

心房細動の遺伝的基盤を解明

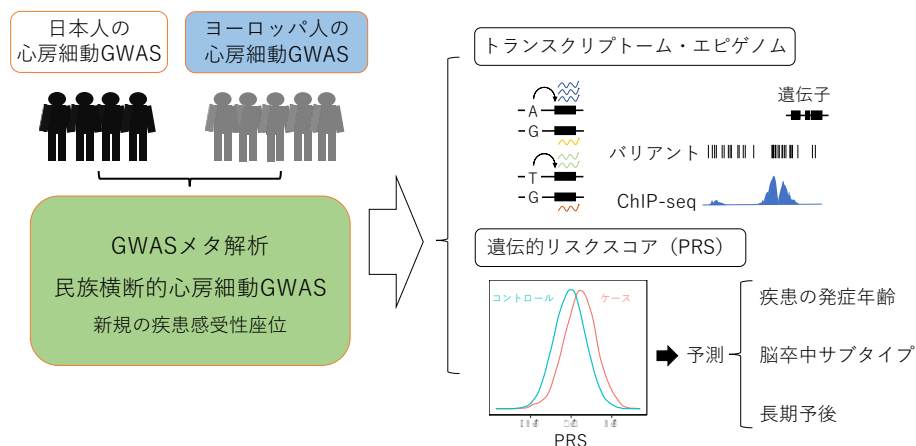
—大規模ゲノムデータによる病態解明と遺伝的リスクスコア構築—

理化学研究所（理研）生命医科学研究センター循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チームの伊藤薫チームリーダー、宮澤一雄訪問研究員、東京大学大学院医学系研究科の小室一成教授、野村征太郎特任助教、伊藤正道特任助教、東京大学大学院新領域創成科学研究科の鎌谷洋一郎教授、京都大学大学院医学研究科の沖真弥特定准教授、国立長寿医療研究センターの尾崎浩一メディカルゲノムセンター長（理研生命医科学研究センター循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム客員主管研究員）らの共同研究グループは、大規模なゲノムデータから心房細動^[1]のゲノムワイド関連解析（GWAS）^[2]を行い、疾患の遺伝的基盤に基づく新しい知見を明らかにしました。

本研究成果は、心房細動の病態解明から新しい治療ターゲットの同定に加え、個人のゲノム情報に基づく精密化医療^[3]の実現に貢献すると期待できます。

今回、共同研究グループは、バイオバンク・ジャパン^[4]のゲノムデータを用いた日本人の GWAS とヨーロッパ人の GWAS をメタ解析^[5]した世界最大規模の民族横断的 GWAS を実施し、新しい疾患感受性座位^[6]を同定しました。さらに ChIP-seq^[7]のデータを用いた解析では、転写因子^[8]ERRg が心房細動の関連遺伝子の発現調整と関わることを明らかにしました。また、GWAS の結果から構築した遺伝的リスクスコア（PRS）^[9]が疾患の発症年齢や心原性脳梗塞^[10]の予測、さらに脳梗塞死を含む心血管死の予後予測にも有用であることを示しました。

本研究は、科学雑誌『*Nature Genetics*』オンライン版（1月19日付：日本時間1月19日）に掲載されました。



民族横断的な大規模ゲノムデータを用いた心房細動のゲノム解析

背景

心房細動は、心筋細胞の異常な電氣的興奮による不規則で速い心臓の拍動から、動悸や息切れの症状を呈する不整脈です。高齢化社会に伴い有病率は増加しており、また心臓の機能低下や血栓形成による心不全や脳梗塞などを引き起こすことから、心房細動に対する診療の向上は医学的また医療経済的に重要な問題になっています。

心房細動は環境要因に遺伝要因も加わった多因子疾患であることが知られており、近年は大規模なコホートデータを用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、多くの疾患感受性座位が同定されてきました。しかし、これら疾患感受性座位の多くがタンパク質をコードしないノンコーディング領域に存在するため、疾患発症につながる遺伝子やその転写制御に関するメカニズムは十分に解明されていません。さらに、GWAS などのゲノム解析の結果は実際の臨床診療に反映されていないのが現状です。

そこで本研究では、バイオバンク・ジャパンのデータを用いた心房細動 GWAS に加えて、2018 年に報告されたヨーロッパ人の心房細動 GWAS^{注1)} とフィンランド人の FinnGen^[11] コホートで報告された GWAS^{注2)} を組み合わせたメタ解析を行いました。そこにエピゲノム^[12] やトランスクリプトーム^[13] のデータを統合して、心房細動に関連する遺伝子やその転写制御の解明を試みました。さらに、メタ解析の結果から疾患予測に有用な遺伝的リスクスコア (PRS) を構築し、心房細動に関連するさまざまな病態との関連解析を行うことで、PRS が臨床実装に資する性能を持つか評価しました。

注1) Nielsen, J.B. *et al*, Biobank-driven genomic discovery yields new insight into atrial fibrillation biology. *Nat Genet*. 2018;50:1234-1239.

注2) FinnGen; <https://www.finnngen.fi/en>

研究手法と成果

まず、共同研究グループはバイオバンク・ジャパンのデータから約 15 万人の臨床データとゲノムデータを用いて、日本人を対象とした心房細動の GWAS を行い、以前の GWAS で検出されなかった五つの疾患感受性座位を同定しました。この中には、ヨーロッパ人では報告されていない遺伝的多型 (バリエーション)^[2] が含まれており、特に *SYNE1* 遺伝子の近傍に位置するバリエーションは SpliceAI^[14] というアルゴリズムを用いた解析で、*SYNE1* 遺伝子の RNA スプライシング^[14] に関わることが予測されました。*SYNE1* 遺伝子は核膜と細胞質の構造に重要な核膜タンパク質をコードしており、その遺伝子異常は拡張型心筋症^[15] で報告されていることから、心房細動と拡張型心筋症に共通した疾患発症メカニズムが推測されました。そこでこの結果に、ヨーロッパ人で最大となる GWAS とフィンランドの大規模ゲノムコホートである FinnGen のデータを用いた GWAS を組み合わせた民族横断的 GWAS のメタ解析を実施し、33 の新しい座位を含む 150 の疾患感受性座位を同定しました。

続いて、これらの疾患感受性座位がどの遺伝子を介して心房細動の発症につ

ながるかを調べるため、各組織での遺伝子発現量をまとめた国際プロジェクト GTEX^[16]のデータベースを用いて、トランスクリプトームワイド関連解析^[17]を実施しました。心臓の左心耳（左心房内にある袋状の構造をした心筋組織）と左心室における遺伝子発現量を用いた解析では、それぞれ 132 の遺伝子、127 の遺伝子が心房細動と有意な関連を認めました。この中には、以前から関連遺伝子と報告されているイオンチャネル（細胞の生体膜にあるタンパク質で、イオンを透過させることで心筋細胞の電氣的興奮が発生する）や転写因子の遺伝子に加えて、免疫反応に関わる *IL6R* 遺伝子が含まれていました。この結果から、*IL6R* 遺伝子を含む炎症反応のプロセスが疾患の病態に関わっていることが示唆されました。

次に、心房細動の関連遺伝子の発現調整に関わる転写因子を同定するため、1,028 の転写因子に対する ChIP-seq の実験データを集積した ChIP-Atlas^{注3)}のデータベースを使用しました。各転写因子の結合部位を調べた 15,109 の ChIP-seq データと GWAS の結果から得られた疾患感受性座位のデータからエンリッチメント解析^[18]を行い、転写因子 *ERRg* が心房細動の疾患感受性座位と有意な関連を認めました（図 1）。*ERRg* が関連遺伝子の発現に関わっているかを調べるため、実際に iPS 細胞^[19]由来の心筋細胞を用いた機能解析も行いました。*ERRg* のインバーサゴニスト（逆作用剤）^[20]を投与した iPS 心筋細胞では、イオンチャネルをコードする *CAML2* 遺伝子、*HCN4* 遺伝子、*KCND3* 遺伝子、*KCNH2* 遺伝子、*KCNJ5* 遺伝子、*KCNN2* 遺伝子、*KCNN3* 遺伝子、またサルコメア（筋肉が収縮する一つの単位）を構成する *NEBL* 遺伝子と *TTN* 遺伝子の発現量が有意に低下しました。

注 3) ChIP-Atlas; <https://chip-atlas.org/>

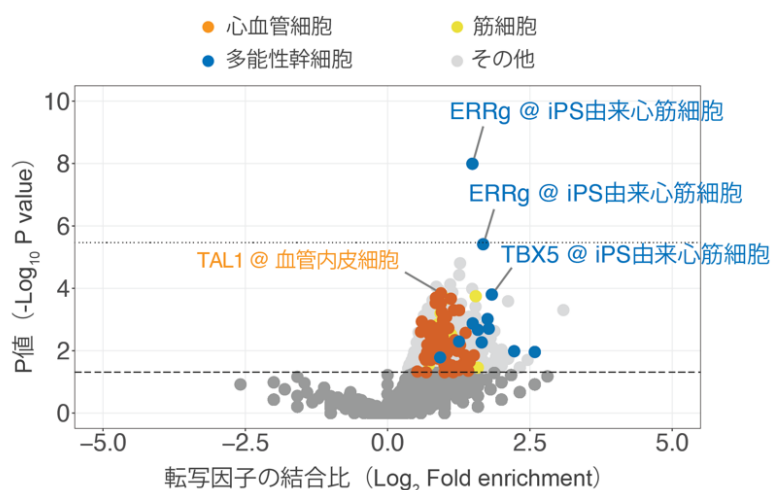


図 1 ChIP-Atlas を用いた心房細動ゲノムワイド関連解析 (GWAS) と転写因子の関連

ChIP-Atlas に集積されている ChIP-seq データを用いて、心房細動の GWAS で検出された疾患感受性座位とそれ以外の領域で結合する転写因子の比（エンリッチメント）とその P 値（統計学的に有意かどうか）を調べた。図の各ポイントは個々の ChIP-seq の実験データを示している。エンリッチメント解析の結果、iPS 細胞由来の心筋細胞における転写因子 *ERRg* が有意に結合することが分かった。

最後に、GWAS の結果を用いて疾患の予測に有用な PRS の構築を行いました。PRS は導出元の GWAS によってその性能が大きく異なるため、本研究で利用した三つのコホートに対して単独もしくは複数のメタ解析をした計 7 パターンの GWAS から PRS を導出しました。その結果、単民族（単独コホート）の GWAS から導出した PRS は性能評価を行う集団と一致していればサンプルサイズによらず性能が高いことが分かりました（図 2 左）。また、単民族の GWAS から導出した PRS に比べて、多民族（メタ解析）の GWAS から導出した PRS は予測性能が高く、さらにサンプルサイズが最も多くなる三つのコホートのメタ解析から導出した PRS が最も高い予測性能を示すことが分かりました（図 2 右）。

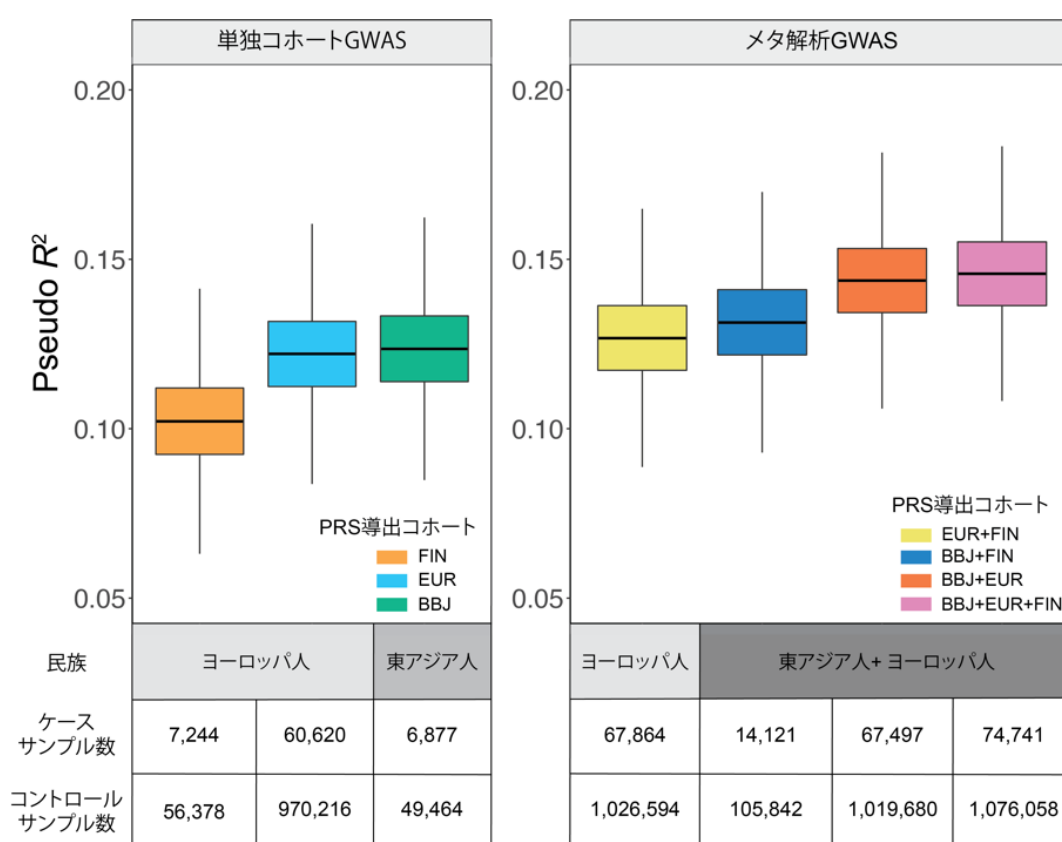


図 2 各 GWAS から導出した心房細動の遺伝的リスクスコア（PRS）の性能評価

バイオバンク・ジャパンのサンプルを用いた GWAS（BBJ）とヨーロッパ人を対象とした心房細動 GWAS のメタ解析（EUR）、FinnGen コホートを用いた心房細動 GWAS（FIN）、またそれぞれの組み合わせから導出した PRS の性能をバイオバンク・ジャパンのサンプルに当てはめて性能評価を行った。

- （左）単独コホートの GWAS から導出した PRS は、導出元の民族と当てはめる民族が一致していればサンプルサイズが少なくても性能が高いことが分かった。
- （右）メタ解析の GWAS から導出した PRS は、単独コホート GWAS の PRS よりも性能は高く、さらに複数の民族を組み合わせることでサンプルサイズが最も多くなる GWAS の PRS（ピンク）は、全ての PRS の中で最も性能が優れていた。

さらに PRS の特性を調べるため、心房細動と関連する病態と PRS の関連解析を行いました。最も性能の良かった PRS をバイオバンク・ジャパンの心房細

動サンプルに適用したところ、PRS と心房細動の発症年齢で相関が認められ、PRS が高くなるほど心房細動の発症年齢が若くなることが分かりました。次に、心房細動と診断されていないコントロールサンプルに PRS を適用したところ、PRS が脳梗塞と有意な関連を示しました。特に、心原性脳梗塞と PRS の間で強い関連が認められました。これは、心房細動の PRS が臨床的に診断されていない潜在性の心房細動や血栓形成を引き起こすような病態を予測していると推測されました。そして、バイオバンク・ジャパンのサンプルの長期フォローアップデータを用いて心房細動の PRS と予後の関連解析を行いました。その結果、心房細動の PRS と心血管疾患による死亡に有意な関連が示され、特に脳梗塞による死亡と強い関連があることが分かりました（図 3）。

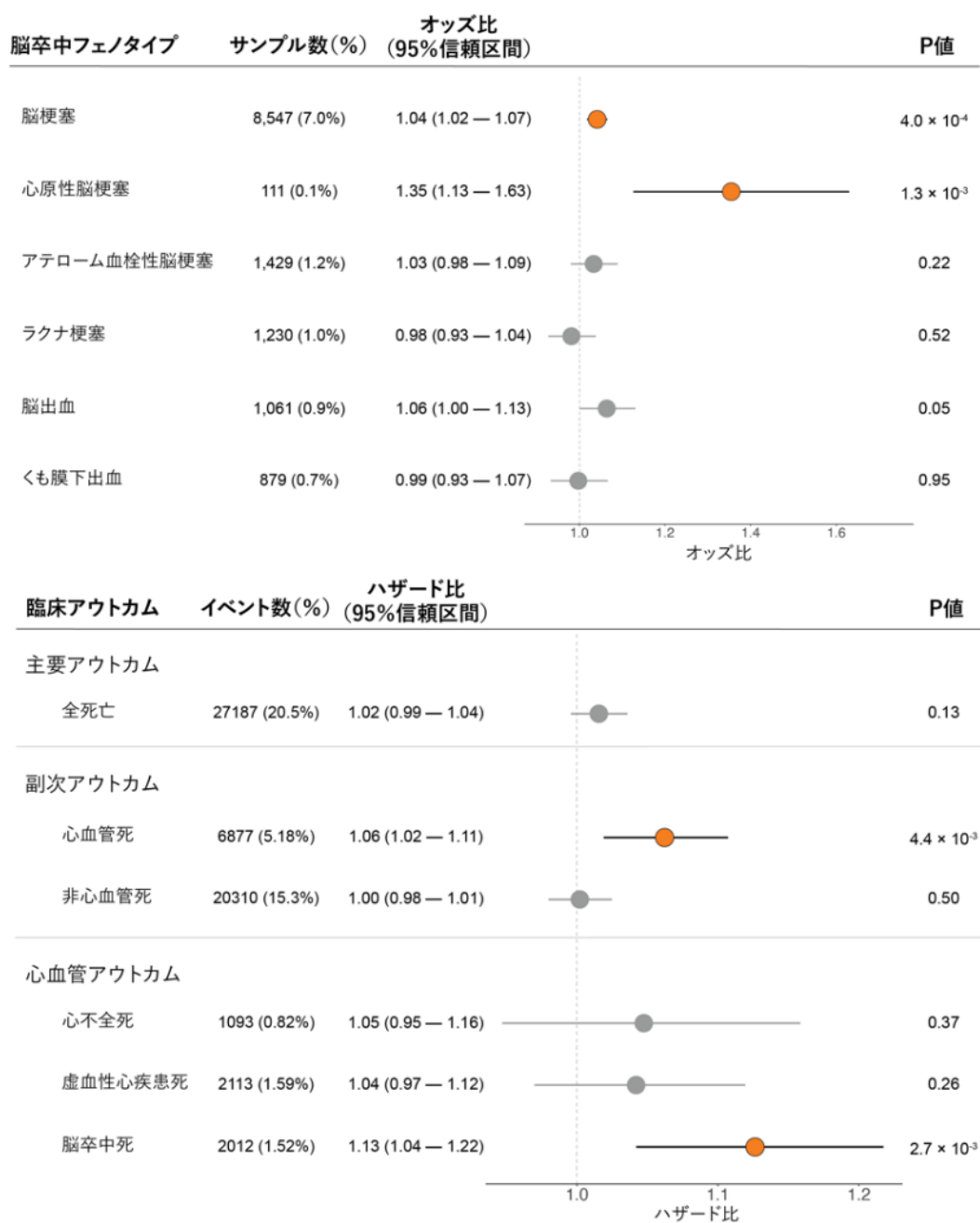


図 3 心房細動 PRS と脳卒中フェノタイプ（上段）、臨床アウトカム（下段）の関連

- （上段）心房細動 PRS を心房細動と診断されていないコントロールサンプルに適用し、心房細動 PRS と脳卒中の各フェノタイプ（表現型）との関連をオッズ比（心房細動 PRS が上昇したときの各脳卒中フェノタイプを有するリスクの大きさ）と P 値（統計学的に有意な結果かどうか）を用いて示した。その結果、心房細動 PRS は脳梗塞との有意な関連があり、特に心原性脳梗塞とは強い関連があることが分かった。
- （下段）長期フォローアップデータを用いて、心房細動 PRS と臨床アウトカムの関連をハザード比（心房細動 PRS が上昇したときの各臨床アウトカムを発症するリスクの大きさ）と P 値（統計学的に有意な結果かどうか）を用いて示した。その結果、心房細動 PRS は心血管死との有意な関連を示し、特に脳卒中による死亡との強い関連が認められた。

今後の期待

本研究は大規模なゲノムデータを用いた解析に加えて、遺伝子発現や転写因子のデータを組み合わせることで、心房細動の発症に関連する新しい遺伝的基盤を明らかにしました。これらの結果は、疾患の病態を示すバイオマーカーや新しい治療ターゲットの開発につながると期待できます。

さらに、ゲノムデータに基づいた PRS は疾患予測に限らず、さまざまな病態や予後の予測に有用であることが示されました。今後、ゲノム解析の結果を実際の診療に応用することで、個人の病態に応じた精密化医療の実現に貢献すると期待できます。

論文情報

<タイトル>

Cross-ancestry genome-wide analysis of atrial fibrillation unveils disease biology and enables cardioembolic risk prediction

<著者名>

Kazuo Miyazawa, Kaoru Ito, Masamichi Ito, Zhaonan Zou, Masayuki Kubota, Seitaro Nomura, Hiroshi Matsunaga, Satoshi Koyama, Hirotaka Ieki, Masato Akiyama, Ryo Kurosawa, Hiroki Yoshida, Kouichi Ozaki, Yoshihiro Onouchi, BioBank Japan Project, Atsushi Takahashi, Koichi Matsuda, Yoshinori Murakami, Hiroyuki Aburatani, Michiaki Kubo, Yukihide Momozawa, Chikashi Terao, Shinya Oki, Hiroshi Akazawa, Yoichiro Kamatani, and Issei Komuro

<雑誌>

Nature Genetics

<DOI>

10.1038/s41588-022-01284-9

補足説明

[1] 心房細動

心臓の一部である心房での異常な電気興奮により心房が小刻みに震えて起きる不整脈のこと。脈の乱れから動悸や息切れ、胸の不快感などを呈する。また心房の機能低下から、脳梗塞のリスクとなる血栓の形成を引き起こす。

[2] ゲノムワイド関連解析 (GWAS)、遺伝的多型 (バリエーション)

ゲノムワイド関連解析 (GWAS) は、ゲノムを構成する DNA の塩基配列のうち、個体間で異なるゲノム上の部位である遺伝的多型 (バリエーション) と疾患発症の関連を網羅的に検索する手法である。疾患の罹患状態とバリエーションの有無について、年齢や性別などを考慮しながら統計学的に解析する。2002 年に理化学研究所が世界に先駆けて報告した手法であり、疾患以外にも身長や体重などさまざまな形質で報告されている。GWAS は Genome-Wide Association Study の略。

[3] 精密化医療

ゲノム情報に基づいた遺伝的要因を考慮し、同一疾患でも個人の病態やリスクに応じた層別化を行うことで、それぞれの患者に最適化した医療の提供を目指すもの。

[4] バイオバンク・ジャパン

日本人集団 27 万人を対象とした、大規模な疾患バイオバンク。日本医療研究開発機構の「オーダーメイド医療の実現プログラム」を通じて実施され、ゲノム DNA や血清サンプルを臨床情報と共に収集し、研究者へ提供している。2003 年から東京大学医科学研究所内に設置されている。

[5] メタ解析

複数の独立した研究から得られた解析結果を統合するための統計学的手法。

[6] 疾患感受性座位

ゲノム解析の結果から目的の疾患と有意な関連を示す複数のバリエーションが位置するゲノム上の領域。

[7] ChIP-seq

メチル化などのヒストン修飾や転写因子の DNA 結合部位をゲノム領域全体で網羅的に検出する技術。特異的抗体を用いた免疫沈降により目的の DNA 断片を精製し、次世代シーケンサーで解析する。

[8] 転写因子

DNA に結合して目的の遺伝子の転写を促進または抑制するタンパク質。遺伝子上流にあるプロモーター部位を認識して RNA ポリメラーゼの足場となるタンパク質複合体を形成するほか、エンハンサー部位に結合して転写の効率の調節に関わる。

[9] 遺伝的リスクスコア (PRS)

GWAS の結果に基づいて、ゲノム全体に分布する多数のバリエーションの影響を足し合わせることで計算される。疾患の発症などを予測するスコアとして注目されている。PRS は Polygenic Risk Score の略。

[10] 心原性脳梗塞

心臓で形成された血栓が流れて、脳の血管を閉塞して起きる脳梗塞。脳梗塞全体の中で 15~20% を占める。心原性脳梗塞の多くは心房細動による血栓形成が原因となる。

[11] FinnGen

フィンランドで実施されているバイオバンク機構。国家規模で行われているプロジェクトで、50 万人を目標に臨床情報やゲノムデータを収集している。

[12] エピゲノム

DNA のメチル化や、ヒストンのメチル化・アセチル化といった化学修飾の総体。遺伝子発現の調節機構に関わる。

[13] トランスクリプトーム

一つのゲノム、または特定の細胞や組織、器官で生産される転写産物（転写によって合成された RNA）の総体を指す。

[14] Splice AI、RNA スプライシング

DNA から転写された RNA はエクソンとイントロンと呼ばれる 2 種類の領域を含んでいるが、このうちタンパク質への翻訳に不要なイントロンの領域は取り除かれ、成熟した RNA となる。このイントロンが除去される過程を RNA スプライシングと呼ぶ。Splice AI は、異常な RNA スプライシングに関連するバリエーションの予測に有用な深層学習のアルゴリズムである。各バリエーションに対して異常な RNA スプライシングを引き起こす確率を 0 から 1 までのスコアで与える。

[15] 拡張型心筋症

心臓の筋肉の収縮能力が低下し、特に全身に血液を送り出す左心室が拡張する心臓疾患。適切な治療を行っても慢性的に心不全の状態が持続し、さらに心臓の拡大が徐々に進行し、最終的には心臓移植が必要となる難治性疾患である。

[16] GTEx

ヒトの組織特異的な遺伝子発現量とバリエーションに関する大規模なデータ構築を目指している国際プロジェクト。死後のドナーから臓器や組織の提供を受けて、ヒトの体組織ごとに遺伝子発現量に影響するバリエーションを網羅的に解析しデータを集積している。GTEx は Genotype-Tissue Expression の略。

[17] トランスクリプトームワイド関連解析

遺伝子発現量とバリエーションのデータに基づいて、ゲノム情報から遺伝子発現量を予測し、その予測値と目的の形質との関連を網羅的に探索する解析手法。

[18] エンリッチメント解析

ChIP-Atlas のデータを用いたエンリッチメント解析は、疾患感受性座位など目的のゲノム領域またはモチーフ配列に結合する転写因子などを調べる解析手法。

[19] iPS 細胞

ヒトを含む哺乳類の体細胞に *Oct3*、*Sox2*、*Klf4* 遺伝子などを導入し培養することで、全ての種類の組織や臓器の細胞に分化する能力を持つ人工多能性幹細胞のこと。iPS は induced Pluripotent Stem の略。

[20] インバーサアゴニスト（逆作動剤）

目的の物質や受容体に結合して、その活性を減弱させることで、細胞内シグナルの発生を抑制する物質。

共同研究グループ

理化学研究所 生命医科学研究センター

循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム

チームリーダー

伊藤 薫

(イトウ・カオル)

訪問研究員

宮澤一雄

(ミヤザワ・カズオ)

東京大学 大学院医学系研究科

内科学専攻 循環器内科学分野

教授

小室一成

(コムロ・イッセイ)

重症心不全治療開発講座
特任助教 野村征太郎 (ノムラ・セイタロウ)
先端臨床医学開発講座
特任助教 伊藤正道 (イトウ・マサミチ)
東京大学 大学院新領域創成科学研究科
メディカル情報生命専攻 複雑形質ゲノム解析分野
教授 鎌谷洋一郎 (カマタニ・ヨウイチロウ)
(理研 生命医科学研究センター ゲノム解析応用研究チーム 客員主管研究員)
京都大学大学院 医学研究科 創薬医学講座
特定准教授 沖 真弥 (オキ・シンヤ)
国立長寿医療研究センター 研究所
メディカルゲノムセンター 疾患ゲノム研究部
センター長/部長 尾崎浩一 (オザキ・コウイチ)
(理研 生命医科学研究センター
循環器ゲノミクス・インフォマティクス研究チーム 客員主管研究員)

研究支援

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）ゲノム医療実現バイオバンク利活用プログラム「マルチオミックス連関による循環器疾患における次世代型精密医療の実現（研究代表者：小室一成）」、同循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業「心房細動・重篤合併症予防を実現する多層的・統合的エビデンス創出研究（研究代表者：伊藤薫）」による助成を受けて行われました。