

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17610

研究課題名（和文）高血圧感受性遺伝子ATP2B1と動脈硬化の直接的関連の病態解明並びに治療戦略開発

研究課題名（英文）Elucidation of the pathophysiology of the direct association between the hypertension susceptibility gene ATP2B1 and atherosclerosis, and development of therapeutic strategies

研究代表者

小林 雄祐（KOBAYASHI, Yusuke）

横浜市立大学・附属病院・講師

研究者番号：60612629

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：生活習慣病治療中の日本人集団1124名において口腔粘膜細胞から抽出したDNAを用いて、ATP2B1遺伝子のSNPのうちrs11105378を含む12種類のSNPsのタイピングを行い、日本人生活習慣病患者において、ATP2B1遺伝子が治療抵抗性高血圧と関連することが初めて示された。本研究結果を動脈硬化予防のためのテーラーメイド医療の一手法として臨床現場に実装するために、本研究によって得られた膨大なデータを進化型機械学習を用いて解析を行っている。また、研究支援組織との連携体制を構築することで、本研究結果を動脈硬化予測モデルとして社会実装するための出口戦略を検討可能な体制を構築することが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本人の生活習慣病患者においてATP2B1遺伝子が治療抵抗性高血圧と関連することが初めて示されたことにより、治療抵抗性高血圧の治療方法や治療抵抗性高血圧発症のメカニズムの解明につながる可能性がある。また、本研究開発が進み、動脈硬化予測モデルが構築されることにより、個人個人の動脈硬化の進展を予測することができる可能性につながる。動脈硬化予測モデルにより個別の動脈硬化進展が予測されることで、動脈硬化のテーラーメイド医療を実現することにつながる可能性があり、既存の治療方法で動脈硬化進展が予防できなかった患者に対しても治療方法を確立していくことに繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Using DNA extracted from oral mucosal cells in 1124 patients undergoing treatment for lifestyle-related diseases, we typed 12 SNPs, including rs11105378, among SNPs in the ATP2B1 gene, and found that the ATP2B1 gene is associated with treatment-resistant hypertension in Japanese lifestyle-related disease patients. This is the first demonstration that the ATP2B1 gene is associated with treatment-resistant hypertension in Japanese patients with lifestyle-related diseases. In order to implement the results of this study into clinical practice as a method of tailor-made medicine for the prevention of atherosclerosis, we are analyzing the huge amount of data obtained through this study using evolutionary machine learning. In addition, by establishing a system of collaboration with research support organizations, we were able to build a system that enables us to consider exit strategies for social implementation of the results of this research as a predictive model for arteriosclerosis.

研究分野：動脈硬化症

キーワード：動脈硬化 ATP2B1 進化型機械学習 テーラーメイド治療

1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは、2000年から本態性高血圧を対象としたミレニアムゲノムプロジェクトにおいて *ATP2B1* 遺伝子を世界で初めて同定・報告した(1)が、それ以後、他の研究者グループにより、数万人規模の大規模なヨーロッパ人(2)、韓国人(3)、日本人(4)の集団においても同遺伝子が本態性高血圧に最も感受性があると確認された。現在同遺伝子に関しては本態性高血圧をはじめ、動脈硬化症を原因とする冠動脈疾患、メタボリックシンドローム、治療抵抗性高血圧との関連など複数の報告がなされている(5, 6)。さらに、*ATP2B1* 遺伝子の SNP(Single Nucleotide Polymorphism:一塩基多型)である rs7136259 と冠動脈疾患との関連は、高血圧を介しての関連とは独立して有意な関連であったと報告された(7)ことから、*ATP2B1* 遺伝子が直接的に動脈硬化進展に関与することが示唆された。

2. 研究の目的

先行研究によって得られた遺伝子多型ビッグデータは、これまでの統計解析手法では限定的な解析しか行えず、十分な有効活用ができていなかった。そのため、本研究は最新の AI 技術である進化型機械学習を用いることにより、さらに深く *ATP2B1* 遺伝子と動脈硬化の関連を見いだせる可能性がある。本研究では、*ATP2B1* 遺伝子多型が動脈硬化とどのように関連しているかを、動脈硬化指標、自律神経機能指標、体組成、血圧表現型、患者背景、各種生化学検査などの多因子との関連も含めて進化型機械学習を用いて明らかにすることを目的とする。それにより、*ATP2B1* 遺伝子多型を中心とした患者ごとの異なる患者背景を総合的に検討するテーラーメイドな動脈硬化予防を可能とすることを目的とする。

3. 研究の方法

先行研究で得た匿名化されたデータを、進化的機械学習方法を用いて解析を行う。本研究では、機械学習として進化型機械学習という、「説明できる AI(explainable AI)」の技術を応用する。医学的知見や知識との整合性を示すことで、医師や患者にとって「分かり易い」機械学習を使用する。例えば、深層回路を線形回路に変換して星形グラフや説明文で説明する手法によって、最終的な出力を特徴量の線形和の回路に変換するとともに、各特徴量はどの入力変数が関係しているかを星形グラフで分かり易く表示することができる。機械学習で得られた結果を患者に伝える際、例えば「あなたの動脈硬化には、 の関与が大きいですので、 に気を付けましょう」などと伝えることができ、アドバイスを効果的に行うことができることに繋がると考えられる。これらの解析によって得られた結果の解釈方法を本学研究者と協議しながら具体的に下記を検討する。本研究においては、 *ATP2B1* 遺伝子多型と、各種動脈硬化指標(CAVI: Cardio-ankle vascular index、ABI: Ankle-brachial index、頸動脈内膜-中膜複合体厚)との関連の解析と介在する因子の同定、 *ATP2B1* 遺伝子多型ごとに最も各種動脈硬化指標が抑制される理想的患者背景モデルの構築、 *ATP2B1* 遺伝子多型と各種動脈硬化指標以外(既往歴、血圧表現型、体組成、腎機能、自律神経機能指標)の関連における同様な解析を行う。

4. 研究成果

上記方法のもとで下記の研究成果を得た。

(1) *ATP2B1* 遺伝子の SNP と治療抵抗性高血圧の関連

生活習慣病加療中の日本人集団 1124 名において口腔粘膜細胞から抽出した DNA を用いて、*ATP2B1* 遺伝子の SNP のうち rs11105378 を含む 12 種類の SNPs のタイピングを行った。タイピングを行った 1124 名中、コントロールされた高血圧群は 888 名(79.0%)、治療抵抗性高血圧群は 43 名(3.8%)、除外者は 193 名(17.2%)であった。*ATP2B1* 遺伝子のそれぞれの SNP のマイナーアレルをホモ型に保有する患者と比較して、メジャーアレルを保有する患者において、10 個の SNP で有意に治療抵抗性高血圧が多かった(rs1401982 において最も有意で 5.8% vs 0.8%、 $p=0.014$)。年齢、性別、収縮期血圧、その他交絡因子を含む多変量調整後も 2 個の SNP でその関連は有意であった(rs2681472 においてオッズ比 7.60、95%信頼区間 1.00-57.65、 $p=0.05$; rs1401982 においてオッズ比 7.62、95%信頼区間 1.01-57.81、 $p=0.049$ 、図 1)。また、rs2681472 と rs1401982 はそれぞれ rs11105378 と連鎖不平衡にあると考えられた。日本人生活習慣病患者において、*ATP2B1* 遺伝子が治療抵抗性高血圧と関連することが初めて示された(図 2)。本研究において治療抵抗性高血圧と関連を認めた SNPs は rs11105378 と連鎖不平衡にあることから、同 SNP において認められた *ATP2B1* 遺伝子の発現低下が、高血圧のみならずその治療抵抗性に関与する可能性が示唆された。上記内容は、「*ATP2B1* 遺伝子の一塩基多型は治療抵抗性高血圧と関連する」と題して、第 8 回臨床高血圧フォーラム(2019 年 5 月 11 日)で発表し、Young Clinician Award (YCA) 優秀賞を受賞した。

図 1

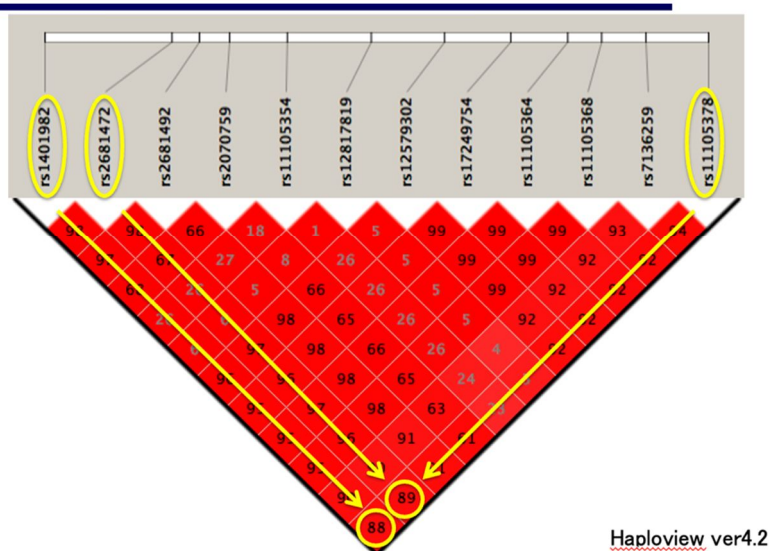
多変量調整後もrs2681472とrs1401982が有意に治療抵抗性高血圧と関連を認めた

	オッズ比	95%信頼区間	p-value
rs17249754	7.33	0.97-55.64	0.054
rs2681492	7.42	0.98-56.37	0.053
rs2681472	7.60	1.00-57.65	0.050
rs11105354	6.57	0.87-49.76	0.069
rs1401982	7.62	1.01-57.81	0.049
rs7136259	7.15	0.94-54.25	0.057
rs11105364	7.33	0.97-55.64	0.054
rs11105378	6.61	0.87-50.43	0.069
rs11105368	7.33	0.97-55.64	0.054
rs2070759	1.18	0.49-2.86	0.715
rs12579302	7.33	0.97-55.64	0.054
rs12817819	0.28	0.03-2.77	0.277

ロジスティック回帰分析(年齢、性別、BMI、収縮期血圧、eGFR、空腹時血糖、LDL、HDL、中性脂肪、糖尿病既往で調整)

図 2

rs2681472とrs1401982はrs11105378と連鎖不平衡の関係にあった



(2) ATP2B1 遺伝子の SNP と動脈硬化指標の関連

先行研究で得た匿名化されたデータを、進化的機械学習方法を用いて解析を行なった。機械学習として進化型機械学習という、「説明できるAI(explainable AI)」の技術を応用した。ATP2B1 の SNP 毎の動脈硬化の進展を予測するモデルに関して検討を進めている。予測モデルに関して、関連特許との差別化を図り、出願検討している。

参考文献

- (1) Yatsu K, Mizuki N, Hirawa N, Oka A, Itoh N, Yamane T, Ogawa M, Shiwa T, Tabara Y, Ohno S, Soma M, Hata A, Nakao K, Ueshima H, Ogihara T, Tomoike H, Miki T, Kimura A, Mano S, Kulski JK, Umemura S, Inoko H. High-resolution mapping for essential hypertension using microsatellite markers. Hypertension. 2007 Mar;49(3):446-52.
- (2) Levy D, Ehret GB, Rice K, Verwoert GC, Launer LJ, Dehghan A, Glazer NL, Morrison

AC, Johnson AD, Aspelund T, Aulchenko Y, Lumley T, Köttgen A, Vasan RS, Rivadeneira F, Eiriksdottir G, Guo X, Arking DE, Mitchell GF, Mattace-Raso FU, Smith AV, Taylor K, Scharpf RB, Hwang SJ, Sijbrands EJ, Bis J, Harris TB, Ganesh SK, O'Donnell CJ, Hofman A, Rotter JI, Coresh J, Benjamin EJ, Uitterlinden AG, Heiss G, Fox CS, Witteman JC, Boerwinkle E, Wang TJ, Gudnason V, Larson MG, Chakravarti A, Psaty BM, van Duijn CM. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension. *Nat Genet.* 2009 Jun;41(6):677-87.

- (3) Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban HJ, Yoon D, Lee MH, Kim DJ, Park M, Cha SH, Kim JW, Han BG, Min H, Ahn Y, Park MS, Han HR, Jang HY, Cho EY, Lee JE, Cho NH, Shin C, Park T, Park JW, Lee JK, Cardon L, Clarke G, McCarthy MI, Lee JY, Lee JK, Oh B, Kim HL. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet.* 2009 May;41(5):527-34.
- (4) Takeuchi F, Isono M, Katsuya T, Yamamoto K, Yokota M, Sugiyama T, Nabika T, Fujioka A, Ohnaka K, Asano H, Yamori Y, Yamaguchi S, Kobayashi S, Takayanagi R, Ogiwara T, Kato N. Blood pressure and hypertension are associated with 7 loci in the Japanese population. *Circulation.* 2010 Jun 1;121(21):2302-9.
- (5) Takeuchi F, Isono M, Yamamoto K, Yokota M, Akiyama K, Katsuya T, Kim HS, Park JE, Jang Y, Lee JY; AGEN Consortium, Lee JY, Kato N. Heterogeneous effects of association between blood pressure loci and coronary artery disease in east Asian individuals. *Circ J.* 2015;79(4):830-8.
- (6) Fontana V, McDonough CW, Gong Y, El Rouby NM, Sá AC, Taylor KD, Chen YD, Gums JG, Chapman AB, Turner ST, Pepine CJ, Johnson JA, Cooper-DeHoff RM. Large-scale gene-centric analysis identifies polymorphisms for resistant hypertension. *J Am Heart Assoc.* 2014 Nov 10;3(6):e001398.
- (7) Lu X, Wang L, Chen S, He L, Yang X, Shi Y, Cheng J, Zhang L, Gu CC, Huang J, Wu T, Ma Y, Li J, Cao J, Chen J, Ge D, Fan Z, Li Y, Zhao L, Li H, Zhou X, Chen L, Liu D, Chen J, Duan X, Hao Y, Wang L, Lu F, Liu Z, Yao C, Shen C, Pu X, Yu L, Fang X, Xu L, Mu J, Wu X, Zheng R, Wu N, Zhao Q, Li Y, Liu X, Wang M, Yu D, Hu D, Ji X, Guo D, Sun D, Wang Q, Yang Y, Liu F, Mao Q, Liang X, Ji J, Chen P, Mo X, Li D, Chai G, Tang Y, Li X, Du Z, Liu X, Dou C, Yang Z, Meng Q, Wang D, Wang R, Yang J, Schunkert H, Samani NJ, Kathiresan S, Reilly MP, Erdmann J; Coronary ARtery Disease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Consortium, Peng X, Wu X, Liu D, Yang Y, Chen R, Qiang B, Gu D. Genome-wide association study in Han Chinese identifies four new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet.* 2012 Jul 1;44(8):890-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林雄祐
2. 発表標題 ATP2B1遺伝子の一塩基多型は治療抵抗性高血圧と関連する
3. 学会等名 第8回臨床高血圧フォーラム
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------