

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17965

研究課題名（和文）遺伝子多型に基づく神経膠腫の病態解明とPrecision Medicine構築

研究課題名（英文）Genome-wide association study on glioma risk in Japan

研究代表者

梅原 徹（Umehara, Toru）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：20792469

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）：神経膠腫に先行して疾患頻度の高い髄膜腫401症例を対象として多施設共同研究によるGWASを行ったが、ゲノムワイド水準を満たすSNPを認めなかった。最も強い関連を示したSNPは15q25上のrs35127183であった（オッズ比：1.63、95%信頼区間：1.34-1.99、 $p = 7.0 \times 10^{-7}$ ）。過去にヨーロッパ系人種で報告された2つのSNPは日本人におけるマイナーアレル頻度が低いため、有意な関連を認めなかった（ $p = 0.26$ および 0.21 ）。神経膠腫においても、今後目標症例数に到達次第、SNPタイピングを行い、神経膠腫リスクモデルの構築を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人の髄膜腫患者を対象としたGWAS研究を実施した。ゲノムワイド有意水準を満たす関連は検出されず、日本人集団に特異的な髄膜腫のリスクSNPを同定することはできなかった。また欧米から報告されているリスクSNPは日本人においてアレル頻度が極めて低いため、関連性を評価することが困難であった。しかしながら、本研究は東アジア人集団で初めての髄膜腫患者のGWASであり、今後の髄膜腫患者のGWAS研究に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this multicenter prospective case-control study, we studied 401 Japanese patients with meningioma. This GWAS eventually revealed no genetic variants with genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) and observed no significant association in the two previously reported risk variants (rs11012732 and rs2686876) due to low minor allele frequency in the Japanese population. The strongest association was provided by SNP rs35127183 on 15q25, where the A allele was associated with the increased risk (Odds ratio, 1.63; 95% confidence interval, 1.34-1.99; $P = 7.0 \times 10^{-7}$), although without genome-wide significance.

研究分野：Genome-wide association study

キーワード：glioma meningioma genetic polymorphism

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 (共通)

1. 研究開始当初の背景

髄膜腫は原発性脳腫瘍の中で最も頻度の高い良性腫瘍であり、原発性脳腫瘍全体の少なくとも 3 分の 1 を占める(1)。また我が国における MRI 機器の普及や脳ドック受診機会の増加と人口の高齢化に伴い、髄膜腫が偶発的に発見され専門医療機関へ紹介されるケースが増加しており、経過観察例や無症候例などを含めた場合、髄膜腫を有する患者が潜在的には相当数いることが予想される。髄膜腫の発生については、過去の頭部への放射線治療歴や一部の遺伝子異常が原因となり得ることが知られているが、大部分が未だ不明のままである(2, 3)。髄膜腫の発症や増大に関連する宿主遺伝要因が解明されることで、個々の症例におけるリスク層別化が可能となり、早期治療介入による治療安全性を高めるとともに、不必要な治療介入を減じることができる可能性がある。

2. 研究の目的

宿主遺伝要因の解明を目的とした研究手法として、ゲノムワイド関連解析 (GWAS : Genome-Wide Association Study) が確立されている。GWAS は疾患リスクと関連する遺伝的変異をゲノム全体で包括的に探索する強力なアプローチである(4)。髄膜腫の発症リスクに関して欧米人を対象とした GWAS がすでに 2 報あり、rs11012732 (chr10:21830104) と rs2686876 (chr11:258909) がゲノムワイド有意水準 ($P = 5.0 \times 10^{-8}$) を満たす遺伝的リスクとして報告されている(5, 6)。但し、髄膜腫の発生率は民族によって異なるため(1)、東アジアの集団における遺伝的素因を個別に評価する必要がある。本研究では、日本人の髄膜腫患者を対象とした GWAS を実施し、疾患関連遺伝子を検討した。

3. 研究の方法

研究デザインおよび患者選択

本研究は阪和記念病院 (承認番号 2022-9) 及び大阪大学 (承認番号 846-3) の臨床研究審査委員会の承認を受けている。2019 年 9 月から 2021 年 4 月までに、本研究の主施設である大阪大学医学部附属病院や当施設を含む 5 つの医療機関を受診した髄膜腫患者を GWAS の症例群とした。対照群は、バイオバンク・ジャパンにより収集された日本人データをを用いた。

SNP タイピング

髄膜腫患者の血液よりゲノム DNA を精製し、SNP タイピングには Asian Screening Array chip を用いた。症例群 426 人および対照群 46,628 人のジェノタイプングを行った。ジェノタイプデータのクオリティコントロール (QC) のため、genotype call rate が 98% 以下の対照群 525 検体を除外した。主成分分析において遺伝的に外れ値を示すサンプルは解析対象から除外した(症例群 21 例、対照群 2,244 例)。アレイデータから性染色体の核型異常が示唆されたサンプルを除外した(症例群 2 例、対照群 70 例)。Asian Screening Array chip でジェノタイプングできなかったバリエーションを取り除く目的で、Hardy-Weinberg 平衡から有意に乖離したバリエーションを除外した。call rate > 99% に満たないバリエーション、かつデータセット全体における minor allele counts が 5 以下のバリエーションを除外した。これら

のバリエーション QC の結果、536,319 バリエーションが解析に利用できる水準のデータとなった。

バリエーションの imputation

1000 人ゲノムプロジェクトデータとバイオバンクジャパンの全ゲノムシーケンスデータからなるリファレンスパネルを用い、ハプロタイプ推定ツール SHAPEIT4 および遺伝型 imputation ツール Minimac4 を用いてバリエーションの imputation を行った。Rsqr ≥ 0.7 , マイナーアレル頻度 $\geq 0.5\%$ をカットオフとして imputation したバリエーションを選定した結果、常染色体上の 8,224,735 バリエーション、X 染色体上の 224,820 バリエーションが得られた。

GWAS

Imputed genotype dosage を説明変数としてケースコントロール関連解析を行った。QC の結果残った、症例群 403 サンプル、対照群 43,789 サンプルが解析の対象となった。サンプル間の血縁関係を考慮した関連解析を実施可能なゲノム解析ツール fastGWA-GLMM を用いた上で、集団構造によるバイアスを補正する目的で、主成分分析で得られた上位 5 主成分を回帰分析の共変数に含めて実施した。X 染色体上のバリエーションについて検定する際には、回帰分析モデルに更に性別を示す変数項を加えて実施した。ゲノムワイド有意水準は $P = 5.0 \times 10^{-8}$ を採用した。

4. 研究成果

全ゲノム上のバリエーションに関する GWAS を行ったところ、ゲノムワイド有意水準 ($P = 5.0 \times 10^{-8}$) を満たす関連は検出されなかった。(Figure 1) 最も関連の強いバリエーションは 15q25 上の rs35127183 であった ($P = 2.4 \times 10^{-7}$, オッズ比 1.86 [95% CI 1.47-2.35])。(Table 1, Figure 2) これまで欧米人を対象とした類似研究においてゲノムワイド有意水準を満たすリスク SNP として報告されている rs11012732 (chr10:21830104) は、Asian Screening Array chip にも含まれる SNP ではあるが、アレル頻度は低く症例群 0.87%, 対照群 0.54% であった。一方、rs2686876 (chr11:258909) は Asian Screening Array chip には含まれておらず、一方で imputation 精度 (imputation score = 0.99) は良好であったものの、同様にアレル頻度は低く、症例群 0.62%, 対照群 2.3% ($P = 0.37$) と比較的頻度は稀であった。いずれも、髄膜腫との関連は検出されなかった。(rs11012732, $P = 0.30$; rs2686876, $P = 0.37$)

近年、欧米人を中心に大規模な GWAS が多く実施され、疾患病因の解明が進んでいる。しかしながら、遺伝的変異の分布には民族差があるため、欧米で先行して行われている GWAS の結果をそのまま日本人に応用できる範囲は限定的である(7)。すなわち、本研究(日本人を対照とした髄膜腫 GWAS)を実施することで、欧米の解析では得られなかった新たな遺伝的リスクの同定が期待されたが、結果的にはゲノムワイド有意水準を満たす関連は検出されなかった。過去に欧米人を対象に髄膜腫との関連が報告されている rs11012732 と rs2686876 についても関連を検討したが、アレル頻度の低さから本研究では関連性の議論は困難であった(5, 6)。NCBI dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)によれば、2つのリスク SNP は日本人を含むアジア人においてアレル頻度が極めて低く、一方で欧米人においては common variant として高頻度に存在しており、GWAS の検出力に決定的な相違がある。GWAS の検出力は、リスクバリエーションの効果量(オッズ比)・アレル頻度・サン

ルサイズの 3 つの要素に依存しているため、日本人におけるアレル頻度の低さをカバーするためには、さらなるサンプルサイズの拡大が唯一の解決策であり、今後の課題である。実際のところ、本研究結果によって、「日本人集団における髄膜腫と rs11012732 及び rs2686876 との関連が否定されたわけではない」ことには留意する必要がある。

本研究において有意水準を満たす関連は検出されなかったが、日本人を含むアジア人を対象とした髄膜腫 GWAS の報告は文献を渉猟する限りでは存在せず、本研究成果は我が国の髄膜腫研究の発展に貢献するものと考えている。

Figure 1 | 髄膜腫のゲノムワイド関連解析

(左) 髄膜腫と各遺伝子多型の関連を示すマンハッタンプロット

(右) 髄膜腫 GWAS で得られた関連 P 値の Q-Q プロット

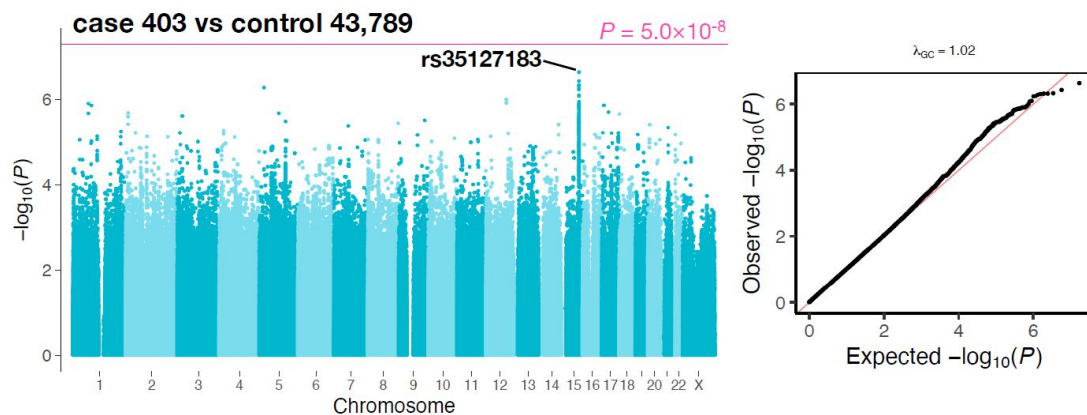


Figure 2 | 最も強い関連を示した 15 番染色体長腕領域の関連プロット

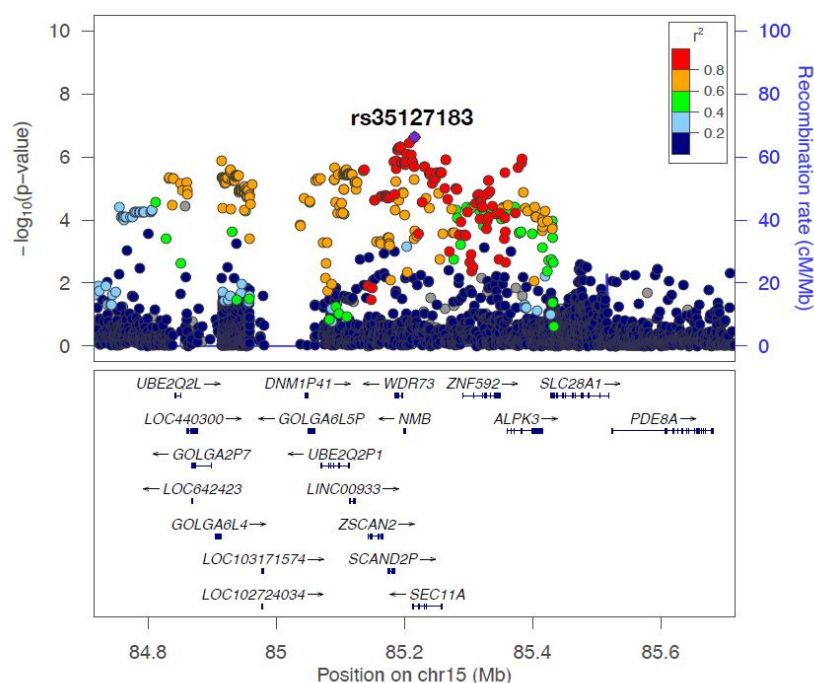


Table 1 | 最も強い関連を示したバリエーション (rs35127183) のサマリー

CHR	POS	ID	Risk allele	Non-risk allele	CASE FREQ	CTRL FREQ	Odds ratio	P
15	85,215,739	rs35127183	A	G	0.17	0.11	1.86	2.4×10 ⁻⁷

CASE FREQ: case群におけるリスクアレルの頻度、CTRL FREQ: control群におけるリスクアレルの頻度

文献

- 1) Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013-2017. *Neuro Oncol.* 2020;22(1):iv1-iv96. doi:10.1093/neuonc/noaa200
- 2) Wiemels J, Wrensch M, Claus EB. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurooncol.* 2010;99(3):307-314. doi:10.1007/s11060-010-0386-3
- 3) Kerr K, Qualmann K, Esquenazi Y, Hagan J, Kim DH. Familial syndromes involving meningiomas provide mechanistic insight into sporadic disease. *Neurosurgery.* 2018;83(6):1107-1118. doi:10.1093/neuros/nyy121
- 4) Tam V, Patel N, Turcotte M, Bossé Y, Paré G, Meyre D. Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet.* 2019;20(8):467-484. doi:10.1038/s41576-019-0127-1
- 5) Dobbins SE, Broderick P, Melin B, et al. Common variation at 10p12.31 near MLLT10 influences meningioma risk. *Nat Genet.* 2011;43(9):825-827. doi:10.1038/ng.879
- 6) Claus EB, Cornish AJ, Broderick P, et al. Genome-wide association analysis identifies a meningioma risk locus at 11p15.5. *Neuro Oncol.* 2018;20(11):1485-1493.
- 7) Martin AR, Kanai M, Kamatani Y, et al. Clinical use of current polygenic risk scores may exacerbate health disparities. *Nat. Genet.* 2019; 51, 584–591

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Umehara Toru, Arita Hideyuki, Miya Fuyuki, Achiha Takamune, Shofuda Tomoko, Yoshioka Ema, Kanematsu Daisuke, Nakagawa Tomoyoshi, Kinoshita Manabu, Kagawa Naoki, Fujimoto Yasunori, Hashimoto Naoya, Kiyokawa Hiroki, Morii Eiichi, Tsunoda Tatsuhiko, Kanemura Yonehiro, Kishima Haruhiko	4. 巻 39
2. 論文標題 Revisiting the definition of glioma recurrence based on a phylogenetic investigation of primary and re-emerging tumor samples: a case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain Tumor Pathology	6. 最初と最後の頁 218 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10014-022-00438-1	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Shuheii Yamada, Toru Umehara, Kyoto Sonehara, Noriyuki Kijima, Shuheii Kawabata, Koji Takano, Tomoki Kidani, Ryuichi Hirayama, Hideyuki Arita, Yoshiko Okita, Manabu Kinoshita, Naoki Kagawa, Toshiyuki Fujinaka, Toshiaki Fujita, Akatsuki Wakayama, Biobank Japan Project; Koichi Matsuda, Yukinori Okada, Haruhiko Kishima	4. 巻 in press
2. 論文標題 Genome-wide association study on meningioma risk in Japan: a multicenter prospective study	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Neuro-Oncology	6. 最初と最後の頁 in press
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 有
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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 梅原 徹、有田英之、宮 冬樹、平山龍一、木嶋教行、香川尚己、藤本康倫、橋本直哉、金村米博、貴島晴彦
2. 発表標題 全ゲノムシーケンスを用いた再発グリオーマ/de novo 腫瘍の鑑別
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第80回学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅原徹、木下学、佐々木貴浩、有田英之、吉岡絵麻、正礼智子、児玉良典、香川尚己、沖田典子、高野浩司、宇田武弘、深井順也、阪本大輔、森艦二、金村米博
2. 発表標題 機械学習による画像テクスチャ解析を用いた 初発膠芽腫の予後推定
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第79回学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梅原徹, 木下学, 佐々木貴浩, 有田英之, 吉岡絵麻, 正札智子, 児玉良典, 香川尚己, 沖田典子, 高野浩司, 宇田武弘, 深井順也, 阪本大輔, 森艦二, 金村米博
2. 発表標題 術前画像情報を用いた 初発膠芽腫の予後推定の有用性と限界
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究協力者	山田 修平 (Yamada Shuhei) (90885518)	大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員 (14401)	
研究協力者	木嶋 教行 (Kijima Noriyuki) (80534627)	大阪大学・大学院医学系研究科・助教 (14401)	

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