

## 第11回学術賞受賞レポート

# ゲノム・オミックス連関に基づく 心不全と循環器疾患研究の革新

伊藤 薫

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

### 1. はじめに

最初に日本心不全学会学術賞という大変な栄誉を賜り、私を指導し導いて下さった小室一成先生、赤澤宏先生、サイドマン御夫婦、また米国留学中にお力添え頂いた脇本博子先生、尾上健児先生、多田隼人先生、帰国後共同研究でご一緒している野村征太郎先生、研究室で一緒に仕事をしている仲間たち、また私の背中を押し続けてくれる千葉大学循環器内科の研修医の同期たち、そして私に関わって下さっている多くの先生方に心より感謝の気持ちを申し上げます。

私は小室一成先生が教授になられたその年に千葉大学循環器内科に入局し、また非常に個性的で魅力的な同期や先輩方にも恵まれ、良い環境でスタートを切ることができた。循環器臨床はとても面白くやりがいを感じ、研鑽の日々は刺激的であった。一方、小室先生に循環器基礎研究のサイエンスとしての魅力についてもご教授頂き、引き入れられる形で大学院にて心不全の分子メカニズムをテーマに、基礎研究の道へ足を踏み入れることになった。そのため振り返ると、最初から確固たる信念をもって研究を行っていたというよりも、自身の果たすべき役割を見つけるべく彷徨していたような状況であったように思う。しかし、患者様を診療し、研究を進めて行き、多くの先生方と関わっていく過程で、ぼんやりとした方向性が明確になり、そして自身を捧げるべき使命を確信するに至った。

### 2. 循環器内科医から基礎研究へ、基礎研究からゲノムへ

初期研修での日々では循環器臨床の魅力に昂揚する日々であったが、当時どんなに手を尽くしても指の間をすり抜けて失われてしまう命も目の当たりにし、これを何とかするためにmissing pieceを埋める必要性を強く感じた。そこで、臨床医学とは別の方向を持つ基礎研究でそれを成し遂げることはできないかと考え、心不全モデルマウスの分子生物学的研究を博士課程の課題として選んだ。基礎研究の“き”の字も知らない状態で飛び込んだ大学院生である私の面倒を見た小室先生、赤澤先生には大変な苦勞をかけたと反省しているが、分子生物学という臨床医学とは全く異なるアプローチは、私たちが通常視ることのできない細胞内での変化やシグナル伝達、そして生命という仕組みを学ぶのに大変有意義であった<sup>1)</sup>。またモデル動物を使っているため比較的強い介入も可能であり、疾患研究のダイナミックな側面も体験できたのは、その後の研究に大いに役に立った。

このような疾患マウスモデルでは、疾患を一般化しメカニズムの解明を行っていた。しかし、臨床では同じような状態、例えば重度の僧帽弁逆流があり臨床的背景もほとんど変わらないような患者様が、一方はあつという間に重症心不全を発症したり、一方は手術を拒否しつつけて何年も経っているにも関わらずスタスタと元気に外来に歩いて通われる様をみるにあたって、このような差はどこから生まれるのだろうか、と強い疑問を持った。この違いを説明できれば個人に即した治療が可能になるのではないかと考え、個人の基盤となる性質を規定するヒトゲノム研究に興味を持った。

この当時、循環器疾患のヒトゲノム研究の大家は、世界で初めての心筋症遺伝子を同定したハーバード大学医学部遺伝学部門のサイドマン御夫婦(旦那様のジョン・サイドマン博士、奥様のクリスティーン・サイドマン博士)であった。そのためゲノム研究の“げ”の字も知らない状態でサイドマンラボに留学したが、幸いデジタルデータとしてゲノム解析をするためのコンピュータのハード・ソフトウェアの両方、そしてプログラミング言

語などは小学校高学年のときから趣味として延々と続け得意分野であったため、何とかなるだろうという楽観的な目測もあった。が、これは後に裏切られることとなる。

### 3、単一遺伝子疾患のゲノム研究

留学中は、基本的にゲノム初心者には当然新しいデータが廻ってくることはなく、論文が出たデータから自分で新しい課題を考えたり、長らく塩漬けになっていたテーマを頂いた。この中で、アフリカ系アメリカ人の約14%が持つと言われているAPOL1遺伝子のgenetic variantが既報の腎機能だけでなく心血管疾患発症にも影響すること<sup>2,3)</sup>、また先天性心疾患のde novo構造多型解析ではNKX-2.5やGATA4など心筋の発生に必須の遺伝子だけでなく、いくつかの新しい遺伝子とその発症に関与していることを明らかにした<sup>4)</sup>。このような解析を通じて、(既に解析済のデータであるため)思考を巡らせながらデータを丁寧に視ることが大切であること、またそのような中に今まで誰も気づかなかった真実が隠されておりそれを最初に見つけたのは自分であるという科学者としての喜びを知ることができた。一方、大規模な集団解析をするにあたってプログラミングだけでは片手落ちで医学応用統計学が必須であることを痛感し、ボスの了解を得つつハーバード大学のポストドクでも通えるコースを専攻し学び直しをした。

また、留学中の研究で特に印象深かったのが1973年のJAMAに報告された原因不明の突然死の家系の解析で、常染色体顕性の遺伝様式を示していたが原因遺伝子変異が長らく同定できずに、私に順番が廻ってきたものであった。当然、通常のアプローチでは答えにたどり着くことはかなわず、データと患者様のカルテを熟読する日々が続いた。当時のDNAの変化がアミノ酸置換または転写の中断に至って疾患を発症するという

常識的な考え(図1)では連鎖解析やエキソムシーケンスなどの手法を用いても、LMNA遺伝子のSynonymous mutation c.768G>A(p.V256syn アミノ酸の置換しないため良性と解釈)しか残らなかった。しかし、このような研究に取り組んでいる過程で、子々孫々伝わる致命的な病態を引き起こす遺伝子変異を持つ家系がその原因を知りたいという悲願を知ることとなり、その無念を想像するにここで諦めてはいけないという思いに駆られた。そのため、ゲノム変化が引き起こす様々なメカニズムを具に調べ、RNAのスプライシング異常という当時全くメジャーでなかったメカニズムに焦点をあて具体的に何が起きているのかの解明を試みた。その結果、LMNA c.768G>Aは異常RNAスプライシングを惹起する結果、LMNAタンパク質の部分的

図1. タンパク質コード領域の遺伝子変異解釈の当時のコンセンサス

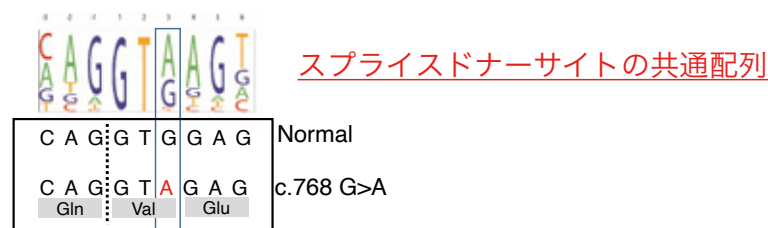


欠損を引き起こすことを示した(図2)。この結果をボスのジョンに見せたところ最初は懐疑的であり、RT-PCR産物を電気泳動で分離して切り出しサンギークエンスをして配列情報まで示して、納得してもらった記憶がある。また、同様の遺伝子変異を網羅的に検出するためにMinigeneを出来るだけ手間なく合成し、次世代シーケンサーで多数を一度に処理し機械学習で判別できる系を開発し<sup>5)</sup>、この系はいわゆる臨床重要度が不明であるVariant of Unknown Significance(VUS)の解明の一助となった<sup>6,7)</sup>。これは、私自身の研究テーマの変遷はあったが、ウェット研究とドライ研究両方学ぶ機会が

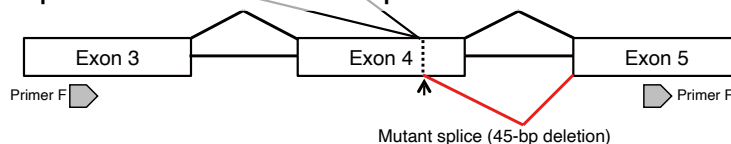
あったからこそできた成果であった。また2011年当時、機械学習はバイオデータ解析においてあまり脚光を浴びていなかったが、今後データ量が増大・複雑化しmanuallyに処理できるキャパシティを超えることが予想され、こちらも近くのMITやハーバード本学、Microsoft NERD センターで開催される勉強会などで学び直しをした。この予想と対応が正解であったことは、現在の機械学習を含む人工知能の盛り上がりから証明されたと思われる。

図2. Synonymous Variantが異常なSplice Donor Siteを作り出した

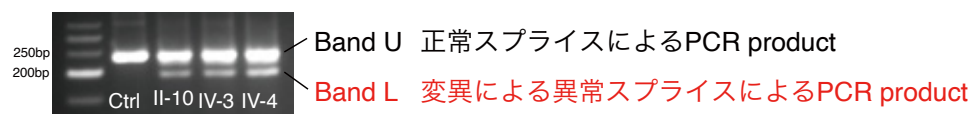
### ■ Synonymous Mutation周辺配列とスプライスサイト共通配列



### ■ 異常Splice Donor Siteは45bpのTruncationを起こす



### ■ RT-PCR



## 4. 多因子疾患のゲノム解析と マルチオミックス解析、個別化医療に向けて

留学中は集団遺伝学と家系解析の両方を行ったが、家系解析では1人1人を非常に詳しく観察する。上記のLMNA遺伝子変異の家系では同じ遺伝子変異を持つのに片や40歳で突然死、片や70歳まで普通に生活しているという異質性を見る機会があり、その差を非常に疑問に思った。メンデル遺伝病の遺伝子変異には、どの程度発症するかどうかを指す単語として“浸透率”というものがあるが、これは個々の遺伝子変異に当てはめられるものであ

て、同一の遺伝子変異でこのように浸透率が大きくバラつくのには何が別の要因があると考えた。当時、日本の理化学研究所の田中、尾崎らが心筋梗塞患者に用いたゲノムワイド関連解析(Genome-wide association study: GWAS)が、家系解析では同定されないような効果が小さいが一般人口での割合が大きい、いわゆるcommon variantを同定する手法として確立されていた。そこでcommon variantがメンデル遺伝病を引き起こすrare variantとは別に、疾患の多様性を規定しているのではないかと考えた。そのため留学後、GWAS研究のメッカで

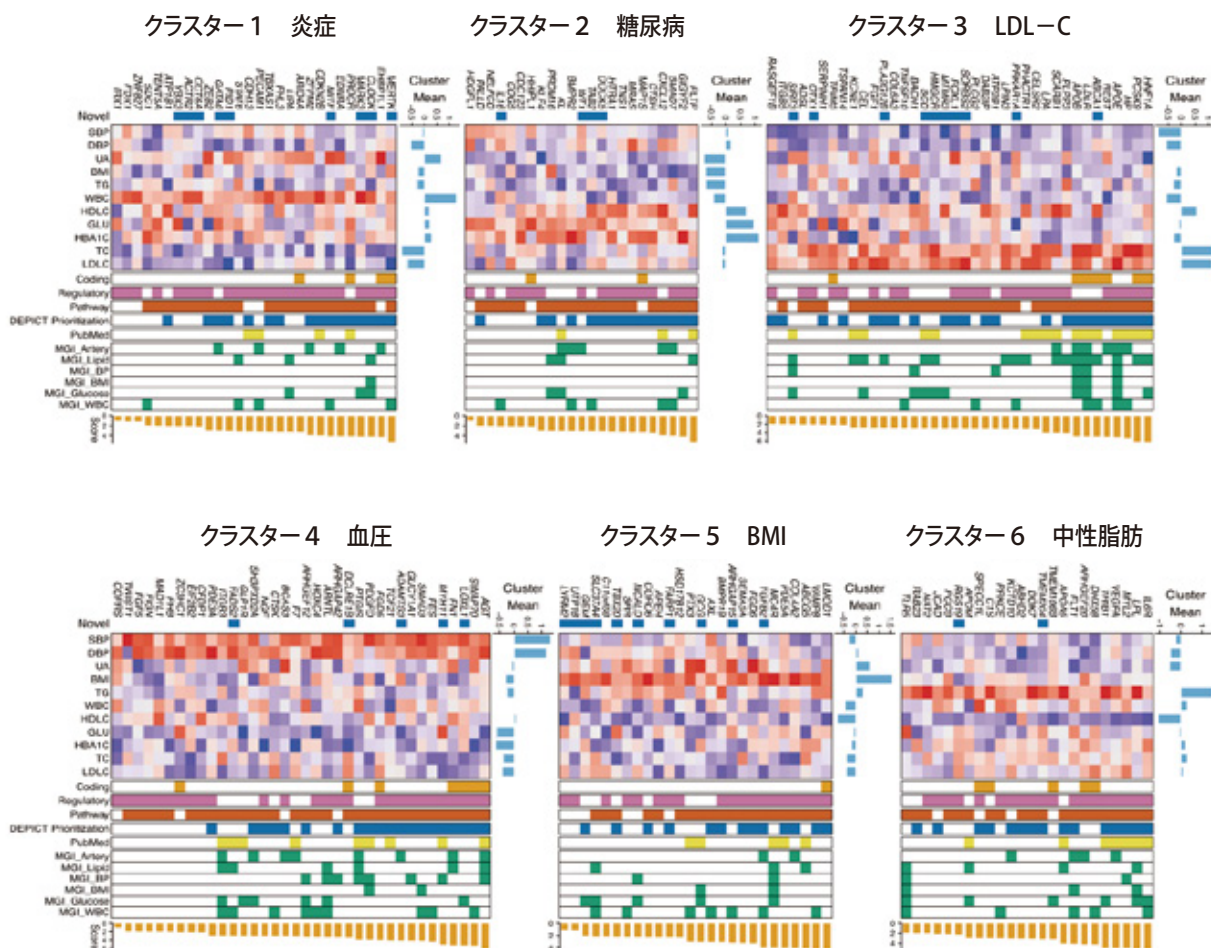
あった理化学研究所に異動し、common variantに軸足を移し研究を開始した。

当時はcommon disease - common variant仮説から、GWASの対象として家族性の明らかではない“ありふれた”循環器疾患、つまり遺伝要因と環境要因が複雑に絡み合う循環器多因子疾患である、冠動脈疾患、心房細動、心不全などをターゲットに研究を開始した。先ず心房細動において、日本人8,180例の心房細動患者を対象とした大規模GWASにより、6つの新規心房細動感受性遺伝子座 (*KCND3*, *PPFIA4*, *SLC1A4-CEP68*, *HAND2*, *NEBL*, *SH3PXD2A*)を同定した。同定された遺伝子座のうち、*KCND3*(イオンチャネル遺伝子で不整脈との関連が知られている)、*HAND2*(心筋分化に関与する転写因子をコード)、*NEBL*(心筋細胞の構造タンパク質をコード)は心房細動の発症に直接関与する可能性が示唆された。また、*PPFIA4*と*SH3PXD2A*は軸索ガイダンスに関与しており、心房細動

の病態生理への新たな示唆を与えた。この研究は、日本人における心房細動感受性遺伝子の同定と、その機能的意義の解明を行った点で、心房細動の病態理解と新規治療法開発に大きく貢献したと考えられる<sup>8)</sup>。

次に冠動脈疾患において日本人16万8千人を対象とした大規模GWASと全ゲノムシーケンスデータの統合解析<sup>9)</sup>により、rare variantを含む8つの新規冠動脈疾患感受性遺伝子座を発見した。また日本人と欧米人のデータを統合した民族横断的メタ解析を実施し、35の新規遺伝子座を同定した。日本人と欧米人の両集団を解析したことで、人種間の遺伝的違いを考慮した包括的な理解が可能になった。そして、メタ解析結果から日本人に特化した多遺伝子リスクスコアを作成した。このスコアにより、臨床パラメータの中から冠動脈疾患のリスク因子を特定でき(図3)、長期的な心血管死亡リスクの層別化が可能となった。このような高精度な多遺伝子リスクスコアに

図3. 臨床パラメータとゲノム要因を関連づけることにより、個人個人の冠動脈疾患のリスク因子を同定できるようになる



より、個人の冠動脈疾患リスクを正確に評価でき、高リスク者への予防介入や個別化された治療法の開発につながる。

しかしながらゲノムと臨床情報だけでは、疾患発症へと至るセントラルドグマの過程の両端を見ているだけで、その詳細なメカニズムまでたどり着けない。そこで私たちはゲノム解析に他のオミックス層の情報を積極的に取り入れる研究も展開した。具体的に、心房細動において東アジア人と欧米人の大規模ゲノムワイド関連解析(GWAS)データを統合した多民族メタ解析を実施し、心房細動に関連する新規の感受性遺伝子変異を多数同定した。それらを他のオミックス情報と統合し、心筋細胞の電氣的リモデリングや線維化などの病態メカニズムを明らかにした<sup>10)</sup>。またメタ解析の結果から日本人にテーラーメイドされた心房細動多遺伝子リスクスコアを構築し、心血管疾患や脳卒中死のリスクを高精度に予測可能であることを示した。この研究は、心房細動の発症メカニズムの解明と、個人の合併症を含むリスク予測の可能性を示した点において、循

環器疾患の個別化予防医療に大きく貢献することが期待される。

このようにGWASによるcommon variant解析は、疾患の遺伝的基盤の網羅的解明に貢献するだけでなく、他のオミックス情報との統合によって単一オミックスでは明らかにできないメカニズムやキー遺伝子の同定が可能となる。加えて、rare variantに比して疾患のバイオマーカーとしての有用性が低かったcommon variantが多遺伝子リスクスコアという形で疾患発症リスクを予測し加えてその応用可能性を日本人で示したことは、今後の日本でのゲノム情報を用いた精密医療実現に道筋をつけたと考える。これ以外にも、人工知能を用いて心臓MRIから右心系パラメータを精密に取り出してGWASを行い、その結果作られた多遺伝子リスクスコアが拡張型心筋症の発症を層別化しうることを示したのは、リスクとなるcommon variantの集積がメンデル遺伝病発症の個々人の浸透率に影響していることを示す貴重な結果であると思われた<sup>11)</sup>。

## 5、近くて遠いゲノム医療の実現

多遺伝子リスクスコアについては疾患リスクを発症前に予測できることから精密医療、特に先制医療の分野において世界的に実用化が期待されている。一方、2022年アメリカ心臓協会の公式ステートメント、2023年米国臨床遺伝学会からのステートメント等、多遺伝子リスクスコアは実際の臨床プロトコルに組み込むためにはエビデンスや運用のロジスティクスがまだ成熟していない

という指摘を受けている<sup>12,13)</sup>。特に前向き介入研究が皆無であり、たとえば疾患発症前に心房細動の多遺伝子リスクスコアが高く抗凝固薬を内服した場合に、心原性脳梗塞予防のベネフィットが大きいのか、出血合併症のデメリットが大きいのかなど判断する根拠となるエビデンスはない。そのため私たちも国内外の多くのコホートと協力して、多遺伝子リスクスコアの有効性を示すエビデンスを構築できるよう努めている。

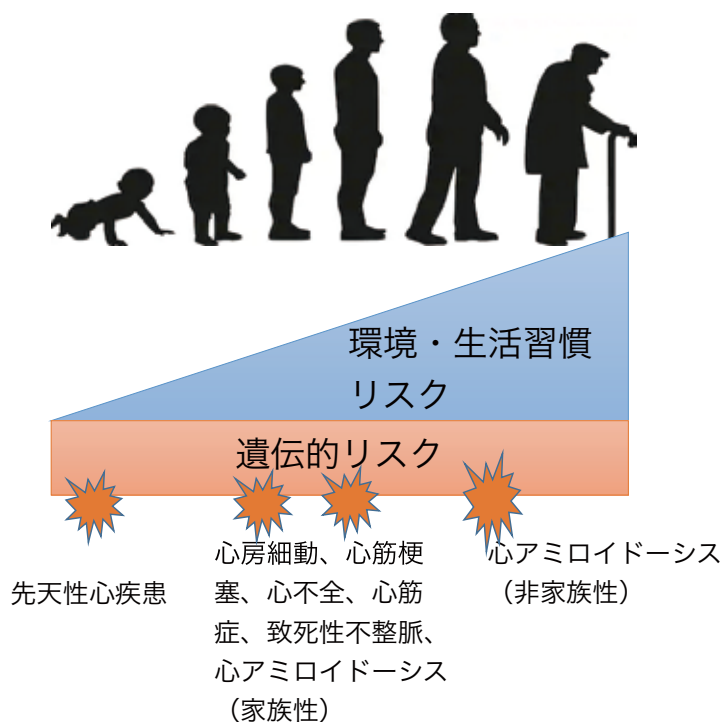
## 6、おわりに

本文では触れなかったが、ゲノムを軸としたマルチオミックス解析以外にも、ヒトから大量に観測されるデータを意味のあるものにするための、人工知能に関する研究等も積極的に行っている<sup>14)</sup>。ただ、このような研究を通じて感じるところは、ゲノムの多様性がヒトの自然歴を私たちの想像以上に規定しているのではないかという

畏怖である。Nが少なく統計的根拠がなく全くの私見になるが、1人1人のゲノムデータを詳しくみていると思いがけず重大なgenetic variantを発見することがある。そして、このようなvariantは先天性疾患以降も若年での突然死や、中年～壮年、そして最後の瞬間の死に方も規定しているのではないかと疑うことがある。私は、このような異常をもち、予め分かっていたら対処し助かっ

たかもしれない患者様が、知らずに訳も分からず亡くなる、というのが許せない。そのため、今後も全身全霊を持って、このような理由で人生を翻弄される患者様の運命をよい方向に変えたい強く願いながら、研究に継続して打ち込みたい。

図4. ゲノムは基底に存在する疾患リスクであり、人間の自然歴を私たちの想像以上に規定しているかもしれない



参考文献

- 1) Ito K, Akazawa H, Tamagawa M, Furukawa K, Ogawa W, Yasuda N, Kudo Y, Liao CH, Yamamoto R, Sato T, Molkenstein JD, Kasuga M, Noda T, Nakaya H, Komuro I. PDK1 coordinates survival pathways and beta-adrenergic response in the heart. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;106:8689-94,2009.
- 2) Ito K, Bick AG, Flannick J, Friedman DJ, Genovese G, Parfenov MG, Depalma SR, Gupta N, Gabriel SB, Taylor HA Jr, Fox ER, Newton-Cheh C, Kathiresan S, Hirschhorn JN, Altshuler DM, Pollak MR, Wilson JG, Seidman JG, Seidman C. Increased burden of cardiovascular disease in carriers of APOL1 genetic variants. Circ Res. 114:845-50,2014.
- 3) Naik RP, Derebail VK, Grams ME, Franceschini N, Auer PL, Peloso GM, Young BA, Lettre G, Peralta CA, Katz R, Hyacinth HI, Quarells RC, Grove ML, Bick AG, Fontanillas P, Rich SS, Smith JD, Boerwinkle E, Rosamond WD, Ito K, Lanzkron S, Coresh J, Correa A, Sarto GE, Key NS, Jacobs DR, Kathiresan S, Bibbins-Domingo K, Kshirsagar AV, Wilson JG, Reiner AP. Association of sickle cell trait with chronic kidney disease and albuminuria in African Americans. JAMA. 312:2115-25,2014.
- 4) Glessner JT, Bick AG, † Ito K, Homsy JG, Rodriguez-Murillo L, Fromer M, Mazaika E, Vardarajan B, Italia M, Leipzig J, DePalma SR, Golhar R, Sanders SJ, Yamrom B, Ronemus M, Iossifov I, Willsey AJ, State MW, Kaltman JR, White PS, Shen Y, Warburton D, Brueckner M, Seidman C, Goldmuntz E, Gelb BD, Lifton R,

- Seidman J, Hakonarson H, Chung WK. Increased frequency of de novo copy number variants in congenital heart disease by integrative analysis of single nucleotide polymorphism array and exome sequence data. *Circ Res.* 115:884-96,2014. † equally contributed first author
- 5) Ito K, Patel PN, Gorham JM, McDonough B, DePalma SR, Adler EE, Lam L, MacRae CA, Mohiuddin SM, Fatkin D, Seidman CE, Seidman JG. Identification of pathogenic gene mutations in LMNA and MYBPC3 that alter RNA splicing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114:7689-7694.
- 6) Contribution of Non-Canonical Splice Variants to TTNtv Cardiomyopathy. *Circ Genom Precis Med.* 2021;14:e003389.
- 7) Patel P, Ito K, Willcox J, Haghighi A, Jang M, Gorham J, DePalma S, Lam L, McDonough B, Johnson R, Lakdawala N, Roberts A, Barton P, Cook S, Fatkin D, Seidman C. and Seidman J. Young Jang M, Patel PN, Pereira AC, Willcox JAL, Haghighi A, Tai AC, Ito K, Morton SU, Gorham JM, McKean DM, DePalma SR, Bernstein D, Brueckner M, Chung WK, Giardini A, Goldmuntz E, Kaltman JR, Kim R, Newburger JW, Shen Y, Srivastava D, Tristani-Firouzi M, Gelb BD, Porter GA Jr, Seidman CE, Seidman JG. *Circ Genom Precis Med.* 2023;16:224-231.
- 8) Low SK, Takahashi A, Ebana Y, Ozaki K, Christophersen IE, Ellinor PT, AFGen Consortium., Ogishima S, Yamamoto M, Satoh M, Sasaki M, Yamaji T, Iwasaki M, Tsugane S, Tanaka K, Naito M, Wakai K, Tanaka H, Furukawa T, Kubo M, Ito K\*, Kamatani Y, Tanaka T. Identification of six new genetic loci associated with atrial fibrillation in the Japanese population. *Nat Genet.* 2017;49:953-958. \*Co-corresponding author
- 9) Koyama S, Ito K\*, Terao C, Akiyama M, Horikoshi M, Momozawa Y, Matsunaga H, Ieki H, Ozaki K, Onouchi Y, Takahashi A, Nomura S, Morita H, Akazawa H, Kim C, Seo JS, Higasa K, Iwasaki M, Yamaji T, Sawada N, Tsugane S, Koyama T, Ikezaki H, Takashima N, Tanaka K, Arisawa K, Kuriki K, Naito M, Wakai K, Suna S, Sakata Y, Sato H, Horii M, Sakata Y, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Matsuda F, Kamatani Y, Komuro I. Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2020;52:1169-1177. \*Corresponding author
- 10) Miyazawa K, Ito K\*, Ito M, Zou Z, Kubota M, Nomura S, Matsunaga H, Koyama S, Ieki H, Akiyama M, Koike Y, Kurosawa R, Yoshida H, Ozaki K, Onouchi Y, BioBank Japan Project, Takahashi A, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Momozawa Y, Terao C, Oki S, Akazawa H, Kamatani Y, and Komuro I. Cross-ancestry genome-wide analysis of atrial fibrillation provides insights into disease biology and enables polygenic prediction of cardioembolic risk. *Nat. Genet.* 2023;55:187-197. \*Corresponding author
- 11) Pirruccello JP, Achille PD, Nauffal V, Nekoui M, Friedman SN, Klarqvist M, Chaffin MD, Cunningham JW, Khurshid S, Roselli C, Lin H, Koyama S, Ito K, Kamatani Y, Komuro I, The Biobank Japan project, Jurgens SJ, Batra P, Ng K, Lubitz SA, Ho JE, Lindsay ME, Philippakis AA, Ellinor PT. Genetic Analysis of Right Heart Structure and Function in 40,000 People. *Nat Genet.* 2022;54:792-803.
- 12) O'Sullivan JW, Raghavan S, Marquez-Luna C, Luzum JA, Damrauer SM, Ashley EA, O'Donnell CJ, Willer CJ, Natarajan P; American Heart Association Council on Genomic and Precision Medicine; Council on Clinical Cardiology; Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; and Council on Peripheral Vascular Disease. *Circulation.*

2022;146:e93-e118.

- 13) Abu-El-Hajja A, Reddi HV, Wand H, Rose NC, Mori M, Qian E, Murray MF; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. Electronic address: documents@acmg.net. *Genet Med.* 2023;25:100803.
- 14) Ieki H, Ito K\*, Saji M, Kawakami R, Nagatomo Y, Takada K, Kariyasu T, Machida H, Koyama S, Yoshida H, Kurosawa R, Matsunaga H, Miyazawa K, Ozaki K, Onouchi Y, Katsushika S, Matsuoka R, Shinohara H, Yamaguchi T, Kodera S, Higashikuni Y, Fujii K, Akazawa H, Iguchi N, Isobe M, Yoshikawa T, Komuro I. Deep learning-based age estimation from chest X-rays indicates cardiovascular prognosis. *Commun Med.* 2022;2:159. \*Corresponding author