

川崎病における熱性けいれんの遺伝的背景の研究

川崎病における熱性けいれんの研究チーム（課題番号：117016）

研究期間：平成 23 年 7 月 22 日～平成 26 年 3 月 31 日

研究代表者：廣瀬伸一 研究員：吉兼由佳子

1. 研究成果

〈抄録〉

川崎病は原因不明の熱性疾患で、特に日本人の発症が多く、疾患感受性に遺伝的な背景があることが強く疑われる疾患である。一方、熱性けいれんの分子生物学的な病態は不明であるが、川崎病と同様に世界的に日本人での発症が多く、その病態に遺伝的背景が強く寄与していることが伺われる。にもかかわらず、川崎病の発熱時に熱性けいれんが見られない印象を持つ小児科医は多いが、その発生頻度を調査した例はない。今回、三年にわたり当科に入院した川崎病の患者での熱性けいれんの発症を前向き研究で調査した。平成 23～25 年度までの三年間の研究期間で当院に入院した川崎病の患者数は 101 名でのその男女比では男性が多かった。この内熱性けいれんをきたした者は 1 名もいなかった。発熱期間や男女比は日本人の川崎病のそれとほぼ一致した。一方日本人での熱性けいれんの発症率は数%とされ、川崎病での熱性けいれんの発症は少ないように思われた。現在までに熱性けいれんの遺伝的背景を探るため、252 名の熱性けいれんを来たした子どもとその両親の DNA を採取し、今後は両疾患の遺伝的背景を明らかにする予定である。熱性けいれん・てんかんの遺伝子研究は福岡大学の臨床研究の承認をもって実施した。

キーワード：MCL S, インターロイキン、てんかん、炎症

【はじめに】

川崎病は原因不明の熱性疾患で、川崎富作博士の最初の報告により知られるようになった。特に日本人の発症が多く、疾患感受性に遺伝的な背景があることが強く疑われる疾患である。最近のその発症が増加しており、その病態の解明が急務とされる。

一方、熱性けいれんの分子生物学的な病態は不明であるが、川崎病と同様に世界的に日本人での発症が多く、その病態に遺伝的背景が強く寄与していることが伺われる。両者とも日本人に非常に多い疾患でありながら、病態が不明であり、新規手法による病態の解明が望まれている。

興味深いことに、両者は日本人に多いこと、若年小児に見られるなどの共通性があるにも拘らず、川崎病での熱性けいれんの発症が少ないことが、経験的に知られている。しかしながら、実際の調査は行われてこなかった。これが実証され、分子生物学的な共通性と相違を明らかにできれば、両者の遺伝的素因の一部が明らかになる可能性が示唆された。

今回は研究期間 3 年の間で川崎病に罹患中に熱性けいれんをきたした患者の数を調査し、その実態を調査した。合わせて熱性けいれんを起さなかった患者の遺伝的相違を分子生物学的手法により、明らかにするため、熱性けいれんを来たし患者とその両親の遺伝子収集を行った。

【対象と方法】

期間中に川崎病の診断に合致し川崎病と診断され当院に入院した患者を対象にその数、男女比、年齢および有熱期間を調査した。既往症としててんかんその他の神経疾患を有するものは除外した。また、入院経過中、川崎

病が否定されたり、二次的な発熱疾患に罹患したりした者は除外した。

後日、川崎病と熱性けいれんの遺伝的相違を分子生物学的的手法により、明らかにするために、同時期に熱性けいれんをきたした患者と熱性けいれんを起さなかった患者の両親の血液または唾液よりDNAを抽出して保存した。

統計学的、遺伝学的な比較ができるように、双方の患者遺伝子と患者情報500ずつの収集を目指した。尚、熱性けいれんの遺伝子研究は福岡大学で倫理申請を行い承認されている。

【結果】

平成23年度から25年度の三年間の研究期間で当院に入院した川崎病で上記の条件に一致した患者数は101名であった。すなわち平成23年度の入院患者は27名で、男女比5.8:1.0で平均年齢は2.5歳、発熱期間は5.2日であった。平成24は38名男女比2.2:1.0で平均年齢は2.8歳で、発熱期間は5.2日間であった。また、平成25年度の入院患者は36名で、男女比は1.4:1.0で、平均年齢は2.6歳、発熱期間は平均5.2日であった。この101名の川崎病の患者で入院前、入院後解熱までの発熱期間にけいれんを来たしものはいなかった。(表)

この期間、熱性けいれんのために外来受診または入院した小児252名で血液または唾液を用いてDNAを抽出して保存した。このうち両親が揃ったすなわちトリオで検体を収集できたのは59家系であった。この期間を通じて、熱性けいれんの遺伝的背景を調査するため、発熱時けいれんと伴うてんかんである、ドラベ症候群、PCDH19関連てんかんについてその遺伝子解析、動物作出などを行った。

表 年度別川崎病患者数

年度	患者数	男女比	平均年齢 (年)	発熱期間 (日間)
平成23	27名	5.8:1.0	2.5歳	5.2
平成24	38名	2.2:1.0	2.8歳	5.2
平成25	36名	1.4:1.0	2.6歳	5.2

*川崎病の発熱期間にけいれんを来たしものはいなかった。

【考察】

今回の川崎病患者101名の発熱期間中にけいれんを起こした者は居なかった。期間中の川崎病の発症に大きな変化はなく、またその男女比、平均年齢、発熱期間は多くの報告と差がなかった。日本人の熱性けいれんの頻度は諸外国に比べて高く、その有病率は7~9%とされる。このため、今回の川崎病での有熱期間にけいれんを起こした患者が1名もなかったことは、川崎病での熱性けいれんの発症が少ないことを裏付けるものかもしれない

い。今後は、さらに川崎病患者を収集して、その集団での熱性けいれんの発症頻度の調査を行う予定である。

一方熱性けいれん患者252名よりDNAの採取をおこなった。今後は次世代シーケンサーを利用してその遺伝的背景の研究を行う予定である。その際に欠かせない、両親の検体も252例のうち、53例で、すなわちトリオで収集できている。今後は100例以上のトリオでのDNA収集を目指す予定である。

今後は同様に川崎病罹患中に熱性けいれんを来した者、数十例より得たDNAを用いて、遺伝子チップにより、双方の遺伝子の相違を明らかにする。得られた結果(多型)を川崎病にも、熱性けいれんも来したとことがない個体(50例)、熱性けいれんはあるが、川崎病を発症したことがない個体(50例)の遺伝子多型と比較し、川崎病での熱性けいれんに特異的な遺伝子多型を見出すことをめざす。しかしながら、予想以上に川崎病患者での熱性けいれんの発症率が低かった(0%)ため、統計上、また遺伝学的に有意な遺伝子多型の比較ができる患者数を集めるため、長期に亘り、研究を継続する予定である。

【まとめ】

三年間の調査で、川崎病での熱性けいれんの発症率は日本人の熱性けいれんのそれより低い事が示唆された。現在川崎病と熱性けいれんの遺伝的背景を比較検討している。

2. 発表業績

研究期間中に発表された著書および論文

1. Tomonoh Y, Deshimaru M, Araki K, Miyazaki Y, Arasaki T, Tanaka Y, Kitamura H, Mori F, Wakabayashi K, Yamashita S, Saito R, Itoh M, Uchida T, Yamada J, Migita K, Ueno S, Kitaura H, Kakita A, Lossin C, Takano Y, Hirose S. The kick-in system: a novel rapid knock-in strategy. PLoS ONE. 2014;9(2):e88549. Epub 2014/03/04.
2. Tomioka NH, Yasuda H, Miyamoto H, Hatayama M, Morimura N, Matsumoto Y, Suzuki T, Odagawa M, Odaka YS, Iwayama Y, Won Um J, Ko J, Inoue Y, Kaneko S, Hirose S, Yamada K, Yoshikawa T, Yamakawa K, Aruga J. Elnf1 recruits presynaptic mGluR7 in trans and its loss results in seizures. Nat Commun. 2014;5:4501. Epub 2014/07/23.
3. Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Morisada N, Iijima K, Takada S, Araki A, Tanabe Y, Arai H, Yamashita S, Ohashi T, Oda Y, Ichiseki H, Hirabayashi S, Yasuhara A, Kawawaki H, Kimura S, Shimono M, Narumiya S, Suzuki M, Yoshida

- T, Oyazato Y, Tsuneishi S, Ozasa S, Yokochi K, Dejima S, Akiyama T, Kishi N, Kira R, Ikeda T, Oguni H, Zhang B, Tsuji S, Hirose S. Genotype-phenotype correlations in alternating hemiplegia of childhood. *Neurology*. 2014;82(6):482-90. Epub 2014/01/17.
4. Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Hirose S. Intermediate form between alternating hemiplegia of childhood and rapid-onset dystonia-parkinsonism. *Mov Disord*. 2014;29(1):153-4. Epub 2013/10/15.
 5. Koyama S, Mori M, Kanamaru S, Sazawa T, Miyazaki A, Terai H, Hirose S. Obesity attenuates D2 autoreceptor-mediated inhibition of putative ventral tegmental area dopaminergic neurons. *Physiol Rep*. 2014;2(5):e12004. Epub 2014/05/06.
 6. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. *Brain Dev*. 2014. Epub 2014/05/14.
 7. Jingami N, Matsumoto R, Ito H, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Ikeda A, Takahashi R. A novel SCN1A mutation in a cytoplasmic loop in intractable juvenile myoclonic epilepsy without febrile seizures. *Epileptic Disord*. 2014;16(2):227-31. Epub 2014/05/21.
 8. Ishii A, Kanaumi T, Sohda M, Misumi Y, Zhang B, Kakinuma N, Haga Y, Watanabe K, Takeda S, Okada M, Ueno S, Kaneko S, Takashima S, Hirose S. Association of nonsense mutation in GABRG2 with abnormal trafficking of GABAA receptors in severe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2014;108(3):420-32. Epub 2014/02/01.
 9. Hirose S. Mutant GABAA receptor subunits in genetic (idiopathic) epilepsy. *Prog Brain Res*. 2014;213:55-85. Epub 2014/09/10.
 10. Heinzen EL, Arzimanoglou A, Brashear A, Clapcote SJ, Gurrieri F, Goldstein DB, Johannesson SH, Mikati MA, Neville B, Nicole S, Ozelius LJ, Poulsen H, Schyns T, Sweadner KJ, van den Maagdenberg A, Vilsen B, for the ATPAWG, (Hirose S, et al,). Distinct neurological disorders with ATP1A3 mutations. *Lancet Neurol*. 2014;13(5):503-14. Epub 2014/04/18.
 11. Fukasawa T, Kubota T, Negoro T, Saitoh M, Mizuguchi M, Ihara Y, Ishii A, Hirose S. A case of recurrent encephalopathy with SCN2A missense mutation. *Brain Dev*. 2014. Epub 2014/12/03.
 12. Yoshikane Y, Yoshinaga M, Hamamoto K, Hirose S. A case of long QT syndrome with triple gene abnormalities: digenic mutations in KCNH2 and SCN5A and gene variant in KCNE1. *Heart Rhythm*. 2013;10(4):600-3. Epub 2012/12/15.
 13. Yamada J, Zhu G, Okada M, Hirose S, Yoshida S, Shiba Y, Migita K, Mori F, Sugawara T, Chen L, Liu F, Yoshida S, Ueno S, Kaneko S. A novel prophylactic effect of furosemide treatment on autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy (ADNFLE). *Epilepsy Res*. 2013;107(1-2):127-37. Epub 2013/09/21.
 14. Sugiura Y, Ihara Y, Ishii A, Ugawa Y, Hirose S. Lack of potassium current in novel mutations of KCNQ2 and KCNQ3 identified in benign familial neonatal epilepsy (BFNE). *J Neurol Sci*. 2013;333:e50-1.
 15. Sugawara T, Yoshida S, Onodera N, Wada K, Hirose S, Kaneko S. Detection of SCN1A mutations in patients with severe myoclonic epilepsy in infancy by custom resequence array. *Journal of Epileptology*. 2013;21:5-13.
 16. Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, Ikeda K, Hirose S, Takanashi J, Takita J, Kikuchi K, Kubota M, Yamanaka G, Shiihara T, Kumakura A, Kikuchi M, Toyoshima M, Goto T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. ADORA2A polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology*. 2013;80(17):1571-6. Epub 2013/03/29.
 17. Oguni H, Otsuki T, Kobayashi K, Inoue Y, Watanabe E, Sugai K, Takahashi A, Hirose S, Kameyama S, Yamamoto H, Hamano S, Baba K, Baba H, Hong SC, Kim HD, Kang HC, Luan G, Wong TT. Clinical analysis of catastrophic epilepsy in infancy and early childhood: results of the Far-East Asia Catastrophic Epilepsy (FACE) study group. *Brain Dev*. 2013;35(8):786-92. Epub 2013/03/16.
 18. Nakazawa M, Okumura A, Niiijima S, Yamashita S, Shimono K, Hirose S, Shimizu T. Oral mexiletine for lidocaine-responsive neonatal epilepsy. *Brain Dev*. 2013;35(7):667-9. Epub 2012/11/28.
 19. Nakamura Y, Shi X, Numata T, Mori Y, Inoue R, Lossin C, Baram TZ, Hirose S. Novel HCN2 Mutation Contributes to Febrile Seizures by Shifting the Channel's Kinetics in a Temperature-Dependent Manner. *PLoS ONE*. 2013;8(12):e80376. Epub 2013/12/11.
 20. Migita K, Yamada J, Nikaido Y, Shi X, Kaneko S, Hirose S, Ueno S. Properties of a novel GABAA receptor γ 2 subunit mutation associated with seizures. *J Pharmacol Sci*. 2013;121(1):84-7. Epub 2012/12/22.
 21. Koyama S, Kawaharada M, Terai H, Ohkurano M, Mori M, Kanamaru S, Hirose S. Obesity decreases excitability of putative ventral tegmental area GABAergic neurons. *Physiol Rep*. 2013;1(5):e00126. Epub 2013/12/05.
 22. Ishii A, Yasumoto S, Ihara Y, Inoue T, Fujita T, Nakamura N, Ohfu M, Yamashita Y, Takatsuka H, Taga T, Miyata R, Ito M, Tsuchiya H, Matsuoka T, Kitao T, Murakami K, Lee WT, Kaneko S, Hirose S. Genetic analysis of PRRT2

- for benign infantile epilepsy, infantile convulsions with choreoathetosis syndrome, and benign convulsions with mild gastroenteritis. *Brain Dev.* 2013;35(6):524-30. Epub 2012/10/18.
23. Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T. A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene.* 2013;531(2):467-71. Epub 2013/09/14.
24. Ishii A, Saito Y, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Arai H, Yamashita S, Kimura S, Oguni H, Morishita S, Tsuji S, Sasaki M, Hirose S. Identification of ATP1A3 mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients. *PLoS ONE.* 2013;8(2):e56120. Epub 2013/02/15.
25. Inoue T, Kawawaki H, Kuki I, Nabatame S, Tomonoh Y, Sukigara S, Horino A, Nukui M, Okazaki S, Tomiwa K, Kimura-Ohba S, Inoue T, Hirose S, Shiomi M, Itoh M. A case of severe progressive early-onset epileptic encephalopathy: unique GABAergic interneuron distribution and imaging. *J Neurol Sci.* 2013;327(1-2):65-72. Epub 2013/02/21.
26. Inoue T, Ihara Y, Tomonoh Y, Nakamura N, Ninomiya S, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Zhang B, Hirose S. Early onset and focal spike discharges as indicators of poor prognosis for myoclonic-astatic epilepsy. *Brain Dev.* 2013. Epub 2013/09/24.
27. Inoue T, Hattori K, Ihara K, Ishii A, Nakamura K, Hirose S. Newborn screening for Fabry disease in Japan: prevalence and genotypes of Fabry disease in a pilot study. *J Hum Genet.* 2013;58(8):548-52. Epub 2013/05/17.
28. Hirose S, Scheffer IE, Marini C, De Jonghe P, Andermann E, Goldman AM, Kauffman M, Tan NC, Lowenstein DH, Sisodiya SM, Ottman R, Berkovic SF, Genetics Commission of the International League Against E. SCN1A testing for epilepsy: application in clinical practice. *Epilepsia.* 2013;54(5):946-52. Epub 2013/04/17.
29. Higurashi N, Uchida T, Lossin C, Misumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Imaizumi Y, Zhang B, Nabeshima K, Mori MX, Katsurabayashi S, Shirasaka Y, Okano H, Hirose S. A human Dravet syndrome model from patient induced pluripotent stem cells. *Mol Brain.* 2013;6:19. Epub 2013/05/04.
30. Higurashi N, Uchida T, Hirose S, Okano H. Current Trends in Dravet syndrome Research. *J Neurol Neurophysiol.* 2013;4(3).
31. Higurashi N, Okano H, Hirose S. The effect of SCN1A mutations on patient-derived GABAergic neurons: what are the implications for future Dravet syndrome therapeutics? *Future Neurol.* 2013;8(5):487-9
32. Higurashi N, Nakamura M, Sugai M, Ohfu M, Sakauchi M, Sugawara Y, Nakamura K, Kato M, Usui D, Mogami Y, Fujiwara Y, Ito T, Ikeda H, Imai K, Takahashi Y, Nukui M, Inoue T, Okazaki S, Kirino T, Tomonoh Y, Inoue T, Takano K, Shimakawa S, Hirose S. PCDH19-related female-limited epilepsy: further details regarding early clinical features and therapeutic efficacy. *Epilepsy Res.* 2013;106(1-2):191-9. Epub 2013/05/29.
33. Fujita T, Kamio Y, Yamasaki T, Yasumoto S, Hirose S, Tobimatsu S. Altered automatic face processing in individuals with high-functioning autism spectrum disorders: Evidence from visual evoked potentials Research in Autism Spectrum Disorders. 2013;7(6):710-20.
34. Yamakawa Y, Nakazawa T, Ishida A, Saito N, Komatsu M, Matsubara T, Obinata K, Hirose S, Okumura A, Shimizu T. A boy with a severe phenotype of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency. *Brain Dev.* 2012;34(2):107-12. Epub 2011/05/27.
35. Wang JW, Shi XY, Kurahashi H, Hwang SK, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S, Epilepsy Genetic Study Group J. Prevalence of SCN1A mutations in children with suspected Dravet syndrome and intractable childhood epilepsy. *Epilepsy Res.* 2012;102(3):195-200. Epub 2012/12/01.
36. Steinlein OK, Kaneko S, Hirose S. Nicotinic acetylcholine receptor mutations. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies.* 4th ed. Bethesda (MD)2012.
37. Shimojima K, Inoue T, Imai Y, Arai Y, Komoike Y, Sugawara M, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Kanno H, Hirose S, Yamamoto T. Reduced PLP1 expression in induced pluripotent stem cells derived from a Pelizaeus-Merzbacher disease patient with a partial PLP1 duplication. *J Hum Genet.* 2012;57(9):580-6. Epub 2012/06/15.
38. Shi X, Yasumoto S, Kurahashi H, Nakagawa E, Fukasawa T, Uchiya S, Hirose S. Clinical spectrum of SCN2A mutations. *Brain Dev.* 2012;34(7):541-5.
39. Shi X, Wang JW, Kurahashi H, Ishii A, Higurashi N, Kaneko S, Hirose S. On the likelihood of SCN1A microdeletions or duplications in Dravet syndrome with missense mutation. *Brain Dev.* 2012;34(8):617-9. Epub 2011/12/31.
40. Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, Kubota M, Amemiya K, Takanashi JL, Hwang SK, Hirose S, Mizuguchi M. Mutations of the SCN1A gene in acute encephalopathy. *Epilepsia.* 2012;53(3):558-64.

41. Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N. Mutations in PRRT2 responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions. *J Hum Genet.* 2012;57(5):338-41.
42. Masumoto K, Oka Y, Nakamura M, Ida M, Takano K, Yoshimitsu K, Hirose S, Sakata N, Iwasaki A. Pleomorphic adenoma of the submandibular gland in children: a case report and a review of the Japanese literature. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012;34(1):e39-41. Epub 2011/11/16.
43. Lossin C, Shi X, Rogawski MA, Hirose S. Compromised function in the Na(v)1.2 Dravet syndrome mutation R1312T. *Neurobiol Dis.* 2012;47(3):378-84.
44. Kurahashi H, Hirose S. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy (September 2012) in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online] Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2010 Available at <http://www.genetests.org>. 2012.
45. Kawai C, Minatogawa Y, Akiyoshi H, Hirose S, Suehiro T, Tone S. A novel mutation of human liver alanine:glyoxylate aminotransferase causes primary hyperoxaluria type 1: immunohistochemical quantification and subcellular distribution. *Acta Histochem Cytochem.* 2012;45(2):121-9.
46. Ishii A, Miyajima T, Kurahashi H, Wang JW, Yasumoto S, Kaneko S, Hirose S. KCNQ2 abnormality in BECTS: Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes following benign neonatal seizures resulting from a mutation of KCNQ2. *Epilepsy Res.* 2012;102(1-2):122-5. Epub 2012/08/14.
47. Imafuku S, Ohta E, Yoshimura K, Yasumoto S, Hirose S, Nakayama J. Persistent cutaneous neonatal herpes caused by Herpes simplex virus-2. *J Dermatol.* 2012;39(7):671-2.
48. Hwang SK, Hirose S. Genetics of temporal lobe epilepsy. *Brain Dev.* 2012;34(8):609-16.
49. Hoshino A, Saitoh M, Oka A, Okumura A, Kubota M, Saito Y, Takanashi J, Hirose S, Yamagata T, Yamanouchi H, Mizuguchi M. Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes. *Brain Dev.* 2012;34(5):337-43.
50. Higurashi N, Shi X, Yasumoto S, Oguni H, Sakauchi M, Itomi K, Miyamoto A, Shiraiishi H, Kato T, Makita Y, Hirose S. PCDH19 mutation in Japanese females with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2012;99(1-2):28-37.