

平成 21 年 4 月 10 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19791012

研究課題名 (和文) 脳動脈瘤連鎖領域 14q22 からの感受性遺伝子同定

研究課題名 (英文) Susceptible gene for intracranial aneurysm on 14q22

研究代表者

米山 琢 (YONEYAMA TAKU)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：90318105

研究成果の概要：ゲノム全域での罹患同胞対連鎖解析法にて同定された脳動脈瘤遺伝子座 14q22 領域における serine protease inhibitor family を中心に候補遺伝子 10 個に関して、SNP を利用した患者対照関連解析を施行した。その結果、6 か所の SNP で有意差が認められた。これにより、候補遺伝子 3 個 (CBG、KST、PCI) の脳動脈瘤感受性遺伝子の可能性を示すことができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,400,000	0	2,400,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	270,000	3,570,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳血管障害学、遺伝解析、脳動脈瘤、染色体 14 番、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

生活習慣病などの多因子疾患の遺伝素因を解明する研究は、国内外を問わず最近の医学領域における最大関心事のひとつと言える。脳卒中研究ももちろん例外ではなく、欧米を中心に盛んに研究が進められている。

脳動脈瘤の原因遺伝子に関する研究は、必要性が指摘されつつも、これまで包括的解析は行なわれてはいなかった。方法論的には、他の生活習慣病と同様、罹患同胞対を多数集める方法や家系内で患者を集めて遺伝解析をおこなう方法が可能だが、くも膜

下出血は死亡率が高く、血液サンプルの収集がきわめて難しいため遺伝解析が困難であることが原因としてあげられる。2001年に我々が世界に先駆けてゲノム全域での罹患同胞対連鎖解析法を用いて染色体5番、7番、14番に疾患との連鎖領域を報告してから、世界各国から罹患同胞対や大家系を利用した解析結果が報告されるようになった。国内では29家系の解析で、染色体第17番、19番、X染色体への連鎖が報告されており、国外では染色体第1、2、5、7、11、14、19番に連鎖の報告がみられる。我々はさらに連鎖領域からの遺伝子絞り込みに着手しており、SNP(一塩基多型)を利用した遺伝子関連解析および遺伝子機能解析により第7番染色体より elastin 遺伝子(ELN)、collagen type I alpha 2 遺伝子(COL1A2)が感受性遺伝子である可能性を示した。現在までに世界で30個近い遺伝子が関連解析で調べられているが、連鎖領域からの機能解析を含めた報告は数少ない。脳動脈瘤は common disease であり、多因子疾患であるため、関連遺伝子は複数の可能性が高い。

くも膜下出血の原因となる脳動脈瘤は、遺伝的背景の強い疾患であることが最近の疫学調査で明らかになっている。我々はゲノム全域での罹患同胞対連鎖解析法を用いて脳動脈瘤遺伝子座同定を完了した。死亡率の高い疾患のため家系収集はきわめて困難と予想されたが、日本全国の主要病院に依頼し116家系を集めることができた。ゲノム全域での連鎖解析は終了し、5番、7番、14番染色体で有意な連鎖を認めた。染色体14番では14q22領域に最大Lod 2.31の連鎖を得ている。(Onda H, Kasuya H, Yoneyama T, et al; 2001) すなわちこの領域にも疾患に関連する遺伝子が存在すると

考えられる。同領域近傍に存在する遺伝子についてはAATおよびSERPINA3についての報告があるのみであるが、その他、多数の serine protease inhibitor family gene が同領域には存在する。脳動脈瘤形成の仮説に protease-antiprotease imbalance というものがあり、protease inhibitor は脳動脈瘤形成の有力な候補遺伝子となりうるため、疾患感受性遺伝子が存在する可能性は高いと考えられる。

現在、ヒトゲノム計画の終了や国際 Hap Map project の進行により、14番染色体の候補領域から Tag SNP を WEB(<http://www.hapmap.org/index.html>) より獲得する事が可能であり、14q22 近傍の候補遺伝子を効率よくスクリーニングする事ができる。さらに塩基配列などの遺伝情報を利用して候補遺伝子の詳細な解析により、脳動脈瘤に関連する遺伝子同定が可能となる。本研究ではゲノム情報を最大限に活かせるので14q22領域近傍に絞り、脳動脈瘤感受性遺伝子同定を試みる。

2. 研究の目的

今回の研究は(1)14q22領域からの脳動脈瘤感受性遺伝子同定、(2)これを基に遺伝的リスクを有する人を同定し、出血前に診断する二次予防の体制確立を目的とする。本研究では、我々が行った連鎖解析の情報と、ヒトゲノム計画で明らかにされた塩基配列の情報および国際 Hap Map project の情報を最大限利用し、脳動脈瘤の感受性遺伝子の同定をおこなう。特に14番染色体に絞り感受性遺伝子同定を試みる。その結果に従い、成因解明を目指し発症前遺伝子診断の基礎を築く。

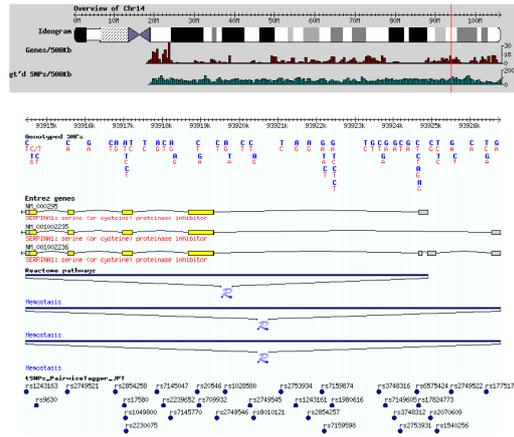
3. 研究の方法

遺伝子解析に必要な患者 DNA サンプルはすでに患者、対照共に 400 例をこえる数を収集できているが、DNA サンプルについては臨床データとともにさらに継続して収集中である。東京女子医大総合研究所に遺伝子解析に必要な機器類は装備されている。

Genes_seq	Symbol	Q	Links	E	Cyto
	OSGEP	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q11.2
	TRAJ59	+	HGNC sv dl ev mm	best RefSeq	14q11
	TRAJ1	+	HGNC sv pr dl ev mm	best RefSeq	14q11
	OXA1L	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q11.2
	C14orf121	+	HGNC sv pr dl ev mm hm sts	best RefSeq	14q11.2-q12
	FBXO33	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q21.1
	LOC653695	+	sv pr dl ev mm hm	protein	14q23.1
	PPIAP6	+	HGNC sv dl ev mm	best RefSeq	14q24.1
	ESRRB	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q24.3
	CYCSP1	+	HGNC sv dl ev mm	best RefSeq	14q24.3
	RPS24P3	+	HGNC sv dl ev mm	best RefSeq	14q31.1
	FBLN5	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q32.1
	SERPINA1	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q32.1
	FLJ45244	+	sv pr dl ev mm sts CCDS	best RefSeq	14q32.13
	TNEAIP2	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q32
	ZFYVE21	+	HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q32.33
	CRP1	+	OMIM HGNC sv pr dl ev mm hm sts CCDS	best RefSeq	14q32.33
	IGHDS-1.2	+	HGNC sv dl ev mm	best RefSeq	14q32.33
	IGHV2-5	+	HGNC sv pr dl ev mm	best RefSeq	14q32.33
	IGHV4-6.1	+	HGNC sv pr dl ev mm	best RefSeq	14q32.33

< 図 1 >

Tag SNP 解析による候補遺伝子の絞り込み：14 番染色体のゲノム配列は <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> から得た。脳動脈瘤罹患同胞対をもちいたゲノム全域からの連鎖解析でみだされた 14q22 領域の遺伝子を一部図に示す(図 1)。この領域のマップが公開されていることもあり、14q22 領域 25Mb にわたり、serine protease inhibitor family を中心に候補遺伝子 10 個選出。それらの遺伝子上および近傍に認められる SNP を約 200 個同定した。SNP は WEB 上に登録されているものより選出し、まずサンプル 12 人を利用して日本人集団において多型の有無を確認。SNP の同定には PCR 法を利用して、ABI シーケンサーを用いてダイレクトシーケンシング法にて行う。多型が確認された SNP の中より、関連解析に利用する SNP を Tag SNP (図 2) を中心にさらに選出。



果、CBG 上二か所(rs2273399, rs2281518)、KST 上一か所(rs1998243)、PCI 上三か所(rs1983657, rs2747116, rs7069)の SNP で患者対照関連解析により有意差 ($P < 0.05$ が 4 か所、 $P < 0.01$ が 2 か所) が認められた。

今後は、さらにこれらの遺伝子に対してサンプルを追加して、連鎖不平衡解析、ハプロタイプ解析を施行して、遺伝統計学的に差を認めた遺伝子変異をもつものを受感性遺伝子として同定したい。また遺伝子産物の機能や遺伝子変異の影響を解析し、疾患発症のメカニズムを探りたい。

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 2 件)

恩田英明, 米山琢, 赤川浩之, 糟谷英俊. 「脳動脈瘤の遺伝解析」, BRAIN and NERVE, 60巻11号, 1245-1260, 2008, 査読無

米山琢, 赤川浩之, 恩田英明, 糟谷英俊. 「脳動脈瘤と遺伝子」, 東京女子医科大学雑誌, 77(5), 219-232, 2007, 査読無

[学会発表](計 3 件)

米山琢, 林基弘, 岡田芳和, 川島明次, 山口浩司, 川俣貴一, 堀智勝. 「内頸動脈 C2-3 脳動脈瘤に対する Contrast-enhanced 3-D CISS MR Image の有効性について」, 第 67 回日本脳神経外科学会、2008.10.1, 盛岡

赤川浩之, 竹原弥生, 米山琢, 恩田英明, 糟谷英俊, 堀智勝. 「家族性脳動脈瘤患者における TNFRSF13B 遺伝子の変異解析」, 第 9 回日本分子脳神経外科学会, 2008.8.31, 京都

赤川浩之, 成田暁, 田嶋敦, 米山琢, Boris Krische, 恩田英明, 糟谷英俊, 堀智勝, 井ノ上逸朗. 「Lysyl oxidase-like (LOXL) family 遺伝子群と脳動脈瘤の SNPs 関連解析」, 第 66 回日本脳神経外科学会総会, 2007.10.4, 東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

米山 琢 (YONEYAMA TAKU)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：19791012

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし