

心筋梗塞・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

心筋梗塞・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 ヒト機能ゲノミクス部門)

● はじめに

ヒトゲノム計画によるヒトゲノムの全塩基配列の決定、国際HapMap計画による各人種におけるSNPs(一塩基多型)やハプロタイプの決定およびtag SNPsの特定、またDNAマイクロアレイやSNPチップなどによる大量の情報解析技術の発達によって個人個人における遺伝情報の相違を検出することが可能になった。これらの情報を利用して、ある個人に最適な予防法や治療法を選択することをオーダーメイド医療(個別化医療, personalized medicine)という。これまでのオーダーメイド医療では、病気の種類や重症度に応じて投薬されていたが、薬効に個人差があり、副作用が現れる可能性もあった。ゲノム情報を基盤とする治療法では、投薬前から治療効果や副作用を予測できるため、安全かつ有効な治療が可能になると期待されている。また、疾患の病態が遺伝子レベルで解明され、疾患感受性遺伝子など個人の遺伝要因も明らかになりつつある。生活習慣病においても、20~70%は遺伝要因が関与しているため、遺伝子解析にもとづく分子生物学的アプローチは、生活習慣病の予防対策にも貢献すると期待される。またゲノム創薬による新薬の開発により、今後治療成績が飛躍的に向上する可能性もある。

著者らは、2002年から心筋梗塞・脳血管障害・高血圧・メタボリック症候群・2型糖尿病・肥満などの生活習慣病のオーダーメイド予防システムの開発を目的として、5,000例について多数の候補遺伝子多型群のゲノム疫学研究を行い、各疾患の発症と関連を示す多型群を同定した。さらにそれらの多型群に加え従来の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疾患ごとに開発した。本

稿では心筋梗塞および脳血管障害(アテローム血栓性脳梗塞, 脳出血, くも膜下出血)のオーダーメイド予防システムについて概説する。

● 循環器疾患および脳血管障害のゲノム研究の現状

家系または罹患同胞対における全ゲノム連鎖解析^{1)~3)}, ならびに非血縁関係の集団における関連解析^{4)~10)}によって、冠動脈疾患または心筋梗塞に関連する染色体の座位、あるいは種々の遺伝子およびその多型群が同定されている。しかし異なる人種ではゲノム多型の分布やアレル頻度、心筋梗塞の罹患率や環境因子(食事やライフスタイルなど)が異なり、日本人独自の遺伝要因の存在も考えられるため(例えば日本人は欧米人に比べ冠動脈攣縮を生じやすい)、日本人の心筋梗塞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である。また脳血管障害についても連鎖解析¹¹⁾や関連解析⁸⁾⁹⁾¹²⁾によって疾患発症に関連する有力な遺伝子がいくつか報告されている。欧米人と日本人では脳梗塞, 脳出血, くも膜下出血の頻度が異なるが(イントロダクションを参照), その理由としては食事などのライフスタイルをはじめとする環境因子が異なることに加え、遺伝因子の違いも考えられる。また、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。前者は動脈硬化が基盤となって発症するのに対し、後者は心房細動などの不整脈が原因で心房内に血栓が生じ、これが血流を介して脳血管を閉塞するために生じる。このように、この両者は病態がまったく異なるため、発症に関連する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。このように、冠動脈疾患・

心筋梗塞および脳血管障害については、有力な疾患感受性遺伝子がいくつか報告されてはいるが、いまだ不明な点も多く残されている。

● 心筋梗塞および脳血管障害のゲノム疫学研究

筆者らは公的データベースから血管生物学(高血圧、動脈硬化症、血管攣縮、動脈瘤など)、血小板機能、白血球・リンパ球・単球-マクロファージの機能、凝固・線溶系カスケード、神経学的因子(血圧・循環・内分泌機能調節など)、脂質・グルコース・ホモシステイン代謝、およびその他の代謝因子に関する包括的な観点にもとづき、心筋梗塞・アテローム血栓性脳梗塞・脳出血・くも膜下出血発症との関連が推定される152遺伝子を選択した。さらにそれらの遺伝子に存在する多型のなかで、エクソンやプロモータ領域、またはイントロンのスプライシング部位に位置し、遺伝子発現、またはたんぱく質の機能に影響を与える可能性が推定される多型を中心に202多型を抜粋した。202多型の遺伝子型は、PCR(polymerase chain reaction)とアリル特異的オリゴヌクレオチドプローブを用いたサスペンション・アレイ・テクノロジー(Luminex 100; Luminex, Austin, TX, G&Gサイエンス株式会社, 福島)によって解析した¹³⁾。

心筋梗塞のゲノム疫学研究では、3,483例(心筋梗塞1,192例, 対照2,291例)について検討した。多項ロジスティック回帰分析により年齢・性別・body mass index(BMI)・喫煙頻度および高血圧・糖尿病・高コレステロール血症の罹患頻度を補正した結果、14多型が心筋梗塞発症と有意に関連した。とりわけ5,10-methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)遺伝子677C→T(Ala222Val)多型、lipoprotein lipase(LPL)遺伝子1595C→G(Ser447Stop)多型、insulin promoter factor 1(IPF1)遺伝子-108/3G→4G多型は心筋梗塞発症と強く関連した¹⁴⁾。

脳血管障害のゲノム疫学研究では、脳血管障害1,141例(アテローム血栓性脳梗塞636例, 脳出血282例, くも膜下出血223例), 対照2,010例の計3,151例について検討した。脳梗塞例については心原性脳塞栓、

ラクーナ梗塞、さらに心房細動を有する症例を除外し、アテローム血栓性脳梗塞のみを選択した。脳出血症例については、出血性脳梗塞、脳腫瘍や外傷性の脳出血、動静脈奇形による脳出血、さらにワルファリン服用例を除外した。年齢、性別、BMI、喫煙頻度および高血圧・糖尿病・高コレステロール血症の罹患頻度を補正した多項ロジスティック回帰分析の結果、8多型がアテローム血栓性脳梗塞と、9多型が脳出血と、10多型がくも膜下出血とそれぞれ有意に関連した。とりわけinterleukin 6(IL6)遺伝子-572G→C多型はアテローム血栓性脳梗塞および脳出血の両者と強く関連した。また、uncoupling protein 3(UCP3)遺伝子-55C→T多型、tumor necrosis factor(TNF)遺伝子-863C→A多型、およびpolycystic kidney disease 1-like(PKD1-like)遺伝子G→A(Gly243Asp)多型がくも膜下出血と強く関連した¹⁵⁾。

● 心筋梗塞および脳血管障害のオーダーメイド予防システムの開発

著者らは、上述のゲノム疫学研究においてステップワイズ変数増加法による解析で疾患発症と有意($p < 0.05$)に関連した遺伝子多型群および年齢・性別・BMI・喫煙・高血圧・糖尿病・高脂血症を独立因子(交絡因子)とし、心筋梗塞、アテローム血栓性脳梗塞、脳出血またはくも膜下出血を従属因子として多項ロジスティック回帰分析を行い、p値、オッズ比、その95%信頼区間を各疾患について算出した。さらに個々の症例における発症予測確率(prediction probability)を算出し、その分布から心筋梗塞および脳血管障害の対照群をそれぞれ5段階に分類した。すなわち、もっとも予測確率の低い5%の群(低リスク群)、次に予測確率の低い20%の群(やや低リスク群)、予測確率が平均的な50%の群(平均的リスク群)、次に予測確率の高い20%の群(やや高リスク群)、もっとも予測確率の高い5%の群(高リスク群)である。各疾患群をこの5段階分類にあてはめると、明らかに分布は右方(高リスク)に偏位していた。したがって、疾患発症を予防するためには発症予測確

要因(危険度)	無	有		要因(危険度)	無	有
従来の危険因子				従来の危険因子		
高脂血症(3.16)	1	3.16		高脂血症(3.16)	1	3.16
糖尿病(2.62)	1	2.62		糖尿病(2.62)	1	2.62
高血圧(2.20)	1	2.20		高血圧(2.20)	1	2.20
喫煙(1.71)	1	1.71		喫煙(1.71)	1	1.71
遺伝因子				遺伝因子		
FABP2(1.34)	1	1.34	生活習慣の改善 → 薬物治療	FABP2(1.34)	1	1.34
AKAP10(1.93)	1	1.93		AKAP10(1.93)	1	1.93
IPF1(0.72)	1	0.72		IPF1(0.72)	1	0.72
GP1BA(1.36)	1	1.36		GP1BA(1.36)	1	1.36
MTHFR(1.40)	1	1.40		MTHFR(1.40)	1	1.40
ADIPOQ(1.25)	1	1.25		ADIPOQ(1.25)	1	1.25
F7(0.70)	1	0.70		F7(0.70)	1	0.70
TNF(0.78)	1	0.78		TNF(0.78)	1	0.78
LPL(0.79)	1	0.79		LPL(0.79)	1	0.79
TNFSF4(1.26)	1	1.26		TNFSF4(1.26)	1	1.26
AGER(0.50)	1	0.50		AGER(0.50)	1	0.50
PAX4(0.65)	1	0.65		PAX4(0.65)	1	0.65
TNF(1.60)	1	1.60		TNF(1.60)	1	1.60
CETP(1.20)	1	1.20		CETP(1.20)	1	1.20
発症予測確率70%					発症予測確率15%	

図1
心筋梗塞のオーダーメイド
予防
提示症例における従来の危険
因子および遺伝因子は太字で
示す。

率を低下させることが重要である。これらの結果をもとに、心筋梗塞、アテローム血栓性脳梗塞、脳出血およびくも膜下出血のオーダーメイド予防システムを疾患ごとに開発した(心筋梗塞の遺伝的リスク検出法：特願2006-025514, 脳血管障害の遺伝的リスク検出法：特願2006-012907, 特願2006-244526)。

心筋梗塞のシミュレーションを図1に示す。本症例は高血圧・糖尿病・高脂血症および喫煙習慣を有している。14多型の遺伝子型は図中に示す。本症例の心筋梗塞の発症予測確率は70%であり、高リスク群に属する。カウンセリングの結果、高血圧・糖尿病・高脂血症を治療し、禁煙すると発症予測確率は15%に減少し、平均的リスク群となる。高血圧・糖尿病・高脂血症・喫煙などの影響は治療、あるいは改善したからといってすぐに消失するわけではないが、本システムにより生活習慣の改善や危険因子の治療効果をシミュレートすることが可能となり、心筋梗

塞のオーダーメイド予防に貢献できると考えている。

次にアテローム血栓性脳梗塞のシミュレーションを図2に示す。本症例は高血圧・糖尿病および喫煙習慣を有している。8多型の遺伝子型は図中に示す。本症例のアテローム血栓性脳梗塞の発症予測確率は43%であり、やや高リスク群に属する。カウンセリングの結果、高血圧・糖尿病を治療し、禁煙すると発症予測確率は8%に減少し、やや低リスク群となる。

脳出血のシミュレーションを図3に示す。本症例は高血圧を有している。9多型の遺伝子型は図中に示す。本症例の脳出血の発症予測確率は22%であり、やや高リスク群に属する。カウンセリングの結果、高血圧を治療すると発症予測確率は9%に減少し、平均的リスク群となる。

くも膜下出血のシミュレーションを図4に示す。本症例は高血圧および喫煙習慣を有している。10多型の遺伝子型は図中に示す。本症例のくも膜下出血

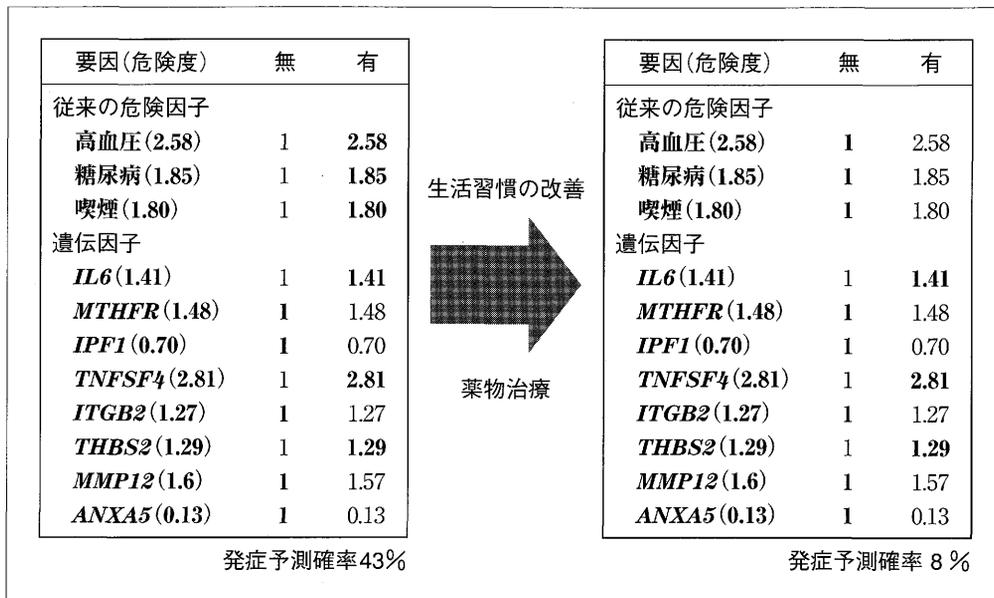


図2
アテローム血栓性脳梗塞のオーダーメイド予防
提示症例における従来の危険因子および遺伝因子は太字で示す。

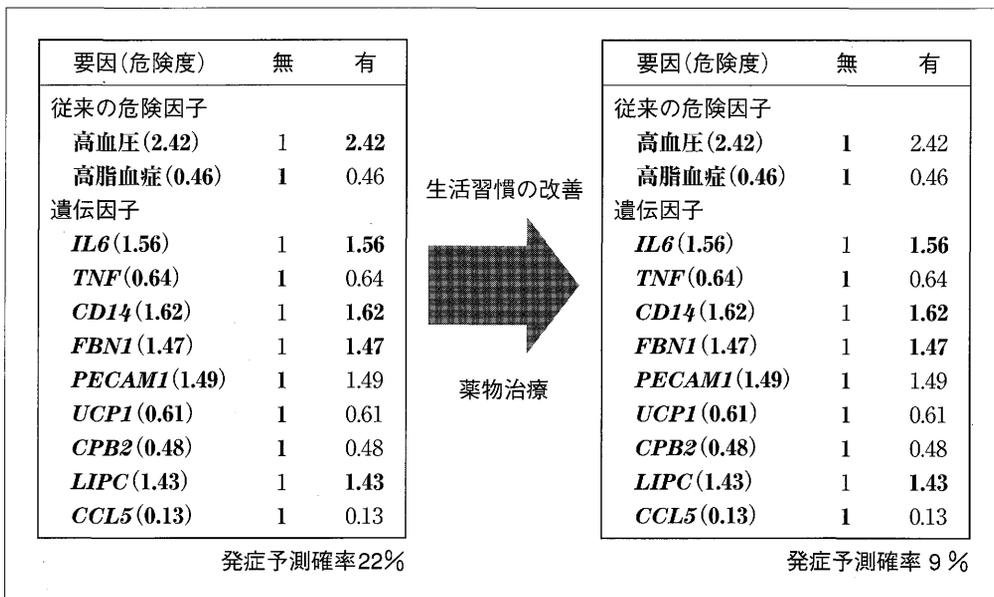


図3
脳出血のオーダーメイド予防
提示症例における従来の危険因子および遺伝因子は太字で示す。

の発症予測確率は35%であり、高リスク群に属する。カウンセリングの結果、高血圧を治療し、禁煙すると発症予測確率は17%に減少し、やや高リスク群となる。

心筋梗塞の場合と同様に、高血圧・糖尿病・喫煙などの影響は治療、あるいは改善によってすぐに消失するわけではないが、本システムにより生活習慣

の改善や危険因子の治療効果をシミュレートすることが可能となり、脳血管障害のオーダーメイド予防に貢献できると考えている。

● 今後の課題

本研究は、候補遺伝子アプローチであり、解析した多型数も202個と限られている。今後はゲノム全

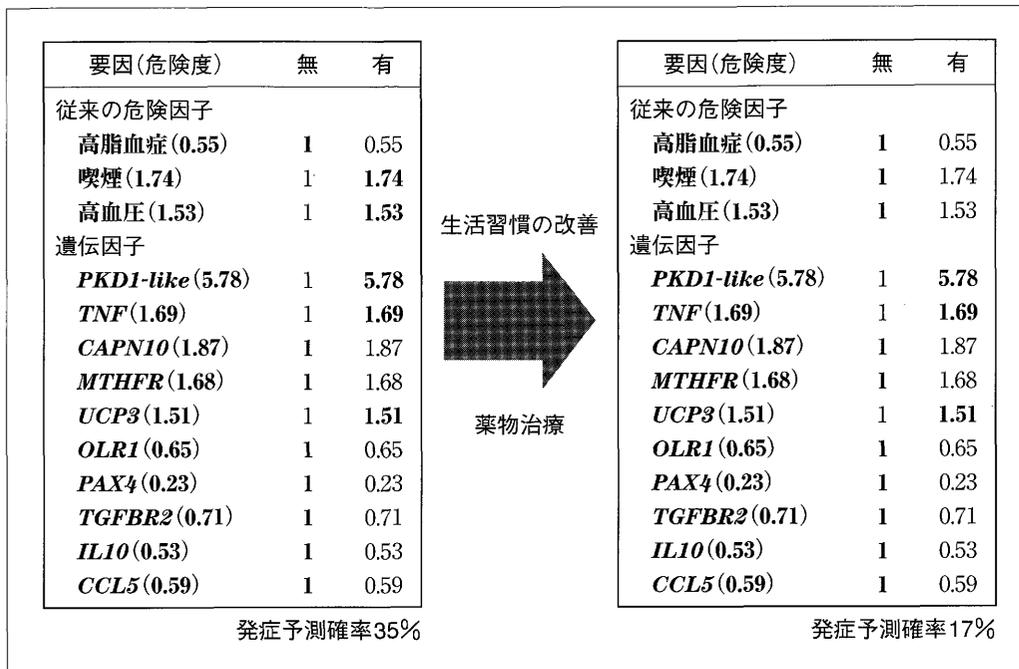


図 4
くも膜下出血のオーダーメイド予防
提示症例における従来の危険因子および遺伝因子は太字で示す。

領域関連解析のような包括的なアプローチが必要になる。著者らは、アテローム血栓性脳梗塞に関し Affymetrix社のSNPチップ(GeneChip Mapping 500K Set)を用いたゲノム全領域関連解析を現在行っており、より精度の高いオーダーメイド予防システムの開発を目指している。また、疾患発症との関連が認められた多型に関しては、異なる集団で再現性を確認する必要がある。疾患との関連を個々の多型で解析するだけでなく、ハプロタイプ・ディプロタイプ解析も必要である。さらに疾患発症と強い関連を示す多型群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たんぱく質の構造・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必要がある。また疾患発症と多型との関連についての人種差を解明するために、国際的な共同研究を行う必要がある。

● おわりに

将来は、病院、クリニック、または健診センターなどにおいて、希望者に対して従来の危険因子と遺伝子多型に関する検査を行い、心筋梗塞・アテロ-

ム血栓性脳梗塞・脳出血・くも膜下出血の発症リスクを予測するようになるだろう。結果については、医師や遺伝カウンセラーなどの判断を含めカウンセリングを行い、とりわけリスクが高い場合には、禁煙などの生活習慣の改善や、高血圧・糖尿病・高脂血症などの危険因子の早期治療により発症予測確率がどれだけ減少するかを明確にし、心筋梗塞・アテローム血栓性脳梗塞・脳出血・くも膜下出血の一次・二次予防を積極的に推進することが望まれる。とくに心筋梗塞や脳血管障害の家族歴のある人への適用が有効であると考えられる。また、多型の機能と病態との関連についてのエビデンスが蓄積されれば、個々の多型情報により積極的な予防を行うことも可能になる。その例として、血小板機能が亢進するような遺伝子多型を有する場合の少量アスピリン投与や、*MTHFR* 遺伝子多型を有する場合の葉酸投与などが考えられる。本システムにより、心筋梗塞や脳血管障害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の向上・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と考えている。

文 献

- 1) Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, et al : A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet* 2002 ; 30 : 210-214
- 2) Wang Q, Rao S, Shen GQ, et al : Premature myocardial infarction novel susceptibility locus on chromosome 1p34-36 identified by genomewide linkage analysis. *Am J Hum Genet* 2004 ; 74 : 262-271
- 3) Hauser ER, Crossman DC, Granger CB, et al : A genomewide scan for early-onset coronary artery disease in 438 families : the GENECARD Study. *Am J Hum Genet* 2004 ; 75 : 436-447
- 4) Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al : Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002 ; 347 : 1916-1923
- 5) Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al : Functional SNPs in the lymphotoxin- α gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002 ; 32 : 650-654
- 6) Ozaki K, Inoue K, Sato H, et al : Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin- α secretion *in vitro*. *Nature* 2004 ; 429 : 72-75
- 7) Shiffman D, Ellis SG, Rowland CM, et al : Identification of four gene variants associated with myocardial infarction. *Am J Hum Genet* 2005 ; 77 : 596-605
- 8) Helgadóttir A, Manolescu A, Thorleifsson G, et al : The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat Genet* 2004 ; 36 : 233-239
- 9) Cipollone F, Toniato E, Martinotti S, et al : A polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene as an inherited protective factor against myocardial infarction and stroke. *JAMA* 2004 ; 291 : 2221-2228
- 10) Helgadóttir A, Manolescu A, Helgason A, et al : A variant of the gene encoding leukotriene A4 hydrolase confers ethnicity-specific risk of myocardial infarction. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 68-74
- 11) Gretarsdóttir S, Sveinbjornsdóttir S, Jonsson HH, et al : Localization of a susceptibility gene for common forms of stroke to 5q12. *Am J Hum Genet* 2002 ; 70 : 593-603
- 12) Gretarsdóttir S, Thorleifsson G, Reynisdóttir ST, et al : The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet* 2003 ; 35 : 131-138
- 13) Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, et al : High throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* 2005 ; 57 : 717-729
- 14) Yamada Y, Matsuo H, Segawa T, et al : Assessment of genetic risk for myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2006 ; 96 : 220-227
- 15) Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, et al : Genetic risk for ischemic and hemorrhagic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 ; 26 : 1920-1925