

令和元年6月4日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09486

研究課題名(和文) TGF シグナル系に着目した大動脈疾患修飾因子の検討

研究課題名(英文) Study on disease modifiers relating to TGF-beta signal pathway for aortic diseases

研究代表者

森崎 隆幸 (MORISAKI, TAKAYUKI)

東京大学・医科学研究所・特任教授

研究者番号：30174410

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、若年性大動脈疾患症例についての原因遺伝子変異探索を総計1500例以上の実施してきた実績に基づき、新規に研究協力された同疾患患者について新規に研究協力者とともに立ち上げた次世代シーケンサーによる遺伝子解析を行い、ゲノム情報を効率よく安価に実施する体制を確立するとともに、得られたゲノム情報と疾患病態情報を既存の情報に追加して解析し、国外の研究協力者との情報共有により、病因遺伝子の解明、得られた遺伝子バリエーションの病因・病態修飾因子としての評価を行い、臨床診断に有用な国際標準の構築を進めることができた。この成果は早期診断と早期治療等を通して大動脈疾患の医療への貢献し意義深い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、遺伝性大動脈疾患について、病因や病型の同定に資する遺伝子解析について、効率よく安価に実施出来る手法を確立し、その有用性を確認することができた。国内随一の検討結果であり、手法の確立と普及により、若年性(遺伝性)大動脈疾患の適切な診断と治療につながる検査手法を確立し、さらに病態修飾あるいは病型分類に関わる遺伝子バリエーションの評価法の確立にもつながった。成果は国外の研究協力者との間の検討により、日本人患者の特徴の把握にもつながっており、日本の若年性大動脈疾患の医療に貢献し意義深い。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed genetic analysis by the next generation sequencer on patients with young aortic diseases based on our previous study on more than 1,500 patients and relatives. Data of these genetic data and clinical information revealed new genetic variants as pathogenic and modifying ones. Also some variants were found to be pathogenic variants in patients with specific clinical features. Based on our results with other results by foreign collaborating researchers, we are establishing clinically relevant criteria to determine pathogenic variants in genes especially relating to TGF-beta signaling pathway. These results will help for better and faster diagnosis and intervention of these aortic diseases.

研究分野：分子病態学

キーワード：大動脈瘤 大動脈解離 遺伝性動脈疾患 TGF- シグナル 病態修飾因子 遺伝子バリエーション

1. 研究開始当初の背景

近年、大動脈瘤・解離を生ずる大動脈疾患は近年増加しているが、現在の治療法は適切な診断と血管病変に応じたステント治療を含む外科的治療法しかない。一方、若年の大動脈疾患の20%程度は遺伝性であり、これまでに、10を超える原因遺伝子が同定され、病態生理の解明が進んでいるが、同一の原因遺伝子変異を有していても病態病状の異なる場合がある。遺伝性大動脈疾患のなかで原因遺伝子の解明が進んでいるマルファン症候群(MFS)については、1991年に原因遺伝子FBN1が同定された。FBN1は細胞外マトリックスの弾性線維を構成する糖タンパク質 fiburillin をコードしており、その機能異常によりマルファン症候群の病態をもたらすと考えられた。

今世紀になり、類似の病態を示す別疾患ロイス・ディーツ症候群(LDS)の病因としてTGFBR2、TGFBR1 遺伝子の変異が同定された。さらに、MFS と LDS の共通の病態として細胞内シグナル伝達系とくに TGF- シグナル系および関連するシグナル伝達系の機能異常の寄与が明らかとなり、また、他の遺伝性大動脈疾患について、やはり TGF- シグナル系の機能異常をもたらす SMAD3、TGFB2、TGFB3 といった遺伝子の変異も同様な病態を示すことが明らかになり、細胞内シグナル伝達系異常と大動脈疾患との関係はさらに認識されるようになってきている。

しかしながら、これらの原因遺伝子について同一遺伝子の変異を有していても臨床症状は同一でなく、当該遺伝子変異以外による病態修飾因子の存在が想定され、そのために大動脈病変など病像の違いのあることが指摘されているが詳細は不明の点が多い。

2. 研究の目的

近年増加している大動脈瘤・解離患者のなかで、比較的若年発症の大動脈瘤・解離については孤発性であっても病因として遺伝子変異が同定される症例は少なくない。これまでに、10を超える遺伝子の変異が大動脈疾患の原因として報告されているが、遺伝子変異のみで病変の発症進展の予測は不可能である。すなわち、病態修飾因子が解明されれば、遺伝要因を有していても大動脈病変の進展を遅らせる方法の開発につながる可能性がある。

そこで、これまで日本全国の患者1550例以上について遺伝性大動脈疾患の遺伝子解析を実施し、多数の大動脈疾患患者を管理してきた実績をもとに、本研究では、その蓄積を活用して、同一の遺伝子変異であっても変異種別による病像の差異を検討し、さらに他の遺伝要因(変異・多型)と環境要因を比較検討することにより、遺伝性大動脈疾患のみならず他の原因による大動脈疾患にも共通する疾患発症・疾患進展の修飾因子の詳細を明らかにし、さらに、収集集積した手術時摘出組織由来の平滑筋細胞を利用して、細胞レベルでの病態進展機構の解明につなげる。

3. 研究の方法

これまでの検討(候補遺伝子配列解析)にて原因遺伝子変異を同定した若年性(遺伝性)大動脈疾患(約550例)のうちTGF シグナル伝達系の変化をもたらすことが知られる遺伝子変異(FBN1, TGFBR2, TGFBR1, SMAD3, TGFB2, TGFB3)を有する症例のうち、組織細胞を保存している約300例について遺伝子の違い、変異の種別による疾患の特徴を明らかにする。ついで、これら同一変異を有しながら病像の異なる症例について、TGF シグナルならびに関連するシグナル伝達系の遺伝子発現ならびにタンパク質発現を比較検討し、シグナル伝達系の変化が病態修飾に関係するか否かを検討する。さらに、変異遺伝子以外のTGF シグナル伝達系に関連する遺伝子SNPと病像との関連を検討する。以上により、大動脈疾患の病態修飾因子について知見を得る。さらに、観察された因子変化について、修正の方向に向かわせるために、特異的インヒビター、抗体やsiRNAなどの手法を当該患者由来の細胞(樹立したiPS細胞含む)に作用させて、細胞機能の変化が修復されるか否かを検討して、治療標的としての検討につなげることにした。

4. 研究成果

本研究の開始と研究代表者、研究分担者の異動が同時期になるといったことから、一部の研究事項の変更を行った。

まず、情報データベースの構築を行ない、これまでの検討で変異が同定され、大動脈原因遺伝子変異を有する症例について、研究分担者とともに遺伝子バリエーション情報、環境要因、治療薬についてのデータベースを構築した。

次に、遺伝子バリエーション同定に関する効率的解析手法の検討を行い、TGF シグナル伝達系の変化をもたらす遺伝子バリエーションの効率的な同定手法を確立した。すなわち、研究分担者と研究協力者とともに次世代シーケンサーによる解析手法と従来法(サンガー法)との比較検討を進め、低コストで解析できるシステムを確立し、精度を検証して、方法の代替にむけた検討を進めた。

また、マルファン症候群(MFS)・ロイスディーツ症候群(LDS)患者由来iPS細胞の樹立と分化誘導の検討を研究協力者とともにに行い、TGF- シグナル伝達系の変化を生じる遺伝子変異を有するマルファン症候群・ロイスディーツ症候群患者症例より疾患iPS細胞を樹立し、内皮

細胞、平滑筋細胞への分化系の検討を行った。なお、本研究期間中に再度、別の研究機関への異動となったため、iPS 細胞から分化した細胞の機能解析については研究期間内に成果を上げることができず、研究継続となった。

上記により確立したに次世代シーケンサーによる新しい解析手法にて、TGF-シグナルに関連する遺伝子を中心に病因の遺伝子変異、病態修飾遺伝子変異、さらに病態修飾因子の検討を効率的に進めることができ、国外研究者との連携により特異な所見を伴う病型分類につながる遺伝情報を明らかにした。また、日本人患者の特徴についても検討することができた。以上より、若年性大動脈疾患の遺伝学的検討手法の有効性の確立と有用性が確認され、診療につながる情報が集積され、診療に役立つ知見が得られたので、この研究結果は的確な診断と早期治療に資することが期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- 1) Ishiwata T, Tanabe N, Shigeta A, Yokota H, Tsushima K, Terada J, Sakao S, Morisaki H, Morisaki T, Tatsumi K: Moyamoya disease and artery tortuosity as rare phenotypes in a patient with an elastin mutation. *Am J Med Genet A* 170:1924-1927, 2016.
doi: 10.1002/ajmg.a.37662.
- 2) Jondeau G, Ropers J, Regalado E, Braverman A, Evangelista A, Teixido G, De Backer J, Muiño-Mosquera L, Naudion S, Zordan C, Morisaki T, Morisaki H, Von Kodolitsch Y, Dupuis-Girod S, Morris SA, Jeremy R, Odent S, Adès LC, Bakshi M, Holman K, LeMaire S, Milleron O, Langeois M, Spentchian M, Aubart M, Boileau C, Pyeritz R, Milewicz DM. International Registry of Patients Carrying TGFBR1 or TGFBR2 Mutations: Results of the Montalcino Aortic Consortium. *Circ Cardiovasc Genet.* 9:548-558, 2016
doi: 10.1161/CIRCGENETICS.116.001485.
- 3) Hirashiki A, Adachi S, Nakano Y, Kamimura Y, Ogo T, Nakanishi N, Morisaki T, Morisaki H, Shimizu A, Toba K, Murohara T, Kondo T: Left main coronary artery compression by a dilated main pulmonary artery and left coronary sinus of Valsalva aneurysm in a patient with heritable pulmonary arterial hypertension and FLNA mutation. *Pulm Circ* 7:734-740, 2017.
doi: 10.1177/2045893217716107.
- 4) Seike Y, Minatoya K, Sasaki H, Tanaka H, Itonaga T, Inoue Y, Morisaki H, Morisaki T, Ishibashi-Ueda H, Kobayashi J: Clinical outcomes of aortic repair in young adult patients with ACTA2 mutations. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 65:686-691, 2017.
doi: 10.1007/s11748-017-0810-0.
- 5) Fujiyoshi T, Minatoya K, Ikeda Y, Ishibashi-Ueda H, Morisaki T, Morisaki H, Ogino H: Impact of connective tissue disease on the surgical outcomes of aortic dissection in patients with cystic medial necrosis. *J Cardiothorac Surg.* 12:97, 2017.
doi: 10.1186/s13019-017-0663-8.
- 6) Regalado ES, Mellor-Crummey L, DeBacker J, Braverman A, Lesley A, Benedict S, Bradley T, Brickner E, Chatfield K, Feist C, Holmes K, Iannucci G, Lorenz B, Mark P, Morisaki T, Morisaki H, Morris S, Mitchell A, Ostergaard J, Philip S, Richer J, Sallee D, Shalhub S, Tekin M, Wilnai Y, Yetman A, Pyeritz R, Montalcino Aortic Consortium, Milewicz DM: Clinical history and management recommendations of the smooth muscle dysfunction syndrome due to ACTA2 arginine 179 alterations. *Gen Med* 20:1206-1215, 2018.
doi: 10.1038/gim.2017.245.
- 7) Schepers D, Tortora G, Morisaki H, MacCarrick G, Lindsay M, Liang D, Mehta SG, Hague J, Verhagen J, van de Laar I, Wessels M, Detisch Y, van Haelst M, Baas A, Lichtenbelt K, Braun K, van der Linde D, Roos-Hesselink J, McGillivray G, Meester J, Maystadt I, Coucke P, El-Khoury E, Parkash S, Diness B, Risom L, Scurr I, Hilhorst-Hofstee Y, Morisaki T, Richer J, Désir J, Kempers M, Rideout AL, Horne G, Bennett C, Rahikkala E, Vandeweyer G, Alaerts M, Verstraeten A, Dietz H, Van Laer L, Loeyls B: A mutation update on the LDS-associated genes TGFBR2/3 and SMAD2/3. *Hum Mutat.* 39:621-634, 2018.
doi: 10.1002/humu.23407.
- 8) Fujiki R, Ikeda M, Yoshida A, Akiko M, Yao Y, Nishimura M, Matsushita K, Ichikawa T, Tanaka T, Morisaki H, Morisaki T, Ohara O: Assessing the Accuracy of Variant Detection in

Cost-Effective Gene Panel Testing by Next-Generation Sequencing. J Mol Diagn. 20:572-582, 2018.
doi: 10.1016/j.jmoldx.2018.04.004.

9) Renard M, Francis C, Ghosh R, Scott AF, Witmer PD, Adès LC, Andelfinger GU, Arnaud P, Boileau C, Callewaert BL, Guo D, Hanna N, Lindsay ME, Morisaki H, Morisaki T, Pachter N, Robert L, Van Laer L, Dietz HC, Loeys BL, Milewicz DM, De Backer J: Clinical Validity of Genes for Heritable Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection. J Am Coll Cardiol. 72:605-615, 2018.
doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.089

10) Seike Y, Minatoya K, Matsuda H, Ishibashi-Ueda H, Morisaki H, Morisaki T, Kobayashi J: Histologic differences between the ascending and descending aortas in young adults with fibrillin-1 mutations. J Thorac Cardiovasc Surg. S0022-5223(19)30361-7, 2019.
doi: 10.1016/j.jtcvs.2019.01.126. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕(計4件)

1) Morisaki T, Yoshida A, Watanabe T, Ida K, Sasaki H, Oda T, Tanaka H, Minatoya K, Morisaki H: Familial Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections (FTAAD) with ACTA2 Mutation in Japanese. The 13th International Congress of Human Genetics, Apr3-7, 2016, Kyoto

2) Morisaki H, Watanabe T, Yoshida A, Ida K, Sasaki H, Minatoya K, Morisaki T: Genetic Aortopathy due to Gene Mutations Related and Not-related to TGF- β Signal Pathway in Japan American Society of Human Genetics (ASHG) 2016, Oct18-22, 2016, Vancouver, Canada

3) Morisaki H, Yamanaka I, Ohata T, Kosho T, Wakui K, Fukushima Y, Masuno M, Takahashi K, Watanabe Y, Watabe T, Morisaki T: TMEMPAI mutation in MFS/LDS-like patients in 2 Japanese families. 10th International Research Symposium on Marfan Syndrome and related disorders, 2018/5/4, Amsterdam, Nederland.

4) Morisaki H, Horiuchi M, Hibino M, Sakai Y, Seki R, Kosaki K, Morisaki T: Autosomal recessive cutis laxa syndrome with cardiovascular involvement. American Society of Human Genetics (ASHG2018) 2018/10/17 San Diego, U.S.A.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 森崎 裕子

ローマ字氏名: (MORISAKI, Hiroko)

所属研究機関名: 公益財団法人日本心臓血圧研究振興会(臨床研究施設・研究部門)

部局名: 臨床遺伝科医局

職名: 医長

研究者番号(8桁): 40311451

(2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。