

機関番号：11401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21791108

研究課題名 (和文) 尿中オレキシン測定によるナルコレプシーの診断

研究課題名 (英文) Diagnosis procedure for narcolepsy using urine orexin measurement

研究代表者：

武村 史 (TAKEMURA FUMI)

秋田大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：40508280

研究成果の概要 (和文)：ナルコレプシー確定診断のために現在は、ルンバルにより脳脊髄液を採取して、オレキシンの測定を行っているが、侵襲性の高い検査であり、血液や尿による測定と確定診断が可能になることが望まれる。今回の研究では、50ml の尿からの抽出や、通常測定との10-20倍の検体量による血清中のオレキシン測定を試みた。共に測定値の検出はなされたが、類似の物質を測っていると考えられて、より高い選択性を持った抗体が必要と思われた。

研究成果の概要 (英文)：For the diagnosis of narcolepsy, CSF orexin measurement is performed. However, the lumbar puncture to obtain CSF is invasive procedure for many patients. It would be great benefit for them that orexin from plasma or urine could be measured for diagnosis. We tried the measurement for orexin from urine (extraction from 50ml) and plasma (10-20 times higher amount of sample dose). We could get some results by these procedure, however, the data seemed not to be real orexin levels. It would be the results of measurements for other similar substances. Further experimental study should be needed using higher sensitive antibody for orexin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神生理学、過眠症、ナルコレプシー、オレキシン、血中・尿中濃度

## 1. 研究開始当初の背景

オレキシンは1998年に同定された神経ペプチドであり、ナルコレプシー患者ではその脳脊髄液中の濃度が特異的に低下していることが知られ<sup>1)</sup>、現在は睡眠障害国際分類第II版におけるナルコレプシーの診断の一項目として確定診断へ応用されている。しかしながら脳脊髄液を採取する腰椎穿刺検査には

出血や疼痛、脳脊髄液減少症などの危険が伴い、患者にとって侵襲性の高い検査法である。一方、血液中のオレキシン濃度については、測定が可能との報告があったものの微量であるために確定診断目的で使用することは困難であった。2005年にTakahashiら<sup>2)</sup>は、尿中において血液中の約3倍の濃度でオレキシンが検出されると報告した。当施設は日

本国内で唯一脳脊髄液中オレキシン濃度の測定を大規模に行っている施設で既にナルコレプシーを含む多数の過眠症患者の脳脊髄液中オレキシン濃度を測定した実績があり、また当施設においてTakahashiらの実験の追試を行ったところ微量ではあるが健常人尿中オレキシン濃度の測定が可能であった。

## 2. 研究の目的

ナルコレプシーの診断については、問診と脳波検査が主な手段とはなるが、確定診断のための反復入眠潜時検査(MSLT)は20分の脳波検査を一日4-5回行う必要があり、大変時間のかかる手法である。一方でナルコレプシーの原因として、オレキシン神経系の脱落によって発症することが明らかになっているが、確定診断のためには腰椎穿刺による髄液検体が必要で、その侵襲性により容易に行うことは不可能である。ナルコレプシーのみにメチルフェニデート(リタリン)の使用が制限され、ナルコレプシーの客観的で確実、容易な診断方法は非常に重要ではあるが、現時点では存在しないのが現状である。今回我々は、髄液では無く血清中や尿中でのオレキシン測定を可能にして、確定診断方法としての確立を目指している。

本研究では既に当施設で行った検査によって脳脊髄液中のオレキシン濃度が明らかとなっているナルコレプシー及びその他の過眠症患者及び健常人の血清中と尿中オレキシン濃度を測定し、その相関関係を調べ、脳脊髄液同様に診断へ応用することを目的とする。

## 3. 研究の方法

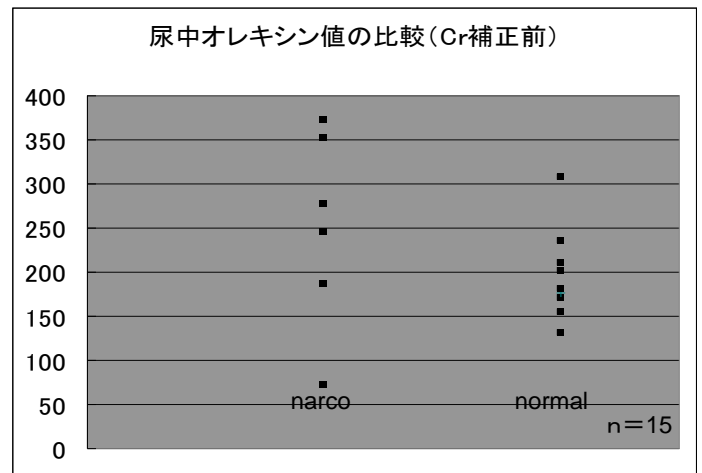
脳脊髄液中のオレキシン濃度を既に測定した患者で、濃度の低下を示したナルコレプシー患者30例、低下を示さなかったその他の過眠症患者30例について、研究の主旨、目的などを十分に理解し同意を得た上で血清と尿の提供を依頼する。次に、提供された血清と尿を検体としてオレキシン濃度測定方法を確立する。尿中での測定はSep-Pakカラムによる抽出を行い、カラム抽出後にこれまで用いてきたPhoenix社の抗体を使用して測定する。尿中オレキシン濃度を各検体のクレアチニン値を用いて補正を行った上で既知の脳脊髄液中オレキシン濃度との相関を検討する。尿検体を用いた測定においても脳脊髄液での測定と同様に測定法の感度と特異度を確立する。

血清中のオレキシンの測定では、髄液での検体量が0.1mlであるのに対して、10倍と20倍のそれぞれ、1mlと2mlの検体量にて測定実験を行う。

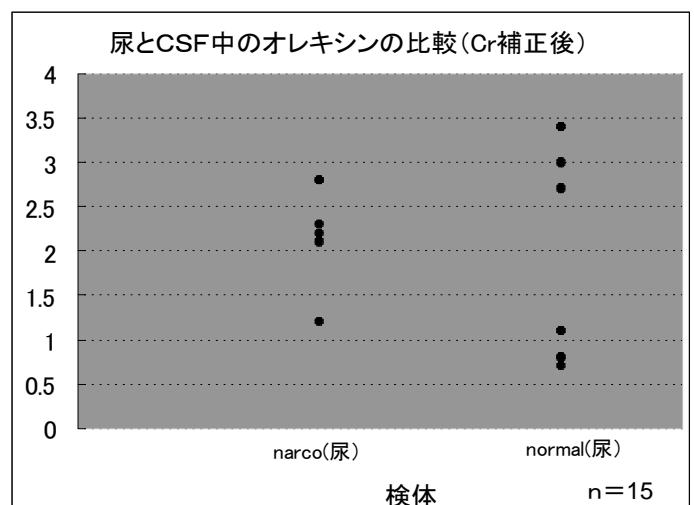
## 4. 研究成果

50mlの尿からの抽出により得られたオレキシン値は、ナルコレプシー：249pg/50ml、コントロール：198pg/50mlであり、共に測定は可能であった。次いでクレアチニン値を用いて補正を行ったところ、ナルコレプシー：2.3、コントロール2.1であり、両者で有意差は無かった。

【図1】



【図2】



血清中のオレキシン値であるが、1mlと2mlと通常の10倍と20倍の検体量にて測定実験を行ったところ、ナルコレプシーとコントロールでも共に、約300pg/10ml(ナルコレプシー：310pg/10ml、コントロール：295pg/10ml)と約600pg/20ml(ナルコレプシー：587pg/20ml、コントロール：612pg/20ml)との結果であった。検体量に応じて、測定値も平行して増加していることから、測定系自体は機能していると考えられた。しかしコント

ロールの髄液中の値が 300pg/ml 程度であることを考えると、血清中において 1/10 の 30pg/ml も存在しているとは考えにくい。また通常の検体量の 0.1ml の測定では、30pg/ml 程度の測定量が全く観察できないことから、抗体に結合する別の物質も合わせて測定していると考えられた。それ故に、尿中と血清中の両条件の測定を実現するためには、より高い選択性を持った抗体が必要と考えられた。

現在、国内外で報告・使用されている抗オレキシン抗体は全て N 末端を認識する抗体のみであり、C 末端を認識する抗体の報告はなされていない。オレキシンの研究は非常にさかんになされている途上であるので、今後 C 末端を認識する抗体の情報を入手して、抗体を提供してもらい、両者を組み合わせてオレキシンをより選択的に捉えて、微量な測定を実現する必要があると考えられた。

#### 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 5 件)

① Kanbayashi T, Sagawa Y, Takemura F, Ito SU, Tsutsui K, Hishikawa Y, Nishino S. (2011) The pathophysiologic basis of secondary narcolepsy and hypersomnia. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 11(2), 235-41.  
査読：有

② Kanbayashi T., Ito W., Takemura T., Takemura F., Takahashi S., Sato M., Hayashi Y., Sagawa Y., Nishino S., Shimizu T. CSF melanin-concentrating hormone concentration in narcolepsy and various neurological disorders. *SLEEP*, Volume 33, Abstract Supplement, 2010 A284  
査読：有

③ 佐藤雅俊, 徳永純, 武村史, 筒井幸, 伊東若子, 神林崇, 清水徹男 (2010) 終夜睡眠ポリグラフ検査にて脳波異常が確認され、確定診断となったてんかんの一例(会議録/症例報告). *精神神経学雑誌* (0033-2658)2010 特別 PageS-352.  
査読：無

④ 徳永純、佐藤雅俊、佐川洋平、武村史、武村尊生、兼子義彦、林由理子、神林崇、清水徹男。(2009) リタリン処方制限に伴い当院へ紹介となったナルコレプシー疑い患者の最終診断. *精神神経学雑誌* (0033-2658)111 巻 6 号 Page 708  
査読：無

⑤ 武村尊生, 武村史, 神林崇, 清水徹男 (2009) 【高齢者の睡眠障害】 高齢者の睡眠障害の診断と治療導入(解説/特集) *睡眠医療* (1882-2096)3 巻 2 号 Page183-190  
査読：無

[学会発表] (計 5 件)

① 神林 崇, 伊東 若子, 武村 尊生, 武村 史, 林 由理子, 丸山 史, 佐川 洋平, 相澤 里香, 西野 精治, 清水 徹男 (2010) ナルコレプシーと様々な神経疾患における CSF 中の melanin-concentrating hormone (MCH) の測定 日本睡眠学会第 35 回定期学術集会, 7 月, 名古屋

② 木澤 哲也, 松淵 浪子, 細川 敬輔, 徳永 純, 伊東 若子, 佐藤 雅俊, 田ヶ谷 浩邦, 武村 尊生, 武村 史, 神林 崇, 清水 徹男 (2010) 蓄積した睡眠不足により MSLT にて偽陽性となる症例の検討 日本睡眠学会第 35 回定期学術集会, 7 月, 名古屋

③ Takemura T, Kanbayashi T, Takemura F, Kikuchi Y, Shimizu T, et al. (2009) WHAT DOES THE INTERMEDIATE VALUE OF CSF OREXIN IN HYPRSOMNIA PATIENTS SUGGEST? *SLEEP* 2009, A247-248 23rd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies. Seattle, Washington June

④ Kanbayashi T, Nakashima I, Shimohata T, Nakamura M, Oka Y, Takemura T, Takemura F, Iijima S, Shimizu T, Nishino S (2009) SYMPTOMATIC NARCOLEPSY IN MS AND NMO PATIENTS. *SLEEP* 2009, A247 23rd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies. Seattle, Washington June

⑤ 武村 尊生、神林 崇、近藤 英明、佐川 洋平、武村 史、鈴木 稔、大沼 俊、林 由理子、筒井 幸、徳永 純、菊池 結花、佐藤 雅俊、清水 徹男 (2009) 過眠症患者の CSF オレキシンの「中間値」は何を意味するか? ASRS The 6th Congress of Asian Sleep Research Society, JSSR The 34th Annual Meeting of Japanese Society of Sleep Research, JSC The 16th Annual Meeting of Japanese Society for Chronobiology 2009, Joint Congress, October 24-27, 2009, Osaka

[図書] (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

武村 史（ TAKEMURA FUMI ）  
秋田大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：40508280