

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09499

研究課題名(和文) 脳動脈瘤発生における血管壁を場とした炎症性カスケードの意義

研究課題名(英文) Significance of the inflammatory cascade within vascular wall of the cerebral aneurysms formation

研究代表者

中富 浩文 (Nakatomi, Hirofumi)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：10420209

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)：日本人の5%が罹患する未破裂脳動脈瘤の発生過程と破裂しくも膜下出血へ至る病理病態は、未解決課題である。外科手術時に摘出された脳動脈瘤のゲノム解析により同定した405の体細胞変異中の特に脳動脈瘤形成に影響を及ぼすと思われる4遺伝子群について機能解析を行い、人脳血管不死化細胞株・新規脳動脈瘤マウスモデルを用いて低分子医薬、抗体医薬等の新規治療薬開発研究を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳動脈瘤に特異的に見られる癌関連遺伝子の変異を405遺伝子同定しており、こうした癌関連遺伝子の中にはすでに固形癌で発生原因として同定され、分子標的薬・低分子化合物が開発中のものが存在する。これらの分子標的薬・低分子化合物が、脳動脈瘤の発生、増大、破裂予防に対しても治療効果を持つことが、細胞実験、マウス動物モデル実験で実証されれば、大型哺乳動物での検証を経て、臨床試験、創薬実用化へと進めていける可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：The pathogenesis of unruptured cerebral aneurysms, which affect 5% of the Japanese population, and the pathology leading to rupture and subarachnoid hemorrhage remain unresolved issues. We will conduct functional analysis of four genes among 405 somatic mutations identified by genome analysis of surgically removed cerebral aneurysms, which are thought to be particularly influential in the formation of cerebral aneurysms, and develop new therapeutic agents such as small molecule drugs and antibody drugs using human cerebrovascular immortalized cell lines and new mouse models of cerebral aneurysms.

研究分野：脳血管障害

キーワード：脳動脈瘤 体細胞変異 分子標的薬

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本人の 5%が罹患する未破裂脳動脈瘤の発生過程と破裂しくも膜下出血へ至る病理病態は、未解決課題である。脳動脈瘤発生に特異的な体細胞変異遺伝子の報告は、2019 年 5 月に初めて PDGFR が報告のみである。(Am Journal of Human Genetics,2019)。脳動脈瘤の中でも、巨大・大型血栓化紡錘状脳底動脈瘤の自然暦(特別な治療をしなければどうなるか)は極めて予後不良で、一度症候性となった場合は、破裂、脳幹梗塞、脳幹機能不全にて、平均 5.5 年で 91%が死亡、残る 9%も重度の後遺症を患うことが知られている。外科的治療として確立したものはないが適切な外科的処置を併用しても治療アウトカムは、良好(日常生活が自立)の割合は 65-73%、予後不良は 3-15%、死亡は 20-24%とされ、依然治療が非常に困難な状況である。脳動脈瘤に特異的に見られた癌関連遺伝子 PDGFR の変異は、すでに固形癌で発生原因として同定され、分子標的薬・低分子化合物が開発中のものが存在する。そこで、こうした癌ゲノム医療において治療効果があることが期待される分子標的薬・低分子化合物が、脳動脈瘤の発生、増大、破裂予防に対しても治療効果を持つことが、細胞実験、マウス動物モデル実験で実証されれば、大型哺乳動物での検証を経て、臨床試験、創薬実用化へと進めていける可能性が高い。本研究成果が実用化されれば、これまでは手術または血管内カテーテル治療という二つの治療選択枝しかない現状に、第 3 の選択肢:薬物療法の可能性を開くものであり、本研究の社会的意義は非常に大きい。

### 2. 研究の目的

外科手術時に摘出された脳動脈瘤のゲノム解析により体細胞変異を同定し、特に脳動脈瘤形成に影響を及ぼすと思われる遺伝子群について機能解析を行い、人脳血管不死化細胞株・新規脳動脈瘤マウスモデルを用いて低分子医薬、抗体医薬等の新規治療薬開発研究を行う。

### 3. 研究の方法

次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析により、新規体細胞変異遺伝子を同定する。これらの遺伝子群同士の関係性を Ingenuity Pathway Analysis(IPA)を用いて解析し、動脈瘤形成に相互関係するシグナルカスケードを形成する遺伝子をスクリーニングする。

新規遺伝子でかつ 2 症例以上で変異が検出された遺伝子変異が、紡錘状動脈瘤ならびに嚢状動脈瘤の両タイプで変異が検出されたユニークな遺伝子群であるかどうかを検討する。

こうした体細胞変異遺伝子の多くが、ガン関連遺伝子であったのだが、どの細胞に変異が入ったかをレーザーマイクロダイセクションの手法にて同定する。変異陽性動脈瘤のどの細胞に、遺伝子変異が入ることによってどのようなシグナルカスケードが活性化を受けるのか、それらの遺伝子変異に対して分子標的薬またはシグナルカスケード阻害剤が開発中であるかを検討し、遺伝子変異導入細胞株での効果・効能を検討する。

また、最終的には遺伝子変異導入マウス脳動脈瘤発生モデルにおいて、実際に動脈瘤様変化が起こるかどうかを確認し、さらに分子標的薬またはシグナルカスケード阻害剤でその動脈瘤化が抑制できるかを検証する。

#### 4 . 研究成果

脳動脈瘤の遺伝子解析研究を行なった。ヒト臨床検体サンプル 93 症例(脳動脈瘤検体および血液検体)の DNA に対して、Whole exome sequencing および Target deep sequencing を行うため、ライブラリーを作製し、同ライブラリーを HiSeq2500 を用いて塩基配列解析を実施した。塩基配列解析データはスーパーコンピュータの SHIROKANE により変異遺伝子の解析を行った。脳動脈瘤検体、血液検体の解析から、脳動脈瘤検体に特徴的な 400 種類以上の体細胞遺伝子変異を見出している。この変異は、動脈瘤血管組織を構成する内膜中膜外膜の各膜における局在性に差異が認められた。現在、この局在変化が、動脈瘤形成と関連性があるか確認するため、動脈瘤検体の免疫組織学的解析ならびに発現解析を進めている。

さらに、アデノ随伴ウイルスを用いて変異型遺伝子導入を実施し、脳動脈瘤形成モデルを作成した。さらに種々の低分子医薬を投与し動脈瘤形成における感受性を検討した。連続投与期間中に体重減の認められた個体は人道的エンドポイントの適用があった。変異型遺伝子導入により、動脈の拡張が見られるか再現性の検証を行っている。また、阻害剤の投与により、動脈拡張抑制効果が観られるか再現性の検討を行っている。

実験系の再現性の検証を慎重に行っている。

上記研究成果に基づき、以下の特許出願申請を行った。

PCT 出願番号 PCT/JP2021/048561

出願日 2021/12/27

発明の名称 動脈瘤の治療及び / 又は予防のための医薬組成物、動脈瘤の診断補助方法、並びに動脈瘤治療薬の評価方法

(英語 : Pharmaceutical composition for treating and/or preventing aneurysm, method for assisting diagnosis of aneurysm and method for evaluating aneurysm therapeutic agents)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 動脈瘤の治療及び / 又は予防のための医薬組成物、動脈瘤の診断補助方法、並びに動脈瘤治療薬の評価方法	発明者 理化学研究所	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/048561	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	和田 洋一郎  (Wada Youichiro)  (10322033)	東京大学・アイソトープ総合センター・教授   (12601)	
研究分担者	栗原 裕基  (Kurihara Hiroki)  (20221947)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授   (12601)	
研究分担者	宮脇 哲  (Miyawaki Satoru)  (70407914)	東京大学・医学部附属病院・講師   (12601)	
研究分担者	松田 浩一  (Matsuda Koichi)  (90401257)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授   (12601)	

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
---------	---------