

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592045

研究課題名(和文) 早期手術及び予防を目指した大動脈瘤発生における責任遺伝子の臨床的解析

研究課題名(英文) Clinical analysis of the responsibility gene in the aortic aneurysm outbreak aiming at an early operation and the prevention

研究代表者

益田 宗孝 (MASUDA, MUNETAKA)

横浜市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10190365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は解離性大動脈瘤および真性大動脈瘤を高い確率で惹起するメンデル遺伝性疾患の責任遺伝子群の異常を解析し、遺伝子型と臨床症状(癌化、解離や癌破裂)の相関を明らかにすることを目的としている。この相関を利用し、一般的なリスク評価によっている治療方針の決定を、個々の症例の遺伝子型が示すリスクに合わせたオーダーメイド治療へと転換し、ステントグラフト内挿術などの低侵襲な早期手術の適応を確立し死亡率が高く医療費が高額になる緊急手術の回避を目指す。また予防的見地からすでに実験的に有効性が確認されているアンギオテンシン受容体阻害剤などの臨床的效果についても検討し、医療費削減に貢献することを目的とする。

研究成果の概要(英文)：This study analyzes the abnormality of the responsibility gene cluster of the Mendel hereditary disease to bring about a dissociative aortic aneurysm and a genuine aortic aneurysm with high probability and is intended that I clarify a genotype and the love poem of clinical manifestations (canceration, dissociation and cancer explosion). Using this love poem, I switch it to the custom tailoring treatment that they put together in the risk that the genotype of individual cases shows the decision of the treatment policy to, and I establish the adaptation of the operation in the early stage that is low aggressions such as the stent graft interpolation art, and the death rate is high, and medical expenses aim at the evasion of the large amount of emergency surgery. In addition, I examine the clinical effects such as a ngiotensin receptor repressors and am intended to contribute to medical expenses reduction.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：責任遺伝子 大動脈瘤発生 早期手術及び予防

1. 研究開始当初の背景

近年高齢化に伴い動脈硬化性疾患が増加し、心臓血管外科領域の大動脈関連の手術数は年々増加している。早期の待機的手術の明確な基準や予防法が確立すれば、ステントグラフト内挿術などの低侵襲な治療を行えるため患者のリスク・負担軽減、医療の向上のみならず医療費の削減にも貢献できると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は解離性大動脈瘤および真性大動脈瘤を高い確率で惹起するメンデル遺伝性疾患の責任遺伝子群の異常を解析し、遺伝子型と臨床症状(癌化、解離や癌破裂)の相関を明らかにすることを目的としている。この相関を利用し、一般的なリスク評価によっている治療方針の決定を、個々の症例の遺伝子型が示すリスクに合わせたオーダーメイド治療へと転換し、ステントグラフト内挿術などの低侵襲な早期手術の適応を確立し死亡率が高く医療費が高額になる緊急手術の回避を目指す。また予防的見地からすでに実験的に有効性が確認されているアンジオテンシン受容体阻害剤などの臨床的效果についても検討し、医療費減に貢献することを目的とする。

3. 研究の方法

大動脈瘤症例において関連性が示唆される遺伝子疾患の責任遺伝子を網羅したリシーケンスアレーを開発し、責任関連遺伝子を迅速かつ効率的にスクリーニングし遺伝子機能や家系解析等からその病的意義を明らかにする。さらに病的な遺伝子異常・多型に基づいて臨床症状の評価を行い臨床症状評価システムを確立する。

Table 1 Overview of genes associated with AAD analyzed in this study

Gene	GenBank accession no.	Disorder	Type	Exon (CDE)	ORF (bp)	Amq
<i>FBN1</i>	NM_000138	MFS, SGS, TAAD	AD	66 (65)	8,616	39
<i>TGFBR2</i>	NM_001024847	MFS2, LDS, SGS, TAAD	AD	8 (8)	1,779	8
<i>TGFBR1</i>	NM_004612	MFS2, LDS, SGS, TAAD	AD	9 (9)	1,512	7
<i>COL3A1</i>	NM_000090	EDS type IV	AD	51 (51)	4,401	16
<i>FLOD1</i>	NM_000302	EDS type VI	AR	19 (19)	2,184	13
<i>MYH11</i>	NM_001040113	TAAD	AD	43 (41)	5,838	30
<i>SLC2A10</i>	NM_030777	ATS	AR	5 (5)	1,626	5
<i>ACTA2</i>	NM_001613	TAAD	AD	9 (8)	1,134	6

CDE coding exon, ORF open reading frame, MFS Marfan syndrome, MFS2 Marfan syndrome type II, LDS Loews-Dietz syndrome, SGS S1 zen-Goldberg syndrome, TAAD thoracic aortic aneurysm and dissection, EDS Ehlers-Danlos syndrome, ATS arterial tortuosity syndrome autosomal dominant, AR autosomal recessive

Table 3 Known mutations used as positive controls for testing ResAT

Nucleotide substitution		Small deletion or insertion	
Gene	Mutation	Gene	Mutation
<i>FBN1</i>	c.400T > G	<i>FBN1</i>	c.937delT
	c.772C > T		c.1876delG
	c.1011C > A		c.4283-4284insG
	c.1285C > T		c.7039-7040delAT
	c.2413T > C		
	c.2942G > C		
	c.4099T > C		
	c.4495A > T		
	c.5539T > C		
	c.5788G + 5G > A		
	c.6236C > G		
	c.6773G > A		
	<i>TGFBR2</i>		c.1142G > C
	c.1411G > A		
	c.1624C > T		
<i>TGFBR1</i>	c.1135A > G		

All mutations are previously reported (Sakai et al. 2006; Togashi et al. 2007)

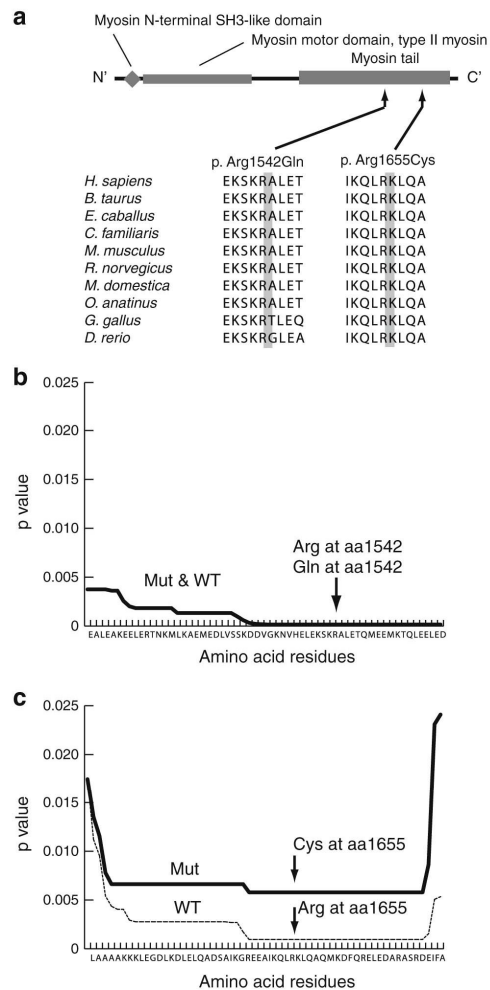


Fig. 1 Double mutations in MYH11. a Schematic representation of the MYH11 protein. Three functional domains are indicated: the myosin N-terminal SH3-like domain, the myosin motor domain for type II myosin, and the myosin tail. Both the mutations are located in the myosin tail. b, c Paircoil2 analysis showing a significantly decreased probability of coiled-coil formation for p.Arg1655Cys relative to the wild-type sequence, but no change for p.Arg1542Gln

4. 研究成果

まず、大動脈瘤の発生遺伝子の検索を行った。当施設における非症候性大動脈疾患患者 70 例について末梢白血球から DNA を採取し、PCR を用いて増幅した後、我々が開発したリーシーケンアレー法と次世代シーケンサー法の 2 つの方法による遺伝子解析をおこなった。対象遺伝子は症候性大動脈疾患で報告されている 8 つの遺伝子 (FBN1, TGFB2, TGFB2, COL3A1, PLOD1, MYH11, SLC2A10, ACTA) について解析を行ったところ 18 個の遺伝子異型を認めた。

この内 3 例 (4.3%) で病原性を持つと考えられる遺伝子異常を認めた。いずれも大動脈解離の症例で、1 例は急性大動脈解離の女性で Ehlers-Danlos syndrome type IV の原因遺伝子である COL3A1 の c.1815+5G>A を、1 例は慢性解離性胸腹部大動脈瘤の男性で MYH11 の c.4963C>T を、他の 1 例は家族歴のある急性大動脈解離の女性で ACTA2 に c.482T>A を認めた。以上より非症候性大動脈疾患患者でも遺伝子異常を 4.3% に認めており、幅広い検索により場合によっては致命的な病態である大動脈解離の発症予防や早期治療へ繋げることができる可能性を明らかにすることができた。

また、本研究の最終目標の一つである、治療法の確立について今までは壁内血栓と考えられてきたものは血栓閉塞型大動脈解離の病態の一つであること、B 型解離における偽腔の血栓化が早期に認められない症例では遠隔期に大血管由来の合併症発生率が高くなることより外科的治療介入を早期に行う必要があること、B 型解離の瘤破裂に対するステントグラフト治療は出血コントロールの面では非常に有用性であるが、早期に大血管由来の合併症を発生することより 1 年以内の手術介入が必要であること、を明らかにした。

今後遺伝子解析と大動脈の病態解析を行うことで、外科介入の時期を適切に決定できる可能性を示した研究結果となった。予防的治療や内科的治療に繋がる創薬の研究については端緒についたばかりで、今後の更なる研究が必要と考えている。

Table 2 Clinical information of AAD patients

Clinical data	Number of patients (%)
Thoracic AAD ^a	35 (50.0)
Abdominal AAD ^a	30 (42.9)
Thoracic and abdominal AAD ^a	5 (7.1)
Age (years) (mean ± SD)	67.3 ± 10.2 (range 39–83)
Age (years) (median)	68.5
<50 years old	4 (5.7)
50–54 years old	5 (7.1)
55–59 years old	8 (11.4)
≥60 years old	53 (75.7)
Male	53 (75.7)
Female	17 (24.3)
Diabetes	9 (12.9)
Hyperlipidemia	32 (45.7)
Hypertension	54 (77.1)
Current smoker	15 (21.4)
Past smoker	30 (42.9)
Never smoked	23 (32.9)

^a Including current and past operations

Table 4 Novel variants detected by ResAT and/or NGS

Mutation Gene	Mutation	Amino acid change	Methods of detection	Read depth in NGS	PolyPhen	PolyPhen2	Mutation taster	Patients	Controls (total number)
TGFB2	c.166A>C	p.Ser56Arg	NGS	472	Benign	Benign (0.099)	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.402G>T	p.Arg137Tyr	ResAT and NGS	1,257	Possibly damaging	Possibly damaging (0.682)	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.492C>T	p.Thr213Met	ResAT and NGS	989	Benign	Possibly damaging (0.670)	Polyomorphism	1	0 (95)
TGFB1	c.1032T>C	p.Asn344Asn	ResAT and NGS	939	Unknown	–	Polyomorphism	1	3 (84)
	c.1815+5G>A	–	ResAT	255	Unknown	–	Disease-causing	1	0 (94)
COL3A1	c.847C>G	p.Val28Val	ResAT and NGS	644	Unknown	–	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.1193C>T	p.Ala109Val	ResAT and NGS	1,402	Unknown	–	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.1193G>A	p.Ala105Thr	ResAT and NGS	630	Benign	Possibly damaging (0.979)	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.1796C>T	p.Ala179Val	ResAT and NGS	877	Unknown	–	Disease-causing	1	0 (84)
PLOD1	c.976TAC>T	–	ResAT and NGS	631	Unknown	–	Polyomorphism	1	2 (94)
	c.1088C>G	–	ResAT and NGS	633	Unknown	–	Disease-causing	1	0 (94)
	c.1488C>T	p.Arg463Gln	NGS	624, 768	Unknown	Possibly damaging (0.961)	Disease-causing	2	4 (94)
MYH11	c.1498C>T	p.Arg499Tyr	ResAT and NGS	509, 532, 568, 679	Possibly damaging	Possibly damaging (0.992)	Disease-causing	4	2 (94)
	c.4600TAC>A	–	ResAT and NGS	1,236	Unknown	–	Polyomorphism	1	2 (94)
	c.4625G>A	p.Arg1542Gln	ResAT and NGS	1,254	Possibly damaging	Possibly damaging (0.994)	Disease-causing	1	0 (94)
SLC2A10	c.490A>T	p.Arg162N	ResAT and NGS	2,111	Possibly damaging	Possibly damaging (1.000)	Disease-causing	1	0 (94)
	c.1153C>T	p.Arg105Arg	ResAT and NGS	543	Unknown	–	Polyomorphism	1	0 (94)
	c.1395C>T	p.Arg110Phe	ResAT and NGS	500	Unknown	–	Polyomorphism	1	0 (94)
ACTA2	c.130TAT>C	p.Leu407Arg	ResAT and NGS	382	Benign	Possibly damaging (0.925)	Disease-causing	1	0 (94)
	c.452T>C	p.Val161Ala	ResAT and NGS	607, 647, 752	Unknown	–	Polyomorphism	2	2 (94)

This underlined mutation is highly likely to be pathogenic

^a Homozygous substitution

^b Mutations detected in patient 16 patient

^c Mutations detected in patient 24

^d Mutations detected in patient 28

^e Mutations detected in patient 89

Table 6 Pathogenic variants found in the patients

Patient ID	Sex	Mutation	Clinical diagnosis	Age ^a	Age ^b	Family history
Patient 16	M	MYH11 c.4963C>T p.Arp1655Cys	Thoracic and abdominal AAD	80	80	None
Patient 27	F	ACTA2 c.482T>C p.Val161Ala	Thoracic AAD	57	46	Affected brother
Patient 29	F	COL3A1 c.1815+5G>A	Thoracic AAD	80	67	None

M male, F female

^a At blood collection

^b At the first surgery

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 5件)

Minami T, Imoto K, Uchida K, Yasuda S, Karube N, Suzuki S, Masuda M : Mid-Term Outcomes of Acute Type B Aortic Dissection in Japan Single Center. Annals Thorac Cardiovasc Surgery, 査読有り, 19: 461-467, 2013.

Yasuda S, Imoto K, Uchida K, Machida D, Yanagi H, Sugiura T, Kurosawa K, Masuda M: Successful endovascular treatment of a ruptured superior mesenteric artery in a patient with Ehlers-Danlos syndrome. Annals of Vascular Surgery, 査読有り, 27(7), 975, 2013.

Uchida K, Imoto K, Karube N, Minami T, Cho T, Goda M, Suzuki S, Masuda M : Intramural haematoma should be referred to as thrombosed-type aortic dissection. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 査読有り, 44(2): 366-369, 2013.

Minami T, Imoto K, Uchida K, Yasuda S, Sugiura T, Karube N, Suzuki S, Masuda M : Clinical outcomes of emergency surgery for acute type B aortic dissection with rupture. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 査読有り, 44: 360-365, 2013.

Sakai H, Suzuki S, Mizuguchi T, Imoto K, Yamashita Y, Doi H, Kikuchi M, Tsurusaki Y, Saito H, Miyake N, Masuda M, Matsumoto N : Rapid detection of gene mutations responsible for non-syndromic aortic aneurysm and dissection using two different methods: resequencing microarray technology and next-generation sequencing. Human Genetics, 査読有り, 131(4)591-599, 2012.

[学会発表](計 4件)

Meuris B, Goda M, Minami T, Imoto K, Masuda M : Acute aortic dissection in Asian versus Western patients: Differences in patients presentation. The society for heart valve disease/Heart valve society of America 7th Biennial Congress, 2013. 6.22-25, Venice, Italy.

Cho T, Imoto K, Uchida K, Karube N, Yasutsune T, Umeda E, Goda M, Yabu N, Masuda M : Evaluation of false lumen during chronic phase in Stanford type B thrombosed-type aortic dissection. The 8th Korea-Japan joint meeting of vascular surgery, 2013. 4.25-27, Seoul, Korea.

Goda M, Minami T, Imoto K, Kakazu A, Fujikawa Y, Katayama Y, Isomatsu Y, Suzuki S, Masuda M, Meuris B : Acute aortic dissection-Western Europe vs Japan-. The 21st Annual Meeting of The Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery, 2013. 4.4-7, Kobe.

Suzuki S, Masuda M, Goda M, Katayama Y, Sakai A, Matsumoto N : GENE ANALYSIS IN PATIENTS WITH NON-SYNDROMIC AORTIC ANEURYSM AND DISSECTION. The Houston Aortic Symposium: Frontiers in Cardiovascular Diseases, the Sixth in the Series, 2013.3.21-23, Houston, USA.

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

益田 宗孝 (MASUDA MUNETAKA)
横浜市立大学・医学研究科・教授
研究者番号: 10190365

(2)研究分担者

松本 直通 (MATSUMOTO NAOMICHI)
横浜市立大学・医学研究科・教授
研究者番号: 80325638

鈴木 伸一 (SUZUKI SHINICHI)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号: 90285130

井元 清隆 (IMOTO KIYOTAKA)
横浜市立大学・市民総合医療センター・教授
研究者番号: 40203335

内田 敬二 (UCHIDA KEIJI)
横浜市立大学・市民総合医療センター・准教授
研究者番号: 50275062