

機関番号：12601

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21790336

研究課題名 (和文) ナルコレプシーの疾患感受性遺伝子の探索及び治療への応用

研究課題名 (英文) Searching for susceptibility genes in narcolepsy, and the therapeutic application

研究代表者

宮川 卓 (MIYAGAWA TAKU)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：20512263

研究成果の概要 (和文) : ナルコレプシーの新たな感受性遺伝子探索のために、我々はナルコレプシーや睡眠に機能的に関連することが予想される遺伝子をデータベースを用いて網羅的に抽出した。その抽出した遺伝子とゲノムワイド関連解析の結果を照合し、次に Replication Study を行った結果、6 つの遺伝子領域 (*NFATC2*、*SCP2*、*CACNA1C*、*TCRA/DAD1*、*POLE* 及び *FAM3D*) の SNP において有意な関連を認めた。また、ナルコレプシーには脂肪酸  $\beta$  酸化の機能異常が存在するという仮説を考え、血清中のカルニチン分画等の定量を行い、ナルコレプシー患者では血清アシルカルニチン値の異常低値を健常者に比べ高い頻度で起こすことを見出した。

研究成果の概要 (英文) : Using a new approach that consists of a combination of genome-wide association studies (GWAS) and an extensive database search for narcolepsy candidate genes, we picked up 202 candidate genes and then performed a replication study in narcolepsy. As a result, six genes (*NFATC2*, *SCP2*, *CACNA1C*, *TCRA/DAD1*, *POLE* and *FAM3D*) were found to be significantly associated with narcolepsy. In addition, we measured carnitine fractions in narcoleptics and healthy individuals to test the hypothesis that fatty acid  $\beta$ -oxidation is altered in narcolepsy. The acylcarnitine levels were abnormally low in 21% of the narcoleptics while those of all the controls were within the normal range.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：ゲノム医科学・ナルコレプシー

## 1. 研究開始当初の背景

(1) ナルコレプシーは睡眠発作、情動脱力発作 (カタプレキシー)、睡眠麻痺及び入眠時幻覚を主症状とする代表的な過眠症であ

る。ナルコレプシーは遺伝素因や環境素因が複雑に作用し合って発病に至る多因子疾患であり、日本人の有病率は 0.16-0.18% と言われている。ナルコレプシーはヒト白血球抗原

(HLA) やオレキシン (ヒポクレチン) との関連が知られているが、発症に至るプロセスには不明点が多く、治療は対症療法にとどまっている。そのため、新たなナルコレプシーの感受性遺伝子を同定することが重要であると考えられている。

(2) 我々はこれまでにナルコレプシーの感受性遺伝子として、*CPT1B* 遺伝子 (carnitine palmitoyltransferase 1B) を見出した。*CPT1B* は脂肪酸 β 酸化に関わる律速酵素をコードするため、ナルコレプシーに脂肪酸 β 酸化の機能異常が存在する可能性が考えられている。

(3) 真性過眠症候群はナルコレプシーの類縁疾患である。ナルコレプシーと同様に睡眠発作を症状とするが、情動脱力発作を示さない点が異なる。真性過眠症候群も遺伝要因に関わることが知られているため、感受性遺伝子を探索する必要がある。特に、ナルコレプシーの感受性遺伝子が、真性過眠症候群にも関わるか検討することは重要であると考えられる。

## 2. 研究の目的

(1) ナルコレプシーの新たな感受性遺伝子を同定する。

(2) ナルコレプシーにおける脂肪酸 β 酸化経路の機能異常を検証する。

(3) ナルコレプシーの感受性遺伝子が、真性過眠症候群の感受性遺伝子であるか検証する。

## 3. 研究の方法

(1) ナルコレプシーや睡眠に機能的に関連することが予想される遺伝子を三つのデータベース (KEGG、UCSC 及び Gene Ontology) を用いて網羅的に抽出した。その抽出した遺伝子とゲノムワイド関連解析の結果を照合し、202 個の候補遺伝子を選択した (候補 SNP としては 232 個)。次に、再現性の確認するために、これら候補 SNP に対し、ゲノムワイド関連解析とは独立のサンプルセットを用いて (患者 212 例、健常者 380 例)、Replication Study を行った。さらに、mRNA の定量による機能的な変化についても追及した。

(2) ナルコレプシー患者及び健常者の血清中のカルニチン分画 (患者 38 例、健常者 30 例)、及びナルコレプシー感受性遺伝子 *CPT1B* の mRNA の定量 (患者 38 例、健常者 56 例)

を行った。サンプルを選択する際は、BMI、年齢、性別等を患者群・健常者群でマッチングさせた。

(3) 真性過眠症候群を対象とした関連解析 (患者 183 例、健常者 569 例) を行った。ナルコレプシーの感受性遺伝子として、これまでに *CPT1B*、*HLA*、*NFATC2*、*SCP2*、*CACNA1C*、*TCRA/DADI*、*POLE* 及び *FAM3D* が見出されていたため、これら遺伝子上においてナルコレプシーと強い関連を示していた多型を本関連解析の対象とした。

## 4. 研究成果

(1) 6 つの遺伝子領域 (*NFATC2*、*SCP2*、*CACNA1C*、*TCRA/DADI*、*POLE*、*FAM3D*) の SNP において統計上有意な関連を認めた。また、発現解析の結果、健常者群に比べナルコレプシー群で *NFATC2* 発現量が有意に低く、健常者群に比べナルコレプシー群で *SCP2* 発現量が有意ではないが高いことを見出した。さらに、*SCP2* の発現量は、関連解析で有意であった SNP の遺伝子型によって発現量が異なることも確認した。

(2) 脂肪酸 β 酸化関連遺伝子の *CPT1B* の発現量が健常者群に比べ、ナルコレプシー群で有意に高いことを確認した。血清カルニチン分画に関しては、ナルコレプシー群では血清アシルカルニチン値が 21% (38 例中 8 例) で異常低値を示したのに対し、対照群 30 例はすべて正常範囲内であり、有意な関連を示した。これらの結果は、ナルコレプシーにおける脂肪酸 β 酸化経路の機能異常を示唆するものである。

(3) *CPT1B*、*HLA*、*NFATC2* 及び *TCRA/DADI* 上の多型と真性過眠症候群の間に有意な関連を認めた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

(1) Miyagawa T, Miyadera H, Tanaka S, Kawashima M, Shimada M, Honda Y, Tokunaga K and Honda M. Abnormally low serum acylcarnitine levels in narcolepsy patients. *Sleep*, 34(3):349-353, (2011) 査読有

(2) Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y and Tokunaga K. Polymorphism located in *TCRA* locus

confers susceptibility to essential hypersomnia with HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602 haplotype. Journal of Human Genetics, 55(1):63-65, (2010) 査読有

(3) Shimada M, Miyagawa T, Kawashima M, Tanaka S, Honda Y, Honda M and Tokunaga K. An approach based on a genome-wide association study reveals candidate loci for narcolepsy. Human Genetics, 128(4):433-441, (2010) 査読有

(4) Toyoda H, Tanaka S, Miyagawa T, Honda Y, Tokunaga K and Honda M. Anti-Tribbles homolog 2 autoantibodies in Japanese patients with narcolepsy. Sleep, 33(7):875-878 (2010) 査読有

(5) Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y and Tokunaga K. Polymorphism located between CPT1B and CHKB, and HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602 haplotype confer susceptibility to CNS hypersomnias (essential hypersomnia). PLoS ONE, 4(4): e5394, (2009) 査読有

(6) Miyagawa T and Tokunaga K. Narcolepsy. MHC, 16(1):39-48, (2009) 査読無

[学会発表] (計 8 件)

(1) 宮川卓. Abnormally low serum acylcarnitine levels in narcolepsy patients. The American Society of Human Genetics Annual Meeting. 2010年11月5日. Washington Convention Center (Washington DC, USA)

(2) 宮川卓. ナルコレプシー患者における血中アシルカルニチン異常低値. 日本人類遺伝学会. 2010年10月29日. 大宮ソニックシティ (埼玉県 さいたま市)

(3) 宮川卓. ナルコレプシー患者における血中アシルカルニチン異常低値. 日本組織適合性学会. 2010年9月18日. 東京大学医学部教育研究棟 (東京都 文京区)

(4) 宮川卓. Genetic variants in CPT1B/CHKB and TCRA are associated with CNS hypersomnias (essential hypersomnia) other than narcolepsy with cataplexy. Associated Professional Sleep Societies. 2010年6月8日. Henry B. Gonzalez Convention Center (San Antonio, USA)

(5) 宮川卓. Polymorphism located between CPT1B and CHKB, and HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602 haplotype confer susceptibility to CNS hypersomnias (essential hypersomnia). The American Society of Human Genetics Annual Meeting. 2009年10月22日. Hawaii Convention Center (Honolulu, USA)

(6) 宮川卓. 真性過眠症候群を対象としたHLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602ハプロタイプとCPT1B遺伝子およびCHKB遺伝子の間に位置する多型の関連解析. 日本組織適合性学会. 2009年9月26日. 名古屋国際会議場 (愛知県 名古屋市)

(7) 宮川卓. 真性過眠症候群を対象としたCPT1B遺伝子及びCHKB遺伝子の間に位置する多型とHLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602ハプロタイプの関連解析. 日本人類遺伝学会. 2009年9月24日. グランドプリンスホテル高輪 (東京都 港区)

(8) 宮川卓. Genome-wide association study identifies a susceptibility variant for narcolepsy. Associated Professional Sleep Societies. 2009年6月8日. Washington State Convention and Trade Center (Seattle, USA)

[図書] (計 4 件)

(1) 宮川卓. 医歯薬出版株式会社. 医学のあゆみ ナルコレプシーとHLAおよびT細胞レセプター. 2010年. 1199-1201

(2) 宮川卓及び徳永勝士. 先端医学社. 分子精神医学 注目の遺伝子 ナルコレプシーの原因遺伝子. 2009年. 110-111

(3) 宮川卓. ニューサイエンス社. メディカル・サイエンス・ダイジェスト GWASの基礎と実際. 2009年. 268-271

(4) 宮川卓及び徳永勝士. 医歯薬出版株式会社. 医学のあゆみ ナルコレプシーのゲノムワイド関連解析. 2009年. 195-198

[その他]

ホームページ等

<http://www.humgenet.m.u-tokyo.ac.jp/Miyagawa.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮川 卓 (MIYAGAWA TAKU)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：20512263

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし