

Replication Study of Genome Wide Association Study of Sleep Duration in Korean Association Resources Cohort

Seok-Ho Cho^{1,*}, Seon-Ah Kim^{1,*}, Hyun-Seok Jin^{2,**} and Hong Sung Kim^{1,†,**}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, Korea Nazarene University, Cheonan 33172, Korea

²Department of Biomedical Laboratory Science, College of Life and Health Science, Hoseo University, Asan 31499, Korea

Sleep varies from individual to individual and is essential for maintaining good health, making it important for the health of individuals and societies. Sleep duration is influenced by both genetic and environmental factors, and sleep duration has been reported to be associated with obesity, metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. In this study, we identified SNPs associated with sleep duration from the genome-wide association study (GWAS) catalog and compared them with the Korean Association Resource (KARE) cohort to find SNPs associated with sleep duration in Koreans and to identify the genes involved. The results showed that rs1553132, a SNP in the GRM5 gene, was identified as an SNP associated with sleep duration in both the GWAS catalog and the KARE cohort, and rs1504096 was the first SNP found to be associated with sleep duration in Koreans. It was found that having a minor allele tended to increase sleep duration. These results confirm the reproducibility of the association between sleep duration and the GRM5 gene in Koreans and provide a basis for using the associated SNPs as genetic determinants of sleep duration.

Key Words: Sleep duration, GWAS, GRM5 gene, SNP, KARE cohort

수면 시간은 개인별로 매우 다르고, 우리의 건강을 유지하는데 필수적이기 때문에 수면을 잘 이해하는 것은 개인의 건강뿐만 아니라 보건사회 영역에서도 중요하다. 수면은 면역과 대사부터 인지 및 정신 건강을 포함하는 다양한 신체 기능에 지대한 영향을 미친다(Moller-Levet et al., 2013; Irwin, 2015; Krause et al., 2017). 유전적 요인과 환경적 요인 모두가 수면에 영향을 미치며, 관찰된 수면 시간은 국가별로 상이하고, 아시아인이 평균적으로 다른 나라보다 적게 자는 것으로 보고되었다(Gradisar et al., 2011). 보통 적절한 수면 시간은 7시간에서 8시간 사이로 보고 있는데, 적절한 수면 시간보다 부족한 경우 뿐만 아니라 반대로 지나치게 많은 수면 시간도 건강에 이상을 일으

키는 것으로 알려져 있다(Austin-Zimmerman et al., 2023; Elshoeibi et al., 2023; Patel et al., 2023). 그러나, 수면 시간의 불균형 중에서도 부족한 수면 시간이 상대적으로 더 건강에 나쁜 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Wehrmeister et al., 2020). 짧은 수면 시간이 건강에 미치는 영향에 대한 역학 및 코호트 데이터의 메타 분석에 의하면 비만(Antza et al., 2021), 대사증후군(Liang et al., 2023), 2형 당뇨병(Lee et al., 2023) 등과의 관련성이 보고되고 있다. 또한, 긴 수면 시간이 사망률, 심혈관 질환, 뇌졸중, 당뇨병을 포함한 질병 상태와 관련이 있는 것으로도 보고되고 있다(Jike et al., 2018; He et al., 2020; Chen et al., 2023; Kwon et al., 2023). 본 연구에서는 전장유전체연구결과 데이터베이스

Received: May 31, 2024 / Revised: June 24, 2024 / Accepted: June 28, 2024

*Ungraduate student, **Professor.

†Corresponding author: Hong Sung Kim. Department of Biomedical Laboratory Science, Korea Nazarene University, 48 Wolbong-Ro, Seobuk-Gu, Cheonan-City, ChungNam 33172, Korea.

Tel: +82-41-570-4165, Fax: +82-41-570-4258, e-mail: hskim@kornu.ac.kr

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

스인 GWAS catalog에서 제공하는 수면 시간과 관련되어 발표된 SNP를 확인하고 이를 한국인을 대상으로 하는 한국인 유전체 분석자료(Korean Association Resource, KARE) 코호트 자료와 비교해 보고 한국인에서 수면 시간과 관련된 SNP와 관련된 유전자를 확인하고자 하였다.

한국인 유전체역학조사사업(Korean Genome and Epidemiology, KoGES)에서 한국인 유전체분석자료(Korean Association Resource, KARE)를 활용하여 본 연구를 수행하였다(Cho et al., 2009). 본 정보는 2001년에 시작한 코호트 연구로써 질병관리청에서 경기도 안성과 안산시 주민들을 대상으로 한국인 역학 및 유전체 연구를 수행한 자료이다. 원래 자료는 성인(40~60대) 남녀 10,038명을 대상으로 하고 있으나, 이들 중에서 정도관리과정을 통해 유전체 분석 기준에 적합하지 않은 1,196명이 제외하였으며 최종적으로 총 8,840명(남성: 4,182명, 여성: 4,658명)을 연구 대상으로 이용하였다. 수면 시간에 대한 유전변이와의 상관성 연구를 위해 수면 시간 항목에 답변하지 않은 96명을 제외하였고, 최종 8,744명을 연구 대상으로 선별하여 정량적 연관성 분석을 수행하였다. 유전형 정보는 나사렛대학교와 질병관리본부(KNIH) 질병관리청 인체자원은행으로부터 연구윤리 승인을 얻은 후 유전정보 분석을 수행하였다(IRB-나사렛대-2023-13).

수면 시간 측정방법은 설문지를 배포하여 연구 대상자가 직접 기록하게 한 후 회수하였다. 지난 1년 동안 대략 몇 시에 잠자리에 들고 몇 시에 일어났는지를 조사하여 평상시 평균적으로 잠자는 시간과 아침에 깨는 시간을 조사하였으며, 낮잠을 자는지를 확인하여 계산된 수면 시간에 낮잠 시간을 더하여 전체 수면 시간을 조사하였다. 유전형 분석과 단일염기서열(Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 선별하기 위해서 말초혈액으로부터 연구 대상자의 DNA 시료를 분리 추출하였고, Genome-Wide Human SNP array 5.0 (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 유전형 판독을 하였다. 유전형 판독 정확도가 98% 이하 또는 높은 missing genotype call rate (4% 이상)을 나타낸 경우, 30% 초과 heterozygosity를 가지거나, 성별이 불분명한 대상자들은 제외되었다. 전세계의 전장유전체연구결과 데이터베이스인 GWAS catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>)에서 2024년 1월 30일 기준으로 'sleeping duration'이라는 단어로 검색했을 때 총 475개의 GWAS 유의수준을 만족하는 SNP들이 검색되었다. 이 SNP들을 대상으로 한국인 유전체역학데이터로 재현성 분석을 진행하였으며, 재현성이 확인되어 상위의 높은 유의

Table 1. Basic characteristics of the study subjects

Characteristics	
Number of subjects	8744
Gender [men (%)/women (%)]	4144 (47.4)/4600 (52.6)
Age (M years \pm SD)	52.18 \pm 8.9
Sleep duration (hours)	6.75 \pm 1.38

Abbreviations: M, mean value; SD, standard deviation

수준을 보여주는 유전변이 중에 *GRM5* 유전자 부위에 위치하고 있는 SNP인 rs1553132을 분석 대상으로 하였다(Supplementary Table S1). 따라서, *GRM5* 전사체 양쪽 끝 말단에서 ± 5 kb씩 확장한 범위에 위치한 2,032개의 SNP들을 분석 대상으로 선정하였다. Supplementary Table S2에서는 이 중 *P* 값이 0.05 이하인 SNP들을 보여준다. 선별된 SNP들의 염색체 위치는 UCSC Genome Browser [Human Feb. 2009 (GRCh37/hg19) Browser Sequences]를 기준으로 하였다. 통계 분석을 위해 PLINK version 1.07 (<https://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>)을 사용하였다. 선형 회귀 분석을 사용하여 연구 대상자에 대해 부가적 유전적 모델(additive genetic model)을 기반으로 한 유전적 변이의 상관성 분석을 하였는데, 나이, 성별을 공변수로 처리하여 분석하였다. 그리고 *P* 값이 0.05 이하를 유의수준의 기준으로 정하였다. 또한, 통계 분석 결과를 영역 내 구성(regional plot)으로 나타내기 위해 LocusZoom Version 1.1 (<http://locuszoom.org/>)이라는 웹 프로그램을 사용하여 SNP들의 유의수준과 재조합율(Cm/Mb)과 r^2 를 확인할 수 있었다. 유전형과 유전자 발현의 상관 분석은 GTEx Portal (genotype-tissue expression; <https://gtexportal.org/home/>)를 이용하여 유전형에 따른 유전자 발현량의 증가 혹은 감소를 알아보았다. GTEx Portal은 유전자 변이, 유전자 발현, 발현 정량적 특성 유전자좌(Expression Quantitative Trait Locus, eQTL) 등을 종합적으로 정리한 사이트로 유전적 변이에 따른 유전자 발현량이 통계적으로 유의하게 증가 또는 감소하는지를 확인할 수 있다.

8,744명의 연구 대상자들에 대한 임상 표현형 특징을 Table 1에 나타냈다. 연구 대상자의 평균 나이, 평균 수면 시간은 52.18 \pm 8.9세, 6.75 \pm 1.38시간으로 나타났다(Table 1). 정량적 수면 시간과의 상관 분석에서는 표준 유의수준($P < 0.05$)을 만족하는 SNP이 다수 관찰되었다(Supplementary Table S2). rs1504096은 *GRM5*의 분석 대상 SNP들 중 수면 시간 형질과 가장 유의하게 연관되어 있었고,

Table 2. The SNPs in the GRM5 gene that were significantly associated with sleep duration traits

SNP	A1	MAF		Genotype			Additive model	
				A1/A1	A1/A2	A2/A2	Effect size	P-value
rs1504096	T	0.086	No.	72	1363	7309	0.16	1.9E-05
			Sleep duration	7.11±1.52	6.87±1.38	6.72±1.38		
rs1553132	G	0.205	No.	329	2918	5497	0.08	1.8E-03
			Sleep duration	6.88±1.44	6.8±1.38	6.72±1.38		

Abbreviations: A1, minor allele; A2, major allele; MAF, minor allele frequency

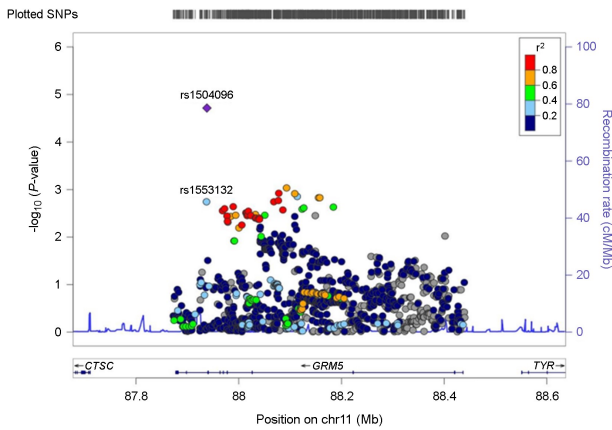


Fig. 1. Regional plots of GRM5 gene. This plot showing the association signals in the region of GRM5 on chromosome 11.

rs1553132는 연구 대상자들이 가진 GRM5의 분석 대상 SNP들 중 수면 시간 형질과 유의하게 연관되어 있었다. rs1504096의 부 대립유전자(minor allele)는 T, 주 대립유전자(major allele)는 C인데, T 염기를 보유할 경우에 수면 시간이 늘어나는 경향으로 유의한 상관관계가 있는 것을 알 수 있었다. rs1553132도 수면 시간(sleep duration)에서 통계적 유의성을 보여주고 있는데, rs1504096와 마찬가지로 부 대립유전자(G)를 가질수록 점진적으로 수면 시간이 늘어나는 경향을 보이고 있다(Table 2). rs1553132의 결과는 부 대립유전자를 보유할 수록 수면 시간이 늘어나는 GWAS catalog의 결과와 일치하는 것을 알 수 있다. LocusZoom 프로그램을 사용하여 GWAS 유의수준을 만족하는 rs1504096 주변의 SNP들과의 재조합율(Cm/Mb)과 r^2 를 나타내는 영역 내 구성으로 나타내었다(Fig. 1). 자주색 다이아몬드는 영역 내 구성상에서 가장 높은 유의성을 보이는 SNP이다. 가장 유의한 SNP과 연관되어 있으면서 r^2 값이 높은 SNP들은 붉은색으로 표시된다. rs1504096은 주변에 붉은색으로 표시된 SNP들이 포진되어 서로 간에

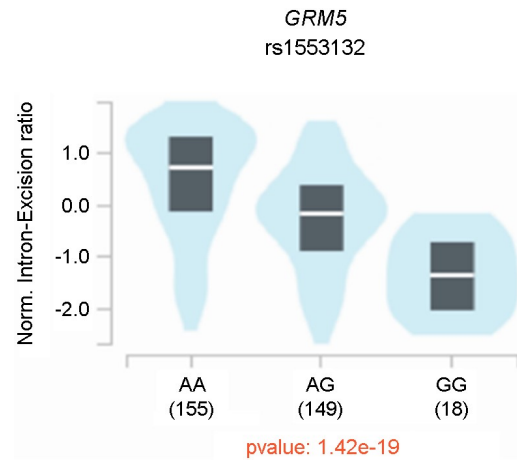


Fig. 2. GRM5 expression for genotypes rs1553132 in eQTL. Violin plots confirm GRM5 expression in the testis for rs1553132 ($\beta=-0.92$, $P=1.4E-19$) genotypes. P-values were calculated using linear regression. The white line indicates mean expression levels. Data were obtained via the GTEx browser (<http://www.gtexportal.org/>).

연관되어 있음을 알 수 있었다. 다음으로 GTEx Portal에서 SNP이 부 대립유전자를 가질 경우 유전자 발현량이 증가 혹은 감소하는지 알아보았다. GRM5 gene의 SNP 중 통계적으로 유의한($P<0.05$) rs1553132를 이용하여 유전형별 조직에서의 유전자 발현량을 확인하였다. 검정 박스 안에 있는 흰색 선이 유전자 발현의 중앙값을 의미하며, 부 대립유전자(A>G)를 가질 경우 GRM5 유전자 발현량이 통계적으로 유의하게 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

GRM5 (glutamate metabotropic receptor 5) 유전자는 G-단백질 결합 수용체 3 단백질 계열의 단백질로서 대사성 글루타메이트 수용체이며, 이 수용체 신호는 포스포티딜이노시톨-칼슘 2차 전령 시스템을 활성화한다(Rodriguez et al., 2010). 이 단백질은 뇌에서 광범위하게 발현되어 신경망 활동과 시냅스 가소성의 조절에 관여한다. 글루타

메이트 신경전달은 정상적인 뇌 기능의 대부분 측면에 관여하며 많은 신경병리학적 상태에서 교란될 수 있다. GRM5는 억제성 신경전달물질의 방출 조절 뿐 만 아니라 흥분성 시냅스의 강화(Anwyl, 2009) 및 우울에서 역할을 수행하며(Huang and Hsu, 2008; Popkirov and Manahan-Vaughan, 2011; Matosin et al., 2014), 또한 N-메틸-D-아스파르트산(NMDA) 전류, 세포 흥분성, 단백질 합성, 시냅스 형성 및 신경세포 발달(Huang and Hsu, 2008; Reichel et al., 2011; Michalon et al., 2014)을 조절한다. 발달과정과 성인 중추 신경계(CNS)에서 모두에서 GRM5는 학습과 기억(Simonyi et al., 2010; Fowler et al., 2013), 모터 제어(Guimaraes et al., 2015), 행동 유연성(Watterson et al., 2013), 그리고 감정의 조절을 포함한 수많은 인지과정(Ellard et al., 2015)과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. 병리학적 조건에서, GRM5는 파킨슨병(Mela et al., 2007), 취약 X 증후군(Fragile X syndrome) (Dolen and Bear, 2008) 및 알츠하이머병(Hamilton et al., 2014)에서 관찰되는 마와 같이 부적응성 뇌 가소성 및 지속적인 신경학적 기능 장애에 기여할 수 있다. GRM5는 비만 병리 생리학의 기초가 될 수 있다는 증거도 보고되고 있다. 예를 들어, GRM5 유전자의 녹아웃과 GRM5의 음성 입체다른자리 조절자인 MTEP([3-(2-Methyl-1,3-thiazol-4-yl)-ethynyl]-pyridine) 처리는 음식 결핍 후 체중, 혈장 렙틴 및 인슐린 수준, 음식 섭취 및 섭식을 감소하는 것으로 보고되었다(Bradbury et al., 2005; Oliveira et al., 2021; Santos et al., 2022). 따라서, GRM5 작용제인 CHPG (2-Chloro-5-hydroxyphenylglycine)는 마우스에서 음식 섭취를 자극하여 식욕과 섭식을 매개하는 수용체의 역할을 지원한다. 비만은 또한 심혈관 질환, 당뇨병, 암, 정신 질환 및 기타 많은 만성 질환의 위험을 증가시킨다(Kopelman, 2007).

본 연구는 기존에 GWAS catalog 자료를 토대로 알려진 결과와 한국인 KARE 코호트 자료를 활용하여 수면 시간과 연관성이 나타난 유전적 다형성을 발굴하고, 재현성을 확인하였다. 그 결과, GRM5 유전자의 rs1553132는 GWAS catalog와 KARE 코호트에서 모두 수면 시간과 연관된 SNP임을 밝혀 재현성이 확인되었다. 또한, GRM5의 rs1504096은 GWAS catalog에서는 확인되지 않는 한국인에서 처음으로 수면 시간과 관련하여 발굴된 SNP이었다. 따라서 KARE 코호트 자료를 활용한 본 연구 결과를 통해 수면 시간과 관련된 기존 SNP을 활용하여 추가적인 SNP을 확인할 수 있었고 앞으로 관련된 SNP들과 다른 환경요인들과의 상호작용을 확인함으로써 질병 예방에 도

움이 될 수 있는 개인 맞춤형 생활방식 제안의 근거를 제시할 수 있을 것으로 기대한다.

ACKNOWLEDGEMENT

Epidemiologic data used in this study were from the Korean Genome and Epidemiology Study (KoGES) of the Korea Centers for Disease Control & Prevention, Republic of Korea.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Antza C, Kostopoulos G, Mostafa S, Nirantharakumar K, Tahrani A. The links between sleep duration, obesity and type 2 diabetes mellitus. *J Endocrinol.* 2021. 252: 125-141.
- Anwyl R. Metabotropic glutamate receptor-dependent long-term potentiation. *Neuropharmacology.* 2009. 56: 735-740.
- Austin-Zimmerman I, Levey DF, Giannakopoulou O, Deak JD, Galimberti M, Adhikari K, Zhou H, Denaxas S, Irizar H, Kuchenbaecker K, McQuillin A, Million Veteran P, Concato J, Buysse DJ, Gaziano JM, Gottlieb DJ, Polimanti R, Stein MB, Bramon E, Gelernter J. Genome-wide association studies and cross-population meta-analyses investigating short and long sleep duration. *Nat Commun.* 2023. 14: 6059.
- Bradbury MJ, Campbell U, Giracello D, Chapman D, King C, Tehrani L, Cosford ND, Anderson J, Varney MA, Strack AM. Metabotropic glutamate receptor mglu5 is a mediator of appetite and energy balance in rats and mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005. 313: 395-402.
- Chen M, Lu C, Zha J. Long sleep duration increases the risk of all-cause mortality among community-dwelling older adults with frailty: Evidence from nhanes 2009-2014. *J Appl Gerontol.* 2023. 42: 1078-1088.
- Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban H, Yoon D, Lee MH, Kim D, Park M, Cha S, Kim J, Han B, Min H, Ahn Y, Park MS, Han HR, Jang H, Cho EY, Lee J, Cho NH, Shin C, Park T, Park JW, Lee J, Cardon L, Clarke G, McCarthy MI, Lee J, Lee J, Oh B, Kim H. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nature Genetics.* 2009. 41: 527-534.
- Dolen G, Bear MF. Role for metabotropic glutamate receptor 5

- (mglur5) in the pathogenesis of fragile x syndrome. *J Physiol*. 2008. 586: 1503-1508.
- Ellard JM, Madin A, Philips O, Hopkin M, Henderson S, Birch L, O'Connor D, Arai T, Takase K, Morgan L, Reynolds D, Talma S, Howley E, Powney B, Payne AH, Hall A, Gartlon JE, Dawson LA, Castro L, Atkinson PJ. Identification and optimisation of a series of tetrahydrobenzotriazoles as metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulators that improve performance in a preclinical model of cognition. *Bioorg Med Chem Lett*. 2015. 25: 5792-5796.
- Elshoeibi AM, Akomolafe A, Al-Khulaifi A, Metwally O, Al-Khayarin R, Al Abiad AR, Al-Naemi L, Chivese T, Farooqui H. The association between short sleep duration and metabolic syndrome: A case-control study. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2023. 16: 4157-4167.
- Fowler SW, Walker JM, Klakotskaia D, Will MJ, Serfozo P, Simonyi A, Schachtman TR. Effects of a metabotropic glutamate receptor 5 positive allosteric modulator, cdppb, on spatial learning task performance in rodents. *Neurobiol Learn Mem*. 2013. 99: 25-31.
- Gradisar M, Gardner G, Dohnt H. Recent worldwide sleep patterns and problems during adolescence: A review and meta-analysis of age, region, and sleep. *Sleep Med*. 2011. 12: 110-118.
- Guimaraes IM, Carvalho TG, Ferguson SS, Pereira GS, Ribeiro FM. The metabotropic glutamate receptor 5 role on motor behavior involves specific neural substrates. *Mol Brain*. 2015. 8: 24.
- Hamilton A, Esseltine JL, DeVries RA, Cregan SP, Ferguson SS. Metabotropic glutamate receptor 5 knockout reduces cognitive impairment and pathogenesis in a mouse model of alzheimer's disease. *Mol Brain*. 2014. 7: 40.
- He L, Yang N, Ping F, Xu L, Li W, Li Y, Zhang H. Long sleep duration is associated with increased high-sensitivity c-reactive protein: A nationwide study on chinese population. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020. 13: 4423-4434.
- Huang CC, Hsu KS. The role of nmda receptors in regulating group ii metabotropic glutamate receptor-mediated long-term depression in rat medial prefrontal cortex. *Neuropharmacology*. 2008. 54: 1071-1078.
- Irwin MR. Why sleep is important for health: A psychoneuro-immunology perspective. *Annu Rev Psychol*. 2015. 66: 143-172.
- Jike M, Itani O, Watanabe N, Buysse DJ, Kaneita Y. Long sleep duration and health outcomes: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Sleep Med Rev*. 2018. 39: 25-36.
- Kopelman P. Health risks associated with overweight and obesity. *Obes Rev*. 2007. 8 Suppl 1: 13-17.
- Krause AJ, Simon EB, Mander BA, Greer SM, Saletin JM, Goldstein-Piekarski AN, Walker MP. The sleep-deprived human brain. *Nat Rev Neurosci*. 2017. 18: 404-418.
- Kwon HS, Kim C, Kim YS, Koh SH, Kim HY, Lee SH, Jung KH, Kim JM, Kim YD, Kwon HM, Koo DL, Kim BJ, Kim BJ, Heo SH, Chang DI, Bushnell CD. Long sleep duration and dissatisfaction with sleep quality are associated with ischemic stroke in young patients. *Cerebrovasc Dis*. 2023. 52: 671-678.
- Lee DY, Jung I, Park SY, Yu JH, Seo JA, Kim KJ, Kim NH, Yoo HJ, Kim SG, Choi KM, Baik SH, Lee SK, Shin C, Kim NH. Sleep duration and the risk of type 2 diabetes: A community-based cohort study with a 16-year follow-up. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2023. 38: 146-155.
- Liang YY, Chen J, Peng M, Zhou J, Chen X, Tan X, Wang N, Ma H, Guo L, Zhang J, Wing YK, Geng Q, Ai S. Association between sleep duration and metabolic syndrome: Linear and nonlinear mendelian randomization analyses. *J Transl Med*. 2023. 21: 90.
- Matosin N, Fernandez-Enright F, Frank E, Deng C, Wong J, Huang XF, Newell KA. Metabotropic glutamate receptor mglur2/3 and mglur5 binding in the anterior cingulate cortex in psychotic and nonpsychotic depression, bipolar disorder and schizophrenia: Implications for novel mglur-based therapeutics. *J Psychiatry Neurosci*. 2014. 39: 407-416.
- Mela F, Marti M, Dekundy A, Danysz W, Morari M, Cenci MA. Antagonism of metabotropic glutamate receptor type 5 attenuates l-dopa-induced dyskinesia and its molecular and neurochemical correlates in a rat model of parkinson's disease. *J Neurochem*. 2007. 101: 483-497.
- Michalon A, Bruns A, Risterucci C, Honer M, Ballard TM, Ozmen L, Jaeschke G, Wettstein JG, von Kienlin M, Kunnecke B, Lindemann L. Chronic metabotropic glutamate receptor 5 inhibition corrects local alterations of brain activity and improves cognitive performance in fragile x mice. *Biol Psychiatry*. 2014. 75: 189-197.
- Moller-Levet CS, Archer SN, Bucca G, Laing EE, Slak A, Kabiljo R, Lo JC, Santhi N, von Schantz M, Smith CP, Dijk DJ. Effects of insufficient sleep on circadian rhythmicity and expression amplitude of the human blood transcriptome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013. 110: E1132-1141.
- Oliveira TPD, Goncalves BDC, Oliveira BS, de Oliveira ACP, Reis HJ, Ferreira CN, Aguiar DC, de Miranda AS, Ribeiro FM, Vieira EML, Palotas A, Vieira LB. Negative modulation

- of the metabotropic glutamate receptor type 5 as a potential therapeutic strategy in obesity and binge-like eating behavior. *Front Neurosci.* 2021. 15: 631311.
- Patel SI, Erwin MR, Olmstead R, Jean-Louis G, Parthasarathy S, Youngstedt SD. Comparisons of sleep, demographics, and health-related variables in older long and average duration sleepers. *Sleep Sci.* 2023. 16: 165-173.
- Popkirov SG, Manahan-Vaughan D. Involvement of the metabotropic glutamate receptor mglur5 in nmda receptor-dependent, learning-facilitated long-term depression in cal synapses. *Cereb Cortex.* 2011. 21: 501-509.
- Reichel CM, Schwendt M, McGinty JF, Olive MF, See RE. Loss of object recognition memory produced by extended access to methamphetamine self-administration is reversed by positive allosteric modulation of metabotropic glutamate receptor 5. *Neuropsychopharmacology.* 2011. 36: 782-792.
- Rodriguez AL, Grier MD, Jones CK, Herman EJ, Kane AS, Smith RL, Williams R, Zhou Y, Marlo JE, Days EL, Blatt TN, Jadhav S, Menon UN, Vinson PN, Rook JM, Stauffer SR, Niswender CM, Lindsley CW, Weaver CD, Conn PJ. Discovery of novel allosteric modulators of metabotropic glutamate receptor subtype 5 reveals chemical and functional diversity and *in vivo* activity in rat behavioral models of anxiolytic and antipsychotic activity. *Mol Pharmacol.* 2010. 78: 1105-1123.
- Santos RPM, Ribeiro R, Ferreira-Vieira TH, Aires RD, de Souza JM, Oliveira BS, Lima ALD, de Oliveira ACP, Reis HJ, de Miranda AS, Vieira EML, Ribeiro FM, Vieira LB. Metabotropic glutamate receptor 5 knockout rescues obesity phenotype in a mouse model of huntington's disease. *Sci Rep.* 2022. 12: 5621.
- Simonyi A, Schachtman TR, Christoffersen GR. Metabotropic glutamate receptor subtype 5 antagonism in learning and memory. *Eur J Pharmacol.* 2010. 639: 17-25.
- Watterson LR, Kufahl PR, Nemirovsky NE, Sewalia K, Hood LE, Olive MF. Attenuation of reinstatement of methamphetamine-, sucrose-, and food-seeking behavior in rats by fenobam, a metabotropic glutamate receptor 5 negative allosteric modulator. *Psychopharmacology (Berl).* 2013. 225: 151-159.
- Wehrmeister FC, Wendt A, Tavares PS, Santos FSD, Dias MDS, Carpena MX, Weber P, Reyes Matos U, Barros F, Goncalves H, Menezes AMB. Short and long sleep duration and associated factors in pre-adolescence and early adulthood: Evidence from the 1993 pelotas birth cohort study. *Sleep Med.* 2020. 75: 477-483.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2024.30.2.86>

Cite this article as: Cho SH, Kim SA, Jin HS, Kim HS. Replication Study of Genome Wide Association Study of Sleep Duration in Korean Association Resources Cohort. *Biomedical Science Letters.* 2024. 30: 86-95.

Supplementary Table S1. The results of association analysis between the SNPs in the *GRM5* gene and sleep duration in the KARE study cohort

CHR	SNP	AI	Effect size	P-value
11	rs1504096	T	0.16	1.93E-05
11	rs75742294	T	0.11	0.000412
11	11:88381401:GC_G	D	0.11	0.000483
11	rs78037655	A	0.11	0.00071
11	rs78434666	A	0.10	0.000764
11	11:88303735:ATATA	D	0.09	0.000772
11	rs79576828	C	0.11	0.000887
11	rs78760706	A	0.11	0.000906
11	rs2169662	C	0.11	0.000935
11	11:88507772:AT_A	D	0.11	0.00111
11	rs77949941	T	0.11	0.001131
11	rs1499033	A	0.11	0.00119
11	rs2126740	T	0.11	0.001215
11	rs76807710	T	0.11	0.001295
11	rs16914750	G	0.16	0.001415
11	rs79072424	T	0.09	0.00144
11	rs16914836	C	0.11	0.001475
11	rs16914849	T	0.11	0.001475
11	rs76242244	A	0.11	0.001475
11	rs78199400	A	0.11	0.001505
11	rs80045543	C	0.11	0.001613
11	11:88469120:GT_G	D	0.10	0.00163
11	rs4489745	A	0.10	0.001715
11	rs141935302	C	0.10	0.001746
11	11:88437674:A_AT	I	0.10	0.001774
11	rs1553132	G	0.08	0.001812
11	rs16914576	G	0.10	0.00182
11	rs140615503	G	0.10	0.001827
11	rs76809901	T	0.10	0.001834
11	rs112301108	G	0.10	0.00186
11	rs76869147	G	0.10	0.001887
11	rs138490074	T	0.11	0.001952
11	rs150668013	T	0.10	0.002003
11	11:88412498:AAC_A	D	0.10	0.002019
11	rs76850181	C	0.10	0.002035
11	rs79228668	G	0.10	0.002035
11	rs76993739	C	0.09	0.002045
11	rs79300067	C	0.10	0.002095
11	rs77622360	T	0.10	0.002095
11	rs80196456	G	0.10	0.002252

Continued

CHR	SNP	AI	Effect size	P-value
11	rs117359754	C	0.10	0.002314
11	rs1394185	G	0.10	0.002317
11	rs4753763	A	0.10	0.00235
11	rs113582145	T	0.10	0.00237
11	rs1072828	A	0.10	0.002443
11	rs10501671	G	0.10	0.002538
11	11:88576548:ATCCG	D	0.10	0.002567
11	rs1603901	G	0.10	0.002578
11	rs1499030	T	0.10	0.002666
11	11:88329190:C_CT	R	0.10	0.002695
11	rs117836634	T	0.10	0.002767
11	rs722197	T	0.10	0.002819
11	rs7944979	C	0.10	0.00288
11	rs111525051	T	0.10	0.002958
11	rs117597428	T	0.10	0.003052
11	rs76049742	G	0.10	0.003064
11	rs7480764	G	0.10	0.003068
11	rs6483336	T	0.10	0.003105
11	11:88376443:T_TAC	R	0.10	0.003105
11	rs6483338	T	0.10	0.003105
11	rs7931337	T	0.10	0.003346
11	rs1499042	C	0.10	0.003362
11	rs2221108	G	0.10	0.003374
11	rs4439512	G	0.08	0.003478
11	rs16914326	G	0.10	0.003487
11	rs11529107	T	-0.06	0.003531
11	rs7938954	A	0.10	0.003556
11	rs1354412	G	0.10	0.003585
11	rs4753607	T	0.10	0.003594
11	rs7942230	T	-0.06	0.003688
11	rs7479307	T	0.09	0.003694
11	rs138658109	G	0.10	0.003932
11	rs10765690	T	0.09	0.004006
11	rs141298754	G	0.09	0.004008
11	rs7478762	A	0.09	0.004019
11	rs7944213	G	0.09	0.004025
11	rs79350451	G	0.09	0.004025
11	rs77145000	T	0.09	0.004025
11	rs77969725	T	0.08	0.004089
11	rs7947812	A	0.09	0.004209
11	rs10831251	T	0.09	0.004227
11	rs75417664	T	0.09	0.004289

Continued					Continued				
CHR	SNP	A1	Effect size	P-value	CHR	SNP	A1	Effect size	P-value
11	rs3816649	G	0.09	0.004636	11	rs12418224	T	-0.07	0.01328
11	rs7121813	G	0.09	0.004853	11	rs10831297	G	-0.07	0.01328
11	11:88414272:CTT_C	D	0.08	0.005116	11	rs117357283	A	-0.08	0.01346
11	rs141528456	G	0.10	0.005138	11	rs11020922	C	-0.07	0.0135
11	rs1846475	A	-0.08	0.005537	11	rs6416015	A	-0.07	0.01388
11	rs55663947	A	0.09	0.005575	11	11:88444968:T_TA	R	-0.07	0.01397
11	rs10765691	G	-0.06	0.006204	11	rs904495	A	-0.07	0.01444
11	rs75174260	G	-0.09	0.006298	11	rs6483399	G	-0.07	0.01452
11	rs1987994	G	0.09	0.006462	11	rs12417731	T	-0.07	0.01483
11	rs11826564	A	0.06	0.006845	11	rs10831303	G	-0.07	0.01489
11	rs11021133	A	-0.08	0.006964	11	rs16914630	G	-0.07	0.01517
11	rs76436528	C	0.13	0.008613	11	rs10831302	G	-0.07	0.01616
11	rs17178478	T	-0.07	0.008628	11	rs1499029	C	-0.07	0.01631
11	rs974337	T	-0.07	0.009208	11	rs11021050	T	-0.07	0.01665
11	rs10741299	T	-0.05	0.009541	11	rs7947200	C	-0.05	0.01683
11	rs1391879	C	0.07	0.009697	11	rs10831273	A	-0.07	0.017
11	rs12800947	T	-0.07	0.0103	11	rs7951488	T	-0.07	0.01708
11	rs6416017	T	-0.07	0.01142	11	rs12364535	C	-0.07	0.01753
11	rs11020959	A	-0.07	0.01147	11	rs2055313	T	-0.07	0.01753
11	rs11020868	T	-0.08	0.01151	11	rs11020942	T	-0.07	0.01753
11	11:88402861:ATTAC	D	-0.08	0.01151	11	rs12365000	T	-0.07	0.01753
11	rs78455258	C	-0.08	0.01151	11	rs11020944	C	-0.07	0.01753
11	rs78339652	T	-0.08	0.01166	11	rs11020947	T	-0.07	0.01753
11	rs117190337	C	-0.08	0.01166	11	rs12419660	G	-0.07	0.01753
11	rs10501677	C	-0.08	0.01184	11	rs11020950	C	-0.07	0.01753
11	rs12421389	A	-0.08	0.01184	11	rs11020930	A	-0.07	0.01813
11	rs1504093	C	0.07	0.012	11	rs11020934	T	-0.07	0.01813
11	rs1504091	T	0.07	0.0121	11	rs12363343	G	-0.07	0.01813
11	rs11020880	C	-0.08	0.01229	11	rs16914531	T	-0.07	0.01813
11	rs11020881	G	-0.08	0.01229	11	rs16914532	T	-0.07	0.01813
11	rs77864285	A	-0.07	0.01245	11	rs74552006	C	-0.07	0.01813
11	rs10831257	A	-0.08	0.01293	11	rs11020937	T	-0.07	0.01813
11	rs11020866	T	-0.08	0.01293	11	rs11020938	C	-0.07	0.01813
11	rs2219746	A	-0.07	0.01294	11	rs7949475	A	-0.06	0.01912
11	rs11020962	T	-0.07	0.01303	11	rs11021034	T	-0.06	0.01921
11	11:88423390:C_CT	I	-0.07	0.01303	11	rs11020951	G	-0.07	0.01951
11	rs11020963	T	-0.07	0.01303	11	rs11020960	A	-0.07	0.01951
11	rs11021026	C	-0.07	0.01303	11	rs11021220	G	-0.05	0.01973
11	rs11020897	T	-0.08	0.01325	11	rs7946882	A	-0.05	0.01979
11	rs11020901	A	-0.08	0.01325	11	rs74355867	G	-0.07	0.01993
11	rs78409323	A	-0.08	0.01325	11	rs4539325	A	-0.05	0.01996
11	rs139342860	T	-0.07	0.01325	11	rs11021173	G	-0.05	0.02015

Continued

CHR	SNP	A1	Effect size	P-value
11	rs3929416	A	-0.05	0.02052
11	11:88502554:GT_G	D	-0.05	0.02052
11	rs7127982	C	-0.05	0.02091
11	rs1391878	G	-0.06	0.02101
11	rs1391876	A	-0.06	0.02102
11	rs76123172	T	-0.05	0.02106
11	rs4500491	G	-0.05	0.02106
11	rs79262862	G	-0.05	0.02119
11	rs7124237	G	-0.05	0.02123
11	rs1846478	T	-0.05	0.02129
11	rs11020965	A	-0.06	0.02165
11	rs11021044	A	-0.07	0.02185
11	rs12276517	C	-0.05	0.02248
11	rs1499188	T	-0.06	0.02251
11	rs12786188	A	-0.06	0.02251
11	rs11021051	A	-0.06	0.02251
11	rs11021053	A	-0.06	0.02251
11	rs10741491	G	-0.05	0.02271
11	rs10831305	C	-0.06	0.02302
11	rs2892290	G	-0.06	0.02304
11	rs12284425	C	-0.05	0.02309
11	rs7126941	T	-0.05	0.0233
11	rs11021035	A	-0.06	0.02332
11	rs16914647	C	-0.07	0.02343
11	rs5008227	A	-0.07	0.02389
11	rs16914662	T	-0.06	0.02478
11	rs685438	T	-0.05	0.02569
11	rs113448868	G	-0.06	0.02633
11	rs316097	G	-0.05	0.02678
11	rs504183	G	-0.05	0.02701
11	rs72643332	G	-0.06	0.02719
11	rs2169661	T	-0.06	0.02752
11	rs139314878	G	-0.07	0.02759
11	11:88567473:A_AT	I	-0.06	0.029
11	rs585423	C	-0.05	0.02908
11	rs11823908	T	-0.06	0.02916
11	rs112622593	C	-0.06	0.02923
11	rs3862366	T	-0.06	0.02962
11	rs16914965	G	-0.06	0.0298
11	rs72643328	T	-0.06	0.03066
11	rs1391875	C	-0.06	0.03068
11	11:88555177:GT_G	D	-0.06	0.0311

Continued

CHR	SNP	A1	Effect size	P-value
11	rs561512	C	0.05	0.03113
11	rs4340054	T	-0.06	0.03125
11	rs11825174	T	-0.06	0.03126
11	rs11020449	A	-0.11	0.03141
11	rs7107030	A	-0.06	0.03181
11	rs72643325	T	-0.06	0.03199
11	rs72643327	T	-0.06	0.03199
11	rs192203301	T	-0.06	0.03225
11	rs16914865	T	-0.06	0.03233
11	rs546980	T	0.04	0.03247
11	rs72643321	A	-0.06	0.03252
11	rs677483	G	0.04	0.03274
11	rs11824196	A	-0.06	0.03299
11	rs16914844	A	-0.06	0.03352
11	rs16914858	A	-0.06	0.03424
11	rs72643326	C	-0.06	0.03425
11	rs10501685	G	-0.06	0.03432
11	11:88690156:GT_G	R	0.04	0.03458
11	rs572735	T	0.04	0.03458
11	rs72643324	A	-0.06	0.03464
11	rs16914829	G	-0.06	0.03472
11	rs4325318	T	-0.06	0.035
11	rs114258098	C	-0.06	0.03505
11	rs4523700	C	-0.06	0.03505
11	rs72643322	A	-0.06	0.03511
11	rs7949066	A	-0.06	0.03515
11	rs316092	T	-0.05	0.03527
11	rs604179	A	-0.05	0.03624
11	rs75812723	A	-0.06	0.03662
11	rs72643323	T	-0.06	0.03696
11	rs647669	A	-0.04	0.03738
11	rs146309244	G	-0.06	0.03872
11	rs6483362	A	-0.06	0.03875
11	rs7108560	C	-0.06	0.03896
11	rs72643319	T	-0.06	0.03896
11	rs79612858	C	-0.06	0.04115
11	11:88697539:G_GT	I	0.04	0.04138
11	rs79861528	T	0.15	0.0414
11	rs7106836	C	-0.06	0.04142
11	rs58194350	G	-0.06	0.04177
11	rs113498365	T	-0.11	0.04227
11	rs10501683	G	-0.06	0.04311

Continued

CHR	SNP	A1	Effect size	P-value
11	rs7116857	G	-0.06	0.04331
11	rs648702	G	-0.04	0.04368
11	rs16914821	G	-0.06	0.0438
11	rs7117646	T	0.04	0.04393
11	rs597462	C	0.04	0.04532
11	rs538955	C	0.04	0.04532
11	rs537635	C	0.04	0.04562
11	rs538945	T	0.04	0.04629
11	rs7116657	T	-0.06	0.04651
11	rs612781	A	0.04	0.04707
11	rs687767	T	-0.04	0.04712
11	rs1150313	G	0.04	0.0477
11	rs624913	G	0.04	0.04771
11	rs11021137	C	-0.08	0.04849
11	rs11021138	C	-0.08	0.04849
11	rs11021142	C	-0.08	0.04849
11	rs674437	A	0.04	0.0495
11	rs2212333	A	-0.04	0.0496
11	rs142212735	A	-0.06	0.04982
11	rs11021148	C	-0.08	0.04994

Age, gender were included as covariates in all the models

Supplementary Table S2. The results of association analysis between the SNPs in the KARE study cohort and sleep duration

CHR	SNP	A1	Effect size	P-value
1	rs79746559	A	0.09	0.000952
11	rs1553132	G	0.08	0.001812
8	rs6601299	T	0.27	0.003271
12	rs825458	A	0.06	0.004062
8	rs2169387	A	0.27	0.004384
16	rs412464	T	-0.06	0.006946
6	rs9346353	A	0.05	0.008117
15	rs8042174	C	0.06	0.008211
8	rs6984305	A	0.24	0.009372
10	rs11190970	A	0.15	0.01057
12	rs7298909	C	0.05	0.01735
12	rs2454703	T	-0.05	0.01796
7	rs1830079	T	0.08	0.023
16	rs429921	A	-0.05	0.02572
6	rs12215241	A	-0.14	0.02587
19	rs769449	A	0.09	0.02841
6	rs9367621	T	0.05	0.03204
19	rs6857	T	0.09	0.03245
8	rs9644636	G	-0.07	0.04072
17	rs3764351	A	-0.04	0.046
6	rs6415084	T	0.06	0.04828
22	rs5746495	C	-0.04	0.0489
7	rs11762784	A	0.04	0.04895

Age, gender were included as covariates in all the models