

平成 22年 5月 24日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005年～2009年

課題番号：17019007

研究課題名（和文） 脳動脈瘤関連遺伝子の探索

研究課題名（英文） Genetic analyses of intracranial aneurysms

研究代表者：井ノ上 逸朗（INOUE ITURO）

東海大学・医学部・教授

研究者番号：00192500

研究成果の概要（和文）：脳動脈瘤の破裂により重篤なくも膜下出血をきたす。我々はゲノム全域関連研究（GWAS）を2段階走査法に基づいて実施している。また、これとは独立に、我々は3民族集団（フィンランド、オランダ、日本）を用いたGWASの共同研究に加わり、全コホートで共有される脳動脈瘤との関連座位を3本の染色体上に認めた（3座位のリスクアレルの集積的な効果として、3自由度一般化スコア検定で $P=1.3 \times 10^{-23}$ を示した）。

研究成果の概要（英文）：Saccular intracranial aneurysms (IAs) are balloon-like dilations of the intracranial arterial wall; their hemorrhage results in severe neurologic impairment and death. We identified three new loci showing strong evidence for association with IA. Together, these 5 loci explain ~5% of the genetic risk of IA. It is noteworthy that 3 of these putative risk genes encode regulators of the cell cycle. These findings have implications for the pathogenesis and pre-clinical diagnosis of IA. Despite the gene identification with the largest scale GWAS, the whole picture of the susceptibilities underlying IA is not still uncovered.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	6,500,000	0	6,500,000
2006年度	6,500,000	0	6,500,000
2007年度	6,400,000	0	6,400,000
2008年度	6,400,000	0	6,400,000
2009年度	6,400,000	0	6,400,000
総計	32,200,000	0	32,200,000

研究分野：応用ゲノム

科研費の分科・細目：計画研究・C01

キーワード：①脳動脈瘤②疾患遺伝子③ゲノム④連鎖解析

1. 研究開始当初の背景

本研究では、脳動脈瘤の発症に関連する遺伝子の同定を目指す。脳動脈瘤が破裂すると致死性のくも膜下出血をきたす。くも膜下出血は、致死率が高いのみでなく、後遺症も重篤

であり、社会的損失の大きい疾患である。脳動脈瘤そのものは無症状のことが多く、高頻度に存在していることも知られている（50歳以上の3-6%に存在する）。疾患感受性遺伝子を同定することで、脳動脈瘤発生メカニズム

の全容が解明され、予防法、治療法の開発へ向けた大きな前進が期待できる。

2. 研究の目的

糖尿病や高血圧などと同様、脳動脈瘤もまた多因子疾患の一つであり、複数の遺伝因子や喫煙などの生活習慣、環境因子が複雑な形でその発症リスクに関与していると考えられる。したがって、脳動脈瘤発症に関するメカニズムの全容解明のためには、ゲノム全域を対象とした体系的な遺伝子同定に加え、遺伝子間、もしくは遺伝子-環境間相互作用を検出する新たなアプローチを採用、または開発しつつ、戦略を立てることが重要である。特に急速なゲノムテクノロジーの進歩により、SNPタイピング技術は大きく変革し、本研究においてもillumina Hap330によるゲノム全域を網羅するSNPタイピング法を用いている。国際多施設共同研究により大規模アソシエーション・スタディをおこない、脳動脈瘤に関連する遺伝子多型の同定を目指した。

3. 研究の方法

Yale大学との国際多施設共同研究を推進し、ほぼ10,000例を用いた大規模な関連解析をおこなった。具体的にはフィンランド白人、オランダ白人、日本人での2,200例の脳動脈瘤患者と8,000例の対照に対してillumina Hap300で30万SNPタイピングによる大規模ゲノム全域関連解析を行った。検体および遺伝子多型データについて厳格な選定基準を採用している。

4. 研究成果

本研究では、感受性遺伝子同定のみでなくゲノム全域から得られた脳動脈瘤関連遺伝子多型が喫煙や高血圧といった他のリスク要因と交絡しているか、脳動脈瘤の位置、破裂有無、多発性などといった表現型と関連しているか、ロジスティック回帰解析により検討している。

ゲノム全域アソシエーション・スタディによる脳動脈瘤関連遺伝子同定

本研究の脳動脈瘤に関連する遺伝子同定の体系的アプローチとして全ゲノムを網羅するSNPを同時にタイピングし、アソシエーション・スタディをおこなった。我々は2008年にYale大学との国際多施設共同研究を推進し、ほぼ10,000例を用いた大規模な関連解析の結果、欧州白人と日本人に共通する脳動脈瘤関連遺伝領域の同定に成功した。フィンランド白人、オランダ白人、日本人での2,200例の脳動脈瘤患者と8,000例の対照に対してillumina Hap300で30万SNPタイピングによる大規模ゲノム全域関連解析を行った。ゲノム全域で4カ所に患者・対照間の強い有意差を認め、日本人検体を含めた解析

で2、8、9番染色体の3カ所に遺伝子領域を絞ることができた(図参照)。それぞれの多型の関与の強さはオッズ比で1.4-1.6であり、それほど強いものではなかった。3カ所の遺伝子領域にはSOX17とCDKN2A遺伝子が存在しており、血管組織の再構成に関与する可能性が示唆された。尚、2番染色体多型の近傍には遺伝子は存在していない。また3カ所の多型について相乗的相互作用を検討したところ、日本人患者においてリスク遺伝子をすべて有する(6個)もしくは5個有する頻度は10%で、オッズ比は6.0となり、強い危険要因となりうることが示された。

脳動脈瘤におけるサブ表現型との関連

脳動脈瘤は破裂・未破裂、多発性、病変部位や瘤の大きさなど様々な表現型(subphenotype)を持ち、これらsubphenotypeが患者の転帰と関連している。特定の脳動脈瘤表現型の感受性に関与する遺伝子を同定することで、発症メカニズムの理解が進むと考えられる。そこで、脳動脈瘤感受性遺伝子座として同定した9p21領域のSNP(rs1333040)が、特定のsubphenotypeに特異的な効果を示す可能性について評価した。脳動脈瘤のsubphenotypeとして、くも膜下出血既往歴、多発性脳動脈瘤および脳動脈瘤の病変部位に着目した。subphenotypeに基づく患者サブグループと対照との間でSNPアレル頻度を比較する、多値ロジスティック回帰分析を行い、サブグループ特異的遺伝的効果(オッズ比)を推定した。次いで、遺伝的効果がサブグループ間で有意に異なることを実証するために、二値ロジスティック回帰分析で患者サブグループ間のSNPアレル頻度を比較した。

脳動脈瘤の破裂・未破裂のサブグループ間および脳動脈瘤の多発・単発の間には有意なオッズ比の差異は認められなかった。病変部位によるサブグループ解析の結果、好発部位の中で、後交通動脈に脳動脈瘤を持つサブグループで最も強い関連が認められた(OR=1.69; 95% CI, 1.26-2.26)。一方、前交通動脈の脳動脈瘤とrs1333040の関連は有意ではなかった(OR=1.22; 95% CI, 0.96-1.57)。さらに、rs1333040と前方循環の脳動脈瘤との関連は弱く(OR=1.28; 95% CI, 1.07-1.53)、後方循環の脳動脈瘤に対して強い関連を示すことが分かった(OR=1.73; 95% CI, 1.32-2.26)。前方循環と後方循環の脳動脈瘤に対するオッズ比の差異は有意なものであった($P=0.03$)。これらの結果から、9p21領域のSNPは脳動脈瘤の病変部位に関連していることが示唆され、特に後方循環の脳動脈瘤形成に関与していることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 24 件)

1. Nakaoka H, Takahashi T, Akiyama K, Cui T, Tajima A, Krischek B, Kasuya H, Hata A, Inoue I. Differential Effects of chromosome 9p21 variation on subphenotypes of intracranial aneurysm: site distribution. *Stroke* in press. 査読あり
2. Krischek B, Tajima A, Akagawa H, Narita A, Ruigrok Y, Rinkel G, Wijmenga C, Feigi GC, Kim CJ, Hori T, Tatagiba M, Kasuya H, Inoue I. Association of the Jun dimerization protein 2 gene with intracranial aneurysms in Japanese and Korean cohorts as compared to a Dutch cohort. *Neuroscience* in press. 査読あり
3. Cui TL, Nakaoka H, Akiyama K, Kamura H, Hosomichi K, Bae J, Cheong H, Shin H, Yada T, Inoue I. Positional effects of polymorphisms in probe-target sequences on genoplot images of oligonucleotide microarrays. *Genet Mol Res* in press. 査読あり
4. Yasuno K, Bilguvar K, Bijlenga P, Kee ALS, Krischek B, Auburger G, Simon M, Krex D, Arlier Z, Nayak N, Ruigrok Y, Niemela M, Tajima A, Frauberg M, Tamas D, Wirjatijasa F, Hata A, Jordi B, Oszvald A, Kasuya H, Gulam Z, Schoch B, Pankaj S, Stuer C, Roelof R, Beck J, Sola T, Ricciardi F, Aromaa A, Illig T, Schreiber S, Duijin CM, Berg LH, Claire P, Carole P, Roder C, Ozturk A, Gaal E, Jeremy W, Berg D, Geisen C, Christoph F, Paul S, Alex F, State MW, Wichmann HE, Breteler MMB, Wijmenga C, Mane S, Juan JE, Sandalcioğlu IE, Meyer B, Raabe A, Daniel R, Jaaskelainen A, Hemesniemi J, Rinkel GJE, Zewnbutsu H, Inoue I, Palotie A, Cambien F, Nakamura Y, Lifton RP, Guenel M. Genome-wide association study of intracranial aneurysms identifies 5 risk loci. *Nat Genet* 43, 420-425, 2010. 査読あり
5. Nakaoka H, Inoue I. Meta-analysis of genetic association studies: methodologies, between-study heterogeneity and winner's curse. *J Hum Genet* 54, 615-623, 2009. 査読あり
6. Brookes AJ, Lehvaslaiho H, Muilu J, Shigemoto Y, Oroguchi T, Tomiki T, Mukaiyama A, Konagaya A, Kojima T, Inoue I, Kuroda M, Mizushima H, Thorisson GA, Dash D, Rajeevan H, Darlison MW, Woon M, Fredman D, Smith AV, Senger M, Naito K, Sugawara H. The phenotype and genotype experiment object model (PaGE-OM): a robust data structure for information related to DNA variation. *Hum Mutat* 30, 968-977, 2009. 査読あり
7. Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C, Kasuya H, Tajima A, Takahashi T, Hata A, Inoue I, Krischek B. Association analysis of genes involved in the maintenance of the integrity of the extracellular matrix with intracranial aneurysms in a Japanese cohort. *Cerebrovasc Dis* 28, 131-134, 2009. 査読あり
8. Koike A, Nishida N, Inoue I, Tsuji S, Tokunaga K. Genome-wide association database developed in the Japanese Integrated Database Project. *J Hum Genet* 54, 543-546, 2009.
9. Tomoyasu Y, Yamaguchi T, Tajima A, Inoue I, Maki K. Further evidence for an association between mandibular height and the growth hormone receptor genes in a Japanese population. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 136, 536-541, 2009. 査読あり
10. Bilguvar K, Yasuno K, Niemela M, Ruigrok YM, Frauberg M, Duijn CM, Berg LH, Mane S, Mason C, Choi M, Gaaal E, Bayri Y, Kolb L, Arlier Z, Ravuri S, Ronkainen A, Tajima A, Laakso A, Hata A, Kasuya H, Koivisto T, Rinne J, Ohman J, Breteler MMB, Wijmenga C, State MW, Rinkel GJE, Hernesniemi J, Jaaskelainen JE, Palotie A, Inoue I, Lifton RP, Gunel M. Susceptibility loci for intracranial aneurysm in Europe and Japanese populations. *Nat Genet* 40, 1472-1477, 2008. 査読あり
11. Nishida N, Koike A, Tajima A, Ogasawara Y, Ishibashi Y, Uehara Y, Inoue I, Tokunaga K. Evaluating the performance of Affymetrix SNP Array 6.0 platform with 400 Japanese individuals. *BMC Genomics* 9, 431, 2008. 査読あり
12. Krischek B, Kasuya H, Tajima A, Akagawa H, Sasaki T, Yoneyama T, Ujiie H, Kubo O, Bonin M, Takakura K, Hori T, Inoue I. Network-based gene

- expression analysis of intracranial aneurysm tissue reveals role of antigen presenting cells. *Neuroscience* 154, 1398-1407, 2008. 査読あり
13. Sasahara A, Kasuya H, Krischek B, Tajima A, Onda H, Sasaki T, Akagawa H, Hori T, Inoue I. Gene expression in a canine basilar artery vasospasm model: a genome-wide network-based analysis. *Neurosurg Rev* 31, 283-290, 2008. 査読あり
 14. Bae JS, Cheong HS, Kim JO, Lee SO, Kim EM, Lee HW, Kim S, Kim JW, Cui T, Inoue I, Shin HD. Identification of SNP markers for common CNV regions and association analysis of risk of subarachnoid aneurysmal hemorrhage in Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun* 373, 593-596, 2008. 査読あり
 15. Osada N, Hashimoto K, Kameoka Y, Hirata M, Tamura R, Uno Y, Inoue I, Hida M, Suzuki Y, Sugano S, Terao K, Kusuda J, Takahashi I. Large-scale analysis of *Macaca fascicularis* transcripts and inference of genetic divergence between *M. fascicularis* and *M. mulatta*. *BMC Genomics* 9, 90, 2008. 査読あり
 16. Sasahara A, Kasuya H, Akagawa H, Ujiie H, Kubo O, Sasaki T, Onda H, Sakamoto Y, Krischek B, Hori T, Inoue I. Increased expression of ephrin A1 in brain arteriovenous malformation. *Neurosurg Rev* 30, 299-305, 2007. 査読あり
 17. Ikeda R, Tsukahara S, Yoshida K, Inoue I. Gene expression changes during the chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells *J Biol Sci* 7 729-736 2007. 査読あり
 18. Akagawa H, Narita A, Yamada H, Tajima A, Krischek B, Kasuya H, Hori T, Kubota M, Saeki N, Hata A, Mizutani M, Inoue I. Systematic screening of lysyl oxidase-like (LOXL) family genes demonstrates that *LOXL2* is a susceptibility gene to intracranial aneurysms. *Hum Genet* 121, 377-387, 2007. 査読あり
 19. Krischek B, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Kasuya H, Hori T, Inoue I. The alanine/threonine polymorphism of the alpha-1-antichymotrypsin (SERPINA3) gene and ruptured intracranial aneurysms in the Japanese population. *Cerebrovasc Dis* 23, 46-49, 2006. 査読あり
 20. Krischek B, Kasuya H, Akagawa H, Tajima A, Narita A, Onda H, Hori T, Inoue I. Using endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms to identify intracranial aneurysms more prone to rupture in Japanese patients. *J Neurosurg* 105, 717-722, 2006. 査読あり
 21. Akagawa H, Tajima A, Sakamoto Y, Krischek B, Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, Hori T, Kubota M, Machida T, Saeki N, Hata A, Hashiguchi K, Kimura E, Kim C-J, Yang T-K, Lee J-Y, Kimm K, Inoue I. A haplotype spanning two genes, *ELN* and *LIMK1*, decreases their transcripts and confers susceptibility to intracranial aneurysms. *Hum Mol Genet* 15: 1722-1734, 2006. 査読あり
 22. Krischek B, Narita A, Akagawa H, Kasuya H, Tajima A, Onda H, Yoneyama T, Hori T, Inoue I. Is there any evidence for linkage on chromosome 17cen in affected Japanese sib-pairs with an intracranial aneurysm? *J Hum Genet* 51: 491-494, 2006. 査読あり
 23. Krischek B, Kasuya H, Inoue I: Collagen Morphology Is Not Associated With the Ala549Pro Polymorphism of the COL1A2 Gene. *Stroke* 36:2068-69, 2005. 査読あり
 24. Akagawa H, Kasuya H, Onda H, Yoneyama T, Choi K-Y, Lee W-J, Hong S-W, Yang T-K, Kim C-J, Hori T, Inoue I. Endothelial nitric oxidase synyhasse T-786C single nucleotide polymorphism is not a factor influencing aneurysm size. *J Neurosurgery* 95, 622-625, 2005. 査読あり
- [その他]
- 新聞報道等
1. 日本経済新聞 2006年10月9日
「脳卒中予防へ成果 - くも膜下出血、関連遺伝子を同定 -」
 2. NHK ニュース 2008年11月10日
「くも膜下出血に関連遺伝子」
 3. 毎日新聞 2008年11月10日
「くも膜下出血：発症高める脳動脈瘤の遺伝子領域特定」
 4. 日本経済新聞 200年11月10日
「脳動脈瘤-原因遺伝子3種解明 東海大、リスク最大7倍に」

5. 科学新聞 2008年11月14日
「脳動脈瘤解明に道-日米胸中の遺伝
子多型同定」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井ノ上 逸朗 (INOUE ITURO)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：00192500

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：