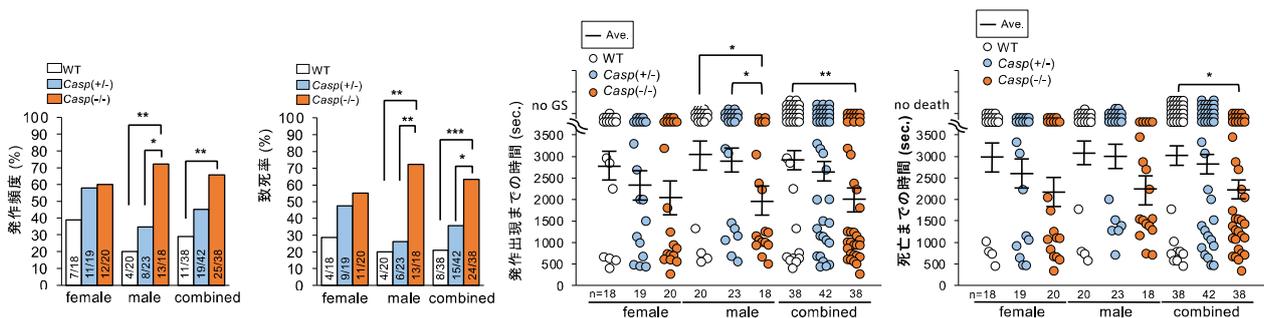
昨年報告した候補遺伝子領域内¹⁾に位置し、神経細胞の樹状突起分岐やシナプス形成に関わる転写因子をコードするCUX2遺伝子の変異が、発症率の低い稀なてんかん性脳症の少数の患者で報告されています。そこで山川教授らの研究グループは、本遺伝子の変異がより広くてんかんに関わっているかどうかを調べるために、様々な種類のてんかんを有する271名の患者(特発性てんかん116名、側頭葉てんかん68名、その他の症候性てんかん87名)を対象に変異解析を

行いました。その結果、9名の患者で一般集団では非常に稀、もしくは全く見出されないミスセンス変異⁴⁾を同定し、そのうち実に7名が内側側頭葉てんかん、1名が外側側頭葉てんかんの患者でした。また、CUX2 変異タンパクがヒト培養細胞において異常な細胞内分布を示すことも確認しました。さらに野生型 CUX2 がショウジョウバエの神経細胞において樹状突起伸長と分岐を促進することを、また、この促進効果が一部の患者変異により減弱することを見出しました。これらの結果は、患者で見つかった変異がタンパクの機能を喪失させることを示唆するものでした。そこで CUX2 ノックアウト(KO)マウスを用いてけいれん誘発剤に対する感受性を評価したところ、GABA-A 受容体遮断薬であるペンチレンテトラゾールには感受性の増加を示さない一方、側頭葉てんかんモデルの作成にも使用されるカイニン酸には、大きな感受性の増大を示しました(図2)。更には、CUX2 のパラログ⁵⁾である CUX1 でも、側頭葉てんかんの患者において変異が確認されました。CUX1 にはN末端⁶⁾は共通だがC末端⁷⁾がユニークなショートアイソフォーム⁸⁾



【図2】 Cux2-KO マウスはカイニン酸投与におけるてんかん発作とそれに伴う致死率において大幅な亢進を示しました。

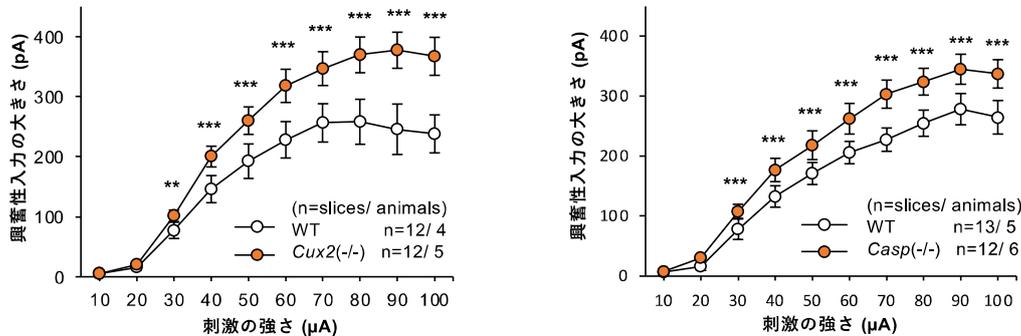
CASP が存在し、その変異解析を上記 271 名の患者で行ったところ、CASP 特異的な C 末端をコードする部分に、ミスセンス変異と欠失変異⁹⁾を2名の側頭葉てんかん患者でそれぞれ同定しました。そこで Casp 特異的な C 末端を改変した Casp-KO マウスを作成しけいれん誘発剤に対する感受性を評価したところ、Cux2-KO マウスと同様にカイニン酸への感受性の増大を示しました(図3)。



【図3】 カイニン酸に対するけいれん感受性は Casp 特異的 KO マウスでも増加しました。

同研究グループは以前に、電位依存性カリウムチャンネル Kv4.2 をコードする KCND2 遺伝子の分断変異¹⁰⁾を、側頭葉てんかんの患者から同定し報告しています¹¹⁾。この遺伝子の Kcnd2-KO マウスも Cux2-KO や Casp-KO マウスと同様に、カイニン酸への感受性の増大を示します¹²⁾。これらの知見も、CUX2 や CASP が KCND2 とともに、側頭葉てんかんの原因・関連遺伝子であることを支持するものです。さらに、Cux2-KO および Casp-KO マウスの海馬をスライスパッチ

クランプ法¹³⁾で解析したところ、嗅内皮質から海馬への興奮性シナプス伝達が増大していることが見出されました(図4)。この結果は、海馬への興奮性入力の増加が *CUX2* または *CASP* の変異により引き起こされる側頭葉てんかん発症の共通メカニズムである可能性を示しています。



【図4】 貫通繊維への刺激による海馬への興奮性入力はいずれも *Cux2*-KO および *Casp*-KO マウスにおいて共に増大しました。

【研究の意義と今後の展開や社会的意義など】

本研究により、ヒト側頭葉てんかんの原因となる新たな責任遺伝子と発症メカニズムの一つが明らかにされたことで、今後、本疾患の病態への理解が深まり、新しい治療法や発症予防法の開発につながる可能性があります。さらには、患者さんへの遺伝カウンセリングにおいて科学的根拠に基づいて説明することや、医療の現場での遺伝子検査の実施により、患者個人に対応した適切な治療の方針を立てることが可能となり、副作用の軽減や医療費の削減に貢献することなどが期待されます。

【用語解説】

- 1) 2021年4月29日プレスリリース「日本人てんかん発症に関わる新規遺伝子領域を発見」(<https://www.nagoya-cu.ac.jp/media/20210429.pdf>)
Suzuki et al., "Genome-wide association study of epilepsy in a Japanese population identified an associated region at chromosome 12q24." *Epilepsia* 62: 1391-1400 (2021). DOI: 10.1111/epi.16911
- 2) 転写因子：DNA上の特定の配列を認識して結合し、RNAの転写開始に関わる因子。
- 3) 全ゲノム関連解析 (GWAS)：疾患の感受性遺伝子を見つける方法の一つ。ヒトのゲノム全体を網羅する遺伝子多型を用いて、疾患を持つ群と疾患を持たない群とで遺伝子多型の頻度に差があるかどうかを統計学的に検定する方法。検定の結果得られたP値(偶然にそのようなことが起こる確率)が低いほど、相関が高いと判定できます。GWASは、Genome-Wide Association Studyの略。
- 4) ミスセンス変異：遺伝子がコードするタンパクにアミノ酸置換をもたらす変異。
- 5) パラログ：遺伝子重複によって生じた相同性をもつ遺伝子群。
- 6) N末端：タンパク質のフリーなアミノ基 (-NH₂)で終端している側の末端。翻訳されるときは、N末端から作られます。
- 7) C末端：タンパク質のフリーなカルボキシル基 (-COOH)で終端している側の末端。
- 8) アイソフォーム：選択的スプライシングやプロモーターの差異などにより形成される単一の遺伝子に由来する一連のタンパク。

- 9) 欠失変異：遺伝子がコードするタンパクのアミノ酸を欠失させる変異。
- 10) 分断変異：遺伝子がコードするタンパクを途中で分断させる変異。
- 11) Singh *et al.*, "A Kv4.2 truncation mutation in a patient with temporal lobe epilepsy." *Neurobiol. Dis.* 24: 245–253 (2006). DOI: 10.1016/j.nbd.2006.07.001.
- 12) Barnwell *et al.*, "Kv4.2 knockout mice demonstrate increased susceptibility to convulsant stimulation." *Epilepsia* 50: 1741–1751 (2009).
- 13) パッチクランプ法：細胞膜に細いガラス電極を当てることで、その細胞の電気活動を記録する実験手法。

【研究助成】

本研究の一部は、日本医療研究開発機構（AMED）難治性疾患実用化研究事業の研究開発課題「海馬硬化を伴う内側側頭葉てんかんの原因遺伝子同定と発症機構の解明（研究開発代表者：山川和弘）」の助成により行われました。

【論文タイトル】

CUX2 deficiency causes facilitation of excitatory synaptic transmission onto hippocampus and increased seizure susceptibility to kainate

【著者】

鈴木 俊光^{1,2,#}, 立川 哲也^{2,#}, 須藤 元輝^{2,#}, Caroline Delandre^{3,18}, Yun Jin Pai³, 宮本 浩之², Matthieu Raveau², 下畑 充志^{2,19}, 大守 伊織⁴, 浜野 晋一郎⁵, 萩野谷 和裕⁶, 植松 貢⁷, 高橋 幸利^{8,9}, 森本 昌史¹⁰, 藤本 伸治^{11,12}, 小坂 仁¹³, 小国 弘量¹⁴, 大澤 真木子¹⁴, 石井 敦士¹⁵, 廣瀬 伸一¹⁵, 兼子 直^{16,17}, 井上 有史⁹, Adrian Walton Moore³, 山川 和弘^{1,2*}
(#co-first authors, *corresponding author)

所属

¹名古屋市立大学大学院医学研究科 脳神経科学研究所 神経発達症遺伝学分野, ²理化学研究所 脳神経科学研究センター 神経遺伝研究チーム, ³理化学研究所 脳神経科学研究センター 神経細胞多様性研究チーム, ⁴岡山大学 教育学部, ⁵埼玉県立小児医療センター, ⁶宮城県立こども病院, ⁷東北大学 医学部, ⁸岐阜大学 医学部, ⁹静岡てんかん・神経医療センター, ¹⁰京都府立医科大学 医学部, ¹¹名古屋市立大学大学院医学研究科, ¹²つつじが丘こどもクリニック, ¹³自治医科大学 医学部, ¹⁴東京女子医科大学 医学部, ¹⁵福岡大学 医学部, ¹⁶弘前大学 医学部, ¹⁷湊病院北東北てんかんセンター, ¹⁸タスマニア大学 メンジーズ医学研究所, ¹⁹日本医科大学大学院医学研究科

【掲載学術誌】

学術誌名: *Scientific Reports* (サイエンティフィック・リポーツ)
DOI 番号: 10.1038/s41598-022-10715-w

【研究に関する問い合わせ】

名古屋市立大学大学院医学研究科・脳神経科学研究所・神経発達症遺伝学分野 教授
山川 和弘 (やまかわ かずひろ)

住所: 〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
E-mail : yamakawa@med.nagoya-cu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ】

名古屋市立大学 医学・病院管理部経営課
名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
TEL : 052-858-7114 FAX : 052-858-7537
E-mail : hpkouhou@sec.nagoya-cu.ac.jp

【AMED の事業に関する問い合わせ】

国立研究開発法人日本医療研究開発機構
難治性疾患実用化研究事業 担当
E-mail : nambyo-r@amed.go.jp