

<シンポジウム 17—4>片頭痛の疼痛発生とその拡大進展をめぐる最先端の分子メカニズム

## 網羅的遺伝子解析およびハイスループット連鎖解析を 応用した片頭痛の分子遺伝学

高橋 祐二<sup>1)</sup> 飯塚 高浩<sup>2)</sup> 辻 省次<sup>1)</sup>

(臨床神経 2010;50:995)

**Key words** : 片頭痛, 分子遺伝学, マイクロアレイ, 変異, 連鎖解析

[背景] 家族性片麻痺型片頭痛 (FHM) の原因遺伝子は, これまで *CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A* の 3 種類が知られている. 臨床におけるこれらの遺伝子解析の必要性は高まっているが, これらはいずれもエクソンの数の多い大きな遺伝子であり, 従来の方法ではハイスループットなスクリーニングは困難である. 一方, 大多数の片頭痛患者においては, 明らかな家族性を有するものの, これらの FHM の原因遺伝子変異は同定されない. 片頭痛の分子メカニズムを明らかにするためには, このような家族例の遺伝的素因を明らかにすることが必要である. [目的] DNA マイクロアレイをもちいて, FHM の原因遺伝子をハイスループットに解析するシステムを構築し, FHM の遺伝子診断に応用する. また, SNP マイクロアレイをもちいたハイスループット連鎖解析システムを構築し, 片頭痛小家系の連鎖解析をおこなう. [方法] リシーケンシング DNA マイクロアレイをもちいて, *CACNA1A*, *ATP1A2* の全エクソンと周辺のイントロンの塩基配列を解析するシステムを構築した. 特異的プライマーをもちいた genomic PCR で各エクソンを増幅し, マイクロアレイにハイブリダイゼーションをおこなった. *SCN1A* については, 直接塩基配列解析法のシステムを構築した. FHM の 5 家系および孤発性片麻痺型片頭痛 (SHM) の 2 例の解析をおこなった. えられた新

規塩基置換については, コントロール 260 例で頻度分析をおこなった. 一方, 前兆を有する片頭痛の小家系において, SNP マイクロアレイを応用した連鎖解析をおこなった. [結果] FHM の一家系において, *ATP1A2* の新規ヘテロ接合性点変異 His916Leu を同定した. コントロール 260 例にはみとめられず, 種間で保存されていることから, 原因遺伝子変異と考えられた. この変異は, *ATP1A2* 蛋白質の膜貫通ドメインに存在し, 電荷の変化をとまなうことから, *ATP1A2* のチャネル機能に重大な影響を与えることが示唆された. *CACNA1A*, *SCN1A* には変異はみとめられなかった. 一方, 連鎖解析をおこなった家系においては, パラメトリック連鎖解析で最大 LOD score 0.6, ノンパラメトリック連鎖解析で 1.7 がえられた. [結論] DNA マイクロアレイをもちいた網羅的解析システムは, 片麻痺型片頭痛の遺伝子診断に有用である. 変異を同定することにより, 片頭痛の分子病態を洞察することが可能である. また, SNP マイクロアレイを応用したハイスループット連鎖解析システムは, 片頭痛の遺伝的素因を明らかにするのに有用なシステムであると考えられる. 今後同様の小家系の連鎖解析を蓄積していくことにより, 片頭痛の分子メカニズムが明らかになる可能性がある.

### Abstract

#### Molecular genetics of migraine applying DNA microarray-based comprehensive resequencing and high throughput linkage analysis system

Yuji Takahashi, M.D.<sup>1)</sup>, Takahiro Iizuka, M.D.<sup>2)</sup> and Shoji Tsuji, M.D.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Neurology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

<sup>2)</sup>Department of Neurology, School of Medicine, Kitasato University

(Clin Neurol 2010;50:995)

**Key words**: migraine, molecular genetics, microarray, mutation, linkage analysis

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院神経内科 [〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1]

<sup>2)</sup> 北里大学神経内科

(受付日: 2010 年 5 月 22 日)