

公益財団法人 福島県労働保健センター

「産業医学・産業保健に関する調査研究に対する助成制度」による研究結果報告

## 過眠症診断マーカー候補の探索に関する研究

増石 有佑

福島県立医科大学

衛生学・予防医学講座

## 【背景】

本研究は特発性過眠症患者およびナルコレプシー患者の毛髪を用いることで、早期発見を可能とする診断マーカー分子候補の探索を行う。過眠症（ナルコレプシーおよび特発性過眠症）とは、睡眠時間を確保しているにもかかわらず、日中に強い眠気が繰り返し生じてしまい、日常生活が困難になってしまう疾患である。過眠症を診断する有効な生化学的な指標の知見が少ないため、日常生活のパフォーマンス低下に悩んでいる潜在的な過眠症患者は相当数存在していると思われる。当該患者の生活の質を向上させるだけでなく、社会的・経済的損失を低減するためにも、有効な過眠症診断マーカーの開発が望まれている。血液における化合物の代謝は動的であるのに対し、毛髪では睡眠不足等の長期間の曝露による影響を保持しているという利点がある。本研究は、過眠症患者の毛髪を用いて過眠症診断マーカー候補分子の探索を目的とする。非侵襲的な毛髪による過眠症診断マーカーの解明は簡便な新規診断法の開発に繋がり、潜在的に過眠症を抱えてしまっている多くの人々の健康向上に役立つため、衛生学分野における本研究の意義は大きいと考える。

心身の疲労回復のため睡眠は人の生活に欠く事は出来ない生理的な行動であるが、過眠症患者においては日中に過度の眠気を生じてしまい、日々の生活に支障をきたしてしまっている。その中でもナルコレプシーは代表的な過眠症であり、過眠症状と情動脱力発作を中核症状とする。情動脱力発作を伴うナルコレプシー患者の約 90%が HLA-DQB1\*06:02 陽性との報告があるが（1）、疾患特異性は低い。脳脊髄液中のオレキシン A タンパク質濃度がナルコレプシー患者で低いという報告があり（2）、侵襲性が高いが髄液検査を行うことでナルコレプシーの診断を行うことが可能である。特発性過眠症は明確な原因が判明していない過眠症のことを指すが、ヒスタミンとの関連が近年報告された（3）。さらに、これらの睡眠障害を診断するために睡眠ポリグラフ検査（PSG）が広く用いられており、診断の有用な指標とされているが、多くの人に何度も PSG を受けさせる事は、時間面および費用面においても現実的ではない。過眠症を引き起こす分子生物学的な機構は完全には明らかになっていない。しかし申請者は過眠と関連がある分子を測定することで、過眠症診断マーカーの開発が可能ではないかと考えた。血中や唾液中の化合物濃度は日内変動や個人差が大きく、慢性的な過眠の曝露による結果を測定することは困難であると思われる。そこで本研究では特発性過眠症患者およびナルコレプシー患者の毛髪を用いることで、病態を明らかにする診断マーカー候補分子の探索を行う。

## 【方法】

1. 福島市内のクリニックにて研究対象者の毛髪の回収を行う。

クリニックにて過眠症（特発性過眠症およびナルコレプシー）との診断を受けた患者の中から研究対象者を募る。両面テープを張った画用紙に毛髪を張り付けて、根本から約 1 cm の箇所をハサミで切り、毛髪の採取を行う。毛髪の成長速度の個体差が少なく、採

取しても目立たないとされる後頭部から数箇所毛髪を採取を行い、白髪毛髪は採取前に除外する。採取する量は約100本(100mg相当)の毛髪とする。測定結果に影響を与える可能性があるため、研究対象者の性別および年齢、BMI、既往歴等の検査結果を記録し、ELISAキットおよび質量分析計を用いて提供された毛髪中および血中分子の量的質的变化を明らかにする。

- ・ 過眠症患者の検体は貴重なため、健常人から採取した毛髪を対象に測定の予備実験を行う。
  - ・ 質量分析計を用いて網羅的解析を行い、さらに定量ソフトウェアなどを用いて網羅的相対定量分析を行う。網羅的解析の場合、測定対象を設定しないため、予期せず違法薬物のピークが検出される可能性があるが、違法薬物検出用の検索ライブラリーを使用する予定はなく、違法薬物の標準物質を用いた解析も行わないため、違法薬物の同定は行えない。
2. 治療により症状が改善した研究対象者が存在した場合、毛髪を再度提供してもらい、1~2を繰り返し行う。
  3. 1~3の結果から過眠症を明らかにする診断マーカー候補分子の同定を行う。  
多変量解析を用いて、過眠症の症状の大きさと相関がある分子を明らかにし、過眠症診断マーカー候補分子を同定する。

#### 【結果】

これまでに特発性過眠症3例、ナルコレプシー1例の毛髪サンプルの採取を行った。患者の同意を得ることが予想よりも困難であり、特に若い女性等に対して研究協力をお願いする際にはさらなる配慮が必要だと感じた。件数が少ないため過眠症患者の毛髪に特異的な化合物を同定することは出来なかったが、少なくとも採取したサンプルをELISAキットにて測定した結果、健常者とほぼ変わらない濃度であった。また、質量分析装置にて網羅的に毛髪内タンパク質の測定を行ったが、毛髪に大量に存在するケラチンタンパク質が同定数を下げていると思われる結果が得られた。そのため今後はケラチンタンパク質を除去し、質量分析での同定数を伸ばす事が可能になる新規解析法を開発したい。

#### 引用文献

- (1) Mignot E et al. Am J Hum Genet. 2001
- (2) Mignot E. Arch Neurol. 2002
- (3) Scammell TE et al. Sleep. 2009