

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17110

研究課題名（和文）多遺伝子リスクスコアを用いた肥大型心筋症における新たな疾患発症機序の解明

研究課題名（英文）Leveraging Polygenic Risk Score for Elucidating Novel Disease Mechanisms in Hypertrophic Cardiomyopathy

研究代表者

野村 章洋（Akihiro, Nomura）

金沢大学・融合科学系・准教授

研究者番号：30707542

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,300,000円

研究成果の概要（和文）：今回、従来からの単一遺伝子変異の検索では原因が同定されなかった肥大型心筋症（HCM）患者に対して、心室中隔壁厚（IVS）に対する多遺伝子リスクスコア（PRS-IVS）の観点から多遺伝子が合わさることで発症するタイプのHCMの探索を行った。まず、PRS-IVSの導出方法を樹立した。続いて、対照群と比較して、原因変異保有HCM群、原因変異非保有HCM群はいずれも有意にPRS-IVSは高値であることを示した。一方、HCM患者において原因保有群と原因非保有群間でのPRS-IVSに有意な差はみられなかった。さらにPRS-IVSと各群のIVS実測値との相関もみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究では、肥大型心筋症（HCM）の臨床的診断基準に用いられている心室中隔壁厚（IVS）に対する多遺伝子リスクスコア（PRS-IVS）を、日本人の公開ゲノム解析データ（BioBank Japan）を用いて計算する方法を確立した。また、非HCM患者（対照群）に対して、HCM群は原因遺伝子変異の有無に関わらずPRS-IVSが有意に高値であることを初めて明らかにした。今後も、多数の遺伝子が関与してHCMの形態学的特徴を呈しうる患者の同定、ならびにその疾患機序の解明に向け、さらなる研究が必要である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted a research for hypertrophic cardiomyopathy (HCM) that could occur through the combination of multiple genetic variants using a polygenic risk score (PRS) for inter-ventricular septal thickness (PRS-IVS), especially targeting HCM patients in whom the cause could not be identified by conventional genetic screening for monogenic causal variants. Firstly, we established the method for calculating PRS-IVS. Secondly, we showed that both the HCM causal variant carrier group and the HCM causal variant non-carrier group had significantly higher PRS-IVS values compared to the control group. On the other hand, no significant difference in PRS-IVS was observed between causal variant carriers and non-carriers among patients with HCM. Furthermore, no correlation was found between PRS-IVS and the actual IVS values of each group.

研究分野：循環器学

キーワード：肥大型心筋症 多遺伝子リスクスコア バイオインフォマティクス

様式 C-19、F-19-1、Z-19(共通)

## 1. 研究開始当初の背景

肥大型心筋症は、幼小児期より心臓突然死を発症しうる特発性心疾患であり、若年者突然死の原因として最も頻度が高い。そのため、早期発見・早期治療は突然死を予防する上で重要な課題である。1990年に最初の肥大型心筋症の原因遺伝子(MYH7)が報告されて以来、心筋サルコメアをコードする遺伝子を中心に10種類以上の遺伝子領域が肥大型心筋症の原因遺伝子として報告されてきた。近年は遺伝子検査にハイスループットシーケンサー(HTS)を利用し、一例として本研究グループはこれまで原因遺伝子変異が不明であった家族性肥大型心筋症大家系を対象とし、HTSを用いた全エクソームシーケンスにてミオシン必須軽鎖(MYL3)に原因変異を同定、その臨床的特徴を検討した。

これまで、網羅的な原因遺伝子解析を行うことで、家族性肥大型心筋症家系の約50%において既知原因遺伝子に変異が同定され、肥大型心筋症の遺伝子診断とその予後予測に貢献してきた。しかし、残りの50%においては既知原因遺伝子内に原因が認められず、その肥大型心筋症発症を説明できる新たな遺伝子あるいは発症メカニズムは未だ不明である。

最近の研究により、重篤なメンデル遺伝病の中で、以前より検討されている希少な単一遺伝子変異(単一遺伝形式)だけでなく、頻度の高い一塩基変異が多数組み合わせること(多因子遺伝形式)でも重篤なメンデル遺伝病と同様の表現型を発症しうるということがわかってきた。しかし、このような多数の一塩基変異が組み合わせること、これまでは単一遺伝形式と考えられているような肥大型心筋症が発症するかどうかを検討した研究は皆無である。またその単一原因遺伝子変異を原因とする肥大型心筋症と比較して、多数の一塩基変異が組み合わせることを原因とする肥大型心筋症がどのような臨床的特徴を有するかも不明である。

## 2. 研究の目的

以上より本研究では、従来からの単一遺伝子変異の検索では原因が同定されなかった肥大型心筋症(HCM)患者に対して、多数の遺伝子変異それぞれの心室中隔壁厚(IVS)に対する効果量を重み付けした上で次元の代表値として表した多遺伝子リスクスコア(PRS<sub>IVS</sub>)を用いることで、多遺伝子が合わさることによって発症する多因子遺伝形式タイプのHCM(Polygenic HCM)の探索を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) HCM患者におけるPRSの算出

研究概要を図1に示す。当研究機関・研究室が管理する肥大型心筋症患者データベース/リポジトリに登録されているHCM患者703名に対して、HCM関連候補遺伝子に対するサンガー法あるいはHTSを利用した網羅的パネル解析を行う。当研究室におけるHCM関連候補遺伝子のHTSを用いた解析は、2016年度日本医療研究開発機構(AMED)循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策実用化研究事業、「家族性高コレステロール血症に対する臨床応用を目指した網羅的遺伝子診断スキームの確立:病原遺伝子変異の同定および臨床的意義の検討」(申請者は研究協力者として参画)にて解析スキームを確立しており、現在までに既に100検体以上のHCMあるいはHCMに関連した患者に対する網羅的パネル解析が終了している。

解析の後、HCMに関連する単一遺伝子変異が同定された患者群(Monogenic HCM)と、同定されなかった患者群に分け、同定されなかった患者群に対してIllumina Asian Screening Array®を用いた一塩基変異解析を行う。当研究室においてHCMと診断された発端者の遺伝子検査陽性率は約50%であり、約300名程度が同定されない群に該当すると考えられる。Asian Screening Arrayを用いたジェノタイプングは専門の検査機関において外注にて行う。各遺伝子座のジェノタイプの結果をそのまま使用するだけでなく、研究協力機関の革新ゲノム情報学分野を通じ、1000ゲノムプロジェクトの公開データを用いた全ゲノム領域の変異インピュテーションを依頼し、より精度の高いPRSの算出を目指す。

### (2) 家族性高コレステロール血症(FH)患者をコントロールとしたPRSの算出

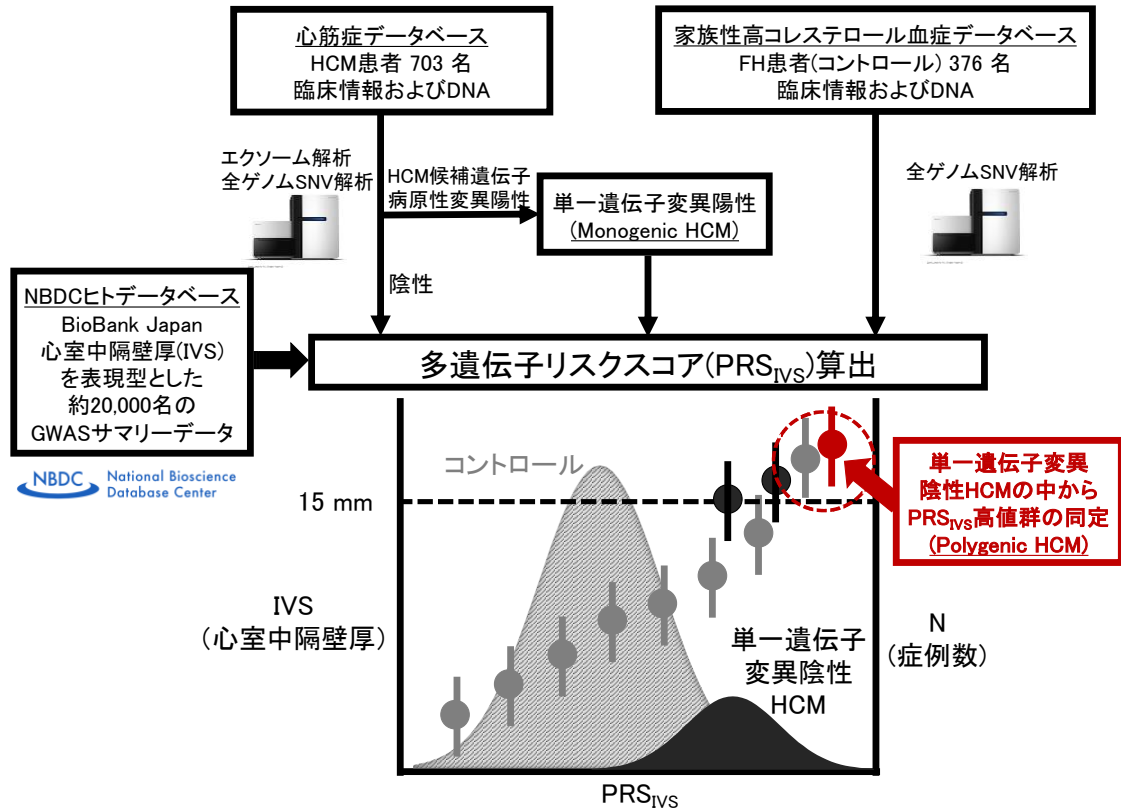
既に当研究室で実施された先行研究(多遺伝子リスクスコアを用いた家族性高コレステロール血症の新たな発症機序の解明[試験番号:2019-009(548)])でAsian Screening Arrayを用いたジェノタイプングが終了しているFH患者376名をコントロールとし、各々の一塩基変異情報から心エコー検査におけるIVSに対するPRS<sub>IVS</sub>を算出する。算出したFHコントロール群のPRS<sub>IVS</sub>を、HCM(ケ

ース)群と比較検討する。

### (3) 多因子遺伝リスクスコア(PRS)の算出方法の詳細

16万人を超える BioBank Japan のデータを用いたゲノムワイド関連解析の公開データにおいて、心室中隔壁孔と有意に関係する全ての一塩基変異の座位および効果量( $\beta$ )を用い、ジェノタイプインプテーションしたデータから個々人の心室中隔壁厚に対する PRS を算出する。

図 1. 研究概要.



## 4. 研究成果

### (1) 研究対象集団

本研究において HCM 群は、金沢大学肥大型心筋症データレポジトリに登録されている 703 名のうち、遺伝学的検査の同意が確認され、肥大型心筋症に関連する単一遺伝子変異の有無の評価がなされており、かつ心臓エコーデータが存在し心室中隔壁厚(IVS)に対する多遺伝子リスクスコアが計算可能であったのは 267 名であった。一方コントロール群は、金沢大学 FH データベースに登録されている被験者のうち、心臓エコーデータが存在し、かつ IVS に対する多遺伝子リスクスコアが計算可能であったのは 133 名であった。以上、合計 400 名を以降の解析に用いた。

### (2) 被験者背景

HCM 群 287 名のうち、遺伝学的検査により肥大型心筋症に関連する遺伝子に単一遺伝子変異がみられた単一遺伝子変異陽性 HCM 群は 79 名、変異陰性 HCM 群は 188 名であった。コントロール 133 名とあわせた 3 群の被験者背景を以下の表に示す。

表. 被験者背景.

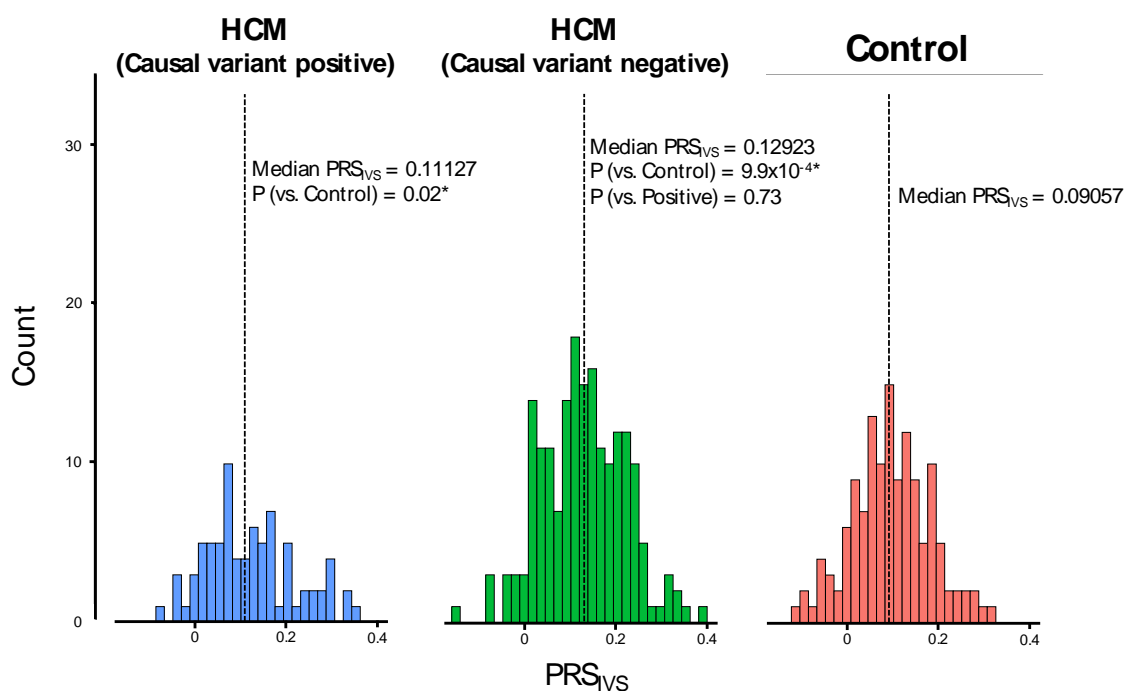
|                                  | Monogenic variant positive HCM n = 79 | Monogenic variant negative HCM n = 188 | Control n=133 |
|----------------------------------|---------------------------------------|--|---------------|
| Age at echocardiography, mean±SD | 54.1 ± 18                             | 59.3 ± 16                              | 51.7 ± 17     |
| Male sex, n (%)                  | 49 (70)                               | 146 (78)                               | 62 (47)       |

| <b>HCM features, n (%)</b>                          |                    |                    |                    |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|
| Family history of HCM                               | 41 (52)            | 49 (26)            | -                  |
| Chest pain  | 10 (13)            | 12 (6)             | -                  |
| Syncope   |                    |                    | -                  |
| Cardiopulmonary arrest                              | 12 (15)            | 9 (5)              | -                  |
| NYHA class  |                    |                    | -                  |
| I   | 41 (52)            | 134 (71)           | -                  |
| II  | 21 (27)            | 29 (15)            | -                  |
| III   | 4 (5)              | 3 (2)              | -                  |
| IV  | 2 (3)              | 3 (2)              | -                  |
| Unknown   | 11 (14)            | 19 (10)            | -                  |
| Non-sustained ventricular tachycardia               | 10 (13)            | 15 (8)             | -                  |
| Atrial fibrillation                                 | 8 (10)             | 14 (7)             | -                  |
| Left ventricular outflow tract obstruction          | 8 (10)             | 19 (10)            | -                  |
| Dilated phase of HCM                                | 1 (1)              | 1 (1)              | -                  |
| Apical HCM  | 5 (6)              | 23 (12)            | -                  |
| <b>Echocardiogram, median [IQR]</b>                 |                    |                    |                    |
| Intraventricular septum thickness                   | 17.0 [13.0 - 20.0] | 14.0 [12.0 - 17.8] | 9.0 [8.0 - 10.0]   |
| Max wall thickness                                  | 18.0 [15.0 - 22.0] | 16.0 [13.0 - 20.0] | 9.0 [8.0 - 10.0]   |
| Left ventricular internal dimension in end-diastole | 45.0 [39.5 - 49.0] | 46.0 [42.0 - 50.0] | 47.0 [44.0 - 50.0] |
| Left ventricular internal dimension in end-systole  | 26.0 [23.0 - 31.0] | 27.0 [24.0 - 31.0] | 29.0 [26.0 - 32.0] |
| Posterior wall thickness                            | 11.4 [10.0 - 13.0] | 11.0 [10.0 - 13.0] | 9.0 [8.0 - 10.0]   |

### (3) PRS<sub>IVS</sub>の原因変異保有 HCM 患者、非保有 HCM 患者、コントロール間での比較

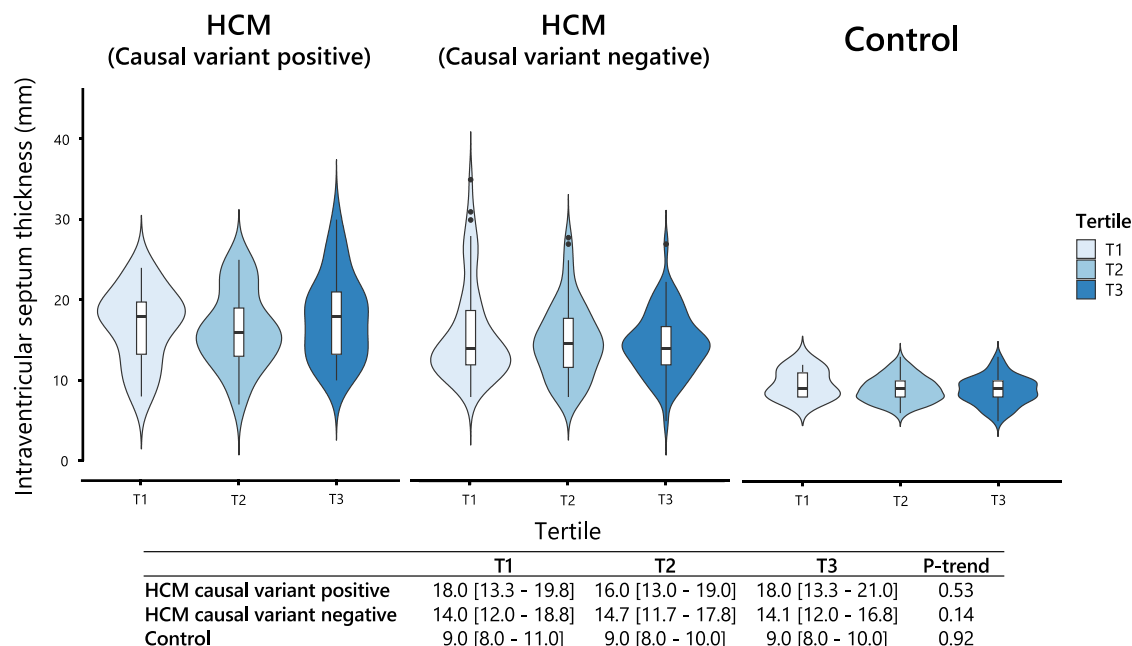
図 2 に原因変異保有 HCM 群、非保有 HCM 群、コントロール群の PRS<sub>IVS</sub> の分布を示す。PRS<sub>IVS</sub> の中央値はそれぞれ 0.11127、0.12923、0.09057 であった。コントロール群と比較して、原因変異保有 HCM 群(Age- and sex-adjusted P value = 0.02)、原因変異非保有 HCM 群(P = 9.9×10<sup>-4</sup>)はいずれも有意に PRS<sub>IVS</sub> は高値であった。一方で、HCM 患者において原因保有群と原因非保有群間での PRS<sub>IVS</sub> に有意な差はみられなかった(P = 0.73)。

図 2. 原因変異保有(Causal variant positive) HCM 群、非保有(Causal variant negative) HCM 群、コントロール(Control)群の PRS<sub>IVS</sub> の分布。



次に、算出した PRS<sub>IVS</sub>とそれぞれの群における IVS の実測値との相関を検討した。図 3 は PRS<sub>IVS</sub>を原因変異保有(Causal variant positive) HCM 群、非保有(Causal variant negative) HCM 群、コントロール(Control)群それぞれで3分位に分け、分位ごとの IVS の推移を3群それぞれで比較したものである。図で示すとおり、今回算出した PRS<sub>IVS</sub>は原因変異保有 HCM 群(P-trend = 0.53)、非保有 HCM 群(P-trend = 0.14)、コントロール群(P-trend = 0.92)いずれにおいても有意な相関関係はみられなかった。

図 3. PRS<sub>IVS</sub>3分位(T1, T2, T3)と原因変異保有(Causal variant positive) HCM 群、非保有(Causal variant negative) HCM 群、コントロール(Control)群における IVS 実測値との関係。



#### (4) 結果と考察

今回、従来からの単一遺伝子変異の検索では原因が同定されなかった肥大型心筋症(HCM)患者に対して、PRS<sub>IVS</sub>の観点から多遺伝子が合わさることで発症するタイプの HCM の探索を行った。まず、研究方法にて予定した手法を用いることで PRS<sub>IVS</sub>の導出方法を樹立し、HCM 群、コントロール群それぞれの被験者個別の PRS<sub>IVS</sub>を計算することができた。そして、コントロール群と比較して、原因変異保有 HCM 群、原因変異非保有 HCM 群はいずれも有意に PRS<sub>IVS</sub>は高値であることを明らかにした。一方で、HCM 患者において原因保有群と原因非保有群間での PRS<sub>IVS</sub>に有意な差はみられなかった。さらに、PRS<sub>IVS</sub>と 3 群における IVS の実測値との相関を検討したが、今回算出した PRS<sub>IVS</sub>は原因変異保有 HCM 群、非保有 HCM 群、コントロール群いずれにおいても有意な相関関係はみられなかった。以上より、本研究結果からは原因変異非保有 HCM に多遺伝子が合わさることで発症する多因子遺伝形式タイプの HCM(Polygenic HCM)を示唆する明確な所見は得られなかった。今後は PRS<sub>IVS</sub>の疾患経過ならびに予後に対する影響を評価するとともに、IVS 以外の表現型を対象とした PRS を用いた Polygenic HCM の検討、あるいは HCM のリスク層別化についての検討を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Nomura Akihiro, Sato Takehiro, Tada Hayato, Kannon Takayuki, Hosomichi Kazuyoshi, Tsujiguchi Hiromasa, Nakamura Hiroyuki, Takamura Masayuki, Tajima Atsushi, Kawashiri Masa-aki | 4. 巻<br>66                |
| 2. 論文標題<br>Polygenic risk scores for low-density lipoprotein cholesterol and familial hypercholesterolemia  | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Human Genetics   | 6. 最初と最後の頁<br>1079 ~ 1087 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s10038-021-00929-7   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-                 |

〔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<br>Akihiro Nomura  |
| 2. 発表標題<br>Polygenic Risk Score for Low-density Lipoprotein Cholesterol and its Contribution to Familial Hypercholesterolemia. |
| 3. 学会等名<br>第85回日本循環器学会学術集会   |
| 4. 発表年<br>2021年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)              | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                   | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究協力者 | 佐藤 丈寛<br>(Sato Takehiro)<br>(10558026) | 国立大学法人金沢大学・医学系革新ゲノム講座・助教<br><br>(13301) |    |
| 研究協力者 | 多田 隼人<br>(Tada Hayato)<br>(90623653)   | 国立大学法人金沢大学・附属病院循環器内科・助教<br><br>(13301)  |    |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|