

乳幼児に発症する難病「発達性てんかん性脳症」の病態を 患者 iPS 細胞を用いて解明

～抑制性神経細胞の機能障害と遺伝子発現変動～

本研究成果のポイント

- *STXBPI* 遺伝子変異による発達性てんかん性脳症の患者 iPS 細胞にゲノム編集を行い、変異を修復した iPS 細胞を作製し、遺伝的背景を同じくする理想的なペアで比較解析を実施した。
- 患者由来・変異修復それぞれの iPS 細胞から抑制性神経細胞を分化誘導し解析した結果、患者由来の抑制性神経細胞では、変異修復された細胞よりも自発神経活動が低下し、神経発達や神経変性に関与する遺伝子群に発現変動を示すことを明らかにした。
- これらの結果は、本症に対する分子標的治療開発の基盤となるものと期待される。

京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学の一瀬栄佑大学院生（当時）、千代延友裕学内講師らの研究グループは、患者 iPS 細胞を用いて乳幼児に発症する難病「発達性てんかん性脳症」の病態の一端を解明し、本件に関する論文が、科学雑誌『Human Molecular Genetics』に2021年5月7日付けで掲載されましたのでお知らせします。

本研究では、発達性てんかん性脳症の原因遺伝子 *STXBPI* の変異により抑制性神経細胞の自発活動低下をきたすことを患者 iPS 細胞とゲノム編集技術を用いて明らかにしました。さらに、患者由来の抑制性神経細胞は神経発達や神経変性に関与する遺伝子群に発現変動を示すことを見出しました。本研究成果をもとに、今後は本症の分子標的治療開発へとつながることが期待されます。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名 Human Molecular Genetics 発表媒体 <input checked="" type="checkbox"/> オンライン速報版 <input type="checkbox"/> ペーパー発行 <input type="checkbox"/> その他 雑誌の発行元国 英国 オンライン閲覧 不可 掲載日 2021年5月7日
論文情報	論文タイトル Impaired neuronal activity and differential gene expression in <i>STXBPI</i> encephalopathy patient iPSC-derived GABAergic neurons (<i>STXBPI</i> 脳症患者 iPS 細胞から分化誘導した抑制性 GABA 神経細胞は自発神経活動低下と遺伝子発現変動を示す)

	<p>代表著者 京都府立医科大学大学院 小児科学 千代延友裕</p> <p>共同著者 京都府立医科大学大学院 小児科学 一瀬栄佑 京都府立医科大学大学院 小児科学 戸澤雄紀 京都府立医科大学大学院 小児科学 田浦喜裕 京都府立医科大学大学院 小児科学 山下哲史 京都府立医科大学大学院 小児科学 吉田路子 京都府立医科大学医学部看護学科 医学講座 森本昌史 慶應義塾大学医学部 生理学 石川充 慶應義塾大学医学部 生理学 岡野栄之 福岡大学てんかん分子病態研究所 田中泰生 福岡大学てんかん分子病態研究所 柴田磨己 東京慈恵会医科大学 小児科学 日暮憲道 東京女子医科大学大学院 遺伝子医学分野 山本俊至 福岡大学医学部 小児科学 廣瀬伸一</p>
研究情報	<p>代表研究者 京都府立医科大学大学院 小児科学 千代延友裕</p> <p>資金的関与 日本医療研究開発機構 (AMED)、日本学術振興会科学研究費助成事業、公益財団法人てんかん治療研究振興財団</p>

【論文概要】

1 研究分野の背景や問題点

発達性てんかん性脳症は、主に乳幼児に発症し、難治性のてんかん発作に精神運動発達の遅滞・退行を伴う疾患群です。患者や家族の生活に大きな影響を及ぼす重篤な疾患ですが、その病態は不明な点が多いため、治療は効果の乏しい対症療法に限られます。この疾患群の原因となる遺伝子異常は多彩で、現在まで 80 を超える原因遺伝子が同定されています。遺伝子解析技術の進歩により、現在では多くの患者で原因となる遺伝子変異の同定に至ることができますが、今後はこの遺伝情報に基づいた個別の分子標的治療の実現が望まれます。そのためには原因遺伝子それぞれに対する病態解析研究が必須と考えられます。

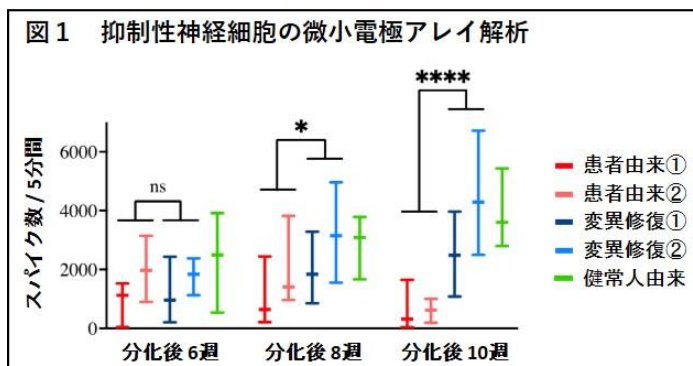
本研究で対象とした *STXBPI* 遺伝子は発達性てんかん性脳症の原因遺伝子の中でも最も高頻度なものの一つです。*STXBPI* はシナプス小胞の開口放出において役割をもつことが知られていますが、遺伝子変異により疾患が発症する分子病態は不明な点が多く残っていました。

2 研究内容・成果の要点

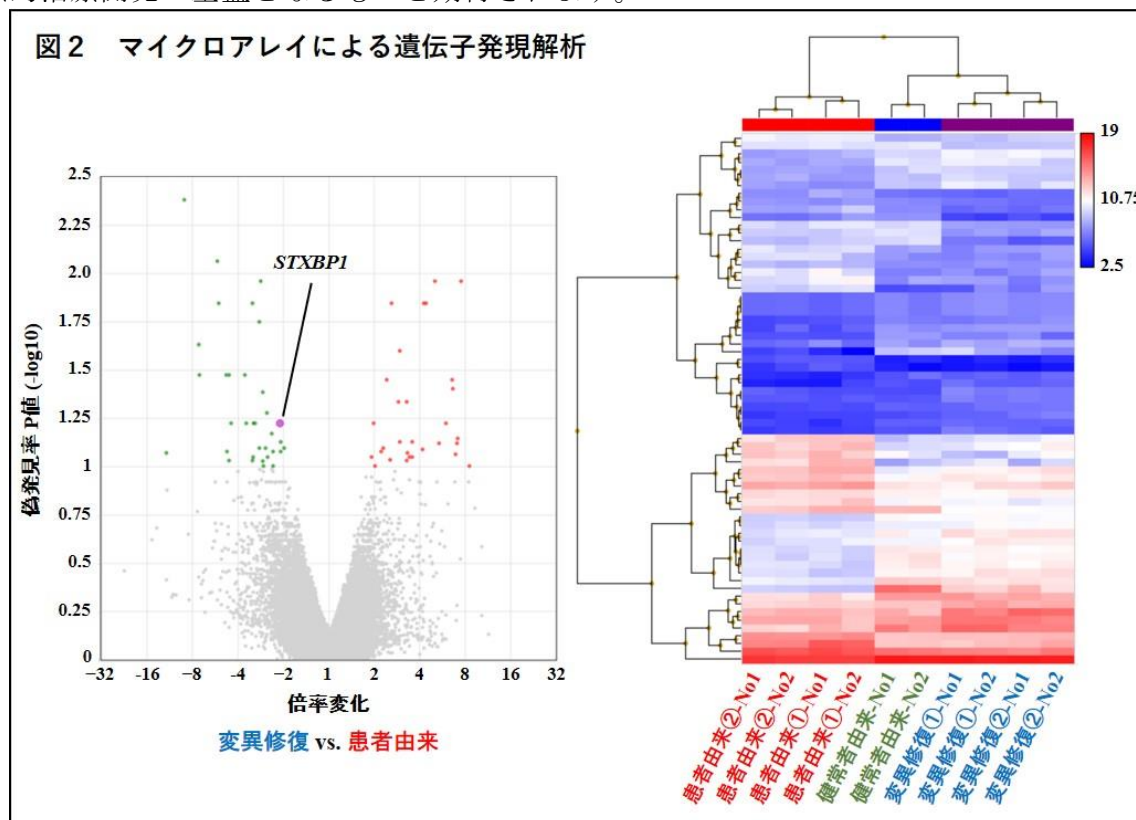
まず、*STXBPI* 変異による発達性てんかん性脳症の患者 iPS 細胞に CRISPR/Cas9 によるゲノム編集を行い、変異を修復した iPS 細胞を作製しました。一般的に患者 iPS 細胞で病態解析研究を行う場合、別個人である健常者由来の細胞との比較検討では、個人それぞれの遺伝的多様性により生じる影響が無視できません。その問題に対し、多数の患者・健常者間で比較するという方法もありますが、希少難病の場合には多数の患者細胞を得ることは困難です。本研究では、患者 iPS 細胞を元に変異修復細胞を作製することにより *STXBPI* 変異の有無以外には遺伝的背景を同じくする理想的なペアでの比較検討を可能としました。

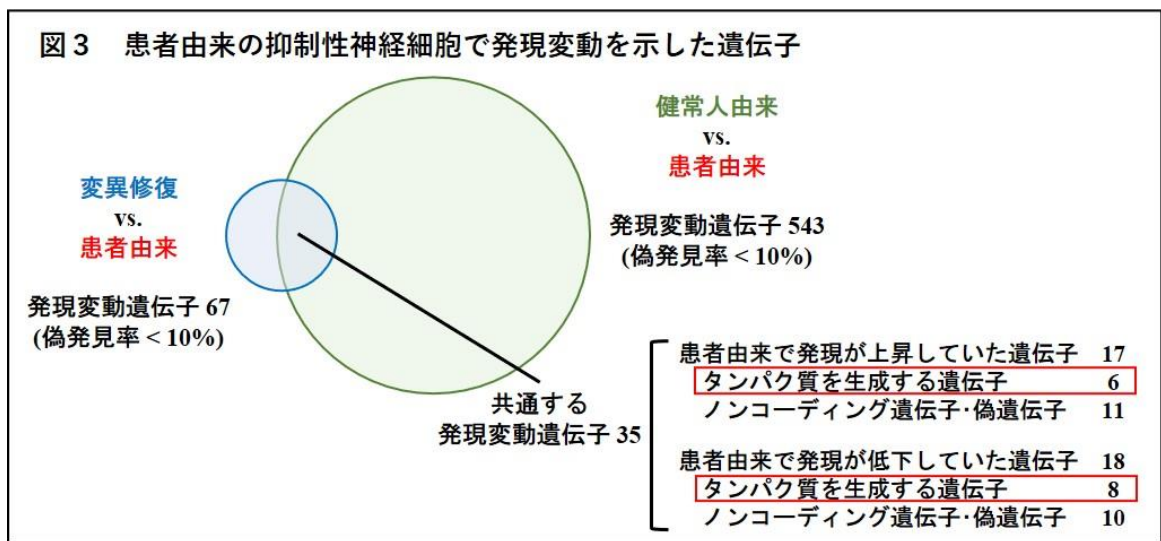
続いて、患者および変異修復 iPS 細胞から抑制性神経細胞を作製し、両者の違いを解析しました。iPS 細胞から神経細胞を作製する場合、一般的な分化誘導法では興奮性神経細胞（グルタミン酸ニューロン）と抑制性神経細胞（GABA ニューロン）が混在して作製されますが、本研究では iPS 細胞に 2 つの転写因子（ASCL1 および DLX2）を一過性に発現させるという最近報告された手法を用いることにより 100% の純度で抑制性神経細胞を作製できました。

微小電極アレイを用いた神経細胞活動の記録により、患者由来の抑制性神経細胞は分化後 8 週以降に変異修復細胞と比較して自発スパイク頻度が有意に低下することが示されました（図 1）。



また、分化後 8 週の抑制性神経細胞を用いてマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、患者由来の抑制性神経細胞で発現が変動している遺伝子群を同定しました（図 2）。患者細胞と変異修復細胞の間で発現変動を認めた 67 遺伝子のうち、35 遺伝子は患者細胞と健常人細胞の間でも共通した発現変動を示し、これらが本症の病態に関与する遺伝子群であると考えられました（図 3）。同定した 35 遺伝子のうちタンパク質をコードする遺伝子は 14 個存在し、その中には神経発達や神経変性に関与する 7 個の遺伝子（*KCNH1*、*KCNH5*、*CNN3*、*RASCRF1*、*SEMA3A*、*SIAH3*、*INPP5F*）が含まれていました。これらの遺伝子が関与する経路が発達性てんかん性脳症の病態に深く関わっている可能性があり、今後の分子標的治療開発の基盤となるものと期待されます。





本研究は日本医療研究開発機構（AMED）、日本学術振興会科学研究費助成事業、公益財団法人てんかん治療研究振興財団の研究助成金を受けて行われました。

<p><研究に関すること> 京都府立医科大学 小児科学 学内講師 千代延友裕 電話：075-251-5571 E-mail：chiyono@koto.kpu-m.ac.jp</p>	<p><広報に関すること> 事務局企画広報課 担当：土屋 電話：075-251-5804 E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------