

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：12602  
研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2011～2012  
課題番号：23790841  
研究課題名（和文）心房細動関連遺伝子の機能解析および臨床像との関連研究  
研究課題名（英文）Functional analysis and clinical study of atrial fibrillation - associated genes  
研究代表者  
江花 有亮（EBANA YUSUKE）  
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教  
研究者番号：60517043

## 研究成果の概要（和文）：

ゲノムワイド関連研究によって同定された心房細動に関連する遺伝領域として第4染色体長腕25に関する機能解析の結果、クロマチン免疫沈降法やレポーター・アッセイを通して、この領域内にはエンハンサー、サイレンサー機能を示唆する所見が得られた。周辺の遺伝子を cis 制御することで心房細動感受性に関連していると考えられた。また臨床研究として、肺静脈隔離術という心房細動に対するカテーテル治療の効果判定を行った。リスクアレルを持つ症例では再発が有意に高いことが判明し、これらを踏まえた臨床応用が期待される。

## 研究成果の概要（英文）：

Genome-wide association study identified chromosome 4q25 as an atrial fibrillation (AF) locus. Functional analyses with chromatin immunoprecipitation and reporter assay revealed that this genetic region has enhancer and silencer function, which indicates that the cis-regulatory elements make genes in the neighborhood activated or silent, and finally that they confer the AF susceptibility. Next, as clinical study, we investigated whether the efficacy rate of pulmonary vein isolation (namely, catheter ablation for AF) depended on this SNP allele. The risk allele homozygotic carriers recurred more frequently than others. These findings might lead to clinical practice in the near future.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：分子心臓病態学

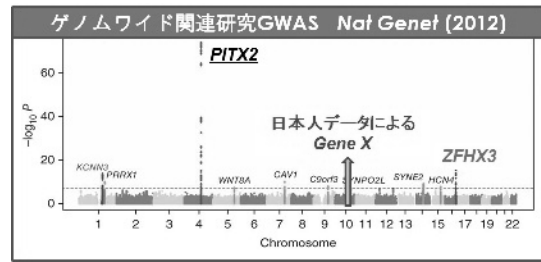
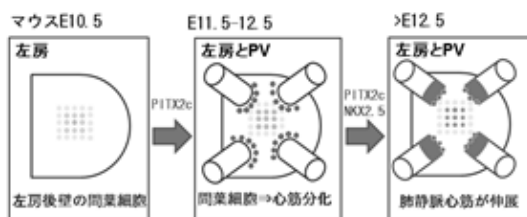
## 1. 研究開始当初の背景

心房細動(AF)は頻度の高い不整脈であり、加齢とともに有病率が増加し、心不全や心

原性塞栓症の原因となることから、高齢化社会を迎えた我が国では病態解明、治療法の確立が切望されている。臨床研究から特定の遺伝情報と AF 発症の関連が示唆され、近年欧米では一塩基多型 (SNP) を用いた全ゲノム解析 (GWAS) の結果、新たな AF 関連遺伝子座が同定されている。我が国では文部科学省の主導で「個別の遺伝情報に基づいた医療」推進プロジェクトとしてアジア人種初の大規模な AF に関する GWAS が実施され、複数の心房細動関連遺伝子座が同定された。

## 2. 研究の目的

最も有意差のあったのは 4q25 で、組み合わせた集団での相関解析の P 値は  $10^{-30}$  未満であった。この遺伝子座 (「AF4q25」と呼ぶ) から AF 機能的 SNP を同定するために AF 症例 24 人分のゲノム DNA を用いてこの AF4q25 94kb について連鎖不平衡 (LD) 解析をしたところ、最も有意である SNP は 23 存在することが分かった。AF4q25 に遺伝子は存在しないものの、150kb 離れた近傍に *PITX2c* 遺伝子が存在する。*PITX2c* は左右差決定因子であり、近年では心臓でも左房に多く発現していることが確認され、遺伝子欠損 (KO) 動物による実験から肺静脈 (PV) 周辺の左房内間葉系幹細胞の増殖と心房筋への分化によって PV sleeve の進展に関与することが示唆されている。PV sleeve における異所性興奮が AF の trigger になるとされており、

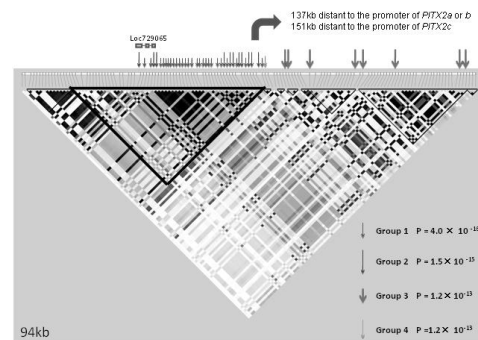


AF の発症に関わる可能性が高い。

この結果の中を踏まえて日本人特有の AF 関連遺伝子を同定し、機能解析を通して AF 発症のメカニズムの解明と個別の病態にあった Personalized medicine の構築が本研究の長期的目標である。

## 3. 研究の方法

第一スクリーニングとしては 550K の SNP を用いて AF 群 845 人、対照群 3350 人について行われた。結果は Bonferroni 補正の後も有意であったものは欧米の結果と同様に非コード DNA 領域であった。別の日本人集団 (AF 群 300 人、対照群 1500 人) を二次スクリーニングとして P 値の小さい

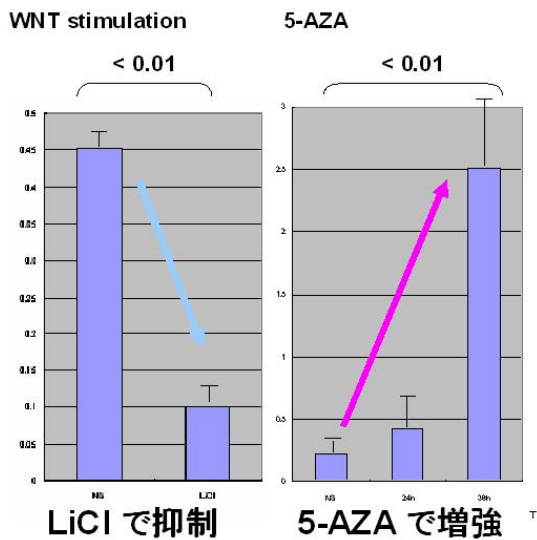


ものから上位の 15 の SNP について追加で genotyping を行った。

## 4. 研究成果

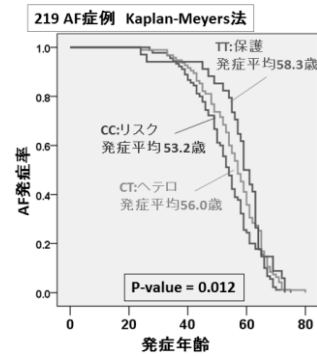
AF に関する GWAS のメタ解析によって 4q25 領域および ZFHX3 をはじめとする 10 の遺伝子座が同定されている。また日本人の GWAS (AF 症例 1,145 人、対照症例 4,850 人) では、極めて有意であった 4q25 領域を研究の対象と

した。タンパク質コード遺伝子のない4q25領域はGWASで関連を指摘されているがAF発症に関する詳細なメカニズムは不明である。150kb離れて存在するPITX2cはPV sleeveの形成の際に左房内の間葉系細胞から心筋細胞へ分化させることが示されており、4q25領域がPITX2領域へ遠隔的に制御していると考えられている。4q25上の全SNPから連鎖不平衡解析で23の候補SNPに絞り、cis制御エレメントを探索した。間葉系細胞ではひとつのSNP周辺においてenhancer mark (H3K4me1) とsilencer mark (H3K27me3)の結合を認めるbivalentな状態で、これを心筋細胞へ分化誘導したところsilencer markが外れ、PITX2の発現上昇を認めた。ク



ロマチン構造捕捉アッセイで分化誘導によってダイナミックなchromatin loop構造を形成し4q25とPITX2が相互作用していることを明らかとなった。リスク・保護アレルをLuciferase vectorに組み込んだReporter assayではアレルによってenhancer活性が異なっており、このSNP周辺のcis制御エレメントがPITX2発現を制御していることが示された。臨床データとSNPとの関連については本学附属病院に通院するAF患者の発症年齢について、219人のAF

症例を遺伝子型で分けてKaplan-Meyer曲線を使って調べたところ、保護アレルとリスクアレルでは発症年齢が最大5年早まることがわかった。遺伝的な素因によるAFリスクが確認された。



## 5. 主な発表論文等

なし

〔雑誌論文〕(計 件)

なし

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 心房細動関連遺伝子座4q25の遺伝子多型によるPITX2遺伝子発現の制御. 江花有亮、磯部光章、古川哲史 2012 第29回日本心電学会 千葉
2. Caveolin1 遺伝子座の遺伝子多型と心房細動発症および左房拡大に関する解析 江花有亮、牧田哲、荒井裕国、磯部光章、古川哲史 2012 第57回日本人類遺伝学会 東京
3. During the transdifferentiation from mesenchyme to cardiomyocyte, atrial fibrillation associated locus 4q25 enhanced PITX2c expression to interact with its promoter. Yusuke Ebana, Kouich Ozaki, Toshihiro Tanaka, Mitsuaki Isobe, Tetsushi

Furukawa 2013 第 77 回日本循環器学会  
横浜

4. A SNP in 4p15.2 was Identified as a Novel Atrial Fibrillation Associated Locus Through the GWAS in Japanese Population. Yusuke Ebana, Hitoshi Hachiya, Kenzo Hirao, Mitsuaki Isobe, Osamu Inaba, Junichi Nitta, Motoji Sawabe, Atsushi Takahashi, Hiroaki Nakamura Tetsushi Furukawa 2013 第 77 回日本循環器学会 横浜

〔図書〕(計 件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計 件)

なし

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

江花有亮 (Yusuke Ebana)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号: 60517043

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号:

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号: