

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09254

研究課題名（和文）網羅的遺伝子解析による大動脈疾患へのプレシジョンメディシンの創出

研究課題名（英文）Creation of precision medicine for aortic disease by comprehensive gene analysis

研究代表者

岡田 隆之 (OKADA, Takayuki)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60421278

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000 円

研究成果の概要（和文）：マルファン症候群及び類縁疾患患者の候補遺伝子パネルシーケンス検査を行い、病的(pathogenic)と判断できる遺伝バリエント以外に、病的意義を確定できない変異 (Variants of Unknown Significance, VUS) が散見された。VUSバリエントに関しては独自の発現機能解析を実施して発表した。特に変異未検出例やFBN2変異を伴うMS類縁疾患、また眼・神経限局型の存在が確認されFBN1のバリエントを検出し得た。FBN1を中心とする細胞外マトリクスのシグナル制御機序には未知な機構が残されており、ゲノム・オミックス情報を駆使したさらなる解明が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自験例のMS症候群及び類縁疾患遺伝子パネルシーケンス検査を利用し、25%にFBN1遺伝子バリエントを同定し得た。心臓大動脈疾患が顕性遺伝の家族集積を示す場合はもちろん、たとえ家族歴や教科書的な特徴的身体所見がなくても、若年発症例(50歳未満発症)であればFBN1遺伝子を中心にした心大動脈形態を支持する弾性線維構造やシグナル異常が関与する可能性が示唆された。心大動脈疾患のVUSバリエントの病原性を再検討すると同時に、包括的なゲノム・オミックス情報の蓄積がプレシジョンメディシンの発展に重要な役割を果たすと考える。

研究成果の概要（英文）：The FBN1 gene is highly polymorphic, leading to many variants of uncertain significance (VUS). Our study on patients with aortic diseases linked to FBN1 mutations revealed that many lacked typical characteristics like tall stature and skeletal deformities, indicating possible ethnic differences. Through our expression and functional analyses, we found instances with no mutations, Marfan-related disorders with FBN2 mutations, and ocular and neurological cases with FBN1 variants, highlighting the diverse manifestations of these mutations. Aortic diseases are often fatal and a leading cause of sudden death. Their onset mechanisms and timing are largely unknown, complicating emergency interventions. Genetic predispositions have been suggested, and our findings on FBN1 variants show that advancing VUS analysis can improve understanding of environmental interactions, aiding in the development of preventive and precision medicine.

研究分野：Cardiovascular disease

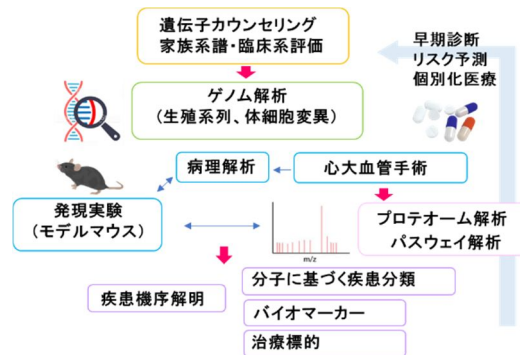
キーワード：Genome Omics Genetic Variant Precision Medicine Cardiovascular Diseases Biomarker

※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、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

大動脈疾患患者の遺伝子発現状況により家族性疾患や遺伝様式が知られている。本研究では血管外科治療を要する患者を人工血管置換手術とステントグラフト手術の2群に分けて、各症例の遺伝子発現状況に合わせた病態の把握や、今後の病勢とその進行を予防することを目的としている。約800種類の遺伝子発現を定量的に検出できる nCounter Analysis System を用いて網羅的に遺伝子発現傾向を捉える事で、疾患発現に関連した遺伝子群の組合せを同定し、有効なバイオマーカーの新規同定が期待される。病勢の把握から有害イベントを回避するような治療方法を選択しトランスレーショナル研究である（右図）。



2. 研究の目的

本研究課題では、大動脈瘤および大動脈解離症例における網羅的遺伝子発現解析を実施して、手術を要する患者の特異的な遺伝子変異を新規同定する事を目的とする。破裂性大動脈瘤や急性大動脈解離は致命的な病態となり突然死の病因と知られている。その発症機序やタイミングに関して不明な点が多く、いまだに緊急手術症例では救命困難なことが多い。一方これらの疾患は遺伝的素因の関与が唆されてきたが、最近では環境との相互作用が疾患発症の理解に必要とされている。本研究は外科治療を要する患者の特異的な遺伝子発現状況に基づいて、ゲノム DNA から発現したトランスクリプトームやインタラクトノームといったデータにシーケンス分析と変異スキニングを実施する。また、血管病理組織からの mRNA 解析をあわせることで多様性を紐解き、従来では予測不能であった大動脈疾患の病勢の把握と将来のプレジジョン・メディシンの創出につなげる。

3. 研究の方法

低侵襲治療による恩恵は心臓血管外科領域でも得られており、特にステントグラフト治療による治療効果は著しいものがある。当施設では大動脈ステントグラフト治療を施行している。慢性期解離性大動脈瘤、胸部大動脈瘤、腹部大動脈瘤は各々年間10例、20例、40例程度の症例数があり、標準治療として増加傾向にある。本研究では血管外科治療を要する患者を人工血管置換手術（Open repair）とステントグラフト手術（Endovascular）の2群に分けて、各症例の遺伝子発現状況に合わせた病態の把握や、今後の病勢とその進行を予防することを目的としている。致命的な転帰を辿ることが多い疾患であるため、シーケンス分析による後天的な遺伝子変異をも網羅的に解析することで、中長期的な有害イベントを回避して既存の治療方法の効率向上に寄与して、患者のQOL向上や医療費削減に寄与する可能性がある。

一方、血管病理組織のタンパク・mRNA発現と遺伝的変異との相関は知見が乏しく、臨床使用されているバイオマーカーは未だ存在していない。本研究は約800種類の遺伝子発現を定量的に検出できる nCounter Analysis System を用いて網羅的に遺伝子発現傾向を捉える事で、疾患発現に関連した遺伝子群の組合せを同定し、有効なバイオマーカーの新規同定が期待される。同時に人工血管置換術を要した症例へは、免疫組織学的染色でのタンパク発現を合わせて評価することで、有効なバイオマーカー同定の精査が可能である。また、申請者の所属施設は附属病院内で運営するハートセンターと施設共同研究を推進しており、本研究結果を基盤とした関連多施設共同の臨床展開も期待できる。

全対象に対して通常の診療検査で採血する際に、DNA抽出用として静脈血採血（約5ml）を増量して行い DNA 解析に使用する。解析対象の遺伝子は、心血管疾患に関連する約400遺伝子とし、関西医科大学総合研究施設にて解析を行う。次世代シーケンサーIon-PGMを用いたターゲットシーケンス結果をデータベースを基にした遺伝子変異および遺伝子多型を同定する。原因遺伝子が不明であり、かつ家族性発症が濃厚な場合、次世代シーケンスを用いた全エクソーム解析を行い、原因遺伝子の探索を行う。多様性に富む遺伝子変異の有無・タイプにより心機能、不整脈の発生、あるいは心血管イベントの発生にどのような影響があるかを調査する。

遺伝子発現を次世代シーケンサーIon-PGMを用いて網羅的に解析し、各々に特徴的な遺伝子発現を同定する。特に動脈瘤の分類として、解離性・非解離性や嚢状瘤・紡錘状瘤の血管病理や形態的差異から遺伝子発現の相違点を明らかにしたい。解析ソフトを用いて遺伝子発現傾向を評価してバイオマーカー群を同定する。

4. 研究成果

「網羅的遺伝子解析による大動脈疾患へのプレジジョン・メディシンの創出」をテーマとして情報・検体収集、疾患遺伝子解析研究を展開した。自験17例のMS症候群・類縁疾患患者の遺伝パネルシーケンス検査(かずさDNA研究所における保険診療受託検査、右表)を利用し、25%にFBN1遺伝子変異を同定し得た。

かずさ遺伝子検査室で実施できる遺伝子検査

2022年4月現在

保険収載疾患名	検査コード	報告対象	報告書外解析対象
エラスダンロス症候群(血管型)	EDS_VAS_v3	COL3A1	ACTA2, EFEMP2, FBN1, FBN2, FLNA, MYH11, MYLK, SLC2A10, SMAD3, TGFBR2, TGFBR3, TGFBR1, TGFBR2, SMAD2
マルファン症候群	MFS_MFS_v4	FBN1, TGFBR1, TGFBR2	ACTA2, COL3A1, EFEMP2, FBN2, FLNA, MYH11, MYLK, SLC2A10, SMAD3, TGFBR2, TGFBR3, SMAD2
ロイスディーツ症候群	LDS_LDS_v3	TGFBR1, TGFBR2, SMAD3, TGFBR2, TGFBR3, SMAD2	ACTA2, COL3A1, EFEMP2, FBN1, FBN2, FLNA, MYH11, MYLK, SLC2A10
家族性大動脈瘤・解離	FTA_FTA_v4	ACTA2, MYH11, MYLK, TGFBR1, TGFBR2	SLC2A10, COL3A1, EFEMP2, FBN1, FBN2, FLNA, SMAD3, TGFBR2, TGFBR3, SMAD2

いずれも保険点数8,000点

心臓大動脈疾患が顕性遺伝の家族集積を示す場合はもちろん、たとえ家族歴や教科書的な特徴的身体所見(高身長、眼症状、くも指等)がなくても、若年発症例(50歳未満発症)であれば、FBN1遺伝子を中心にした心大血管形態を支持する弾性線維構造やシグナル異常の関与しうる可能性が明らかになってきた(図;症例1)。

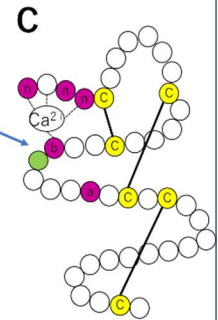
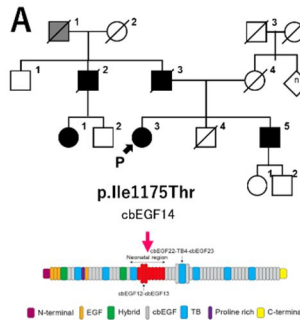
(図;症例1) マルファン症候群様の大動脈拡張でFBN1バリエントが検出された例

A 家系図 顕性の家族集積を認める

B 術前の造影CT 動脈弁輪部拡大を認める

C FBN2遺伝子の構造、Ca-binding EGF-like repeatと呼ばれる繰り返し構造で構成される。

疾患バリエントの構造的影響 EGF-like repeatの構造を支えるシステイン残基間のジスルフィド結合を阻害する部位に好発する。



そのなかで興味深い結果としては、

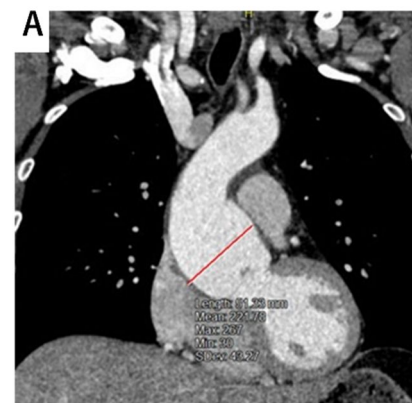
- ①診断未確定例：古典的または若年MSであっても75%は、心大血管シーケンスパネル検査(保険診療D-0006-4)では診断が未確定であった。
- ②FBN2変異を伴うMS類縁疾患：従来動脈瘤形成の報告のないfibrillin-2(FBN2)のVUSバリエントが同定された(図;症例2)。p.Phe598Cysの位置と変異の影響でCa結合EGF様モチーフを構成するS-S結合に影響して、蛋白機能を障害すると予測される。
- ③眼・神経限局型の存在：心大動脈病変はなく、眼症(水晶体脱臼、網膜剥離)、骨格異常と発達障害を主徴とする患者にFBN1のバリエントを検出し得た。

(図;症例2) マルファン症候群様の大動脈拡張でFBN2バリエントが検出された例

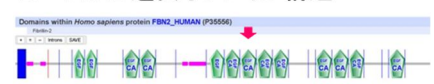
A 術前の造影CT 大動脈基部・弁輪拡大を認める

B, 疾患パネル検査で検出したFBN2遺伝子の構造、Ca-binding EGF-like repeatと呼ばれる繰り返し構造で構成される

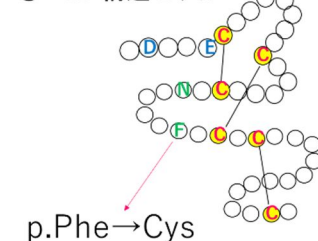
C 疾患バリエントの構造的影響 EGF-like repeatの構造を支えるシステイン残基間のジスルフィド結合を阻害する部位に好発する。



B FBN2遺伝子ドメイン構造



C 3D構造モデル



FBN1遺伝子は多型に富む遺伝子で、VUSとして病原性判定が保留になっている症例も多い。自験例でFBN1変異が検出された心大血管疾患例では、高身長、骨格変化を欠くことも多く、変異の生物学的効果には民族差も予想される。FBN1変異が眼症、神経発達が主徴の例も経験し、我が国の心大血管疾患患者の個別化医療を進める上で、今後のVUS解析が重要な役割を担うと考える。本研究結果をもとに、自験施設内にマルファンユニットを設立して、臨床遺伝センターと多診療科横断で症例の集約化・解析を進めている。さらにFBN1を中心とする細胞外マトリクスのシグナル制御機構には、ゲノム・オミックス情報を駆使した解明が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okada Takayuki, Minato Naoki, Zempo Nobuya, Kanemoto Shinya, Hosono Mitsuharu, Kuwauchi Shintaro, Uetsuki Tomohiko, Kawaura Takayuki, Kitawaki Tomoki	4. 巻 117
2. 論文標題 Midterm Performance of the Autologous Adventitial Overlay Method in Aortic Surgery	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Annals of Thoracic Surgery	6. 最初と最後の頁 345～352
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.athoracsur.2022.09.030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 —

1. 著者名 岡田 隆之・塚口 裕康・佐藤 智佳・ 島田 咲・春山 瑳依子・小山 忠明	4. 巻 49
2. 論文標題 心大動脈疾患の新たな展望：ゲノム解析とその臨床的意義	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 48-51
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

1. 著者名 岡田 隆之・塚口 裕康・佐藤 智佳・ 島田 咲・春山 瑳依子・小山 忠明	4. 巻 50
2. 論文標題 心大動脈疾患の新たな展望：ゲノム解析とその臨床的意義	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 48-51
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 —

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田 隆之、塚口 裕康、佐藤 智佳、島田 咲、春山 瑳依子、小山忠明	
2. 発表標題 大動脈疾患への網羅的遺伝子解析	
3. 学会等名 第1回大動脈研究会	
4. 発表年 2023年	

1. 発表者名 岡田隆之、植月友彦、松田靖弘、平間大介、坂下英樹、善甫宣哉、小山忠明
2. 発表標題 Overlay法による断端形成；遠隔成績と吻合部形態からみた従来法との比較
3. 学会等名 第52回日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

—

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------