

ゲノムワイド関連解析を用いた髄膜腫増大に関わるバイオマーカーの探索

阪和記念病院 脳神経外科

梅原 徹

1. 諸言

髄膜腫は原発性脳腫瘍の中でもっと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、わが国における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て専門医療機関へ紹介されるケースが増加している。このため、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存在することが予想される。髄膜腫の発生については、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、大部分がいま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らすことができる可能性がある。

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 (Genome-Wide Association Study : GWAS) 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)}。ただし、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。

2. 方法

2.1 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) および大阪大学 (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用

いた。

2.2 SNP タイピング

髄膜腫患者の血液からゲノム 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ントを取り除く目的で、Hardy-Weinberg 平衡から有意に乖離したバリエントを除外した。また、call rate が 99%未満のバリエント、およびデータセット全体における minor allele counts が 5 以下のバリエントを除外した。これらのバリエント QC の結果、536,319 バリエントが解析に利用できる水準のデータとなった。

2.3 バリエントの 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利用し、ハプロタイプ推定ツール SHAPEIT4 および遺伝型 imputation ツール Minimac4 を用いてバリエントの imputation を行った。Rsq \geq 0.7、マイナーアレル頻度 \geq 0.5%をカットオフとして imputation したバリエントを選定した結果、常染色体上の 8,224,735 バリエント、X 染色体上の 224,820 バリエントが得られた。

2.4 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が実施可能なゲノム解析ツール fastGWA-GLMM を用いたうえで、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量に含めて実施した。X 染色体上のバリエントについて検定する際には、回帰分析モデルに性別を示す変数項をさらに加えて実施した。ゲノムワイド有意水準は $P=5.0 \times 10^{-8}$ を採用した。

3.結果

全ゲノム上のバリエントに関する 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 (図 1)。もっとも関連の強いバリエントは 15q25 上の rs35127183 であった ($P=2.4 \times 10^{-7}$ 、オッズ比 1.86 [95%信頼区間 1.47~2.35]) (表 1、図 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) と比較的頻度はまれであった。いずれについても、髄膜腫との関連は検出されなかった (rs11012732、P=0.30、rs2686876、P=0.37)。

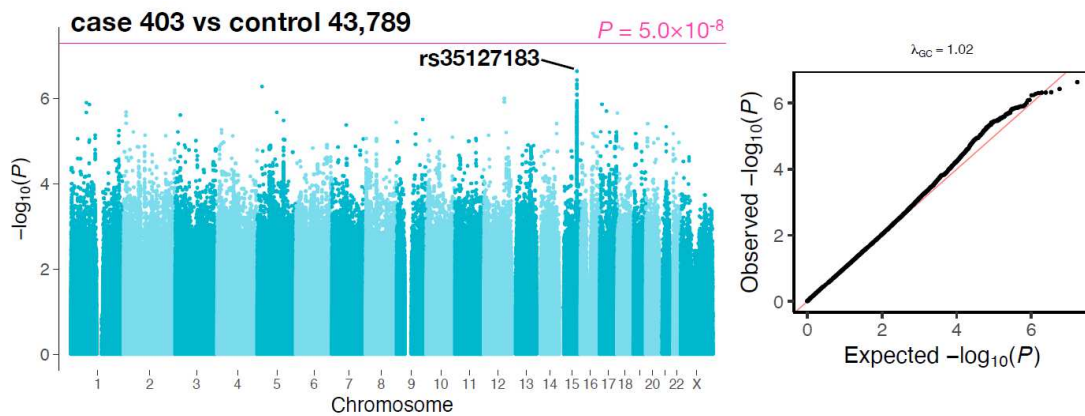


図 1 髄膜腫のゲノムワイド関連解析

- (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

表 1 もっとも強い関連を示したバリエント (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

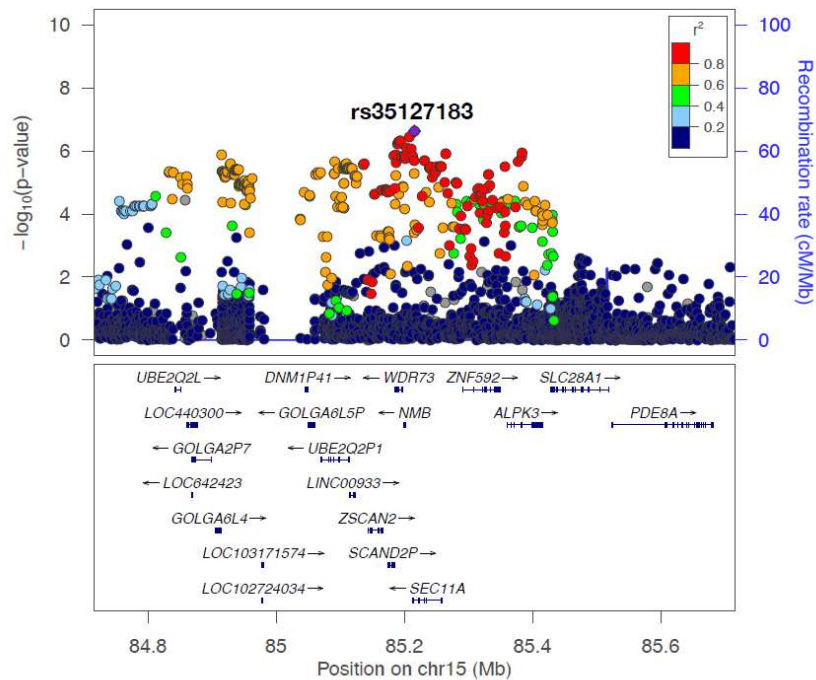


図2 もっとも強い関連を示した15番染色体長腕領域の関連プロ

4.考察

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、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。

これまで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きわめて低く、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・サンプルサイズの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および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、本研究成果はわが国の髄膜腫研究の発展に貢献するものと考えている。

5.結語

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つた。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きわめて低いため、関連性を評価することが困難であった。

6.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.

7.成果発表

本研究成果については現在投稿準備中である。