

博士学位申請論文要約

博士学位申請論文名

Characteristics of *KCNQ2* variants causing either benign
neonatal epilepsy or developmental and epileptic encephalopathy

(日本語訳)

良性（家族性）新生児てんかんと*KCNQ2*脳症の原因となる*KCNQ2* 遺伝子のバ
リアントの特徴

^{Dsq} 掲載名（巻、頁、発行年）

「Epilepsia」 Volume 60, Issue 9 September 2019 pages 1870–1880

[DOI: <https://doi.org/10.1111/epi.16314>]

【目的】

*KCNQ2*遺伝子は電位依存性K⁺チャンネルをコードする遺伝子の一つで、セグメント1 (S1) からセグメント6 (S6) の膜貫通受容体領域とN末端とC末端からなる。C末端側には、 α ヘリックスのA-D領域がある。*KCNQ2*遺伝子は良性（家族性）新生児てんかん (Benign (familial) neonatal epilepsy: B(F)NE) と*KCNQ2*脳症の原因遺伝子の一つであるが、そのバリエーションの特徴として病原性と非病原性、また、B(F)NEと*KCNQ2*脳症を区別に関与するものがあるかどうかを明らかにする。

【方法】

小児神経科医に臨床的にB(F)NEか*KCNQ2*脳症の可能性があると判断された症例で解析により*KCNQ2*遺伝子に変異を認めた症例と、*KCNQ2*遺伝子異常の症例を集めた2つのデータベース (EpilepsygeneとRIKEE) の症例を集積した。また非病原性の症例はコントロールとしてGenome Aggregation Database (gnomAD)から集積した。集積したミスセンスバリエーションをB(F)NE群と*KCNQ2*脳症群とコントロール群に分け、累積分布関数で比較した。また、どの予測スコア (CADD、PolyPhen-2、SIFT、phyloP100、Mutation Assessor、FATHMM、PROVEAN、PAM30) が病原性やB(F)NEと*KCNQ2*脳症を区別するものとして役に立つのかも比較し統計を行った。

【結果】

259の*KCNQ2*遺伝子の病原性バリエーションを認め、そのうち148がB(F)NEで111が*KCNQ2*脳症であった。148のB(F)NEのうち、56がミスセンスであった。111の*KCNQ2*脳症のうち、109がミスセンスであった。コントロールは2963ミスセンスバリエーションがあった。それぞれのミスセンスバリエーションを累積分布関数で比較した。B(F)NEとコントロールを比較し、5つの領域 (S1-HelixAやHelixB-Cを形成している部位) がB(F)NEが有意に多く、2つの領域 (セグメントやヘリックス以外の領域) でコントロールが有意に多かった。*KCNQ2*脳症とコントロールを比較し、3つの領域 (S3-HelixAの間の領域) で*KCNQ2*脳症が有意に多く、3つの領域 (セグメントやヘリックス以外の領域) でコントロールが有意に多かった。B(F)NEと*KCNQ2*脳症とを比較し、2つの領域 (イオン膜孔からS6までの領域、S6からHelix Aの領域) で*KCNQ2*脳症が有意に多く、1つの領域 (S2-S3領域) でB(F)NEが有意に多かった。予測スコアについては、AUCの比較ではPROVEAN (0.847) と SIFT (0.82) が良かった。PROVEANでさらに、B(F)NEと*KCNQ2*脳症とコントロールで部位も合わせて比較してみたところ、S3-Helix Aの間の領域では、B(F)NEと*KCNQ2*脳症のバリエーションのPROVEANのスコアは、コントロールに比べて、有意に低かったが、B(F)NEと*KCNQ2*脳症のバリエーションを比較すると有意な差はなかった。PAM30というアミノ酸単位の変化で評価する予測スコアでB(F)NEと*KCNQ2*脳症とコントロールでスコアを比較したところ、S1-S3領域では、B(F)NEが有意に*KCNQ2*脳症とコントロールに比べて低く、S3-Helix Aの間の部位では、*KCNQ2*脳症がコントロールとB(F)NEより有意に低かった。Helix A-Helix B領域と、Helix D-C末端領域は、コントロールの方が、PAM30スコアが低かった。種の保存性を確認すると、S1-S3 領域とS3-Helix A 領域の保存性はHelix A-Helix B, 領域とHelix D-C terminal領域より高かった。

【結論】

S3-S6やヘリックスA-Dを形成している部位のバリエーションは病原性が多く、セグメントやヘリックス以外の領域のバリエーションは非病原性が多くなっていた。それは、セグメントは重要な役割を持っていて、ヘリックスA-Dは重要な蛋白が結合する部位だからであると考えられる。累積分布関数でB(F)NEのバリエーションが多かったS2-S3領域はPIP2 (Phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate) が結合する部位で重要であるが、*KCNQ2*脳症のバリエーションが多かったイオン膜孔からS6 までの領域は、イオン膜孔を形成し当然ながら非常に重要な役割を担っている部分であり、S6からHelix Aの領域は複数の蛋白が結合する部位として重要である。また、予測スコアの中で、PROVEANのスコアが、S3-HelixAの間の領域で、B(F)NEと*KCNQ2*脳症のバリエーションが、コントロールより有意低く、バリエーションが病原性と非病原性でありうる

可能性を区別するのに役に立つ可能性を示唆した。さらにS3-HelixAの間の領域においては、PAM30のスコアがKCNQ2脳症のバリエントがB(F)NEのバリエントに比べ有意に低かった。一方でS1-S3の領域では、PAM30の点数がB(F)NEのバリエントがKCNQ2脳症のバリエントに比べ有意に低かった。種の保存性を確認すると、S1-S3 領域とS3-helix A 領域の保存性はHelix A-Helix B, 領域とHelix D-C terminal領域より高いことから、S1-S3 領域とS3-Helix A 領域は進化においても変化することなく非常に重要な部位であることを示しており、その部位で変異を起こすことは病原性につながるのではないかと考える。S1-S3 領域とS3-Helix A 領域の間では保存性の差はないが、S3-Helix Aは、ボルテージセンサーとイオン膜孔のドメインを形成しており、よりその変異が重症なものとなり脳症のフェノタイプになっていくのではないかと考える。

【参考文献】

- 1 Hirose S, Mitsudome A, Okada M, et al. Genetics of idiopathic epilepsies. *Epilepsia*. 2005;46 Suppl 1:38-43.
- 2 Ishii A, Fukuma G, Uehara A, et al. A de novo KCNQ2 mutation detected in non-familial benign neonatal convulsions. *Brain Dev*. 2009;31:27-33.
- 3 Kato M, Yamagata T, Kubota M, et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia*. 2013;54:1282-1287.
- 4 Dedek K, Fusco L, Teloy N, et al. Neonatal convulsions and epileptic encephalopathy in an Italian family with a missense mutation in the fifth transmembrane region of KCNQ2. *Epilepsy Res*. 2003;54:21-27.
- 5 Wang HS, Pan Z, Shi W, et al. KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel. *Science*. 1998;282:1890-1893.
- 6 Steinlein OK, Conrad C, Weidner B. Benign familial neonatal convulsions: Always benign? *Epilepsy Res*. 2007;73:245-249.
- 7 Greene DL, Hoshi N. Modulation of Kv7 channels and excitability in the brain. *Cell Mol Life Sci*. 2016;74:495-508.
- 8 Zhu G, Okada M, Murakami T, et al. Dysfunction of M-channel enhances propagation of neuronal excitability in rat hippocampus monitored by multielectrode dish and microdialysis systems. *Neurosci Lett*. 2000;294:53-57.
- 9 Singh NA, Charlier C, Stuffer D, et al. A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genet*. 1998;18:25-29.
- 10 Soldovieri MV, Boutry-Kryza N, Milh M, et al. Novel KCNQ2 and KCNQ3 mutations in a large cohort of families with benign neonatal epilepsy: first evidence for an altered channel regulation by syntaxin-1A. *Hum Mutat*. 2014;35:356-367.
- 11 Soldovieri MV, Miceli F, Bellini G, et al. Correlating the Clinical and Genetic Features of Benign Familial Neonatal Seizures (BFNS) with the Functional Consequences of Underlying Mutations. *Channels*. 2014;1:228-233.
- 12 Borgatti R, Zucca C, Cavallini A, et al. A novel mutation in KCNQ2 associated with BFNC, drug resistant epilepsy, and mental retardation. *Neurology*. 2004;63:57-65.
- 13 Miceli F, Soldovieri MV, Ambrosino P, et al. Genotype-phenotype correlations in neonatal epilepsies caused by mutations in the voltage sensor of K(v)7.2 potassium channel subunits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:4386-4391.
- 14 Weckhuysen S, Mandelstam S, Suls A, et al. KCNQ2 encephalopathy: Emerging phenotype of a neonatal epileptic encephalopathy. *Ann Neurol*. 2012;71:15-25.
- 15 Orhan G, Bock M, Schepers D, et al. Dominant-negative effects of KCNQ2 mutations are associated with epileptic encephalopathy. *Ann Neurol*. 2014;75:382-394.
- 16 Ishii A, Kang JQ, Schornak CC, et al. A de novo missense mutation of GABRB2 causes early myoclonic encephalopathy. *J Med Genet*. 2017;54:202-211.
- 17 Ishii A, Watkins JC, Chen D, et al. Clinical implications of SCN1A missense and truncation variants in a large Japanese cohort with Dravet syndrome. *Epilepsia*. 2017;58:282-290.
- 18 Kurahashi H, J.w.Wang, Ishii A, et al. Deletions involving both KCNQ2 and CHRNA4 present with benign familial neonatal seizures. *Neurology*. 2009;73:1214-1217.
- 19 Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405-424.
- 20 Ran X, Li J, Shao Q, et al. EpilepsyGene: a genetic resource for genes and mutations related to epilepsy. *Nucleic Acids Res*. 2015;43:D893-D899.
- 21 Dayhoff MO, Schwartz RM, Orcutt BC. A Model of Evolutionary Change in

- Proteins. Atlas of Protein Sequence and Structure. 1978;5:345-352.
- 22 Mount DW. Comparison of the PAM and BLOSUM Amino Acid Substitution Matrices. Cold Spring Harb Protoc. 2008:pdb.ip59.
- 23 Gutierrez AH, Martin WD, Bailey-Kellogg C, et al. Development and validation of an epitope prediction tool for swine (PigMatrix) based on the pocket profile method. BMC Bioinformatics. 2015;16:290.
- 24 Kuersten M, Tacke M, Gerstl L, et al. Antiepileptic therapy approaches in KCNQ2 related epilepsy: A systematic review. Eur J Med Genet. 2019, doi:10.1016/j.ejmg.2019.02.001.
- 25 Miceli F, Soldovieri MV, Joshi N, et al. KCNQ2-Related Disorders. In Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. (Eds) GeneReviews((R)): Seattle (WA); 1993.
- 26 Millichap JJ, Park KL, Tsuchida T, et al. KCNQ2 encephalopathy: Features, mutational hot spots, and ezogabine treatment of 11 patients. Neurol Genet. 2016;2:e96.
- 27 Etxeberria A, Aivar P, Rodriguez-Alfaro JA, et al. Calmodulin regulates the trafficking of KCNQ2 potassium channels. FASEB J. 2008;22:1135-1143.
- 28 Regev N, Degani-Katzav N, Korngreen A, et al. Selective interaction of syntaxin 1A with KCNQ2: possible implications for specific modulation of presynaptic activity. PLoS One. 2009;4:e6586.
- 29 Zaydman MA, Cui J. PIP2 regulation of KCNQ channels: biophysical and molecular mechanisms for lipid modulation of voltage-dependent gating. Front Physiol. 2014;5:19