

---

---

# 研究助成業績報告集

---

---

第 27 回（2019 年度）バイエル循環器病研究助成  
『循環器疾患における Precision Medicine』

公益財団法人 循環器病研究振興財団

## \* 目 次 \*

No	研 究 課 題	研 究 者	頁
1	ブルガダ症候群における致死性不整脈発症に関連するゲノム領域の特定と個別化リスク予測法の樹立	石川 泰輔	1
2	難治性循環器疾患において多施設連携ネットワークを用いて Precision Medicine を人工知能によって実現する研究	片岡 雅晴	5
3	冠動脈疾患関連遺伝子リスクスコアによる個別化医療実践への試み	多田 隼人	8
4	最先端テクノロジーを駆使した本邦心不全患者における Precision Medicine プラットフォーム構築	永井 利幸	12

# ブルガダ症候群における致死性不整脈発症に関連する ゲノム領域の特定と個別化リスク予測法の樹立

—ゲノムによる心臓突然死予防のための基礎的研究—

国立循環器病研究センター・創薬オミックス解析センター  
石川 泰輔

## I. 緒言

ブルガダ症候群(以下、BrS)は右側前胸部誘導における coved 型 ST 上昇と心臓突然死を特徴とする遺伝性不整脈である。1992 年に Brugada らによって、右脚ブロック所見と突然死家族歴を主な所見とする 8 例の報告から、当初より遺伝子との関連が疑われてきた<sup>1</sup>。1998 年に Chen らが心筋ナトリウムチャンネル *SCN5A* の変異が BrS の原因遺伝子であると報告して以来<sup>2</sup>、*SCN5A* 変異は 300 以上が報告され、BrS の原因遺伝子の筆頭となった<sup>3</sup>。BrS と *SCN5A* 変異を結ぶ理由として、実際に BrS 患者の臨床像として心臓伝導障害を伴うことや心房性不整脈を伴うこと、さらに上室性不整脈の *SCN5A* 変異キャリアに男性優位性があるという点は BrS とオーバーラップする所見である<sup>3</sup>。一方で *SCN5A* 以外にこれまで 20 以上の原因遺伝子候補が報告されてきたが、大きな家系で疾患との関連が示されていないことや続報に欠けることから、*SCN5A* 以外の遺伝子の意義は極めて薄いと考えられている。

*SCN5A* 変異と心臓突然死の関連については欧州人のコホート研究では否定的な研究があるが<sup>4,5</sup>、これは比較的予後の良い家族メンバーが組み込まれていることが考えられる。逆に例数は少ないが *SCN5A* 変異が心臓突然死のリスクであることを示した研究もある。2017 年には日本人 BrS415 名のコホートにおいて、*SCN5A* 変異のうち *in silico* 解析で pathogenic と判断された 60 名の予後が残りの 355 名よりも悪いことが示され、*SCN5A* 変異を悪性度により選別することが BrS 患者の突然死リスク層別化に有用であることが分かった<sup>6</sup>。

しかし依然として BrS 全体の 8 割超を占める *SCN5A* 陰性群における心臓突然死リスクは確定していない。288 名の *SCN5A* 陰性群に全エクソン解析を実施し、*SCN5A* 以外の BrS 関連 22 遺伝子について

バリエーションキャリアとノンキャリアに分けて予後と比較したが、有意な差は見られなかった。これらの結果を受けて、BrS のさらなるゲノム研究計画が必要となった。

## II. 対象・方法

### 1) SNP タイピングと BrS 型心電図リスク遺伝子座の同定

右側前胸部誘導にて、肋間を問わずタイプ 1-ST 上昇が確認できた BrS 患者 (平均年齢 43.9 ± 15.0 歳、94.3%男性)について、インフォームドコンセント取得後に末梢血からゲノムを抽出した。各患者はサンガー法によって *SCN5A* 変異が調べられた後、iScan (イルミナ)を用いてゲノムワイドに SNP タイピングを行った。対照となる、日本人健常者のゲノムデータは既に取得されていた。これらの手順は関係した全施設の倫理審査委員会にて承認を得たのちに行われた。

BrS 型心電図リスク遺伝子座は GWAS によるタイピングののち主成分分析により 6 名を除いた。

### 2) 致死性不整脈リスク遺伝子座の同定

BrS 患者のタイピングデータから、特徴的な coved 型心電図に関連するゲノム領域を特定した。さらにリスク SNP が相加的効果を持って突然死リスクを上昇させるか検討した。

### 3) 突然死関連ゲノム配列の特定

致死性不整脈リスク SNP 周囲の突然死関連ゲノム配列を次世代シーケンサにより *SCN5A* 周辺の解読を行った。致死性不整脈経験と無症候例で、突然死リスク配列の頻度を比較した。

### 4) 統計処理

これら研究の統計処理は PLINK、JMP Pro、SPSS medical を用いて行われた。GWAS ではゲノムワイド有意水準( $5.0 \times 10^{-8}$ )が、それ以外の検定では  $p < 0.05$  が有意水準として使われた。

### III. 結果

#### 1) SNP タイピングと BrS 型心電図リスク遺伝子座の同定

日本人の BrS 型心電図に関連する遺伝子座はこれまでに報告がなく、欧米人について行われた GWAS の再現コホートでのみ用いられた。そこで本研究では、改めて日本人 BrS 患者の BrS 型心電図に関与する遺伝子座を特定する GWAS を行った。この際、BrS 型心電図リスク遺伝子座は GWAS によるタイピングののち主成分分析により 6 名を除いた。その結果、先行研究の欧米人 BrS-GWAS 研究で同定された 3 つの遺伝子座のうち 7、*SCN10A* と *HEY2* がゲノムワイド有意水準に達し、欧米人と日本人ともに *SCN10A* と *HEY2* のコモンバリエントが BrS 型心電図に見られる右側胸部誘導の type1 ST 上昇に関与していることが分かった (表)。

表 先行研究の欧米人 BrS と日本人 BrS の GWAS で同定された BrS 型心電図に関与する SNP は強い連鎖にあった。

遺伝子	日本人	欧米人	R2 (日本人)
<i>SCN10A</i>	rs6790396	rs10428132	1.0
<i>HEY2</i>	rs67084866	rs9388451	0.99

#### 2) 致死性不整脈リスク遺伝子座の同定

BrS 患者のうち、致死性不整脈経験例と無症候例のデータを比較して、致死性不整脈発症に関連するゲノム領域を探索したところ、ゲノムワイド有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) に達する SNP は同定されなかった。

#### 3) 突然死発生予測能と生命予後解析

ゲノムワイド有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) に達する SNP は同定されなかったため、検討しなかった。

#### 4) 突然死関連ゲノム配列の特定

分子機序に焦点を当てるため、特に致死性不整脈との関与が強く疑われる *SCN5A* 遺伝子内外に致死性不整脈リスクを高める配列があるか確かめるため、次世代シーケンサを用いてリシーケンシングを行った。次世代シーケンスタargetプローブ作成に際し、既存の欧米人ゲノムを中心にビルドされたリファレンスゲノム配列をもとにすると、日本人やアジア人に多いという人種特異的なゲノム配列を見落とす可能性があると考え、10kbp 以下の PCR アンプリコンを作

成してシーケンスした。

PCR アンプリコン作成時アガロースゲルにて大きなバンド位置の異常は確認されなかったため、当該領域には極端に大きな欠損や挿入が無いことを確認した。シーケンスにより収集した配列データは日本リファレンスゲノムデータ JG1 にマッピングし、致死性不整脈リスクアレルと連鎖する稀少バリエントを探索したが同定できなかった。

### IV. 考察

本研究では日本人 BrS 患者のゲノムを国内二次臨床施設より集積した。これまで欧米人で報告されていた BrS 型心電図に関与する SNP は日本人においても強い影響があることが分かった一方で、致死性不整脈イベントに関与する SNP は過去に報告がなく、今後 BrS の致死性不整脈リスク層別化に SNP 等コモンバリエントが有用になる可能性が示されている。

BrS における突然死予測法は主に心電図や電気生理学検査における心室細動・心室頻拍の誘発性といった臨床検査要因と、患者の突然死家族歴などの患者要因によって検証が行われてきた<sup>3,8</sup>。このなかで現在最も再現性が良く、かつ強力な指標として患者本人の過去の致死性不整脈エピソードが挙げられており、2017 年に発表された日本人 415 名の BrS コホートにおいても多変量解析でハザード比 4.2 で最も強力な因子であることが分かった。一方でゲノムに対する期待は高かったものの、現時点では心筋 Na チャネル *SCN5A* の変異が致死性不整脈リスク予測に有用であるかどうかは意見が分かれている。2017 年日本人 415 名の BrS コホートでは、機能異常を伴わない *SCN5A* バリエントを *in silico* 予測法により除去したところ、有意な予後への影響を観察できたことから、*SCN5A* 変異については機能アノテーションを付けることが極めて有効であると考えられた<sup>6</sup>。それでもなお患者本人の過去の致死性不整脈エピソードに比べるとハザード比は 1.9 と弱く、ゲノムに基づいた予測は難しいと思われる。ただし患者本人の過去の致死性不整脈エピソードは、過去に致死性不整脈エピソードを要するため、初回の致死性不整脈リスクを予測できる訳ではない。そのため 1 次予防法としてゲノムに基づいた致死性不整脈リスク評価法の構築が求められている。

以上のことを背景に、本研究ではこれまで BrS では注目されてこなかった致死性不整脈リスク SNP の同定を試みたが、ゲノムワイド有意な SNP は同定されなかった。今後はサンプル数をより集積して評価す

る必要がある。また BrS は東・東南アジア特異的に発生頻度や重症度が高いことが知られているため、他人種 BrS における有用性も検討する必要がある。<sup>3</sup>

一般に GWAS で同定される SNP は生物学的な意義付けが難しいことが多い。リファレンスゲノムデータでは周辺 100kb 上下流には遺伝子や lncRNA などの機能的配列は存在しないこともある。そのためゲノム上で離れた位置にある配列に結合して、機能修飾を行っている可能性がある。この考え方は BrS において、ゲノム上隣接する *SCN5A* と神経型 Na チャネル *SCN10A* の間に心臓特異的蛋白が介在して物理的 contact を形成させて機能修飾に至るモデルが実験的に証明されていることから<sup>9</sup>、現実的にありうる。今後評価を試みる予定である。

上記のように *SCN5A* の変異が突然死リスクをもたらす可能性が示されている。今回さらにコモンバリエントが突然死リスクをもたらすことを明示したことをきっかけに、変異とコモンバリエントのリスクを統合して *SCN5A* 変異存在下におけるコモンバリエントの位置づけも明らかにしていく必要がある。また他のパラメータとして心電図や電気生理学検査における心室細動・心室頻拍の誘発性といった臨床検査要因と組み合わせることで、ゲノムデータを非ゲノムデータを統合したリスク評価へとアップグレードする必要がある。

## V. 結論

BrS における致死性不整脈リスクとして複雑なゲノム要因が関与することが分かった。

## VI. 研究協力者

蒔田直昌・国立循環器病研究センター研究所・副所長

田中敏博・東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンター・教授

岡田随象・大阪大学遺伝統計学・教授

増田達郎・大阪大学遺伝統計学・大学院生

堀江 稔・滋賀医科大学アジア疫学研究センター・特任教授

清水 渉・日本医科大学循環器内科学・教授

相庭武司・国立循環器病研究センター病院・部長

野上昭彦・筑波大学循環器内科学・教授

森田 宏・岡山大学循環器内科学・教授

大野聖子・国立循環器病研究センター研究所・部長

中野由紀子・広島大学循環器内科学・教授

相澤義泰・国際医療福祉大学循環器内科学・准教授

村越伸行・筑波大学循環器内科学・准教授

大久保公恵・日本大学循環器内科学・講師

林 研至・金沢大学循環器内科学・助教

中島 忠・群馬大学循環器内科学・助教

## VII. 参考文献

1. Brugada P and Brugada J. Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *JACC*. 1992;20:1391-6.
2. Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature*. 1998;392:293-6.
3. Brugada J, Campuzano O, Arbelo E, et al. Present Status of Brugada Syndrome: JACC State-of-the-Art Review. *JACC*. 2018;72:1046-1059.
4. Priori SG, Napolitano C, Gasparini M, et al. Natural history of Brugada syndrome: insights for risk stratification and management. *Circulation*. 2002;105:1342-7.
5. Probst V, Veltmann C, Eckardt L, et al. Long-term prognosis of patients diagnosed with Brugada syndrome: Results from the FINGER Brugada Syndrome Registry. *Circulation*. 2010;121:635-43.
6. Yamagata K, Horie M, Aiba T, et al. Genotype-Phenotype Correlation of SCN5A Mutation for the Clinical and Electrocardiographic Characteristics of Proband With Brugada Syndrome: A Japanese Multicenter Registry. *Circulation*. 2017;135:2255-2270.
7. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y, et al. Common variants at *SCN5A-SCN10A* and *HEY2* are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet*. 2013;45:1044-9.
8. Morita H, Kusano KF, Miura D, et al. Fragmented QRS as a marker of conduction abnormality and a predictor of prognosis of Brugada syndrome. *Circulation*. 2008;118:1697-704.
9. van den Boogaard M, Smemo S, Burnicka-Turek

O, et al. A common genetic variant within  
*SCN10A* modulates cardiac *SCN5A* expression.  
*J Clin Invest.* 2014;124:1844-52.

# 難治性循環器疾患において 多施設連携ネットワークを用いて Precision Medicine を人工知能によって実現する研究

慶應義塾大学医学部循環器内科・講師  
片岡雅晴

## I. 緒言

難病循環器疾患(心筋症・肺高血圧症等)は、遺伝的要因や環境要因など様々な病態背景が組み合わさって発症する複雑系疾患である。特に、成人発症の疾患が多く、小児期発症の遺伝性要因の強い疾患に比べて、より複雑な病態概念への理解が必要である。

その一方、これらの難病循環器疾患は希少性があり、国内患者数が限られている。このような複雑系疾患の病態理解のためには出来る限り多くの臨床情報・臨床検体を収集し、ゲノム情報は当然のことながら、トランスクリプトーム情報やメタボロミクスを含めた、統合オミクス情報が必要である。

そこで、我々は、難病循環器疾患の臨床検体を収集し、統合オミクスへの対応が可能のように、DNA/RNA/血清/血漿へ分離保管する取り組みを長年継続してきた(1-5)。DNAについては収集済みのほぼ全検体で全エクソーム解析とバイオインフォマティクスによる変異抽出を実施済みである。本研究体制における特徴的な利点は、DNAのみでなく、RNA/血清/血漿を収取していることである。必要時には、DNAを用いたゲノム解析(全エクソーム解析や全ゲノム解析)で見落とされるスプライシング変異等を RNA シークエンスで確認する、血清・血漿を利用したバイオマーカー測定を行う、等の臨機応変な対応が可能であり、国内の循環器疾患サンプルバンクとして希少価値が高い。

個別最適化医療の提供は、将来の医療界における重要目標の1つである。その実現には、ゲノムデータと診療データを統合させ、人工知能(artificial intelligence: AI)を用いて分析・解釈し、そのアウトカムを診療に活用することが可能なシステムの構築が必須と考える。具体的には、疾患に関与するゲノム、バイオマーカー、診療情報、生活習慣などをビッグデータとして統合し、同一疾患内で更にサブグループ化

し、薬剤や生活指導に対するレスポンスを同定する等である。

よって、本研究では、多施設連携に基づいてゲノム情報・薬剤投与歴と薬剤反応性を含む臨床情報を利活用し、AIを用いて、難治性循環器疾患におけるファーマコゲノミクスによる個別最適化医療(precision medicine)実現を目指す。対象とする難治性循環器疾患としては、難病指定疾患である肺動脈性肺高血圧症やモヤモヤ病等の血管病・拡張型心筋症や肥大型心筋症等の心筋疾患を含む。

本研究開発で目標とするAIモデル作成のためには、ゲノム情報・血液や画像等の検査データ・治療薬の種類や反応性・アウトカムを含めた膨大な患者情報が不可欠である。難治性循環器疾患は、希少疾患であるため、多施設が連携して多数データを効率的に共有することが重要である。

よって、本研究は、難治性循環器疾患に対する効果的・効率的薬剤投与を実現するAIモデルの作成を達成し、このAIモデルを用いて、ゲノム情報に基づくタンパク構造シミュレーションを含めて解析し、最適な治療薬の選別法確立を行うことを目的とするものである。

## II. 対象・方法

多施設連携体制の難治性循環器疾患(肺高血圧症・拡張型心筋症・肥大型心筋症等)ネットワークで管理する検体・情報・ゲノム等の dry data に基づく、国内難治性循環器疾患データを用いる。扱う疾患は希少疾患であっても、多施設連携でサンプル数を集積させることにより、効率的な予測モデルの構築が可能となる。

ファーマコゲノミクスにより効果的・効率的薬剤投与を実現する(個別最適化する)ためには、現在知りうる患者情報から、将来その患者が何%の確率で発症す

るか、また、治療薬の追加・変更により、その確率がどう変化するかを正確に予測する必要がある。そのため、背景にある疾患や既知のリスク因子の他に、ゲノム等多くの事象情報から、影響が未知である因子も取り入れて自動的にリスクを計算し、効果的・効率的な薬剤投与を実現する AI モデルを目指す。

そのために、本研究期間においては、まずは難病循環器疾患における臨床情報とゲノム情報との相関関係を解析し、治療薬反応性や予後に影響を与える因子を探索的に探り、予測モデル構築の基盤となる知見の収集を行うべく検証を行った。

ゲノム情報は、多数患者サンプルから得られた全エクソーム解析データを用い、変異抽出までを自施設に構築したパイオインフォマティクス環境を用いて行った。それぞれの検体に紐づけられた臨床情報(カテテル検査データ・治療薬投薬状況・予後、等の情報)を統計解析に使用した。遺伝子変異に基づくコード蛋白の分子動力学計算による構造解析も自施設に構築した解析環境にて実施した。

### III. 結果

基礎疾患をもたない肺動脈性肺高血圧症 (pulmonary arterial hypertension: PAH)患者のうち 3-4 割程度が疾患関連遺伝子変異を有して発症するが、そのうちの大多数は(遺伝性 PAH のうちの 8 割程度は)、*BMP2*変異を有する。我々は、*BMP2*変異を有する日本人 PAH 患者は重症化しても肺血管拡張剤であるプロスタグランジン製剤への反応性が良好であり、予後が良いことを見出した。つまり、*BMP2*変異を有する患者では、より積極的にプロスタグランジン製剤を使用するためのエビデンスの足掛かりとなった報告といえる。

重要なことに、同時期に海外からは、欧米人 PAH 患者では *BMP2* 変異を有する患者のほうが予後不良と報告されており(6)、日本人患者での本研究チームの報告とは真逆である。海外報告に頼らず、日本人患者でのエビデンス蓄積が重要であることを裏付ける知見と考えられる。

さらに、従来、先天性心疾患、特に、頻度の多い心房中隔欠損症や動脈管開存症の原因遺伝子変異は明らかに同定されていなかったが、我々は、*SOX17* 遺伝子変異が、心房中隔欠損症や PAH の共通した原因遺伝子変異として、日本人 PAH 患者の 4%程度で認めることを見出した。この *SOX17* 遺伝子によってコードされる蛋白の分子動力学計算による構造解析を

実施したところ、*SOX17* 変異により蛋白構造の不安定性を示す結果が得られた。

この *SOX17* 変異を有する PAH 患者では、肺病理学的に血管内腔の著明な線維化をきたしており、肺血管拡張剤に対して治療不応性であった。このような *SOX17* 変異を原因として発症している PAH 患者では、肺血管拡張剤で粘るよりも、より早期に肺移植登録を検討すべき可能性が示唆された。

また、日本人 PAH 患者での全エクソーム解析データを用いた検証から、基礎疾患を有しない特異性 PAH 患者の 1 割程度に *RNF213* p.Arg4810Lys 変異が存在することを見出した。

この *RNF213* p.Arg4810Lys 変異は、日本人もやや病患者の 7-8 割、および、末梢性肺動脈狭窄症患者の多くでも認められる(7)。この変異は東アジア圏の人種が多く有する変異であり、現代の日本人一般集団の 0.8%(全国約 100 万人)も保有している(東北メディカルメगाバンク 3.5K データベースより)。よって、日本人に保有者の多い *RNF213* p.Arg4810Lys 変異によって、浸透率は低いものの、発症した場合には、もやもや病・PAH・末梢性肺動脈狭窄症のいずれか(または、それらの組み合わせ)の難治性血管病を発症することが示唆された。

我々は、この *RNF213* p.Arg4810Lys 変異を有する日本人 PAH 患者集団は、現在のガイドライン上の治療アルゴリズムに従った肺血管拡張剤の治療法では治療不応性で、極めて予後不良な集団に一致することを確認した。これらの患者では、心不全が進行して手遅れになる前に肺移植を早期から検討すべきと考えられる。

### IV. 考察

欧米を中心として、患者サンプルを収集したドライビグデータは既に存在しており、数々のエビデンスも報告されている。しかしながら、海外からのエビデンスをそのまま日本人患者へ応用することはリスクを伴う。異質性(heterogeneity)が高い海外の解析結果に比べ、統一プロトコールで収集した均質性の高い(homogeneous)日本人患者の臨床検体から得られる本研究での知見は、日本人患者の病態に最適化した疾患予測・予防プログラム・ファーマコゲノミクスの実現にとって非常に重要な基盤になると考える。海外の報告例は、必ずしも本邦の患者病態を反映していることは限らないことから、日本人患者に最適化された医療を提供することが極めて重要であり、我々の研究の

意義は大きい。

## V. 結論

難病循環器疾患において、ゲノム情報と臨床情報とを丁寧に解析することによって、治療反応性や予後と相関する重要な知見を得ることが出来た。日本人患者において特有の知見も含んでおり、日本人での難病循環器疾患における個別化医療に繋がる大きな成果と考える。今後はさらにデータを増やし、精度の高いAIモデル開発を進展させるべく研究を発展させていく予定である。

## VI. 研究協力者

福田 恵一・慶應義塾大学医学部循環器内科・教授  
平出 貴裕・慶應義塾大学医学部循環器内科・助教  
後藤 信一・慶應義塾大学医学部循環器内科・助教

## VII. 参考文献

- 1) Kataoka M, Aimi Y, Yanagisawa R, et al. *Alu*-mediated nonallelic homologous and nonhomologous recombination in the *BMPR2* gene in heritable pulmonary arterial hypertension. *Genet Med* 2013;15:941-947.
- 2) Aimi Y, Hirayama T, Kataoka M, et al. A novel break point of the *BMPR2* gene exonic deletion in a patient with pulmonary arterial hypertension. *J Hum Genet* 2013;58:815-818.
- 3) Momose Y, Aimi Y, Hirayama T, et al. De novo mutations in the *BMPR2* gene in patients with heritable pulmonary arterial hypertension. *Ann Hum Genet* 2015;79:85-91.
- 4) Kataoka M, Momose Y, Aimi Y, et al. Familial chronic thromboembolic pulmonary hypertension in a pair of Japanese brothers. *Chest* 2016;150:748-749.
- 5) Gamou S, Kataoka M, Aimi Y, et al. Genetics in pulmonary arterial hypertension in a large homogeneous Japanese population. *Clin Genet* 2018;94:70-80.
- 6) Evans JD, Girerd B, Montani D, et al. *BMPR2* mutations and survival in pulmonary arterial hypertension: an individual participant data meta-analysis. *Lancet Respir Med*. 2016;4:129-137.
- 7) Bang OY, Chung JW, Kim DH, et al.

Moyamoya disease and spectrums of *RNF213* vasculopathy. *Transl Stroke Res* 2019. doi: 10.1007/s12975-019-00743-6.

# 冠動脈疾患関連遺伝子リスクスコアによる 個別化医療実践への試み

金沢大学附属病院 救急部・循環器内科 助教  
多田隼人

## I. 緒言

冠動脈疾患は遺伝しうる疾患であり、その発症予測やリスク層別化にヒトゲノム情報が有用であろうという発想自体は極めて自然である。一方で、いわゆる次世代シーケンサーの登場による網羅的遺伝子解析技術の進歩により、希少変異のみならず、高頻度遺伝子多型などを網羅的に比較的短期間に解析可能となった。このような希少変異、高頻度遺伝子多型 (SNP) の情報は冠動脈疾患の発症メカニズムを考慮するうえで重要であるとともに、個人の遺伝子型を調べることで冠動脈疾患発症予測に繋がるのではないかといった個別化医療への応用が期待されるに至っている。このような背景の元、申請者らは、世界に先駆けて欧米人においてこれまでにゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) により心血管疾患との関連が示唆されているそれぞれ異なる遺伝子座の SNP の情報を組み合わせることによる遺伝子リスクスコア (Polygenic Risk Score : PRS) の有用性を報告してきた (Tada H, et al. Stroke. 2014, Tada H, et al. Eur Heart J. 2016)。一方で、申請者留学先研究室 Sekar Kathiresan 博士らは近年、本概念をさらに発展させ SNP アレイ全体 (>600 万 SNP) の情報を加味することで、その予測能は冠動脈疾患におけるいわゆる古典的危険因子 (高血圧症や糖尿病、喫煙など) を遥かに凌駕するものであることを示した (Kathiresan S, et al. Nat Genet. 2018)。このような遺伝子リスクスコア (Polygenic Risk Score : PRS) は、高血圧や糖尿病、喫煙などの後天的危険因子の発症する前から測定可能であり、かつ定量的

に評価できることから、冠動脈疾患における個別化医療の実践に極めて有用である可能性が高い。今回申請する研究では、金沢大学が有する本邦における前向きコホート (総数約 2,000 例) に対して日本人ゲノム解析ツール「ジャポニカアレイ®」を用いてジェノタイピングを行い、全ゲノム構造を疑似的に再構成 (インピュテーション) し、Sekar Kathiresan 博士の協力を仰ぎ SNP アレイ全体 (>600 万 SNP) の情報を加味した遺伝子リスクスコア (Polygenic Risk Score : PRS) を算出し、日本人で初となる冠動脈疾患遺伝子リスクスコア (Polygenic Risk Score : PRS) を算出するとともにその予測能を評価する計画である。日本人におけるこのようなスコア算出及びその評価は初めての試みであり意義深い。

## II. 対象・方法

金沢大学における、家族性高コレステロール血症 (Familial Hypercholesterolemia: FH) レジストリー及び金沢大学志賀町ゲノムコホート (Shikamachi Health Improvement Practice (SHIP)) より 1,287 名に対して日本人ゲノム解析ツール「ジャポニカアレイ®」約 67.5 万箇所の SNP をジェノタイピングしたうえで、HapMap プロジェクト日本人リファレンスゲノム配列を参照し、全ゲノム構造を疑似的に再構成 (インピュテーション) を行った。64 名で血清脂質値の欠損があったため、結果として 1,223 名を解析対象とした。現時点では冠動脈疾患の新規発症症例数が想定よりも少数であり解析不可能であったため、冠動脈疾患に寄与

する最大かつ確実なサロゲートとして LDL-C に注目し、LDL-C 遺伝子スコア (polygenic risk score for LDL-C [PRSLDL-C]) を各個人において算出し、FH 病原性変異有りの群 (monogenic FH 177 例)、臨床的には FH だが FH 病原性変異無しの群 (mutation-negative clinically diagnosed FH [CDFH] 199 例)、志賀町ゲノムコホート群 (Control 847 例) として各群の PRSLDL-C の分布、さらには冠動脈疾患の有病率について比較検討した。

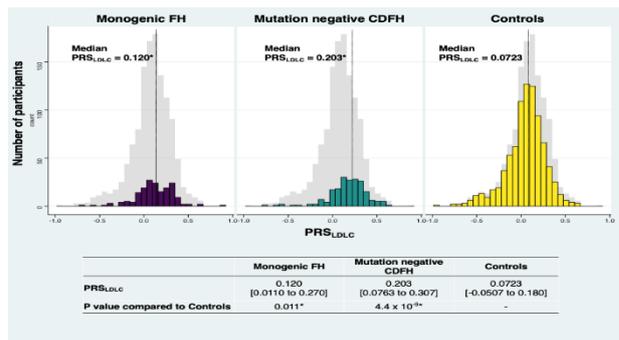
### III. 結果

表 1. 患者背景

	Monogenic FH	Mutation negative CDFH	Controls
N	177	199	847
Age, years, mean ± SD	40.5 ± 18	50.7 ± 18	62.5 ± 11
Male sex, n (%)	76 (43)	80 (40)	390 (46)
Hypertension, n (%)	34 (19)	55 (28)	311 (37)
Diabetes mellitus, n (%)	9 (5)	20 (10)	75 (9)
Current smoking, n (%)	38 (21)	54 (27)	149 (18)
Use of lipid-lowering agents, n (%)	21 (12)	25 (13)	98 (12)
Xanthomas, n (%)	75 (42)	55 (27)	N/A
Family history of FH and/or premature CAD, n (%)	128 (72)	79 (40)	N/A
Presence of CAD, n (%)	49 (28)	46 (23)	37 (4)
Total cholesterol, mg/dL, median [IQR]	310 [281–352]	294 [266–325]	212 [190–234]
Triglyceride, mg/dL, median [IQR]	103 [70–150]	127 [86–191]	102 [74–144]
HDL cholesterol, mg/dL, median [IQR]	53 [45–63]	54 [45–65]	62 [52–75]
LDL cholesterol, mg/dL, median [IQR]	227 [206–273]	204 [183–236]	124 [102–144]
Adjusted LDL cholesterol, mg/dL, median [IQR]	234 [210–276]	210 [189–240]	127 [108–150]

Abbreviations: CAD, coronary artery disease; CDFH, clinically-diagnosed familial hypercholesterolemia; FH, familial hypercholesterolemia; HDL, high-density lipoprotein; IQR, interquartile range; LDL, low-density lipoprotein; N/A, not applicable; SD standard deviation.

表 1 は患者背景を示す。FH 症例は若く、志賀町コホート集団は高齢であった。しかし一方で冠動脈疾患有病率は FH 症例で高く、志賀町コホート集団では低い結果であった。

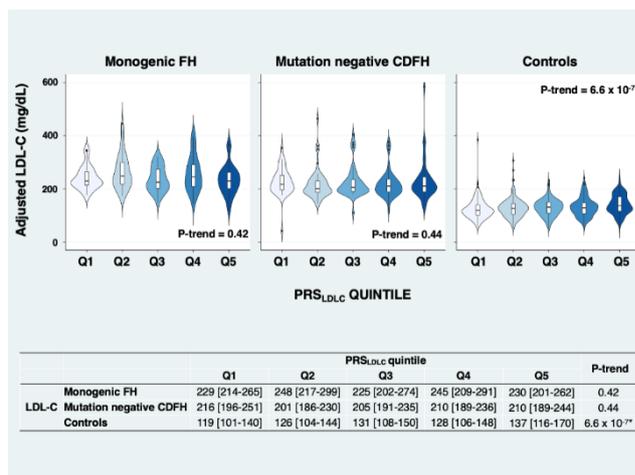


P values adjusted by age and sex. \*: P value < 0.05.

Abbreviations: CDFH, clinically-diagnosed familial hypercholesterolemia; FH, familial hypercholesterolemia; IQR, interquartile range; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; PRS, polygenic risk score.

図 1. 各群における PRSLDL-C 分布

図 1 は各群の PRSLDL-C を示す。全ての群において正規分布を示した。さらには mutation-negative CDFH 群においては際立って高値であった。

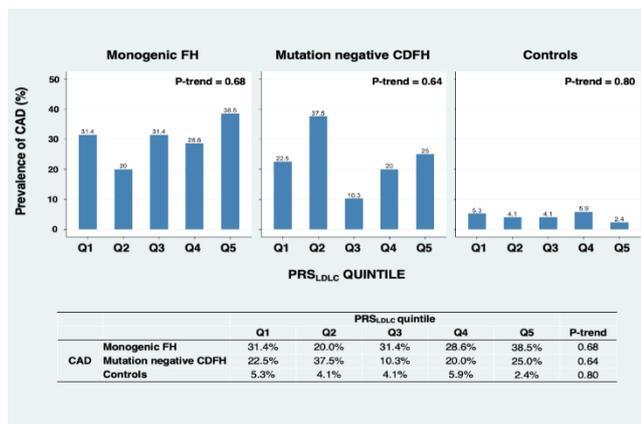


P-trend calculated using PRSLDL-C continuous values by linear regression adjusted by age and sex. \*: P value < 0.05.

Abbreviations: Refer to Figure 1.

図 2. PRSLDL-C と LDL-C との関連

図2は各群における PRS<sub>LDL-C</sub> と LDL-C との関連を示す。志賀町コホート集団 (Control) では PRS<sub>LDL-C</sub> と LDL-C とに有意な関連を認めたと、Monogenic-FH 群および Mutation-negative CDFH 群では関連を認めなかった。



P trend calculated using PRS<sub>LDL-C</sub> continuous values by logistic regression adjusted by age and sex. Abbreviations: Refer to Figure 1. CAD, coronary artery disease.

図 3. PRS<sub>LDL-C</sub> 別の冠動脈疾患有病率

図 3 は各群の PRS<sub>LDL-C</sub> 別の冠動脈疾患有病率を示す。各群ともに PRS<sub>LDL-C</sub> と冠動脈疾患有病率には有意な関連は認められなかった。

表 2. 多因子 FH と非多因子 FH の比較

Abbreviations: CAD, coronary artery disease; CDFH, clinically-diagnosed familial hypercholesterolemia; FH, familial hypercholesterolemia; HDL, high-density lipoprotein; IQR, interquartile range; LDL, low-density lipoprotein; N/A, not applicable; SD standard deviation; PRS, polygenic risk score.

表 2 は多因子 FH と非多因子 FH の比較を示す。我々は近年の研究で示される FH の頻度 0.5%にあ

たる PRS<sub>LDL-C</sub> 値の 0.567772903 をカットオフ値としてこれより高値である群を多因子 FH と定義した。我々は Mutation-negative CDFH 199 例の中に 4 例の多因子 FH を同定した。多因子 FH と非多因子 FH を明確に区別できる臨床的パラメーターは認められなかった。

#### IV. 考 察

本研究では金沢大学 FH コホート及び金沢大学志賀町コホートを用いて、冠動脈疾患の最重要なサロゲートマーカーである LDL-C における多因子リスクスコア (PRS<sub>LDL-C</sub>) を算出し、FH 病原性変異との関連を含めたインパクトを検証した。FH としての希少有害変異が陰性であった群において PRS<sub>LDL-C</sub> が極端に高値であり、このような集団の一部には多因子 FH が存在するものと思われる。多因子 FH を見極める現状での有用なパラメーターは存在せずこのような網羅的遺伝子解析が必要であることも示唆された。我々はその他の希少有害変異の存在においてもこのような FH 症候群を引き起こす可能性を示す結果を得ており (文献 1, 2)、今後希少有害変異の解析も同時に行う必要がある。現状でのサンプル数では冠動脈疾患の有病率との関連は見いだせなかったが、今後サンプル数を増やし検討を追加し、冠動脈疾患との関連を検討する。

#### V. 結 論

高頻度遺伝子多型の重積に伴う多因子 FH の存在が示唆された。このような病態による冠動脈疾患への影響の検討が必要である。

#### VI. 研究協力者

野村章洋・金沢大学附属病院先端医療開発センター・特任准教授  
細道一善・金沢大学医薬保健研究域医学系 革新ゲノム情報学・准教授

## VII. 参考文献

1. Tada H, Kawashiri MA, Nomura A, et al. Oligogenic Familial Hypercholesterolemia, LDL Cholesterol, and Coronary Artery Disease. *J Clin Lipidol* 2018;12:1436-1444.
2. Tada H, Okada H, Nomura A, et al. Rare and Deleterious Mutations in ABCG5/ABCG8 Genes Contribute to Mimicking and Worsening of Familial Hypercholesterolemia Phenotype. *Circ J* 2019;83:1917-1924.

# 最先端テクノロジーを駆使した本邦心不全患者における Precision Medicine プラットフォーム構築

北海道大学大学院医学研究院  
循環病態内科学教室・准教授  
永井利幸

## I. 緒言

高齢化社会の進行に伴い、本邦における心不全患者は増加の一途にあり、2050年までに120万人を超えるとされ、心不全医療への介入は喫緊の課題である。薬物療法の劇的な進歩から、心不全診療ガイドラインでは、左室機能が低下した症例にレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系 (RAAS) 阻害薬およびβ遮断薬を軸とした至適薬物療法を予後改善のため強く推奨している<sup>1,2)</sup>。

ところが、中には至適薬物療法への反応性が著しく乏しい症例も存在する一方で、これらを予測する有効な指標は現在のところ存在しない。至適薬物療法として推奨される各薬剤は個別的作用点と代謝経路を持つため、それらに関連する遺伝子や蛋白代謝の異常によって、薬物効果に個体間相違が生じる可能性がある。さらに、本邦における心不全診療ガイドラインは欧米のエビデンスを踏襲したものであり、人種間相違が考慮されていないことも大きな課題である<sup>1,2)</sup>。

本研究では、心不全症例における従来の臨床背景やバイオマーカー測定を用いた予後予測モデルに加え、遺伝子およびオミックス解析を行うことにより、至適薬物療法に対する不応メカニズムを解明し、精度の高い薬物効果予測モデルを開発すること、そして心電図、各種臨床画像データ、さらには患者の顔色や歩行パターンなど、データへの変換が困難な主観的情報を静止画像/動画に記録し、人工知能を用いて機械学習させることも合わせ、高精度の心不全予後モデルを開発し、日本人独自の心不全 Precision Medicine プラットフォームを構築し、臨床現場にフィードバックすることを目的とする。

## II. 対象・方法

まず、2000症例を目標に以下の組み入れ・除外基

準で北海道大学関連の全道内22施設からWeb登録システムを用いて詳細な臨床情報とともに登録し、同時に各種解析を行う。

【組み入れ基準】：外来もしくは入院心不全症例：  
①18歳以上、②日本循環器学会心不全ガイドラインで心不全の確定診断、③本人からの文書同意取得。

【除外基準】：①敗血症、②心筋炎、③閉塞型肥大型心筋症、④拘束型心筋症、⑤心臓移植後あるいは待機、⑥1か月以内の予定心臓手術。

【各種解析】：共同研究施設に各種血液検体・画像データ提供を行い、各種心不全バイオマーカー測定や画像・動画を対象とした人工知能解析 (北大)、ゲノムワイド関連解析 (岩手医大)、ジェノタイプング・オミックス解析 (東北大) を各施設で行い、解析データを北大データセンターに集積し、統合解析を行う。心不全バイオマーカーは病態進展の各段階にかかわる項目を測定する [例：炎症・免疫 (インターロイキン6など)、左室リモデリング (ガレクチン3など)、血管上皮機能 (プロアドレノメデュリンなど)]。ジェノタイプング、オミックス解析に関してはRAAS阻害薬、β遮断薬に関わる候補遺伝子および蛋白機能に関わる項目を解析する<sup>3)</sup>。

【至適薬物治療の実施と予後追跡】：その後、全症例にガイドラインベースの治療を厳格に推奨したうえで、2年間アウトカム (死亡・心不全による再入院・左室機能) を追跡する。

【各種予後モデルの開発】：不良なアウトカム (左室機能低下症例においては至適薬物療法の効果が乏しい) と関連する因子をネットワーク関連解析で同定し、高精度な心不全予後モデル (左室機能低下症例：薬物療法効果予測モデル) を1000例のモデル構築コホートから開発し、1000例のモデル検証コホートで検証し、構築する。

### III. 結果

令和元年度は研究体制の確立、そして主研究機関である北海道大学医学部倫理委員会での承認を得たのちに症例登録を開始することを目標として研究活動を行ってきた。

また、機械学習による心不全患者の歩行パターン動画研究に関しては人工知能解析で豊富な経験を持つ北海道大学放射線科の平田助教とともに、インフォコム株式会社（東京本社）と共同で、OpenPose（米国カーネギーメロン大学が公開している深層学習を用いて人物のポーズを可視化する手法）を用いた歩行動画解析法を開発した。歩行動画アプリを搭載したiPodにより、図1に示すように、各研究参加施設において統一条件下で歩行動画を撮影し、動画データを変換用コンピュータ（Jetson Nano）でエクセルデータ化するものである。今後は予後と関連する歩行パターンについて人工知能深層学習により層別解析を行う。

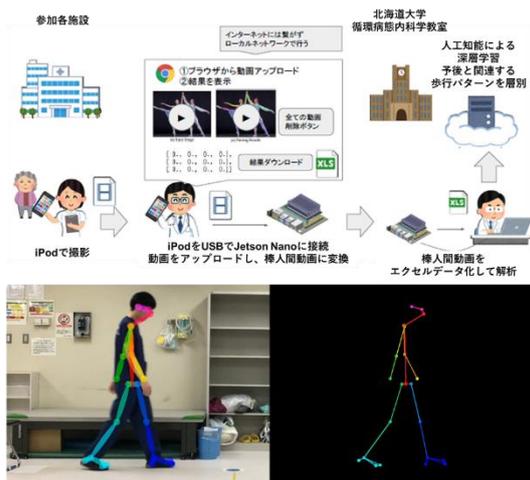


図1 動画アプリを用いた深層学習による歩行パターン層別

令和元年12月20日に北海道大学医学部倫理委員会の承認が得られ、予定通り上記基準に該当する心不全症例の登録を開始した（UMIN登録：UMIN000039026）。他協力施設の倫理委員会の申請も進んでおり、現在順調に登録が進んでいる。

### IV. 考察

現在までに報告されている心不全の予後予測モデルの大半は欧米人のデータを基準にしており、主に血圧、腎機能、あるいは血中簡易バイオマーカーの複合スコアによるものであるが、最近の我々の日英共同研究から欧米心不全予後モデルは日本人心不全症例に

当てはまらないことが明らかとなった<sup>4)</sup>。至適薬物独自の作用点や代謝経路に関する遺伝子・蛋白代謝異常など、さらには人工知能を用いた主観的情報の客観情報化を加味した Precision Medicine に応用できる予後モデルは報告がなく、本研究の独創性は極めて高いと考えられ、特に遺伝子や蛋白代謝にかかわる情報は人種によって異なる可能性が高く、本研究を通じて明らかになった遺伝子・蛋白代謝異常などは基礎研究による詳細な機能・機序解析を行う上での基礎データとなり、結果、新規治療ターゲットの策定につながることを期待される。

また、従来から高い予後改善効果を持つと考えられてきた薬物療法やデバイス治療などに関しても、本研究の成果により、効果が著しく乏しい生物学的背景を持つ症例をあらかじめ同定することで、医療資源の過剰使用を抑制できる可能性もあり、結果として医療費の削減にも寄与し、医療経済的観点からも効果が期待される。

### V. 結論

詳細な生体情報解析、そして人工知能による深層学習を応用した本邦心不全患者における Precision Medicine プラットフォーム構築研究を多施設前向き共同研究として開始した。本研究成果が心不全患者の精密医療の実現に少しでも寄与できることを期待したい。

### VI. 研究協力者

安斉 俊久・北海道大学大学院医学研究院循環病態内科学・教授

清水 厚志・岩手医科大学 いわて東北メディカル・メガバンク機構・特命教授

森野 禎浩・岩手医科大学内科学講座 循環器内科分野・教授

小柴 生造・東北メディカル・メガバンク機構・教授

櫻井 美佳・東北メディカル・メガバンク機構・准教授

平田 健司・北海道大学大学院医学研究院放射線科学分野核医学教室・助教

横田 勲・北海道大学大学院医学研究院医学統計学教室・准教授

### VII. 参考文献

1) Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and

treatment of acute and chronic heart failure:  
The Task Force for the diagnosis and  
treatment of acute and chronic heart failure of  
the European Society of Cardiology (ESC).  
Developed with the special contribution of the  
Heart Failure Association (HFA) of the ESC.  
Eur Heart J 2016; 37: 2129-2200.

- 2) Tsutsui H, Isobe M, Ito H, et al. JCS  
2017/JHFS 2017 Guideline on Diagnosis and  
Treatment of Acute and Chronic Heart Failure  
- Digest Version. Circ J. 2019 Sep  
25;83(10):2084-2184.
- 3) Liu LC, Voors AA, Valente MA, et al. A novel  
approach to drug development in heart failure:  
towards personalized medicine. Can J Cardiol  
2014; 30: 288-95.
- 4) Nagai T, Sundaram V, Shoaib A, et al. Val  
idation of U.S. mortality prediction models  
for hospitalized heart failure in the United  
Kingdom and Japan. Eur J Heart Fail 201  
8 Aug;20(8):1179-1190.