

審査の結果の要旨

氏名 豊田 裕美

本研究は、ヒトナルコレプシーの発症要因を明らかにするため、免疫学および遺伝学的アプローチにより疾患関連因子の同定を試みたものであり、下記の結果を得ている。

免疫学的アプローチ (Chapter 1)

ヒトナルコレプシーに認められる視床下部ヒポクレチン産生細胞の消失の原因として近年注目されている自己抗体の評価を行った。

1. ヨーロッパ系の narcolepsy-cataplexy 患者で報告のあった抗 TRIB2 抗体をターゲットとした radio-ligand binding assay 系を構築し、検体血清中の抗体測定を行った。抗 TRIB2 抗体が日本人 narcolepsy-cataplexy 患者 88 例中 23 例 (26.1%、>2SD)、健常者 87 例中 2 例 (2.3%、>2SD) で検出された (Fisher's exact test, $P = 4.8 \times 10^{-6}$)。1 例の narcolepsy without cataplexy 患者において抗 TRIB2 抗体が検出されたことを除けば、narcolepsy-cataplexy 以外の過眠症では抗 TRIB2 抗体は検出されなかった。
2. TRIB2 と同じ遺伝子ファミリーに属する TRIB3 に対する抗体 (抗 TRIB3 抗体) の測定系を構築し、抗体測定を行った。抗 TRIB2 抗体と異なり、narcolepsy-cataplexy 患者を含めたものの過眠症でも、健常者との間に有意差は観察されなかった。
3. 半定量 PCR によりヒト視床下部での TRIB2 遺伝子の高発現を確認した。一方で、TRIB3 遺伝子の発現レベルは低いことが示された。これらのことから、抗 TRIB2 抗体の特異性が示唆され、抗 TRIB2 抗体を介した自己免疫反応が視床下部ヒポクレチン産生細胞を標的とし、その消失に関与していることが示唆された。
4. 抗 TRIB2 抗体の positivity と臨床情報 (性別、年齢、BMI、ESS*、罹病期間) との相関は認められなかった。*ESS, Epworth Sleepiness Scale (眠気の尺度を測定するスコア)

遺伝学的アプローチ (Chapter 2)

ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により narcolepsy-cataplexy の遺伝的素因の同定を試みた。

1. 日本人 narcolepsy-cataplexy 患者 425 名、日本人健常者 1,626 名のゲノム DNA を用いて、906,703 の一塩基多型 (SNPs) の遺伝子型を決定した。集団の階層化に起因する疑陽性を回避するため、得られた遺伝子型データの主成分分析 (PCA) を行うことで患者と健常者から成る集団中の outlier を除去し、遺伝的に均質なサンプルセットを構築した。
2. IBD 推定により、サンプルセットに含まれる推定同一人物および第一度近親者を除き、遺伝子型決定率の低いサンプルをデータセットから除いた。SNP の遺伝子型の quality control を行い、サンプル当たりの遺伝子型決定率が低い SNP や、ハーディワインバーグ平衡からの逸脱の大きい SNPs、minor allele frequency が低い SNPs、さらに genotyping

errorが疑われる SNPs を除くことで、疑陽性の可能性を低減したデータセットを構築した。

3. **Quality control** のなされたデータセット (narcolepsy-cataplexy 患者 409 例、健常者 1562 例、545,140 SNPs) を用いて関連解析を行い、有意水準に達した SNPs を 18 個、10 領域同定した ($P < 1.47 \times 10^{-5}$)。また、統計学的には中程度の関連にとどまるものの ($1.47 \times 10^{-5} < P < 2.94 \times 10^{-5}$)、**functional SNP** データベース等の検索により機能的に興味深いと考えられる SNPs を 4 個、2 領域同定した。候補遺伝子の中には、免疫反応に関与する遺伝子および、神経発生やシナプス形成に関与する遺伝子が含まれた。
4. 候補領域周辺のゲノム領域をターゲットとして **imputation** を行い、実験的に遺伝子型決定した SNPs より顕著に低い P 値を示していないものの、同程度の P 値を示す SNPs を複数同定した。

以上、本論文は、免疫学および遺伝学的見地から、ナルコレプシー疾患関連因子を複数明らかにした。本研究は、未だ明らかになっていないナルコレプシーの発症要因の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。