

令和元年6月7日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16627

研究課題名(和文) 脳梗塞の個別化医療を目指した基盤研究

研究課題名(英文) Basic research for personalized medicine for cerebral infarction

研究代表者

宮脇 哲 (Miyawaki, Satoru)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70407914

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：日本人にとって重要な脳卒中関連遺伝子変異 RNF213 c.14576G>Aに関する統合的な研究を行った。RNF213 c.14576G>Aを有する頭蓋内主幹動脈狭窄の特徴を明らかにした。また頭蓋内主幹動脈狭窄における脳梗塞発症に関わる遺伝的要因を明らかにして、それがRNF213 c.14576G>Aの有無で異なることが明らかとなった。RNF213 c.14576G>Aに加えて頭蓋内主幹動脈狭窄発症に関わる遺伝的要因の探索を行い、候補となる遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭蓋内主幹動脈狭窄に限った臨床的・遺伝的背景の解析は世界的には少なく、学術的意義は高いと考えられる。RNF213 c.14576G>Aは日本人の2%が有する遺伝子変異である、その臨床的意義を明らかにした本研究は社会的意義が大きいと考える。

研究成果の概要(英文)： We conducted integrated research on stroke-related genetic variant RNF213 c.14576G> A, especially important for Japanese population. The characteristics of intracranial artery stenosis with RNF 213 c.14576 G> A has been revealed. In addition, we clarified the genetic factors involved in the onset of cerebral infarction in intracranial artery stenosis, and it became clear that they differ depending on the presence or absence of RNF213 c.14576G> A. In addition to RNF213 c.14576G> A, genetic factors related to the onset of intracranial major arterial stenosis has been identified through genome wide association study.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：脳梗塞 RNF213 頭蓋内動脈硬化 修飾因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで Ring finger protein 213 (RNF213) という遺伝子の変異 (c.14576G>A) が、脳梗塞の主たる原因である頭蓋内主幹動脈狭窄に非常に強い関連をもつことを明らかにしてきた (Miyawaki et al Stroke 2012, Stroke 2013, J Stroke Cerebrovasc Dis 2015)。RNF213 c.14576G>A は日本人の 2% に存在し、日本人に取って重要な脳卒中関連の遺伝的要因と言える。しかしながら RNF213 変異の関わる頭蓋内主幹動脈狭窄の特徴はいまだ不明な点が多い。また RNF213 c.14576G>A 変異は日本人の 2% に存在することから頭蓋内主幹動脈狭窄の発症には RNF213 c.14576G>A に加えて別な因子が存在する可能性がある。

2. 研究の目的

本研究においては RNF213 変異 (c.14576G>A) による脳梗塞の発症様式、臨床的特徴、遺伝的背景を明らかにすることを目指す。RNF213 c.14576G>A に加えて発症に関わる因子の同定を目指す。具体的な目標は以下の通りである。

(1) 我々の研究グループで構築した頭蓋内主幹動脈狭窄のコホートにおいて、RNF213 c.14576G>A を有するもの臨床的特徴を明らかにする

(2) 頭蓋内主幹動脈狭窄において、症候化に関わる遺伝的要因を明らかにする

(3) RNF213 c.14576G>A に加えて頭蓋内主幹動脈狭窄発症に関わる遺伝的要因のゲノムワイドな網羅的な探索

3. 研究の方法

(1) RNF213 を有する頭蓋内主幹動脈狭窄の臨床的特徴

我々の研究グループの頭蓋内主幹動脈狭窄 386 例を対象とした。末梢血液から DNA を抽出、sanger sequence で RNF213 変異について調べ、RNF213 変異陽性例と陰性例の 2 群間で患者背景を比較した。また保存的治療を選択した 250 例で、同側脳梗塞発症を endpoint として脳梗塞発症リスクについて解析を行った。

(2) 頭蓋内主幹動脈狭窄における症候化に関わる遺伝的要因

前方循環のアテローム硬化性と判断された頭蓋内主幹動脈狭窄 170 例、血液から DNA を抽出し、動脈硬化や脳卒中との関連が示唆されている 10 の一塩基多型 (MMP3、MMP9、MMP10、PRKCH、VEGF、PON1、MTHFR、APOE、CRP、ABCA1) について次世代シーケンサーで target resequencing を行った。狭窄血管支配領域の梗塞を症候性と定義し症候と無症候の 2 群にわけ患者背景、上記変異について関連解析を行い、また RNF213c.14576G>A の有無で層別化解析を行った。

(3) RNF213 c.14576G>A に加えて頭蓋内主幹動脈狭窄発症に関わる遺伝的要因

RNF213 c.14576G>A を有する頭蓋内主幹動脈狭窄 130 例と東京大学ゲノム医学センターの約 1000 例のコントロールのデータベースのうちの RNF213 c.14576G>A を有する 58 例の 2 群間で、whole exome sequence のデータを用いて全ゲノム領域の関連解析を行った。

4. 研究成果

(1) RNF213 を有する頭蓋内主幹動脈狭窄の臨床的特徴

頭蓋内主幹動脈狭窄 386 例中、RNF213 変異は 86 例 (22.2%) に認めた。RNF213 変異陽性例では陰性例と比較して若年 (59.4 ± 10.4 vs 65.1 ± 11.7 , $p < 0.01$)、女性が多く (60.4% vs 38.6% , $p < 0.01$)、糖尿病が少なく (12.7% vs 30.6% , $p < 0.01$)、脳卒中の家族歴を持つものが多かった (47.0% vs 22.8% , $p < 0.01$)。同側脳梗塞発症は平均 follow 期間 59 ヶ月で、19 例に認めたが、RNF213 変異の有無による差異はなかった。RNF213 変異陽性例では脳梗塞発症に関わるリスク因子は指摘できなかったが、RNF213 変異陰性例では発症形式、多病変狭窄例が脳梗塞発症に関わるリスク因子であった。RNF213 変異による ICAS の臨床像の違いが明らかになった。RNF213 変異の有無で脳梗塞発症に関するリスク因子が異なり RNF213 変異の有無で狭窄メカニズムが異なることが示唆された。

(2) 頭蓋内主幹動脈狭窄における症候化に関わる遺伝的要因

平均年齢 62 歳、症候性 94 例、RNF213 変異は 41 例 (22.8%) で認めた。症候性と有意な相関があった一塩基多型は Dominant model で PON1 (rs662, $p=0.03$)、APOE (rs429358, $p=0.04$)、Recessive model で MMP3 (rs520540, $p=0.009$) であった。RNF213 c.14576G>A 変異群で症候性と関連ありは Recessive model で PON1 (rs662, $p=0.04$)、MMP9 (rs2250889, $p=0.04$)、逆に変異のない群で症候性と関連ありは Recessive model で MMP3 (rs520540, $p=0.002$) であった。頭蓋内主幹動脈狭窄では RNF213 c.14576G>A の有無で症候化に関わるリスクアレルが異なることが明らかとなり、発症形式や変異の有無で狭窄メカニズムが異なることが示唆された。大規模コホートでのバリデーションが必要である。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

(3) RNF213 c.14576G>A に加えて頭蓋内主幹動脈狭窄発症に関わる遺伝的要因

関連解析の結果頭蓋内主幹動脈狭窄群で、いずれかのミスセンス変異を有する遺伝子を 300 同定し、またその中でも Start Loss、stop loss、stop gain などの有害のものにしばると 6 つに絞られた。さらに別コホートでの validation をおこなっている。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 17 件)

1. Shono N, Kin T, Nomura S, Miyawaki S, Saito T, Imai H, et al. Microsurgery Simulator of Cerebral Aneurysm Clipping with Interactive Cerebral Deformation Featuring a Virtual Arachnoid. Operative neurosurgery (Hagerstown, Md). 2018;14(5):579-89.
2. Miyawaki S, Shinya Y, Imai H, Hongo H, Ono H, Takenobu A, et al. Response to Letter to the Editor Regarding "Genetic Analysis of Ring Finger Protein 213 (RNF213) c.14576G>A in Intracranial Atherosclerosis of the Anterior and Posterior Circulations". J Stroke Cerebrovasc Dis. 2018;27(10):2894-5.
3. Lo BWY, Fukuda H, Miyawaki S, Koyanagi M. Short review of randomized controlled trials (RCTs) for Surgical Neurology International: Two important RCT articles for 2018 - Part I. Surg Neurol Int. 2018;9:138.
4. Miyawaki S. Referee Report For: The future of non-invasive cerebral oximetry in neurosurgical procedures:A systematic review [version 1; referees: 1 approved with reservations]. MNI Open Res 2018;2:3
5. 新谷祐貴、宮脇哲、中富浩文、斉藤延人。テント dural AVF (1) テント部 dAVF の開頭手術。Hybrid Neurosurgeon のための疾患別 臨床脳血管解剖テキスト。脳神経外科速報 2018 年増刊。メディカ出版 2018
6. 宮脇哲、斉藤延人。もやもや病。完全版 脳血管内治療学。メディカ出版 2018
7. 寺西 裕、宮脇哲、中富 浩文【脳腫瘍のゲノムとエピゲノム】 家族性腫瘍 神経線維腫症 2 型 Clinical Neuroscience 36(5) 590-592 2018 年 5 月
8. 岡野 淳、宮脇哲、中富 浩文【脳腫瘍のゲノムとエピゲノム】 髄膜およびその他の腫瘍 髄膜腫 Clinical Neuroscience 36(5) 568-571 2018 年 5 月
9. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。虚血性脳血管障害における Precision Medicine。脳神経外科ジャーナル 27 : 528-538 , 2018
10. Shinya Y, Miyawaki S, Imai H, Hongo H, Ono H, Takenobu A, et al. Genetic Analysis of Ring Finger Protein 213 (RNF213) c.14576G>A in Intracranial Atherosclerosis of the Anterior and Posterior Circulations. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2017;26(11):2638-44.
11. Hongo H, Miyawaki S, Imai H, Shinya Y, Ono H, Mori H, et al. Smaller outer diameter of atherosclerotic middle cerebral artery associated with RNF213 c.14576G>A Variant (rs112735431). Surg Neurol Int. 2017;8:104.
12. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。頭蓋内主幹動脈狭窄の遺伝子解析研究 もやもや病関連遺伝子 RNF213 の解析。脳循環代謝 28 巻 2 号 0915-9401, 2017
13. 宮脇哲、斉藤延人。くも膜下出血 病因と病態。日本臨牀 2017 年 7 月増刊号「動脈・静脈の疾患(下)」 2017
14. 宮脇哲。海綿状血管種の自然歴。クリニカルニューロサイエンス 10 月号中外医学社 2017
15. 宮脇哲、斉藤延人。脳血管障害における遺伝医学研究の進歩と現状。(戸田達史編集)最新精神・神経遺伝学研究与遺伝カウンセリング、大阪;メディカルドゥ。112-117、2017
16. 宮脇哲、斉藤延人。V. 脳血管障害の危険因子 遺伝子多型。(鈴木則宏、峰松一夫、寶金清博、水間正澄編集)日本医師会雑誌 146 巻・特別号(1) 脳血管障害のエッセンス、東京;日本医師会。S110-S112、2017
17. 中富浩文、宮脇哲 総論 脳動静脈奇形(AVM)の概念、病理、疫学、歴史 新 NS NOW 10 脳動静脈奇形治療のこれまでとこれから メディカルレビュー社 2017

[学会発表](計 14 件)

1. 宮脇哲 1, 今井英明 1, 清水暢裕 2, 八木伸一 2, 本郷 博貴 1, 新谷祐貴 3, 岡野淳 1, 寺西裕 1, 小野秀明 3, 寺岡暉 4, 中富浩文 1, 清水庸夫 2, 斉藤延人 1 1 東京大学 医学部 脳神経外科 2 関東脳神経外科病院 3 富士脳障害研究所附属病院 4 寺岡記念病院 頭蓋内狭窄病変の遺伝的要因と病態 - RNF213 変異を中心とした頭蓋内狭窄の解析 - 第 43 回日本脳卒中学会 福岡 2018.3.16
2. Satoru Miyawaki, Hideaki Imai, Nobuhito Saito. Genetic analysis of RNF213 c.14575G>A variant in Moyamoya disease and related diseases. 9th European - Japanese Cerebrovascular Congress. Milan, 2018.6.8
3. 宮脇哲 1, 今井英明 1, 早坂孝宏 2, 正木紀隆 3, 小野秀明 1, 越智崇 1, 中富浩文 1, 瀬藤光利 3, 斉藤延人 1 1 東京大学 医学部 脳神経外科 2 北海道大学 大学院保健科学研究

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

院 健康イノベーションセンター 3 浜松医科大学 医学部 解剖学講座細胞生物学分野
質量顕微鏡法を用いた虚血性神経細胞死の解析 第 42 回日本卒中学会 2017 年

4. Satoru Miyawaki, Hideaki Imai, Takahiro Hayasaka, Noritaka Masaki, Hideaki Ono, Takashi Ochi, Hirofumi Nakatomi, Mitsutoshi Setou, Nobuhito Saito. Dynamic changes of phosphatidylcholine in rat hippocampal CA1 after transient global ischemia detected by imaging mass spectrometry. XXVIIIth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function & XIIIth International Conference on Quantification of Brain Function with PET Berlin, 2017.4.3
5. 宮脇哲。頭蓋内主幹動脈狭窄の遺伝子解析 第 13 回 福岡脳神経血管内治療シナプス 福岡 2017.4.14
6. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。虚血性脳血管障害における Precision medicine 第 37 回日本脳神経外科コンgres総会 横浜 2017.5.14
7. 宮脇哲。Current trends and issues of moyamoya disease 第 11 回 Niche Neuro-Angiology Conference 大阪 2017.6.17
8. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。もやもや病感受性遺伝子 RNF213 の解析 (シンポジウム) 第 49 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 広島 2017.7.6
9. Satoru Miyawaki, Hideaki Imai, Takahiro Hayasaka, Noritaka Masaki, Hideaki Ono, Takashi Ochi, Hirofumi Nakatomi, Mitsutoshi Setou, Nobuhito Saito. Spatio-temporal changes of phosphatidylcholine in rat hippocampal CA1 after transient global ischemia detected by imaging mass spectrometry. 第 40 回日本神経科学大会 横浜 2017.7.11
10. Satoru Miyawaki, Hideaki Imai, Nobuhito Saito. Genetic analysis of Moyamoya disease and Intracranial stenosis. 2017 Pudong Cerebral Vascular Disease Conference Shanghai, 2017.8.15
11. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。Current trends and issues of genetic analysis of moyamoya disease. 第 76 回日本脳神経外科学会学術総会 名古屋 2017.10.12
12. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。もやもや病の遺伝子解析研究の現況と今後の展望 (シンポジウム) 第 60 回日本脳循環代謝学会学術集会 2017.11.4
13. 宮脇哲、今井英明、斉藤延人。頭蓋内主幹動脈狭窄疾患における RNF213 の解析 日本人類遺伝学会 第 62 回大会 2017.11.16

〔図書〕(計 4 件)

1. 宮脇哲、斉藤延人。完全版 脳血管内治療学 メディカ出版 512 p512 2018
2. Miyawaki S, Imai H, Saito N. Moyamoya Disease Explored Through RNF213 Springer p 185,2017
3. 宮脇哲。クリニカルニューロサイエンス 中外医学社 p 1144-1264 2017
4. 宮脇哲、斉藤延人。脳血管障害のエッセンス 日本医師会 S110-S112、2017

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(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。