

脳血管障害のオーダーメイド予防システムの開発

●山田 芳司

三重大学生命科学研究支援センター

<研究の目的と進め方>

脳血管障害（脳梗塞、脳出血、くも膜下出血）は死亡率が高く、後遺症も重篤であり、また延命の為に医療費は高額であるばかりか、家族の介護負担も大きい。超高齢化社会を迎えた我が国においては、脳血管障害感受性遺伝子を同定し、一次・二次予防を積極的に推進することが個人や家族のみならず社会的にも重要である。医療技術の発達により脳血管障害発症後の治療法は格段に進歩したが、予防対策は未だ十分とは言えない。また塩分制限など従来の予防法は集団を対象としたものであり、必ずしも個人個人にあてはまるものではない。

本研究の目的は、アテローム血栓性脳梗塞および脳出血に関して多数の候補遺伝子 SNPs を解析することにより、発症と強い関連を示す SNPs を同定し、それらに加え従来の脳血管障害危険因子（高血圧・糖尿病・高脂血症・喫煙・肥満）および年齢・性別を包括したアテローム血栓性脳梗塞・脳出血に関するオーダーメイド予防システムを開発することにある。本システムにより個人の発症リスクを予測し、リスクの高い場合は生活習慣の改善や高血圧・糖尿病・高脂血症などの危険因子の早期治療を積極的に行い、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血のオーダーメイド予防を推進する。本システムにより、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血の罹患率を低下させ、これらの疾患により肉体的精神的苦痛を受ける患者およびその家族の数を減らし、医療費の削減に貢献することが可能となる。本研究は、高齢化社会を迎えたわが国の社会的ニーズに対応するものであり、また日本人の疾患感受性遺伝子情報としても重要である。

<2007年度の研究の当初計画>

研究代表者は岐阜県、青森県、群馬県、東京都で多施設共同研究を行っている。現在、脳血管障害、冠動脈疾患、高血圧、糖尿病、メタボリック症候群などの生活習慣病症例および健常例について約 8,000 例の DNA サンプルならびに詳細な臨床情報を保有しており、さらに収集を継続している。

研究代表者は既に 152 遺伝子 202 多型とアテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症との大規模関連解析を行い、その成果を報告した (Yamada et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006)。2007 年度の研究計画は、①新たにアテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症との関連が推定される 70 遺伝子 100 多型のデータベースの構築および関連解析、②アテローム血栓性脳梗塞・脳出血に関するオーダーメイド予防システムの開発である。即ち、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症との関連が強い SNPs を選択し、それらの SNPs に加え従来の脳血管障害危険因子および年齢・性別を包括したオーダーメイド予防システムを開発する。

<2007年度の成果>

研究参加施設の協力により、患者対照集団 4,500 例（脳梗塞 1,000 例、脳出血 500 例、対照 3,000 例）の DNA サンプルおよび臨床データを収集した。これらのサンプルについて 202 遺伝子多型の関連解析により、IL6 遺伝子 -572G → C 多型がアテローム血栓性脳梗塞および脳出血の発症に強く関連する ($P < 0.001$) ことを報告した (Yamada et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006)。さらにアテローム血栓性脳梗塞では 7 個の多型が、脳出血では 8 個の多型が発症と有意に ($P < 0.05$) 関連した。またアテローム血栓性脳梗塞発症に関連する遺伝子多型は、男性と女性、あるいは高血圧・糖尿病・高脂血症などの危険因子の有無によって異なることを明らかにした (Yamaguchi et al. *Int J Mol Med* 2006)。また、ミトコンドリアのハプログループ A が女性のアテローム血栓性脳梗塞の危険因子であることを報告した (Nishigaki et al. *Mitochondrion* 2007)。さらに、98 遺伝子多型について関連解析を行い、ABCA1 遺伝子 -14C → T 多型 (rs1800977)、IRAK1 遺伝子 A → C 多型 (rs3027898)、C → T (Ser532Leu) 多型 (rs1059703)、ROS1 遺伝子 G → C (Cys2229Ser) 多型 (rs619203) がアテローム血栓性脳梗塞の発症と有意に ($FDR < 0.05$) 関連し、LIMK1 遺伝子 -428G → A 多型 (rs710968) が脳出血の発症と有意に関連することを報告した (Yamada et al. *Stroke*, in press)。

また、アテローム血栓性脳梗塞 131 例、対照 135 例について、SNP チップ (GeneChip Mapping 500K Set, Affymetrix) を用いたゲノム全領域関連解析を行い、アテローム血栓性脳梗塞発症と強く関連する ($P < 10^{-20}$) SNPs を 100 個抽出した。これらの SNPs について別の集団で関連解析を行い、アテローム血栓性脳梗塞発症に関連する SNPs を 8 個抽出した。今後これらの SNPs の LD block をシークエンスし、見出された SNPs による関連解析を行い、アテローム血栓性脳梗塞発症に強く関連する SNPs を確定する予定である。

<国内外での成果の位置づけ>

多数のゲノム多型と脳梗塞・脳出血発症との関連解析が報告され、一部に有力な SNPs が見出されているが、これらの疾患の発症における遺伝因子については未だ十分解明されていない。たとえ関連が認められた場合でも、単一の SNP のみでは相対危険度は低く、リスク診断として用いるには不十分である。アテローム血栓性脳梗塞と心原性脳塞栓を ischemic stroke としてまとめて解析している研究が多く認められるが、この両者は病因が全く異なるため、疾患感受性遺伝子を解明するためには、両者を分けて解析する必要がある。また、わが国ではアテローム血栓性脳梗塞・脳出血に関して本研究のような包括的かつ大規模な関連解析はきわめて少ない。さらに異なる人種ではゲノム多型の分布や頻度、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血の罹患率や背景因子などが異なる

り、日本人独自の遺伝要因も考えられるため、日本人固有のアテローム血栓性脳梗塞・脳出血に関連するゲノム多型データベースを構築することが必要不可欠であるが、このようなデータベースは未だ存在しない。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

研究遂行上の困難な点としては、サンプル収集が決して容易ではない点、また研究費が十分でないため解析できる SNP 数が制限される点が挙げられる。

<今後の課題>

(1) アテローム血栓性脳梗塞・脳出血のオーダーメイド予防システムの開発

症例数および解析する SNP 数を増大して関連解析を行い、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症との関連が強い順に SNPs をランク付けし、疾患ごとに上位 10～20 個の SNPs を抽出する。抽出した SNPs に加え従来の脳血管障害危険因子（高血圧・糖尿病・高脂血症・肥満・喫煙）および年齢・性別を包括した個人の遺伝・環境要因に応じたアテローム血栓性脳梗塞・脳出血のオーダーメイド予防システムを開発し、予防医療分野における事業化の基盤を作る。本システムにより、アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症に関する個人の「将来の発症リスク」を予測し、遺伝因子以外の治療・改善可能な因子に関して「どの危険因子を除去すればどの程度発症リスクが減少するか」についても予測する。健診センター、クリニックまたは病院において、希望者に対し発症リスクの予測を行う。結果についてカウンセリングを行い、リスクが高い場合には生活習慣の改善や、危険因子の早期治療を積極的に行うことによりアテローム血栓性脳梗塞・脳出血の一次・二次予防を推進する。特に脳梗塞・脳出血や心筋梗塞・高血圧の家族歴のあるクライアントへの適用が有効である。本システムによりアテローム血栓性脳梗塞・脳出血のオーダーメイド予防が可能になり、高齢者の健康寿命延長・QOL 向上・ねたきり防止ならびに今後の医療費削減など、医学的・社会的に大きく貢献できる。

(2) アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症における遺伝子・遺伝子相互作用、遺伝子・環境因子相互作用の解明

アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症のリスクとなる遺伝子型を有する症例において、疾患発症を左右する環境要因を解明する。また従来の脳血管障害危険因子を持たない「低リスク群」あるいは危険因子を持つ「高リスク群」における遺伝子多型の発症への関与、発症を左右する遺伝・環境要因、さらに脳血管障害のリスクとなる遺伝子型を持っていても発症しない遺伝・環境要因を解明する。

(3) 新規のアテローム血栓性脳梗塞・脳出血感受性遺伝子およびその SNP の検索

アテローム血栓性脳梗塞および脳出血について、SNP チップを用いたゲノム全領域関連解析を行う。アテローム血栓性脳梗塞については既に進行しており、replication study において 8 個の SNPs がアテローム血栓性脳梗塞の発症と関連を示した。これらの SNPs の中でも、とりわけ関連の強い上位 3 個の SNPs は有力である。ゲノム全領域関連解析により、日本人における新規のアテローム血栓性脳梗塞・脳出血感受性遺伝子およびその多型を同定する。

(4) アテローム血栓性脳梗塞・脳出血感受性遺伝子多型の機能解析

アテローム血栓性脳梗塞・脳出血発症と強く関連する SNPs についてはそれぞれの機能解析を行うことにより遺伝子発現やタンパク質の構造・機能に対する影響を特定し、病態における意義を明らかにする。

<成果公表リスト>

1) 論文

1. 0607251007

Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Ichihara S, Kato K, Kameyama T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, Watanabe S, Nozawa Y. Genetic risk for ischemic and hemorrhagic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1920-1925.

2. 0611281644

Yamaguchi S, Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, Satoh K, Ichihara S, Kato K, Kameyama T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, Watanabe S, Nozawa Y. Genetic risk for atherothrombotic cerebral infarction in individuals stratified by sex or conventional risk factors for atherosclerosis. *Int J Mol Med* 2006;18:871-883.

3. 0611281654

Yamada Y. Identification of genetic factors and development of genetic risk diagnosis systems for cardiovascular diseases and stroke. *Circ J* 2006;70:1240-1248.

4. 0704171529

Nishigaki Y, Yamada Y, Fuku N, Matsuo H, Segawa T, Watanabe S, Kato K, Yokoi K, Yamaguchi S, Nozawa Y, Tanaka M. Mitochondrial haplogroup A is a genetic risk factor for atherothrombotic cerebral infarction in Japanese females. *Mitochondrion* 2007;7:72-79.

2) 特許

1. 0602211045

脳血管障害の遺伝的リスク検出法（特願2006-012907）

2. 0611281715

アテローム血栓性脳梗塞に関する遺伝子検出方法（特願2006-165295）

3. 0611281721

脳血管障害の遺伝的リスク検出法（追加出願）（特願2006-244526）

<成果公開・共同研究の状況>

三重大学生命科学研究支援センターヒト機能ゲノミクス部門のホームページ (<http://www.lsrc.mie-u.ac.jp/human/>) 参照。

東京医科歯科大学難治疾患研究所の木村彰方教授と心筋梗塞発症に関連する遺伝子多型解析について共同研究を行っている。また、理化学研究所ゲノム科学総合研究センターの小島俊男チームリーダーとSNPチップを用いた脳梗塞のゲノム全領域関連解析について共同研究を行っている。