

ABSTRACT

Assignment of genetic loci and variants predisposing to migraine with aura and episodic ataxia type 2

Migraine with aura (MA) is a common headache disorder with a population prevalence of approximately 5%. This subtype of migraine is characterized by neurological, typically visual, symptoms that precede the headache. Twin and family studies have provided strong evidence of genetic factors in MA susceptibility and have shown that the mode of inheritance is most likely multifactorial. Furthermore, mutations in the *CACNA1A* and *ATP1A2* genes have been shown to cause a rare monogenic subtype of MA, familial hemiplegic migraine (FHM). The FHM1 gene, *CACNA1A*, is particularly interesting since mutations in it can also cause another related neurological phenotype, episodic ataxia type 2 (EA-2), also under investigation in this thesis.

This study aimed at identifying genetic loci and variants that are involved in the etiology of MA. We have collected almost 700 Finnish families segregating this disorder and performed a genome-wide scan in 50 of these families. Strong evidence of linkage to chromosomal area 4q21-24 was obtained. Encouragingly, this finding has been subsequently replicated in the Icelandic population. The actual causative variant has, however, not yet been identified despite substantial efforts.

In an alternative study approach, the role of certain candidate loci and genes previously associated with migraine has been investigated in our large family and patient samples. A susceptibility locus on chromosome 19p13 contains two migraine-associated genes, *CACNA1A* (the FHM1 gene) and *INSR* encoding an insulin receptor. In the present study, this susceptibility locus was studied in 72 Finnish MA families but no evidence of linkage was seen. Furthermore, the association of genetic variants in candidate genes *MTHFR* (coding for a methylenetetrahydrofolate reductase) and *ESR1* (coding for an estrogen receptor) with migraine was studied in 898 unrelated MA patients and 900 healthy controls. The previously migraine-associated polymorphisms showed no association with MA while some nominal evidence of association between MA and five other *ESR1* variants was seen.

In addition, the first Finnish families with FHM and EA-2 phenotypes were identified and studied in this thesis. The FHM family was shown to have a novel missense mutation in the *ATP1A2* gene whereas the EA-2 phenotype was caused by a splice site mutation in the *CACNA1A* gene.

Auralliselle migreenille ja 2-tyyppin episodiselle ataksialle altistavien perinnöllisten tekijöiden kartoittaminen

Tausta

Migreeni on erittäin yleinen neurologinen sairaus. Noin 8%:lla miehistä ja jopa 18%:lla naisista on tämä elämänlaatua huonontava tauti. Migreenipäänsärky on tyypillisesti kohtauksittaista, sykkivää sekä toispuoleista ja kohtaukseen liittyy usein pahoinvointia, oksentelua, sekä valo- ja ääniherkkyyttä. Kansainvälisessä päänsärkyluokituksessa migreeni on jaettu kahteen päätyyppiin, auralliseen ja aurattomaan migreeniin, joista aurallinen migreeni on harvinaisempi. Siinä päänsärkyä edeltää 5-60 minuutin mittainen ennako-oire, joka tyypillisimmin on näköhäiriö.

Perhe- ja kaksostutkimusten perusteella näyttää ilmeiseltä, että migreenialttius on osittain (40-60%) perinnöllistä. Nykykäsityksen mukaan sekä useat altistavat geenit että ympäristötekijät vaikuttavat migreenin syntyyn eli migreeni periytyy monitekijäisesti. Tämä on tyypillinen tilanne useimpien yleisten sairauksien kohdalla. Toisaalta myös harvinainen, vallitsevasti periytyvä, toispuoleisia halvausoireita aiheuttava aurallisen migreenin alamuoto (familiarinen hemipleginen migreeni, FHM) on tunnistettu. Tämän sairauden aiheuttavia geenivirheitä on löydetty kolmesta ionien kuljettamiseen liittyvästä geenistä (*CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A*). Hermosolujen kalsiumkanavaa koodaavan *CACNA1A*-geenin geenivirheet ovat syynä myös toiseen neurologiseen sairauteen, 2-tyyppin episodiseen ataksiaan (EA-2). Tämän sairauden pääasiallisena oireena on tahdonalaisten lihasten keskushermostoperäinen yhteistoimintahäiriö eli ataksia, joka ilmenee haparointi- ja tasapainovaikeuskohtauksina.

Tutkimuksen tulokset

Tutkimusryhmämme on kerännyt migreenisukuja jo pitkään ja tämä noin 800 suomalaista migreenisukua ja lähes 5000 henkilöä käsittävä sukuaineistomme onkin yksi maailman laajimmista migreeniaineistoista. Tämän väitöskirjatyön päätavoitteena on ollut tunnistaa auralliselle migreenille altistavia geneettisiä tekijöitä. Ensimmäisessä vaiheessa tähän pyrittiin tekemällä 50 migreenisuvulle koko genomien kattava kytöntäanalyysitutkimus. Tämän koko genomien kattavan kartoituksen tuloksena pystyimme osoittamaan auralliselle migreenille altistavan geenialueen sijaitsevan kromosomin 4 pitkässä käsivarressa alueella 4q21-24. Tämä tulos on myöhemmin vahvistettu islantilaisissa migreeniperheissä. Lisäksi tässä väitöskirjatyössä osoitettiin, että aikaisemmissa tutkimuksissa migreeniin liitetty *CACNA1A*-geenin sisältävä kromosomialue 19p13 ei suomalaisissa suvuissa näytä kytkeytyvän tähän sairauteen.

Toisena lähestymismenetelmänä tässä työssä on tutkittu lähes 900 migreenipotilasta, jotka eivät ole toisilleen sukua, ja verrattu heitä yhtä moneen migreeniä sairastamattomaan kontrollihenkilöön ns. ehdokasgeenistrategiaa käyttämällä. Tähän tutkimukseen valittiin kaksi aikaisemmin migreeniin liitettyä geeniä, metyleenitetrahydrofolaatireduktaasi-geeni *MTHFR* ja estrogeenireseptoria koodaava geeni *ESR1*. Nämä geenit tutkittiin tarkkaan käyttämällä yksittäisten emästen muutoksia ja vertaamalla muutosten esiintyvyyttä migreenipotilailla vastaaviin lukuihin terveillä kontrollihenkilöillä. *MTHFR*-geenin emäsmuutosten huomattiin olevan yhtä yleisiä migreenipotilaissa ja kontrolleissa, joten tämä geeni ei näytä vaikuttavan migreenialttiuuteen Suomessa. Tämä tulos oli yllättävä, sillä kyseisen geenin on osoitettu liittyvän migreeniin useissa eri väestöissä. Estrogeenireseptorista löydettiin viisi emäsmuutosta, jotka olivat

hieman yleisempiä migreenipotilailla kuin kontrolloivilla ja jotka siten saattavat liittyä migreenialttiuteen.

Lisäksi tässä väitöskirjatyössä tunnistettiin aikaisemmin kuvaamaton *ATP1A2*-geenin mutaatio suomalaisessa FHM-suvussa. Tämä mutaatio heikentää *ATP1A2*-geenin koodaaman natrium/kalium pumpun toimintaa ja johtaa näin kalium-ionien kertymiseen hermosolujen väliseen tilaan. Tämän ilmiön uskotaan altistavan aivot migreenikohtaukselle. Edelleen tunnistimme suuren suomalaisen EA-2 suvun ja löysimme sairauden aiheuttavan mutaation *CACNA1A*-geenistä, joka koodaa hermosoluissa toimivaa kalsiumkanavaa. Kyseinen mutaatio muuttaa eksonin 37 silmukointikohdan ja johtaa näin silmukointivirheeseen ja vialliseen proteiinituotteeseen.

Tutkimuksen merkitys

Migreenille altistavien geneettisten tekijöiden tunnistaminen tulee avaamaan tien migreenin patofysiologian ymmärtämiselle. Tämä johtaa aikanaan myös mahdollisuuteen kehittää uusia ja aiempaa parempia hoitomuotoja sekä tarkempaa diagnostiikkaa. Tässä väitöskirjatyössä tunnistettu migreenille altistava geenialue kromosomissa 4q21-24 on ensimmäinen askel matkalla kohti migreenigeeniä, vaikka paljon työtä tarvitaan vielä varsinaisen sairaudelle altistavan geenimuutoksen tunnistamiseksi.

Monitekijäisesti periytyviä sairauksia tutkittaessa on syytä pitää mielessä, että pienet potilasmäärät voivat johtaa virheellisiin tuloksiin. Tässä väitöskirjatyössä on keskitytty keräämään suuria potilasaineistoja ja käytetty niitä sitten aikaisemmin julkaistujen tulosten tarkistamiseen. Yksi tämän työn saavutuksista onkin valmis potilas-kontrolli aineisto, jota tullaan käyttämään tämän väitöskirjatyön jälkeekin monissa tutkimuksissa.

Tässä väitöskirjatyössä tutkittujen harvinaisten tautimuotojen takana olevien mutaatioiden selvittämisellä on suuri merkitys etenkin Suomen mittakaavassa, sillä näiden sairauksien geneettistä taustaa ei ole Suomessa aikaisemmin tutkittu. Kyseisille potilaille ja suvulle sairauden syyn selviäminen pitkällisten tutkimusten jälkeen on ollut suuri helpotus.