

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02804

研究課題名(和文)心房細動の治療効果を規定する分子機構の解明とリスク診断

研究課題名(英文)Elucidation of molecular mechanism that defines therapeutic effects of atrial fibrillation and risk diagnosis

研究代表者

田中 敏博(Tanaka, Toshihiro)

東京医科歯科大学・統合研究機構・教授

研究者番号：50292850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：心房細動は、不整脈の約1/3を占める最も頻度の高い不整脈である。加齢とともに発症リスクが急激に上昇し、80歳台で10%、90歳台で25%が発症すると言われている。合併症である心原性脳塞栓が寝たきり老人の主要原因の1つとなることから、超高齢社会のわが国では深刻な社会問題を引き起こす疾患の一つである。心房細動の治療効果予測に関連する問題を遺伝的要因、環境要因の両側面からの視点で解決するために、本研究ではゲノム解析と遺伝子発現情報解析を組み合わせた解析を行い、治療応答性を予測するアルゴリズムを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で得られた、心房細動の治療効果を予測するアルゴリズムはある程度の精度を示した。しかしながら、そのまま臨床応用する精度には達していない。解析サンプル数の拡大と、詳細な臨床情報、プロテオーム、ゲノムメチレーション情報など、他の種類の情報も含めた広範な解析により、より高精度の予測アルゴリズムの開発を目指す端緒とするものである。

研究成果の概要(英文)：Atrial fibrillation is the most common form of arrhythmia, accounting for about one-third of arrhythmias. Risk of its onset increases sharply with aging, with 10% in the 80s and 25% in the 90s. Since cardiogenic cerebral embolism, its major complication, is one of the main causes of bedridden elderly people, it should give rise to serious social problems in our country, a super-aging society. In order to solve the problems related to the prediction of the therapeutic effect of atrial fibrillation from the viewpoints of both genetic and environmental factors, in this study, we performed analyses that incorporate both genetic information and gene expression one, to develop an algorithm that can predict responsiveness to the treatment.

研究分野：ゲノム疫学

キーワード：心房細動 ゲノム情報 遺伝子発現情報 二値分類

## 1. 研究開始当初の背景

心房細動は、不整脈の約 1/3 を占める最も頻度の高い不整脈である。加齢とともに発症リスクが急激に上昇し、70 歳代で 5%、80 歳代で 10%、90 歳代で 25%が発症すると言われている。合併症である心原性脳塞栓が寝たきり老人の主要原因の 1 つとなることから、高齢化率が 21%を超える超高齢社会のわが国では深刻な社会問題を引き起こす疾患の一つである。心房細動を始めとする生活習慣病は、多数の遺伝的因子と環境要因が複雑に絡みあって発症すると考えられている。生活習慣病の遺伝的要因に関しては、近年の急速なゲノム解析技術の発達により、数百万ヶ所に及ぶ SNP 座位について比較的容易に情報を得ることができるようになってきた。この技術を用いてゲノムを網羅的に相関解析するゲノムワイドアソシエーション研究 (GWAS) により、多数の疾患について、数多くの疾患関連遺伝子座位が同定され、報告されてきた。心房細動についても 10 を超える関連遺伝子が発見されている。我々も日本人のサンプルについて GWAS 等のゲノム解析を施行し発表してきた (Nature Genetics 2012, Circulation 2014, Nature Genetics 2017a, 2017b)。しかしながら、臨床的に有用な指標についての遺伝子研究を含むバイオマーカー探索研究や分子メカニズム解明研究はなされていない。たとえば、現時点で心房細動の治療に用いられる  $\beta$  遮断薬、Ca 拮抗薬あるいは抗不整脈薬の中長期的な効果を予測することは困難である。一時的に効果があったとしても、経過中に再発することもしばしばみられる。侵襲的な治療法であるカテーテルアブレーションも同様に、中長期的な効果の予測は難しい。これらのクリニカルニーズからのリサーチクエストは「心房細動の治療効果に個人差が生じるのはなぜか?」となる。「体質」としての遺伝的要因を把握し、同時に治療の前後で患者の体内で起きている変化を捉え、遺伝的因子と環境要因との複合的な分子ネットワークの解明をすることで、このクエストに対する答えが導き出せる。

近年、再度注目されるようになった血清エクソソーム (exosome) 内の miRNA は環境要因の変化を映し出すバイオマーカーである。エクソソームは、脂質二重膜で覆われた小型膜小胞であり、エンドソーム (細胞内小胞) の中で産生され、細胞膜と融合することにより細胞外に放出される。内部には細胞由来の mRNA や miRNA が存在することが明らかとなっている。RNA はエクソソームの中にあることで、RNase の大量に存在する血清中であっても安定的に存在できる。miRNA は、タンパクをコードしない 20 塩基前後の RNA であり、他の遺伝子の発現調節を行う機能を有する。細胞の発生、分化、増殖、がん化およびアポトーシスなどの細胞機能の根幹に関わり、がん、感染症、生活習慣病などのさまざまな疾患に関わっていることが知られている。環境の変化により、miRNA の量的あるいは population の変化が起きることが明らかになっている。

## 2. 研究の目的

心房細動治療効果予測に関連する問題を遺伝的要因、環境要因の両側面からの視点で解決するために、本研究を考案した。疾患ゲノム研究上の課題に対しては、患者群を治療効果の有無で層別化して比較することにより、治療効果の遺伝的要因の解明につなげる。preliminary な解析で有望な結果が出ているため、サンプル数を追加して解析を行う。環境要因は、血清エクソソーム中の miRNA の発現情報を取得し、治療奏効群と無効群とで比較解析する。上記の解析に加えて、遺伝的要因と環境要因の相互作用についてゲノム情報と発現情報の 2 つを組み合わせる複合解析を行うことにより、「組み合わせによるバイオマーカー」を同定し、より精度の高い治療応答性予測アルゴリズムを開発する。関連分子群の機能解析や *in silico* パスウェイ解析により、既存のイオンチャネルネットワークを包含する形でのより包括的な治療応答性分子メカニズムの解明につなげる。

## 3. 研究の方法

### ゲノム解析

iScan にてゲノム全領域に亘る SNP 情報を取得する。得られたデータは情報解析用サーバーにアップロードして先行データに追加し、心房細動のアブレーション術の効果に関わるゲノムマーカーを同定する。

### 遺伝子発現情報解析

血清から miRNA を抽出し、RT-PCR による逆転写増幅後に Ion Proton にて網羅的 miRNA シークエンス情報を得る。奏効群、無効群の比較を行い、治療効果の予測に関わる分子を同定する。

### 治療応答性予測アルゴリズムの構築

ゲノム情報および遺伝子発現情報を組み合わせた解析 (2 値分類) を行い、治療への反応性を予測するアルゴリズムの開発を行う。

## 4. 研究成果

ゲノムワイド相関解析により、治療応答性に関わる候補遺伝子群を複数同定した (図 1)。また、遺伝子発現情報解析により、患者血清中に存在する複数の miRNA 種も候補分子として同定した (図 2)。これらの情報を組み合わせた解析の結果、一定の精度で治療応答の予測ができる可能

性が示唆された（図3）。

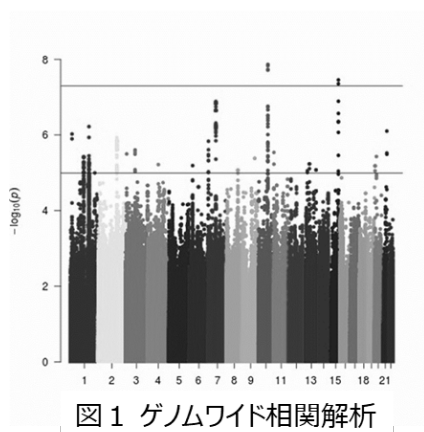


図1 ゲノムワイド相関解析

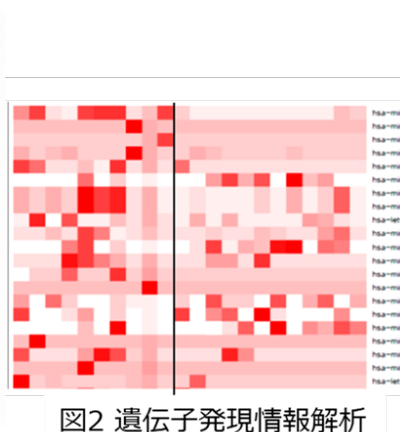


図2 遺伝子発現情報解析

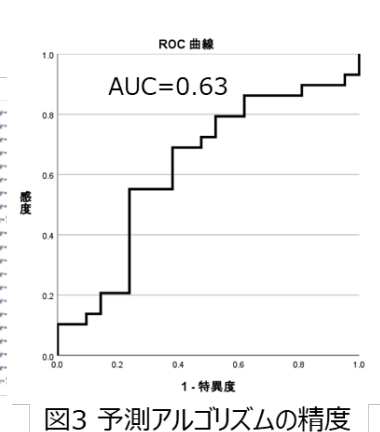


図3 予測アルゴリズムの精度

本研究で得られたアルゴリズムは、ダイレクトに臨床応用に向かうことのできる精度に達していない。今後は、解析サンプル数の拡大と、詳細な臨床情報、プロテオーム、ゲノムメチレーション情報など、他の階層の情報も含めた広範な多階層解析により、より高精度の予測アルゴリズムの開発を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中 敏博
2. 発表標題 Genetics of Arrhythmia
3. 学会等名 日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中 敏博
2. 発表標題 コモンSNPと希少不整脈疾患
3. 学会等名 日本不整脈心電学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中 敏博
2. 発表標題 Genomics of Arrhythmias
3. 学会等名 日本不整脈心電学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	角田 達彦  (Tsunoda Tatsuhiko)  (10273468)	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授    (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	合屋 雅彦  (Goya Masahiko)  (30521364)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授    (12602)	
研究分担者	古川 哲史  (Furukawa Tetsushi)  (80251552)	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授    (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関