

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23689022

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・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20512263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 21,100,000円

研究成果の概要(和文)：過眠症にかかわる遺伝要因を探索し、ナルコレプシーとHLA-DQB1*03:02アリル、PARK2遺伝子領域の頻度の低いCNVが関連することを見出した。さらに、真性過眠症を対象とした研究も行い、CRAT遺伝子近傍のSNP及び同じくPARK2遺伝子領域の頻度の低いCNVと真性過眠症が関連することも明らかにした。L-カルニチン(1日510mg投与)をナルコレプシー患者に経口投与し、その有効性を確認した。本研究はL-カルニチンがナルコレプシーの治療に有効であることを示すだけでなく、現在脂肪酸酸化をターゲットとしたナルコレプシー治療薬はないことから、新たな治療薬の開発に貢献することも期待される。

研究成果の概要(英文)：I performed association studies to identify novel genetic factors for narcolepsy. HLA-DQB1*03:02, HLA-DPB1*05:01 and low frequency CNVs in PARK2 gene region were found to be associated with narcolepsy. In addition, I found a significant association between essential hypersomnia and a SNP in CRAT gene region.

To assess the efficacy of oral L-carnitine for the treatment of narcolepsy, I performed a clinical trial administering L-carnitine (510 mg/day) to patients with narcolepsy. L-carnitine treatment significantly improved the total time for dozing off during the daytime compared with that of placebo-treated periods. This study suggests that oral L-carnitine can be effective in reducing excessive daytime sleepiness in narcolepsy patients.

研究分野：人類遺伝学

キーワード：ゲノム 遺伝学 ゲノムワイド関連解析 ナルコレプシー 睡眠障害 カルニチン HLA CNV

1. 研究開始当初の背景

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。ナルコレプシーの有病率は日本では 0.16 ~ 0.18%、欧米では 0.02 ~ 0.06%と推定されている。ナルコレプシーの一卵性双生児の発症一致率は 20 ~ 30%、患者の第一度近親者の発症率は 1 ~ 2%と報告されていることから、ナルコレプシーは遺伝要因や環境要因といった複数の因子が複雑に作用し合って、発病に至る多因子疾患である。また、ナルコレプシーの病態にはオレキシン(ヒポクレチン)神経系の機能低下が大きく関わる事が判明している。約 90%のナルコレプシー患者で脳脊髄液中のオレキシン濃度が著しく低下していることや、視床下部に存在するオレキシン産生神経が脱落していることがわかっている。ナルコレプシーの遺伝学的背景に関するこれまでの研究において注目すべき点は、ナルコレプシーとヒト白血球抗原(human leukocyte antigen; HLA)との強い関連性である。1984年、全ての日本人ナルコレプシー患者が HLA クラス II 抗原の DR2 陽性であることが、日本人グループによって見出された。その後、HLA の遺伝子型のタイピングが行われ、日本人ナルコレプシー患者のほぼ 100%、ヨーロッパ系集団患者の約 98%が、*HLA-DQB1*06:02* を保有していることが判明した。

2. 研究の目的

上記の *HLA-DQB1*06:02* だけではナルコレプシーの全遺伝的要因を説明できないことが、統計遺伝学による計算の結果から明らかになり、それ以外の遺伝子の関与が示唆されている。そこで、新たなナルコレプシーの感受性遺伝子を同定することを目的に本研究を開始した。その研究の中でナルコレプシー及び真性過眠症の感受性遺伝子として *CPT1B* 遺伝子(carnitine palmitoyltransferase 1B)及び *CRAT*(carnitine acetyltransferase) 遺伝子を見出した。*CPT1B* 及び *CRAT* は脂肪酸酸化に関わる酵素をコードする。また機能解析の結果から、ナルコレプシーに脂肪酸酸化(特にカルニチンシャトル)の機能異常が存在する可能性が考えられた。実際、ナルコレプシー患者ではアシルカルニチンの異常低値を示す症例が、健常者に比べ有意に多いことを明らかにした。そこで、アシルカルニチン値を正常化させる働きのある L-カルニチンをナルコレプシー患者に投与し、その治療効果を検証した。

3. 研究の方法

ナルコレプシー及び真性過眠症を対象としたゲノムワイド関連解析、replication study(再現性研究)、CNV(copy number variation)解析及び HLA 解析を行った。サ

ンプルサイズは、ナルコレプシー約 700 例、真性過眠症約 300 例及び健常者約 3,000 例である(CNV 解析のサンプルサイズは研究成果の項を参照)。ゲノムワイド関連解析では、Affymetrix 社の Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いた。PCA(principal component analysis)解析や全サンプルのペア(総当たり)の IBD(identical by descent)推定等を実施し、適切なデータを関連解析の対象とした。

CNV 解析では、同様に Genome-Wide Human SNP Array 6.0 でタイピングされたサンプルのデータを用いて CNV を検出し、関連解析を実施した。

HLA 解析では、*HLA-DQB1*06:02* 以外の *HLA-DQB1* のアリルがナルコレプシーの発症に関与するか検討を行った。全てのナルコレプシー患者は *HLA-DQB1*06:02* を保有しているため、もう片方のアリルに着目し、関連解析を行った。

ナルコレプシーと脂肪酸酸化に関する研究については、アシルカルニチン値を正常化させる働きのある L-カルニチン(1日 510 mg 投与)をナルコレプシー患者に経口投与し、その有効性を検証した。試験デザインは二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験とした。症例数は 30 例とし、L-カルニチン及びプラセボの投与期間は各 8 週間とした。

4. 研究成果

ゲノムワイド関連解析及び独立の新規サンプルセットを用いた replication study により、*CCR1*(C-C chemokine receptor)及び *CCR3* 遺伝子近傍の SNP とナルコレプシーとの間に有意な関連を認められた($P=6.41 \times 10^{-6}$ 、 $OR=1.63$)。その SNP は *CCR1* 遺伝子の発現量や単球の走化性とも有意な相関を認められた。さらに、ナルコレプシー患者では健常者に比べて *CCR1* 遺伝子の発現量が低いことも確認した。

CNV 解析からは、*PARK2* 遺伝子領域の頻度の低い CNV がナルコレプシー及び真性過眠症と関連することを見出した。具体的には、426 例中 4 例のナルコレプシー患者、171 例中 2 例の真性過眠症患者が、*PARK2* 遺伝子領域に CNV を持っていたが、562 例の健常者ではこの領域に CNV は確認されなかった。

HLA 解析からは、*HLA-DQB1*06:01* が抵抗性($P=1.4 \times 10^{-10}$ 、 OR (オッズ比)=0.39)、*HLA-DQB1*03:02* が感受性を($P=2.5 \times 10^{-9}$ 、 $OR=1.97$)を示すことを確認した。*HLA-DQB1* 以外にも、HLA 領域には多くの遺伝子が存在する。そこで、上記のナルコレプシーのゲノムワイド関連解析のデータを利用し、さらに *HLA-DQB1* のアリルを共変量としてロジスティック回帰分析を行った。その結果、*HLA-DPB1* 近傍の SNP がナルコレプシーと有意な関連を示した($P=4.1 \times 10^{-5}$ 、 $OR=2.45$)。次に、*HLA-DPB1* をタイピングし、同様にロジ

スティック回帰分析を行ったところ、*HLA-DPB1*05:01* ($P=8.1 \times 10^{-3}$ 、 $OR=1.39$) 及び *HLA-DPB1*04:02* ($P=4.6 \times 10^{-2}$ 、 $OR=0.56$) が有意な関連を示した。

L-カルニチンの治療効果に関しては、L-カルニチンをナルコレプシー患者に経口投与した結果、L-カルニチン投与期の居眠り時間の有意な減少を確認した ($P=4.8 \times 10^{-2}$)。このことは、L-カルニチンがナルコレプシーの治療に有効であることを示唆するだけでなく、これまでに脂肪酸酸化をターゲットとしたナルコレプシー治療薬はないことから、新たな治療薬の開発に貢献することも期待される。

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 11 件)

1. Miyagawa T, Toyoda H, Hirataka A, Kanbayashi T, Imanishi A, Sagawa Y, Kotorii N, Kotorii T, Hashizume Y, Ogi K, Hiejima H, Kamei Y, Hida A, Miyamoto M, Imai M, Fujimura Y, Tamura Y, Ikegami A, Wada Y, Moriya S, Furuya H, Kato M, Omata N, Kojima H, Kashiwase K, Saji H, Khor SS, Yamasaki M, Wada Y, Ishigooka J, Kuroda K, Kume K, Chiba S, Yamada N, Okawa M, Hirata K, Uchimura N, Shimizu T, Inoue Y, Honda Y, Mishima K, Honda M, Tokunaga K.

New susceptibility variants to narcolepsy identified in HLA class II region.

Human Molecular Genetics, 24(3):891-898, (2015) 査読有

doi: 10.1093/hmg/ddu480

2. Shimada-Sugimoto M, Otowa T, Miyagawa T, Khor SS, Kashiwase K, Sugaya N, Kawamura Y, Umekage T, Kojima H, Saji H, Miyashita A, Kuwano R, Kaiya H, Kasai K, Tanii H, Tokunaga K, Sasaki T.

Immune-related pathways including HLA-DRB1*13:02 are associated with panic disorder.

Brain, Behavior, and Immunity, 46:96-103, (2015) 査読有

doi: 10.1016/j.bbi.2015.01.002

3. Khor SS, Yang W, Kawashima M, Kamitsuji S, Zheng X, Nishida N, Sawai H, Toyoda H, Miyagawa T, Honda M, Kamatani N, Tokunaga K.

High-accuracy imputation for HLA class I and II genes based on high-resolution SNP data of population-specific references.

The Pharmacogenomics Journal, in press, (2015) 査読有

doi: 10.1038/tpj.2015.4

4. Ikeda M, Yoshimura R, Hashimoto R, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Ohi K, Tochigi M, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Sasaki T, Tokunaga K, Kasai K, Takeda M, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N.

Genetic overlap between antipsychotic response and susceptibility to schizophrenia.

Journal of Clinical Psychopharmacology, 35(1):85-88, (2015) 査読有

doi: 10.1097/JCP.0000000000000268

5. Yamasaki M, Miyagawa T, Toyoda H, Khor SS, Koike A, Nitta A, Akiyama K, Sasaki T, Honda M, Tokunaga K.

Genome-wide analysis of CNV (copy number variation) and their associations with narcolepsy in a Japanese population.

Journal of Human Genetics, 59(5):235-240, (2014) 査読有

doi: doi:10.1038/jhg.2014.13

6. Miyagawa T, Kawamura H, Obuchi M, Ikesaki A, Ozaki A, Tokunaga K, Inoue Y, Honda M.

Effects of oral L-carnitine administration in narcolepsy patients: a randomized, double-blind, cross-over and placebo-controlled trial.

PLoS One, 8(1):e53707, (2013) 査読有

doi: 10.1371/journal.pone.0053707

7. Khor SS, Miyagawa T, Toyoda H, Yamasaki M, Kawamura Y, Tanii H, Okazaki Y, Sasaki T, Lin L, Faraco J, Rico T, Honda Y, Honda M, Mignot E, Tokunaga K.

Genome-wide association study of HLA-DQB1*06:02 negative essential hypersomnia.

PeerJ, 1:e66, (2013) 査読有

doi: 10.7717/peerj.66

8. Kanazawa T, Ikeda M, Glatt SJ, Tsutsumi A, Kikuyama H, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Hashimoto R, Takeda M, Sasaki T, Tokunaga K, Koh J, Iwata N, Yoneda H.

Genome-wide association study of atypical psychosis.

American Journal of Medical Genetics Part B, 162B(7):679-686, (2013) 査読有

doi: 10.1002/ajmg.b.32164

9. Ikeda M, Okahisa Y, Aleksic B, Won M, Kondo N, Naruse N, Aoyama-Uehara K, Sora I, Iyo M, Hashimoto R, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Takeda M, Sasaki T, Tokunaga K, Ozaki N, Ujike H, Iwata N.

Evidence for shared genetic risk between methamphetamine-induced psychosis and

schizophrenia.
Neuropsychopharmacology,
38(10):1864-1870, (2013) 査読有
doi: 10.1038/npp.2013.94

10. Otowa T, Kawamura Y, Nishida N, Sugaya N, Koike A, Yoshida E, Inoue K, Yasuda S, Nishimura Y, Liu X, Konishi Y, Nishimura F, Shimada T, Kuwabara H, Tochigi M, Kakiuchi C, Umekage T, Miyagawa T, Miyashita A, Shimizu E, Akiyoshi J, Someya T, Kato T, Yoshikawa T, Kuwano R, Kasai K, Kato N, Kaiya H, Tokunaga K, Okazaki Y, Tani H, Sasaki T.

Meta-analysis of genome-wide association studies for panic disorder in the Japanese population.

Translational Psychiatry, 22:e186, (2012) 査読有

doi: 10.1038/tp.2012.89

11. Kornum BR, Kawashima M, Faraco J, Lin L, Rico TJ, Hesselson S, Axtell RC, Kuipers H, Weiner K, Hamacher A, Kassack MU, Han F, Knudsen S, Li J, Dong X, Winkelmann J, Plazzi G, Nevsimalova S, Hong SC, Honda Y, Honda M, Högl B, Ton TG, Montplaisir J, Bourgin P, Kemlink D, Huang YS, Warby S, Einen M, Eshragh JL, Miyagawa T, Desautels A, Ruppert E, Hesla PE, Poli F, Pizza F, Frauscher B, Jeong JH, Lee SP, Strohl KP, Longstreth WT Jr, Kvale M, Dobrovolska M, Ohayon MM, Nepom GT, Wichmann HE, Rouleau GA, Gieger C, Levinson DF, Gejman PV, Meitinger T, Peppard P, Young T, Jennum P, Steinman L, Tokunaga K, Kwok PY, Risch N, Hallmayer J, Mignot E.

Common variants in P2RY11 are associated with narcolepsy.

Nature Genetics, 43(1):66-71, (2011) 査読有

doi: 10.1038/ng.734

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 宮川 卓 他、ナルコレプシーと HLA-DQB1*06:01 および DQB1*03:02 との関連、日本人類遺伝学会第 59 回大会・日本遺伝子診療学会第 21 回大会 合同大会、2014 年 11 月 22 日、タワーホール船堀(江戸川区)

2. 宮川 卓 他、Association analysis of HLA-DQB1 gene with narcolepsy without cataplexy and idiopathic hypersomnia, The American Society of Human Genetics Annual Meeting 2014、2014 年 10 月 20 日、San Diego Convention Center (サンディエゴ、アメリカ)

3. 宮川 卓 他、情動脱力発作を伴わないナルコレプシーと HLA-DQB1 との関連、第 23

回日本組織適合性学会、2014 年 9 月 15 日、長崎大学(長崎市)

4. 宮川 卓 他、ナルコレプシーの感受性遺伝子の探索、日本睡眠学会第 39 回定期学術集会、2014 年 7 月 3 日、あわぎんホール(徳島市)

5. 宮川 卓 他、ナルコレプシーの感受性遺伝子の探索及び治療への応用、日本人類遺伝学会第 58 回大会、2013 年 11 月 22 日、江陽グランドホテル(仙台市)

6. 宮川 卓 他、HLA-DQB1*03:02 is associated with narcolepsy-cataplexy in the Japanese population、The American Society of Human Genetics Annual Meeting 2013、2013 年 10 月 23 日、Boston Convention & Exhibition Center (ボストン、アメリカ)

7. 宮川 卓 他、ナルコレプシーと HLA-DQB1*06:01 および DQB1*03:02 との関連、第 22 回日本組織適合性学会、2013 年 9 月 15 日、コラッセふくしま(福島市)

8. 宮川 卓 他、ナルコレプシーの感受性遺伝子の探索、日本睡眠学会第 38 回定期学術集会、2013 年 6 月 27 日、秋田キャスルホテル(秋田市)

9. 宮川 卓 他、Effects of oral l-carnitine administration in narcolepsy patients、The American Society of Human Genetics Annual Meeting 2012、2012 年 11 月 8 日、Moscone Center(サンフランシスコ、アメリカ)

10. 宮川 卓 他、L-カルニチンのナルコレプシー患者に対する臨床評価、日本人類遺伝学会第 57 回大会、2012 年 10 月 25 日、京王プラザホテル(新宿区)

11. 宮川 卓 他、L-カルニチンのナルコレプシーに対する臨床評価、第 21 回日本組織適合性学会、2012 年 9 月 15 日、明治大学(千代田区)

12. 宮川 卓 他、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、日本睡眠学会第 37 回定期学術集会、2012 年 6 月 30 日、パシフィコ横浜(横浜市)

〔図書〕(計 4 件)

1. 宮川 卓、診断と治療社、こどもの病気遺伝について聞かれたら(ナルコレプシー)、2015 年、2 ページ

2. 宮川 卓、徳永 勝士、金原出版株式会社、産婦人科の実際(遺伝疫学 多因子疾患感受性遺伝子の探索法) 2015 年、5 ページ

ジ

3. 宮川 卓、徳永 勝士、医薬ジャーナル社、ナルコレプシー感受性および薬剤副作用とHLA、2013年、5ページ

4. 宮川 卓、医歯薬出版株式会社、医学のあゆみ ナルコレプシーと脂肪酸代謝、2011年、2ページ

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

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

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