

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461270

研究課題名(和文)エクソームを基盤とした統合的ゲノム解析による片頭痛の分子病態解明

研究課題名(英文)Molecular pathogenesis study for migraine through integrated genomics based on exome analysis

研究代表者

高橋 祐二 (Takahashi, Yuji)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・病院・医長

研究者番号：00372392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：片麻痺性片頭痛家系においてエクソーム解析を中心としたゲノム解析を行い、病因遺伝子の同定を目指した研究を行った。既知病因遺伝子変異を認めない、網膜色素変性症を伴う重症片麻痺性片頭痛の一家系において、複数発症者のエクソーム解析を行い、網膜における遺伝子発現に注目することで、3つの病原性変異候補が得られた。さらに、29例においてエクソーム解析を行い、2例に既知病因遺伝子の変異を認めた。病因遺伝子変異未同定の27例において、データベース未登録の非同義性塩基置換を述べ2473個認めた。このうち複数症例で共通する塩基置換は188個であった。今後病因遺伝子の探索を継続していく。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to identify causative genes for familial hemiplegic migraine through exome analysis and bioinformatics. Affected individuals of a pedigree with severe attacks of hemiplegic migraine complicated with retinitis pigmentosa were subjected to whole exome analysis. Narrowing-down of variants shared among affected individuals through bioinformatic analysis integrating gene expression data has led to the successful identification of three variants considered as candidates for the pathogenic mutation. In addition, 29 exomes have been conducted in this project, which led to the identification of mutations in known causative genes in two pedigrees. In the remaining 27 pedigrees, 2473 novel non-synonymous variants have been identified in total, among which 188 variants were shared among multiple pedigrees. Further accumulation of exome data should be necessary to identify causative genes through leveraging the variation data obtained in this study.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：片麻痺性片頭痛 エクソーム 網膜色素変性症

## 1. 研究開始当初の背景

片頭痛は、日本全国で 800 万人の患者がいるといわれる、頻度の高い発作性神経疾患である。好発年齢が 20 代～40 代と生産可能年齢であること、発作時は激しい頭痛のため行動が高度に制限されることから、疾患による社会的損失は甚大であり、早期の克服が望まれている。しかし、片頭痛の主たる治療は発作時の対症療法にとどまっており、根本的治療の開発のためには、片頭痛の発症メカニズムの解明と分子標的の同定が必要である。

片頭痛は遺伝的素因の強い疾患と考えられている。まず、稀なメンデル遺伝性疾患である、家族性片麻痺型片頭痛(FHM)が存在する。孤発性片麻痺型片頭痛 (SHM)の一部も FHM の原因遺伝子変異を有する。一方、一般の片頭痛は前兆のある片頭痛(MA)と前兆のない片頭痛(MO)に大きく分類されるが、MA では遺伝因子の関与が強く、MO は遺伝因子と環境因子の双方が関与していると考えられている。しかしながら、これまでの研究では、FHM の一部の原因遺伝子と、一般の片頭痛の GWAS による、アリル頻度は高いが effect size の低い多型が同定されているのみである。従って、一般の片頭痛の「強い」遺伝因子、すなわち effect size の高い遺伝因子は未解明であり、これらの'Missing heritability'の解明は、片頭痛に留まらず今後の疾患ゲノム研究の大きな課題である。

本研究者は、DNA マイクロアレイを用いて、片頭痛の原因遺伝子の網羅的解析システムを構築し(*Takahashi Y., et al. Arch Neurol 65:1326-1332, 2008*)、FHM の遺伝子解析を行ってきた(*Takahashi, Y., et al. Rinsho Shinkeigaku, 2011*)。これまで 12 家系を解析し、ATP1A2 の新規変異 p.H916L(*Iizuka, T., et al. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2012*)

及び CACNA1A の既知変異 p.T666M を同定している。しかし、残りの家系においては変異を認めず、新規原因遺伝子を有する可能性が強く示唆される。一方、3 世代にわたる MA の多発家系において SNP HiTLink(*Fukuda Y., et al. BMC Bioinformatics 10:121, 2009*)を用いてパラメトリック連鎖解析を行い、合計 765Mb の候補領域を見出している。

さらに、2006 年より「多施設共同研究を基盤とした片頭痛の遺伝子解析研究 (Japan MigrAine Genome Investigation Consortium: J-MAGIC)」が発足し、日本人片頭痛患者における臨床情報及びゲノムリソース収集態勢が構築されている。これまで片頭痛患者 180 例のゲノム DNA が得られており、一般の片頭痛の関連遺伝子同定に向けた研究態勢も整っている。

## 2. 研究の目的

- 1 稀なメンデル遺伝性疾患である FHM における原因遺伝子同定
2. 片頭痛多発家系における、連鎖解析による原因遺伝子同定
3. 一般の片頭痛における、関連解析を用いた片頭痛関連遺伝子同定

## 3. 研究の方法

- 1 稀なメンデル遺伝性疾患である FHM における原因遺伝子同定
2. 片頭痛多発家系における、連鎖解析による原因遺伝子同定
3. 一般の片頭痛における、関連解析を用いた片頭痛関連遺伝子同定

## 4. 研究成果

家族性片麻痺性片頭痛の家系収集を推進し、追加家系を得た。それらに対して、DNA マイクロアレイを用いた病因遺伝子解析を施行し、一例において CACNA1A p.Thr666Met の既知の変異を認めた。4 例は変異未同定の家系であり、エクソーム解

析の候補であると考えられた。一方、2011年に発作性運動原性ジストニア (paroxysmal kinesigenic dystonia: PKD) の病因遺伝子として *PRRT2* が同定されたが、その後 2012 年に同遺伝子の変異により片麻痺性片頭痛も呈しうることが報告された。従って、本研究においても家族性及び孤発性片麻痺型片頭痛において直接塩基配列解析法による *PRRT2* 全エクソンの変異解析を追加した。その結果、孤発性片麻痺性片頭痛の一例において、c.649dupC の既知のヘテロ接合性挿入変異を認めた。この変異は、アジア人集団に多いことが報告されており、PKD や片麻痺性片頭痛など多彩な臨床像を呈することが報告されている。本解析結果は、孤発例においても変異が認められるという点において、重要な所見であると考えられた。これらの研究成果については、American Society of Human Genetics 63<sup>rd</sup> Annual Meeting においてポスター発表を行った。

発熱を伴う意識障害が長期に持続し、急性期に頭部 MRA で著明な血管拡張と、脳血流 SPECT 検査で片側性の著明な血流上昇を認める家族性片麻痺性片頭痛の下記を経験した。発症者は全例で網膜色素変性症を合併していた。てんかん発作を合併する症例も存在した。網膜色素変性症の合併からミトコンドリア病も考えられたが、ミトコンドリア遺伝子解析では明かな変異を認めなかった。また、マイクロアレイによる家族性片麻痺性片頭痛の既知遺伝子のスクリーニングではいずれも変異を認めず、新規病因遺伝子の存在が強く疑われた。発端者及び母親(罹患者)よりインフォームド・コンセントを得て DNA 検体を取得し、Illumina HiSeq2000 を用いた全エクソーム解析を施行した。極めて稀な臨床像の組み合わせを呈する稀少疾患であることから、dbSNP、in-house database、ExAc

database などのデータベースに登録されていない塩基置換を、病原性変異候補とした。発端者、母親において、データベースに登録されていない新規非同義性塩基配列置換はそれぞれ 79 個、81 個であった。そのうち 33 個が共通しており、病原性変異候補と考えられた。このうち 10 個の塩基置換は、他の疾患の病因遺伝子として報告されている遺伝子に存在していた。残りの 23 個の塩基置換が認められた遺伝子のうち、神経系及び網膜における発現の報告が認められた遺伝子は 3 個であった。これらの塩基置換はいずれもミスセンス変異であり、PolyPhen-2 アルゴリズムを用いた変異予測では、2 個が probably damaging、1 個が possibly damaging であった。複数罹患者のエクソーム解析による絞り込みが有用であったが、病因遺伝子同定のためには、さらなる家系の蓄積が必須であると考えられた。

研究期間内に 29 例の家族性片頭痛のエクソーム解析を行った。1 例において *ATP1A2* の新規遺伝子変異を、1 例において *SCN1A* の既知遺伝子変異を認めた。残り 27 例全体として述べ 2473 個のアミノ酸置換を伴いデータベースに報告のないバリエーションを認めた。このうち複数症例で共通するバリエーションは 188 個であった。今後前述の家系解析の結果も含め、病因遺伝子を探索していく。

#### 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 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Genetic epidemiological study on migraine and episodic ataxia in the Japanese population.

Yuji Takahashi, Hiroyuki Ishiura, Jun Goto and Shoji Tsuji. American Society of

Human Genetics 63<sup>rd</sup> Annual Meeting,  
Baltimore, MD, USA. Oct. 2013.

網膜色素変性症を伴う家族性片麻痺性片頭痛における病因遺伝子探索

高橋 祐二、滝澤 歩武、古澤 嘉彦、石浦 浩之、三井 純、森下 真一、辻 省次、村田 美穂。第 43 回日本頭痛学会総会。2015、11 月。東京。

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

高橋 祐二 (Takahshi Yuji)

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター・病院、医長

研究者番号：00372392

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし