TITLE:

Evaluation of seizure foci and genes in the Lgi1(L385R/+) mutant rat(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Fumoto, Naohiro

CITATION:

Fumoto, Naohiro. Evaluation of seizure foci and genes in the Lgi1(L385R/+) mutant rat. 京都大学, 2014, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2014-07-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18500>

RIGHT:

This dissertation is author version of following the journal article. Naohiro Fumoto, Tomoji Mashimo, Atsushi Masui, Saeko Ishida, Yuto Mizuguchi, Shoko Minamimoto, Akio Ikeda, Ryosuke Takahashi, Tadao Serikawa, Yukihiro Ohno, Evaluation of seizure foci and genes in the Lgi1L385R/+ mutant rat, Neuroscience Research, Volume 80, March 2014, Pages 69-75, ISSN 0168-0102, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2013.12.008>.

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	麓 直 浩
論文題目	Evaluation of seizure foci and genes in the <i>Lgi1</i> ^{L385R/+} mutant rat (<i>Lgi1</i> ^{L385R/+} 変異ラットにおける発作焦点と遺伝子に関する評価)		
(論文内容の要旨)			
常染色体優性外側側頭葉てんかん(ADLTE)は、主に幻聴等を示す部分発作や、二次性全般発作を呈するまれな家族性部分てんかんである。欧州・米国・豪州・日本などで報告され、脳波と頭部 MRI 検査においては外側側頭葉の特に左側に異常が認められている。原因遺伝子として <i>Lgi1</i> 遺伝子の変異が報告されているが、ADLTE における発作発症機序は不明である。 疾患モデル動物はその病気の発症機序の解明、予防や治療法の開発に有用である。我々は過去に ENU ミュータジェネシス法により、<i>Lgi1</i> 遺伝子の 385 番目アミノ酸のロイシンがアルギニンに変異した <i>Lgi1</i>^{L385R} ラットを作成した。この ヘテロ個体(<i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラット)は、16 日齢で事前の音刺激（プライム刺激）を行った後に 8 週齢にて 2 回目の音刺激を与えると、全般発作が誘発されること、また、この音刺激誘発発作は抗てんかん薬によって抑制されることを報告した（Baulac S, <i>Hum Mol Genet</i> 2012）。 本研究では ADLTE における発症機構の解明を目的として、1) <i>Lgi1</i>^{L385R/+} ラットの脳内複数個所での脳波測定、2) 脳組織における神経活動マーカーFos の免疫染色解析、および、3) マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行い、以下の結果を得た。 1) 脳波測定 <i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラットは発作間欠期脳波では異常所見を認めなかった。発作時脳波では前頭葉・側頭葉の双方で律動性徐波・律動性棘波を呈したが、ADLTE 患者と異なり焦点局在の側方性を示唆する所見は認めなかった。 2) Fos 免疫染色解析 音刺激なしの条件で <i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラットと対照ラットを比較すると後内方扁桃体皮質核以外は有意な相違を認めなかった。 <i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラットは、音刺激なしの条件・プライム刺激のみの条件では神経細胞の活動性に著明な相違を認めない一方、プライム刺激後 8 週齢で音刺激を追加した条件では全般発作を呈しプライム刺激のみの条件と比較して側頭葉・視床・視床下核等で有意な神経細胞活性化を認めた。 対照ラットは、音刺激なしの条件と比較してプライム刺激のみの条件で全体的に神経細胞活性化を認めた一方、プライム刺激後 8 週齢で音刺激を追加した条件では視床下核後側・海馬 C3 以外でプライム刺激のみの条件と比較して神経細胞の活動性に有意な相違を認めなかった。 3) マイクロアレイ解析 音刺激誘発発作により発現変化を呈する遺伝子 447 個を検出した。これらの中には <i>Adora2a</i>、<i>Rgs9</i> などのように文献上でてんかん原性との関連が知られており、STRING データベースで <i>Lgi1</i> 遺伝子との関連が見られたものも存在した。一方、<i>Lgi1</i> 遺伝子自身や <i>Lgi1</i> 遺伝子との密接な関連が報告されている			

16 の遺伝子では <i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラットと対照ラットの間で発現量の明らかな相違は認めなかった。 <i>Lgi1</i>^{L385R/+}ラットは、1）聴覚刺激で発作が誘発され全般化する 2）発作間欠期脳波で異常所見がない 3）発作時に聴覚野を中心に側頭葉・視床等で神経細胞の活性化を呈するという点で ADLTE 患者と共通しており、ヒト ADLTE のモデル動物として妥当であると考えられる。本モデル動物については、1）発作への感受性を獲得するのにプライム刺激が必要であること 2）発作時脳波で焦点の側方性が明らかでなかったこと 3）マイクロアレイ解析で発現変化を呈した遺伝子と発作機序の関連について、などさらに検討を要し、これらはヒト ADLTE 発症機序の解明において手掛かりになりうると考える。 （論文審査の結果の要旨） 常染色体優性外側側頭葉てんかん(ADLTE)は幻聴等からなる部分発作・二次性全般発作を呈する稀な家族性部分てんかんで、原因遺伝子として <i>Lgi1</i> 遺伝子が知られているが発症機序は不明である。 申請者らが報告した <i>Lgi1</i> 遺伝子ヘテロ変異ラット(<i>Lgi1</i>^{L385R/+})は <i>Lgi1</i> の非分泌型異常蛋白を生じ、事前の音刺激により音刺激誘発発作に感受性を示す ADLTE のよいモデルである。本研究では ADLTE 発症機序を解明するため、<i>Lgi1</i>^{L385R/+}変異ラットの脳波を測定し、脳では神経活動マーカー Fos を用いた免疫染色解析、マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い対照ラットと比較した。 その結果、発作間欠期脳波には異常なく、発作時脳波では焦点局在の側方性が不明瞭な律動性棘波を認めた。Fos 免疫染色解析では発作後の側頭葉・視床・視床下核に神経活動活性化を認め、発作間欠期脳波と同様にヒト ADLTE と矛盾しない所見であった。マイクロアレイ解析では発作後に発現が変化した遺伝子 447 個を検出し、中にはてんかん原性や <i>Lgi1</i> 遺伝子と関連し発作発現に関与することが示唆された遺伝子も存在した。一方 <i>Lgi1</i> 遺伝子の発現は変化しなかった。 以上の研究は、非分泌型異常蛋白産生をもたらす <i>Lgi1</i> 変異による ADLTE の発症機序および病態生理解明に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 2 6 年 4 月 2 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			