

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成24年9月16日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科

職名・学年 特定研究員(医学専攻 博士課程4年)

氏名 石田 紗恵子

助成の種類	平成24年度 ・ 若手研究者在外研究支援 ・ 在外研究中期助成	
研究課題名	新規てんかん原因遺伝子Lgi1のてんかん発症機序の解明: 音刺激誘発けいれん試験によるADLTEモデルマウスとラット間の比較研究	
受入機関	Institut du cerveau et de la Moelle (Brain and Spine institute)	
渡航期間	平成 24年 6月 17日 ~ 平成 24年 9月 14日	
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()	
会計報告	交付を受けた助成金額	750,000円
	使用した助成金額	750,000円
	返納すべき助成金額	0円
	助成金の使途内訳	渡航費及び交通費: 240,000円
		滞在費:510,000円
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この度は留学に関するご支援を頂き、ありがとうございました。無事に成果を得て帰国することができました。このような留学に対する支援は決して多いとは言えず、志があっても財政的な問題からチャンスを得られない研究者がたくさんいます。特に、若手でも応募可能な助成は本当に少なく、今回、貴財団からの援助で実現することができたことは私にとって、とても幸運なことであり、感謝の意にたえません。今後とも、このようなご支援を継続して頂けるようお願い申し上げます。ありがとうございました。	

成果の概要／石田紗恵子

新規てんかん原因遺伝子 *Lgi1* のてんかん発症機序の解明：

音刺激誘発けいれん試験による ADLTE モデルマウスとラット間の比較研究

ヒト常染色体優性外側側頭葉てんかん (ADLTE) は、発作の前兆として幻聴が現れるなどの聴覚症状を伴う遺伝性部分てんかんである。発症は青年期に多く報告されている。Leucin-rich glioma inactivated 1 (*LGI1*) は ADLTE の原因遺伝子として、またてんかん遺伝子としては初めての非イオンチャンネル関連遺伝子として報告された。故に *LGI1* によるてんかん発症機序は、これまで多く報告されているイオンチャンネルによるものとは異なることが推測され、その病態解明や新たな治療標的の開発が期待されている。

我々の研究室ではこれまでに、京都大学ラット ENU ミュータントアーカイブ (KURMA) を利用し、*Lgi1* 遺伝子にミスセンス変異 (L385R) を有するラットを作製、特性解析を行った。ADLTE の患者は優性で症状を示し、けいれん発作は自発的、もしくは電話の音刺激等で誘発されて発症する。ヘテロ型変異ラット (*Lgi1*^{+L385R}) は自発性の発作は示さなかった。そこで、*Lgi1*^{+L385R} ラットにおいて音刺激誘発けいれん (AGS) 試験を行った。結果、単発の音刺激は発作引き起こさないが、音への高い感受性が報告されている 16 日齢時にプライム刺激を行い、性成熟期である 8 週齢時にターゲット刺激を行ったところ、*Lgi1*^{+L385R} ラットは強直間代けいれんを示し、音刺激に対する感受性が野生型に比べ有意に高いことが示された (Baulac and Ishida et al., 2012)。

LGI1 は、中枢神経の発達に必須である *SLIT* 等の蛋白質と相同の Leucine-rich repeat (LRR) ドメインを有しており、発達段階に伴って蛋白発現量が増加する。故に、若週齢におけるプライミング刺激により誘発される音刺激けいれんの発症は、*LGI1* の発達段階における関与を裏付けるものであると考える。

受入研究機関のフランス国立保健医学研究所 (INSERM) Brain and Spine Institute の Eric Leguern 教授の研究室は、これまで *Lgi1* ノックアウトマウスを作製、解析している。Leguern 教授らは、28 日齢の *Lgi1* ノックアウトマウス (*Lgi1*^{-/-}) が単発の音刺激により発作を発症することを見出している (Chabrol et al., 2010)。しかし、プライミング刺激の影響、あるいは *LGI1* の発達段階におけるてんかん発症機序における役割については、これまでほとんど報告されていない。

本留学では、貴財団の援助の下、Leguern 教授らが作製した *Lgi1*^{+/-} マウスに我々が発見したプライミング刺激を用いた音刺激誘発けいれん試験を実施することで、マウス・ラットモデル間における音刺激誘発けいれん感受性の比較を行うことを目的とし、研究を行った。

まず、実験のポジティブコントロールとして、マウスで報告されている音強度条件を用い、28 日齢の *Lgi1*^{+/-} マウス (n=7) において音刺激を行った。結果、wild running にひきついて強直間代発作が確認された。続いて、同じ刺激条件下で 16 日齢にのみ、及び 8

週齢にのみの単発音刺激を行い、反応を確認したところ、両群 (n=7, 7) とも **wild running** もしくはけいれん発作などの行動異常を示さなかった。そこで、*Lgi1* 変異ラットにおいて用いた方法と同様に 16 日齢時にプライム刺激を行い、8 週齢時にターゲット刺激を行った。結果 *Lgi1*^{+/-}マウス (n=7) において、行動異常は認められなかった。

本実験で示された *Lgi1* 変異ラット (*Lgi1*^{+L385R})、*Lgi1* ノックアウトマウス (*Lgi1*^{+/-}) 間の音刺激誘発けいれん感受性の差は、変異ラットが有する変異型 LGI1 の存在によって引き起こされた可能性がある。しかしながら、*Lgi1* ノックアウトマウスにおいて、プライミング、ターゲット刺激日齢、音刺激の強度などの音刺激条件を変えるなどのさらなる検討が必要である。また、ラットモデルでは単発の刺激で発作を示さず、発作後もマウスモデルのように死には至らないことから、マウス、ラット種間において音に対する感受性の差が認められる可能性もある。変異ラットにおいて認められている音刺激実験の反応性が ADLTE モデル動物としてマウスモデルとは異なり、ユニークな特性であることが本実験により示された。これまで、ADLTE 患者において、幼少期の環境の発症への影響は報告されていないが、変異ラットにおけるプライミング刺激による影響の詳細な解析が、ADLTE 発症予防法の開発につながると期待される。今後も、Leguern 教授の研究室と連携し、研究を続ける予定である。