

第10回学術賞受賞レポート

ゲノム・オミックス解析による心不全の精密医療の発展

野村 征太郎

東京大学医学部附属病院 循環器内科

1. はじめに

まずはじめに、心不全学会の学術賞を受賞する荣誉に与ることとなり、私が日頃からご指導いただいている小室一成先生をはじめ、研究室で一緒に仕事をしている皆に心から感謝の気持ちを申し上げます。

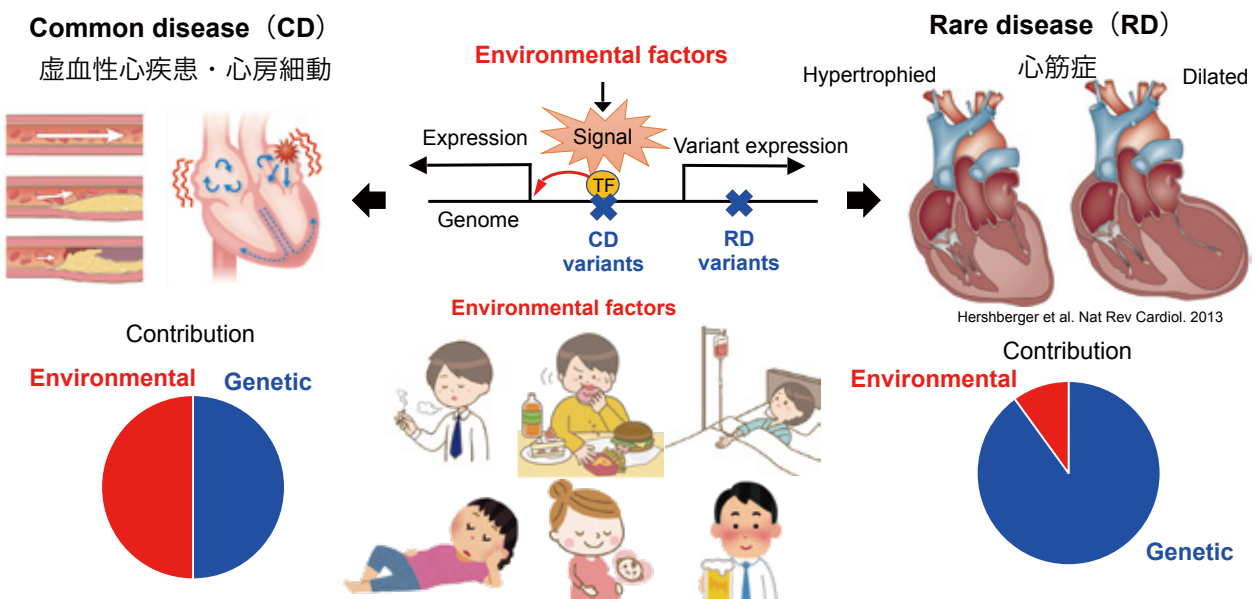
私は千葉大学を卒業して聖路加国際病院で臨床研修・総合内科研修・循環器内科研修を行う中で、多くの患者を診療する機会に恵まれ、数えきれないほどの臨床経験を積むことができた。一方で、現在の医療では救えない患者、最適な治療法が存在しない患者もたくさんいることがわかった。このまま自分が臨床を続けていくだけでは、今救えない患者を救うことはできないのではないか。今救えない患者を救うためには、今の臨床では何か欠けているピースがあるのではないかと考えた。自分が研究をすることで、少しでもそのピースを埋めることができるので

はないか。そう考えて私が大学在学中から大変懇意にしていた小室一成先生と相談し、教科書を書き換えるような大きな仕事をしようと思志すこととなった。

千葉大学の大学院時代では、一人一人の症例に時間をかけて向き合い、その患者の臨床像の違いを見極めることに注力し、多くの症例報告を出すことができた。しかしながら、そこで患者の診療を進めていく中でも、目の前にいる一人一人の患者に最適な治療を提供できているのか、そもそもその患者がその疾患を発症したのはなぜか、その病態に基づいた治療法を作るにはどうしたら良いか、といった根本的な問題を追求したいと考えようになった。

その後の自分の研究は「循環器疾患をはじめ、あらゆる疾患は遺伝要因と環境要因の組み合わせで発症する」というコンセプトに基づいている(図1)。このコンセプト

図1：循環器疾患は遺伝要因と環境要因の組み合わせによって発症する



トに基づいて、循環器疾患の病態をできるだけ正確に分子の言葉で説明し、臨床の情報と連結して理解したいと考えてきた。

2. ゲノム解析研究

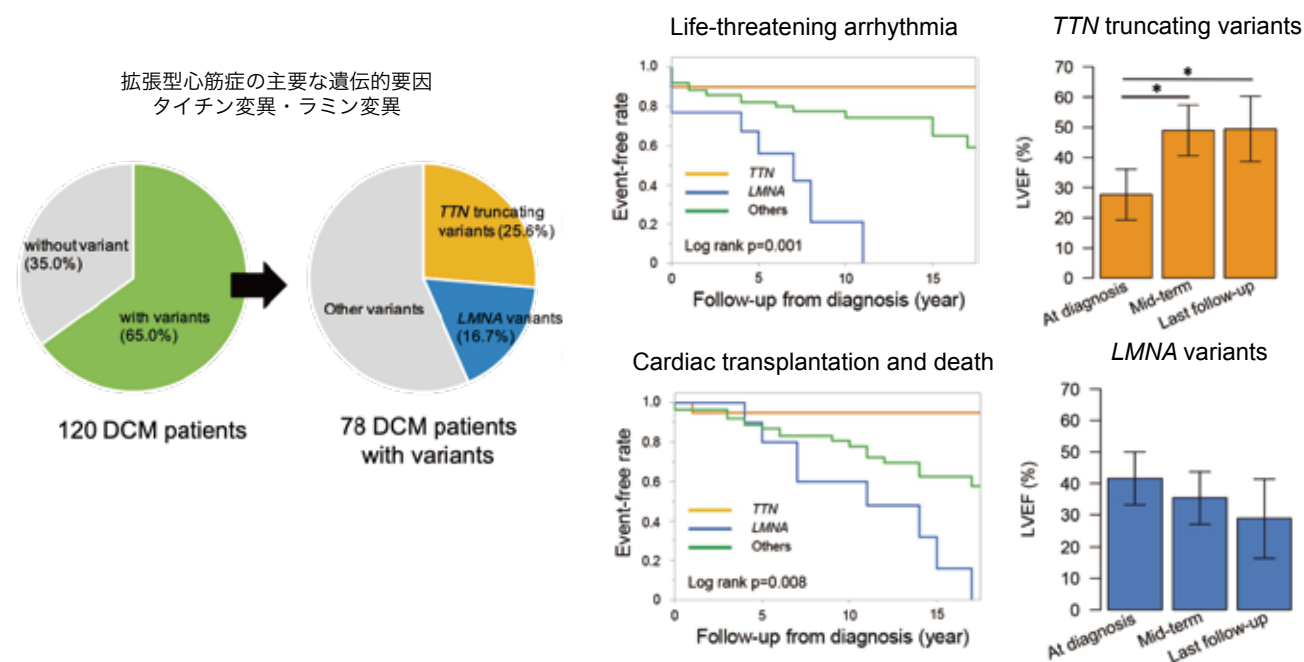
まずは遺伝的な要因によって心不全を発症する拡張型心筋症のゲノム解析を実施することとした。今から10年以上前になるが、東京女子医大から大学院生として私の研究室に来てくれた飛田尚重先生と一緒に、100種類程度の心筋症原因遺伝子の変異を高速に調べる心筋症遺伝子解析パネルを開発した。現在国立循環器病研究センターの朝野仁裕先生と奈良県立医科大学の尾上健児先生と一緒に、拡張型心筋症患者のゲノムDNA検体を全国から収集してこの遺伝子解析パネルで解析したところ、拡張型心筋症患者において原因遺伝子を4-5割の患者で検出できること、そのうちTTN遺伝子の短縮型変異とLMNA遺伝子変異が最も大きい遺伝的要因であることがわかった¹⁾ (図2)。

また、TTN遺伝子変異タイプは薬剤応答性がよく左室リバーシリモデリングを生じやすく予後が良い一方で、LMNA遺伝子変異タイプは薬剤応答性が悪く左室リバーシリモデリングを生じず予後が大変悪い、ということもわかった。LMNA遺伝子変異タイプは重症心不全のみならず致死性不整脈も高頻度で発症することもわかり、

これは臨床現場での精密医療への速やかな応用が期待された。その後に改訂された心筋症診療ガイドラインにおいても本知見は速やかに反映され、これらの遺伝子変異の検出は推奨クラス I として高く推奨されることとなった。特に、LMNA遺伝子変異を有する症例では植込み型除細動器(ICD)による突然死予防がガイドライン上でも積極的に推奨されることとなり、臨床現場における拡張型心筋症の遺伝子解析は極めて重要と言える。こういった知見に基づいて全国的に遺伝子解析の需要が高まり、現在、拡張型心筋症のオールジャパン体制でのゲノムコホート研究が走っている。最近は、LMNA遺伝子変異症例では左室補助人工心臓を植込んでも右心不全を発症しやすく予後が不良であることも我々は明らかにしている²⁾。

我々はまた、家系発症の拡張型心筋症患者のゲノム解析から、新規の原因遺伝子としてMYLK3遺伝子を発見することにも成功した³⁾。さらに最近は理化学研究所の伊藤薫先生らとの共同研究で、生活習慣に関連した循環器疾患として、冠動脈疾患や心房細動のゲノム解析も実施している^{4,5)}。その結果、ゲノム情報から個人ごとに計算したポリジェニック・リスクスコアによって、それぞれの疾患のリスクを生まれながらにして計測できることがわかった。このように、ここ最近のゲノム解析研究によって循環器疾患の多くの遺伝的要因を明らかにすることができ、その一部は臨床に応用されつつある。

図2：タイチン変異は予後が良くリバーシリモデリングを起こす一方、ラミン変異は予後が悪い（文献1を改変引用）



3. 組織オミックス解析研究

前述の通り、循環器疾患をはじめ、あらゆる疾患は遺伝要因と環境要因の組み合わせで発症する。遺伝要因は生まれながらにして個体における疾患リスクを規定しているが、その後その個体における細胞は成長していく過程でさまざまな環境の影響を受け、その状態は刻々と変化していく。そのような環境要因の負荷を受けた細胞の変化が、心不全をはじめとしたさまざまな循環器疾患の発症につながる可能性がある。その過程を詳細に解析する技術として、我々は心臓から単離した1細胞の全遺伝子発現プロファイル解析する技術(シングルセル解析技術)を開発してきた⁶⁾。

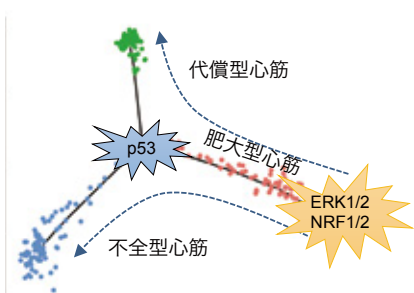
その技術を用いて、圧負荷心不全モデルマウスおよびヒト心不全患者の心臓から単離した心筋細胞の1細胞ごとの全遺伝子発現プロファイルを計測し、心筋細胞が心不全発症に伴ってどのように変化したかを機械学習でモデル化することができる。これによって我々は、心筋細胞が代償型と不全型の2種類の細胞に分岐すること、不全型心筋細胞への誘導にはDNA損傷・p53シグナルの活性化が必須であることを明らかにした(図3)。さらに心筋細胞のDNA損傷を標的として心不全患者の心筋生検検体の分子病理解析を行うと、DNA損傷が蓄積した心筋を

多く有する心不全患者はその後の左室リバーシリモデリングを生じる確率が有意に低いことがわかった⁷⁾。つまり、シングルセル解析で同定した分子機序を応用した精密医療によって心不全の治療応答性を評価できることがわかった(図3)。

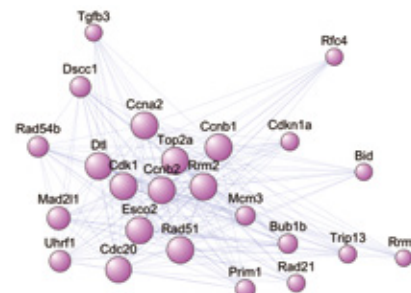
続いて、シングルセル解析のデータを用いて心筋細胞におけるDNA損傷がいかに誘導されるかを細胞間相互作用の観点から解析し、心臓線維芽細胞から分泌されるTGF-βがこれを誘導することを発見し、その抑制性因子であるHtra3の保護的効果について解明した⁸⁾。また、不全心筋細胞から分泌され、心不全の重症度の層別化に寄与するバイオマーカーとしてIGFBP7を同定した⁸⁾。さらに、心不全患者の中でも致死性不整脈を有する患者の心筋細胞で特徴的に認められるドパミン受容体D1陽性心筋細胞をシングルセル解析によって同定し、これが細胞内カルシウムハンドリングの異常を介して致死性不整脈を誘発することを実証した⁹⁾。

そして最近、我々が重症心不全の原因遺伝子として同定したLMNA遺伝子変異の病態を、変異モデルマウス、疾患iPS細胞、患者臨床検体の3点を用いて統合的に解析した。その結果、LMNA遺伝子変異で生じる変異Lamin A/Cタンパク質が転写因子TEAD1と特異的に結合してこ

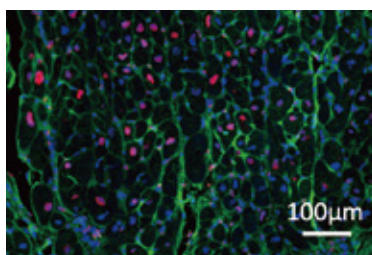
図3：シングルセル解析から明らかとなった不全心筋に特徴的なDNA損傷・p53シグナル経路 (文献6, 7から改変引用)



心筋シングルセル解析で同定した代償型・不全型心筋への分岐

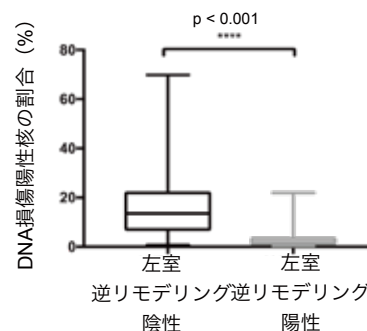


分岐点で活性化するp53シグナルネットワーク



WGA (細胞膜), Poly(ADP-ribose), DAPI (核)

心不全患者の心筋におけるDNA損傷評価



DNA損傷陽性核の割合と左室逆リモデリングの関係

の転写因子を核膜にトラップしてしまい、心筋成熟化に関わる遺伝子の発現が減弱して心不全病態を呈する、という機序を明らかにすることができた¹⁰⁾ (図4)。

他にも、心筋梗塞の病態をシングルセル解析と空間的トランスクリプトーム解析を統合して評価したところ、心筋梗塞境界部の心筋細胞において特異的にメカノセンシング遺伝子群の顕著な発現上昇を呈することを発見した。この遺伝子群のネットワーク解析からハブ遺伝子として同定されたCSR3P3遺伝子をノックダウンするとメカノセンシング機構の減弱とともに梗塞後のリモデリング

が増悪し、過剰発現するとこの機構の増強とともにリモデリングが改善した。すなわち、この遺伝子が局所メカノセンシング機構を上流から制御していることを解明した¹¹⁾ (図5)。

現在我々は、心不全患者の心臓組織を用いたシングルセル解析をさらに深め、空間的に組織状態を保持したままシングルセル解析が可能なシングルセル分子病理解析技術を構築し、これらにゲノム情報や臨床情報を組み合わせて心不全を層別化する手法の開発に注力している。

図4： 変異Lamin A/CによるTEAD1の核膜トラップによる心不全形成モデル

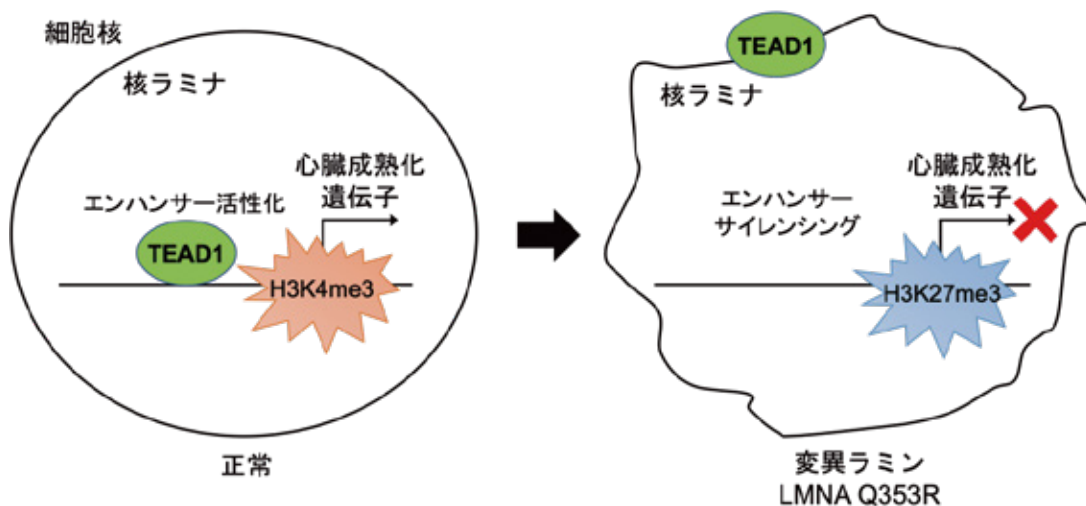
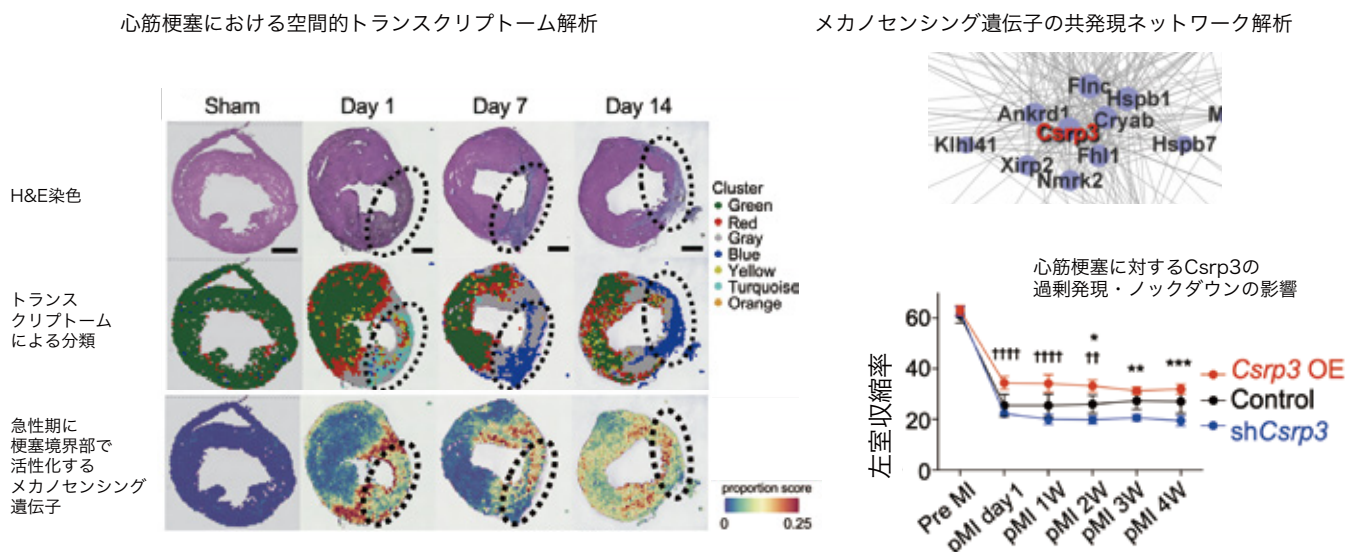


図5： 心筋梗塞境界部で働くメカノセンシング遺伝子CSR3による心筋維持機構 (文献11から改変引用)



4. 最後に

本受賞に際して、これまでお世話になってきた方々にこの場を持って感謝を申し上げたい。冒頭でも述べた通り、私は研究者としての生き方、そして人としての生き方について、小室一成先生に導いていただき、これまで歩んできた。大学生の頃から20年ほどの長い付き合いとなるが、出来の悪い私を見捨てずにご指導いただいていることに、小室先生に心からの感謝の気持ちを申し上げます。

また、私と一緒に研究をしている大学院生・ポスドク・実験助手・リサーチコーディネーター・動物飼育管理の皆さんには、毎日仕事を共にすることができることに心から喜びを感じている。本当に良いチームを作ることができ、これまで良い研究を進めることができていることに感謝の気持ちを述べたい。この受賞は皆さんのものだとお伝えしたい。

最後に、仕事ばかりしている私に文句を言わずに見守ってくれている妻と4人の子供たちに心からのありがとうを伝えたい。多くの人たちの支えで自分が仕事に取り組めていることに、日々感謝している。

参考文献

- 1) Tobita T*, Nomura S*, Fujita T, Morita H, Asano Y, Onoue K, Ito M, Imai Y, Suzuki A, Ko T, Satoh M, Fujita K, Naito AT, Furutani Y, Toko H, Harada M, Amiya E, Hatano M, Takimoto E, Shiga T, Nakanishi T, Sakata Y, Ono M, Saito Y, Takashima S, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I. Genetic basis of cardiomyopathy and the genotypes involved in prognosis and left ventricular reverse remodeling. *Sci Rep.* 2018 Jan 31;8(1):1998. doi: 10.1038/s41598-018-20114-9. PMID: 29386531; PMCID: PMC5792481. *Equal contribution.
- 2) Yamada T*, Nomura S*, Amiya E, Katoh M, Inoue S, Hatsuse S, Fujita K, Ito M, Fujita T, Bujo C, Tsuji M, Ishida J, Ko T, Yamada S, Katagiri M, Sassa T, Kinoshita O, Nawata K, Tobita T, Satoh M, Ishiwata J, Daimon M, Tatsuno K, Fukuda S, Kashimura T, Minamino T, Hatano M, Ono M, Aburatani H, Komuro I. LMNA Mutations and Right Heart Failure in Patients With Cardiomyopathy and With Left Ventricular Assist Devices. *J Card Fail.* 2023 May;29(5):855-857. doi: 10.1016/j.cardfail.2023.01.011. Epub 2023 Mar 4. PMID: 36871612. *Equal contribution.
- 3) Tobita T, Nomura S, Morita H, Ko T, Fujita T, Toko H, Uto K, Hagiwara N, Aburatani H, Komuro I. Identification of MYLK3 mutations in familial dilated cardiomyopathy. *Sci Rep.* 2017 Dec 13;7(1):17495. doi: 10.1038/s41598-017-17769-1. PMID: 29235529; PMCID: PMC5727479.
- 4) Koyama S, Ito K, Terao C, Akiyama M, Horikoshi M, Momozawa Y, Matsunaga H, Ieki H, Ozaki K, Onouchi Y, Takahashi A, Nomura S, Morita H, Akazawa H, Kim C, Seo JS, Higasa K, Iwasaki M, Yamaji T, Sawada N, Tsugane S, Koyama T, Ikezaki H, Takashima N, Tanaka K, Arisawa K, Kuriki K, Naito M, Wakai K, Suna S, Sakata Y, Sato H, Hori M, Sakata Y, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Matsuda F, Kamatani Y, Komuro I. Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease. *Nat*

- Genet. 2020 Nov;52(11):1169-1177. doi: 10.1038/s41588-020-0705-3. Epub 2020 Oct 5. PMID: 33020668.
- 5) Miyazawa K, Ito K, Ito M, Zou Z, Kubota M, Nomura S, Matsunaga H, Koyama S, Ieki H, Akiyama M, Koike Y, Kurosawa R, Yoshida H, Ozaki K, Onouchi Y; BioBank Japan Project; Takahashi A, Matsuda K, Murakami Y, Aburatani H, Kubo M, Momozawa Y, Terao C, Oki S, Akazawa H, Kamatani Y, Komuro I. Cross-ancestry genome-wide analysis of atrial fibrillation unveils disease biology and enables cardioembolic risk prediction. *Nat Genet.* 2023 Feb;55(2):187-197. doi: 10.1038/s41588-022-01284-9. Epub 2023 Jan 19. PMID: 36653681; PMCID: PMC9925380.
- 6) Nomura S*, Satoh M*, Fujita T, Higo T, Sumida T, Ko T, Yamaguchi T, Tobita T, Naito AT, Ito M, Fujita K, Harada M, Toko H, Kobayashi Y, Ito K, Takimoto E, Akazawa H, Morita H, Aburatani H, Komuro I. Cardiomyocyte gene programs encoding morphological and functional signatures in cardiac hypertrophy and failure. *Nat Commun.* 2018 Oct 30;9(1):4435. doi: 10.1038/s41467-018-06639-7. PMID: 30375404; PMCID: PMC6207673. *Equal contribution.
- 7) Ko T*, Fujita K*, Nomura S*, Uemura Y, Yamada S, Tobita T, Katoh M, Satoh M, Ito M, Domoto Y, Hosoya Y, Amiya E, Hatano M, Morita H, Fukayama M, Aburatani H, Komuro I. Quantification of DNA Damage in Heart Tissue as a Novel Prediction Tool for Therapeutic Prognosis of Patients With Dilated Cardiomyopathy. *JACC Basic Transl Sci.* 2019 Sep 25;4(6):670-680. doi: 10.1016/j.jacbts.2019.05.010. PMID: 31709317; PMCID: PMC6834953. *Equal contribution.
- 8) Ko T*, Nomura S*#, Yamada S*, Fujita K, Fujita T, Satoh M, Oka C, Katoh M, Ito M, Katagiri M, Sassa T, Zhang B, Hatsuse S, Yamada T, Harada M, Toko H, Amiya E, Hatano M, Kinoshita O, Nawata K, Abe H, Ushiku T, Ono M, Ikeuchi M, Morita H, Aburatani H, Komuro I#. Cardiac fibroblasts regulate the development of heart failure via Htra3-TGF- β -IGFBP7 axis. *Nat Commun.* 2022 Jun 7;13(1):3275. doi: 10.1038/s41467-022-30630-y. PMID: 35672400; PMCID: PMC9174232. *Equal contribution. #Corresponding Author.
- 9) Yamaguchi T*, Sumida TS*, Nomura S, Satoh M, Higo T, Ito M, Ko T, Fujita K, Sweet ME, Sanbe A, Yoshimi K, Manabe I, Sasaoka T, Taylor MRG, Toko H, Takimoto E, Naito AT, Komuro I. Cardiac dopamine D1 receptor triggers ventricular arrhythmia in chronic heart failure. *Nat Commun.* 2020 Aug 31;11(1):4364. doi: 10.1038/s41467-020-18128-x. PMID: 32868781; PMCID: PMC7459304. *Equal contribution.
- 10) Yamada S*, Ko T*, Ito M*, Sassa T*, Nomura S*#, Okuma H, Sato M, Imasaki T, Kikkawa S, Zhang B, Yamada T, Seki Y, Fujita K, Katoh M, Kubota M, Hatsuse S, Katagiri M, Hayashi H, Hamano M, Takeda N, Morita H, Takada S, Toyoda M, Uchiyama M, Ikeuchi M, Toyooka K, Umezawa A, Yamanishi Y, Nitta R, Aburatani H, Komuro I#. TEAD1 trapping by the Q353R-Lamin A/C causes dilated cardiomyopathy. *Sci Adv.* 2023 Apr 14;9(15):eade7047. doi: 10.1126/sciadv.ade7047. Epub 2023 Apr 14. PMID: 37058558; PMCID: PMC10104473. *Equal contribution. #Corresponding Author.
- 11) Yamada S*, Ko T*, Hatsuse S*, Nomura S*#, Zhang B, Dai Z, Inoue S, Kubota M, Sawami K, Yamada T, Sassa T, Katagiri M, Fujita K, Katoh M, Ito M, Harada M, Toko H, Takeda N, Morita H, Aburatani H and Komuro I#. Spatiotemporal transcriptome analysis reveals critical roles for mechanosensing genes at the border zone in remodeling after myocardial infarction. *Nat Cardiovasc Res.* 2022;1:1072-1083. doi: 10.1038/s44161-022-00140-7 *Equal contribution. #Corresponding Author.