

## 脳動脈瘤の破裂に関する遺伝子解析研究

大阪大学大学院医学系研究科 脳神経外科

川端 修平

### 1.緒言

未破裂脳動脈瘤を対象とした複数の大規模観察研究によると、未破裂脳動脈瘤が年間1%程度の確率で破裂し、瘤の大きさ・部位・形態、患者の年齢・性別・人種などにより破裂リスクが異なることが知られている<sup>1,2)</sup>。これらのデータによると小型瘤の破裂率は極めて低いことが予想されるが、実際に破裂した脳動脈瘤の瘤径分布では予想以上に小型瘤が多く、大規模研究の結果と矛盾している。これらの齟齬から導き出されるのは、小型瘤の多くは発生後早期に破裂に至り、その時期に破裂を免れた瘤の多くは、その後破れることなく長期経過するのではないか、という仮説である。つまり、脳動脈瘤は、①発生初期に小型で破裂するもの、②発生後増大して慢性期に破裂するもの、③破裂せず小型のまま安定化するもの、の3つに分類できるものと思われる。しかし、これらを正確に予測する方法は未だ解明されていない。

近年、遺伝子解析技術の進歩により、これまで未解明であった様々な疾患関連遺伝的要素が新たに解明され、診断および治療に活用されつつある。脳動脈瘤の研究においても、一塩基多型 (SNP) を網羅的に検索するゲノムワイド関連研究の手法を用いることで、脳動脈瘤発生関連遺伝子が発見された<sup>3)</sup>。これにより瘤の「発生」に関与する遺伝的背景が解明されつつあるが、「破裂」に関与する遺伝的背景は未だ報告されておらず、実臨床においては、発生リスクよりも破裂リスクを評価する遺伝的判定法を解明するほうが有用といえる。われわれはこの判別法を確立するために、「破裂していない脳動脈瘤」と「破裂した脳動脈瘤」の2群の遺伝子解析を行い、その相違点を検証することとした。

本研究では、「破裂していない脳動脈瘤」と「破裂した脳動脈瘤」の遺伝的差異を明らかにし、破裂予想に応用することを目的としている。また、この2群の遺伝子多型を明らかにすることで、破裂メカニズムの解明に寄与できるものと考えている。

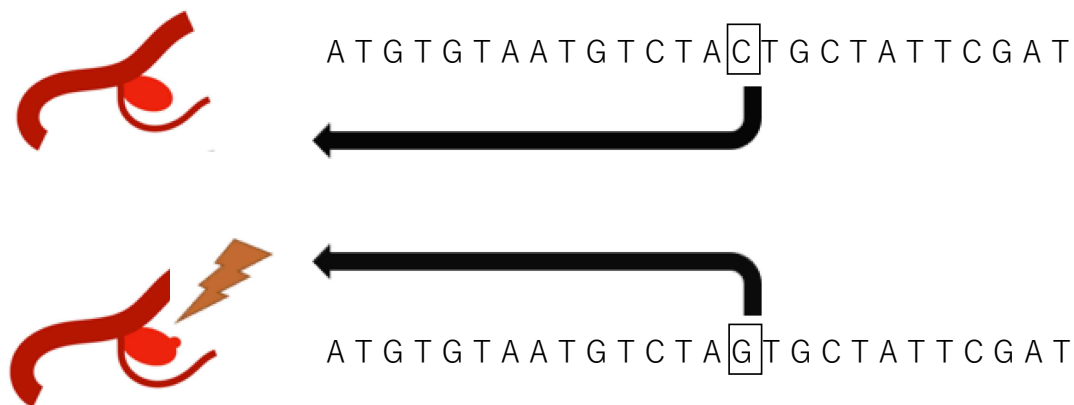


図 1.SNP が動脈瘤の破裂に関与しているか？

## 2.方法

本研究は多施設共同の観察研究である。対象は、大阪大学医学部附属病院および関連病院 3 施設で、長期間増大を認めない未治療の未破裂動脈瘤をもつ患者とくも膜下出血で発症した破裂脳動脈瘤をもつ患者を対象とした（図 2）。各施設において倫理委員会の承認を得た上で、2019 年 10 月から症例登録を開始し、1 年間の登録を行うこととした。2 集団の採血試料から DNA を抽出し（株式会社 LSI メディエンスに委託）、その DNA を用いて SNP タイピングを行った（大阪大学遺伝統計学教室に委託）。得られた SNP 情報と臨床情報や画像情報を用いて関連解析を行い、破裂に関する遺伝的要因を検証する。

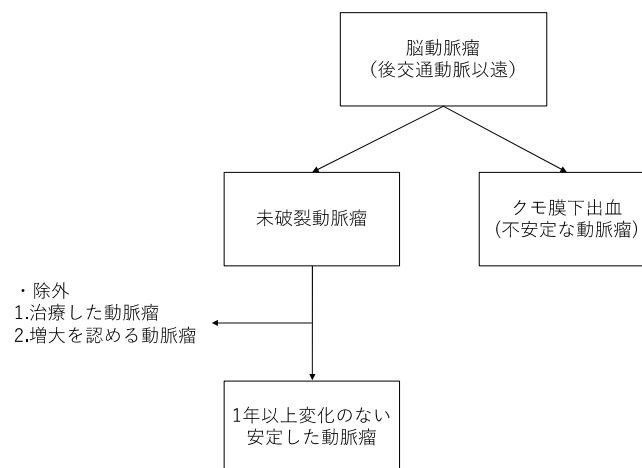


図 2.対象症例のフローチャート

## 3.結果

2019 年 10 月から 5 月までの 7 ヶ月間で登録患者数は破裂群 67 例、未破裂群 43 例の計 110 例から DNA を抽出した（図 3）。2020 年 10 月までに破裂群 100 例、未破裂群 100 例の症例

を目標とし継続して研究を行う予定である。また、SNP タイピングに関しては、コロナウィルスによる研究室の閉鎖があったため、未だ中間解析には至っていない。

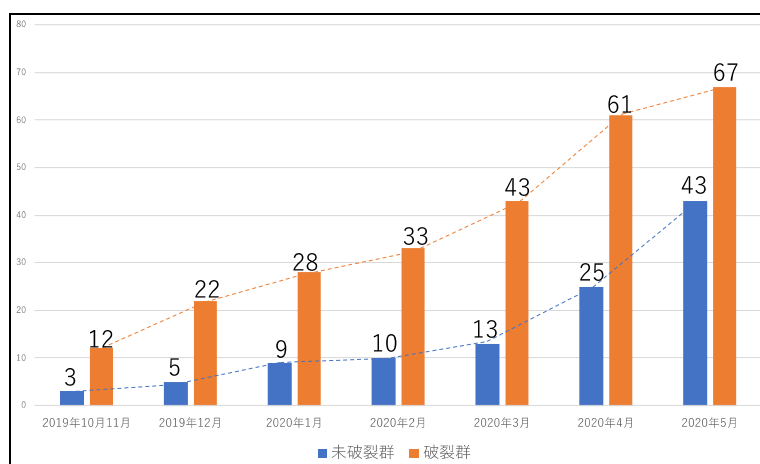


図 3. DNA 取得状況

#### 4. 考察

ヒト脳動脈瘤に対する SNP を用いた研究はこれまでも報告がある。2003 年に 52 例の白人のクモ膜下出血症例を用いて eNOS T-786C SNP が破裂動脈瘤の大きさに関連することを明らかにした<sup>4)</sup>。また、336 例の日本人においても eNOS が動脈瘤の大きさに関連していたが<sup>5)</sup>、別の研究では eNOS は破裂を予測するには至らなかった<sup>6)</sup>。また、その他多くの研究により XIII 遺伝子や ENDRA、ACE、APOE、IL-6、MMP-3、Elastin の SNP も動脈瘤の破裂に関与していることが示唆されたが、いずれも決定的とはなっていない<sup>7-10)</sup>。また、他の問題点として、多くは破裂例と健常例、動脈瘤例と健常例との比較した研究であり、破裂リスクを推定する研究デザインではない。また、詳細な画像情報や経過との関連を検討した報告もなく、これらの点でわれわれの研究にはアドバンテージがある。

現在は破裂例 67 例、未破裂例 43 例の 110 例であるが、10 月までで本学のみでも 200 例に到達する見込みである。研究期間の SNP データを取得するのは来年の 4 月頃になると考えられ、実際の解析は 2021 年 4 月以降となる。我々の研究でも、既知の可能性のある SNP に特に注目して解析を行い、詳細な画像情報や臨床情報を追加することで、それぞれの SNP の具体的な役割について明らかにできる可能性を考えている (図 4)。

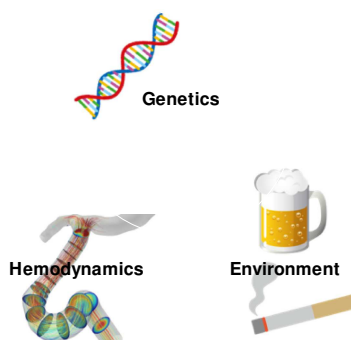


図 4.遺伝情報と画像情報、臨床情報の統合解析

## 5.結語

遺伝情報は概ね計画通りに収集できている。今後も継続して遺伝情報の収集を行い、来年度には解析を行う予定である。

## 6.文献

- 1) UCAS Japan Investigators, Morita A, Kirino T, et al. The natural course of unruptured cerebral aneurysms in a Japanese cohort. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2474-2482. doi:10.1056/NEJMoa1113260
- 2) Bijlenga P, Gondar R, Schilling S, et al. PHASES Score for the Management of Intracranial Aneurysm: A Cross-Sectional Population-Based Retrospective Study. *Stroke*. 2017;48(8):2105-2112. doi:10.1161/STROKEAHA.117.017391
- 3) Bilguvar K, Yasuno K, Niemelä M, et al. Susceptibility loci for intracranial aneurysm in European and Japanese populations. *Nat Genet*. 2008;40(12):1472-1477. doi:10.1038/ng.240
- 4) Khurana VG, Sohni YR, Mangrum WI, et al. Endothelial nitric oxide synthase T-786C single nucleotide polymorphism: a putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. *Stroke*. 2003;34(11):2555-2559. doi:10.1161/01.STR.0000096994.53810.59
- 5) Akagawa H, Kasuya H, Onda H, et al. Influence of endothelial nitric oxide synthase T-786C single nucleotide polymorphism on aneurysm size. *J Neurosurg*. 2005;102(1):68-71. doi:10.3171/jns.2005.102.1.0068
- 6) Krischek B, Kasuya H, Akagawa H, et al. Using endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms to identify intracranial aneurysms more prone to rupture in Japanese patients. *J Neurosurg*. 2006;105(5):717-722. doi:10.3171/jns.2006.105.5.717
- 7) Ladenvall C, Csajbok L, Nylén K, Jood K, Nellgård B, Jern C. Association between factor XIII single nucleotide polymorphisms and aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2009;110(3):475-481. doi:10.3171/2008.7.JNS08272

- 8) Low SK, Takahashi A, Cha PC, et al. Genome-wide association study for intracranial aneurysm in the Japanese population identifies three candidate susceptible loci and a functional genetic variant at EDNRA. *Hum Mol Genet.* 2012;21(9):2102-2110. doi:10.1093/hmg/ddc020
- 9) Chiang TM, Cole F, Woo-Rasberry V, Kang ES (2001) Role of nitric oxide synthase in collagen-platelet interaction—involvement of platelet nonintegrin collagen receptor nitrotyrosylation. *Thromb Res* 102:343-352
- 10) McColgan P, Thant KZ, Sharma P (2010) The genetics of sporadic ruptured and unruptured intracranial aneurysms: a genetic meta-analysis of 8 genes and 13 polymorphisms in approximately 20,000 individuals: clinical article. *J Neurosurg* 112:714-721