

## アントラサイクリン心筋症病態解明と日本人精密化医療実現のための包括的ゲノム解析

伊藤 薫

理化学研究所

### 【研究の背景】

近年がんの寛解治療率は格段に向上しているが、それに伴い抗がん剤副作用が予後や QOL を左右する主要因となっている。その中で最も重要な課題がアントラサイクリン系抗がん剤による心筋症である。数年前に海外から RARG 遺伝子とアントラサイクリン心筋症に関する報告<sup>1)</sup>があり大きな注目を集めたが、遺伝要因の理解は未だ十分でなく日本人固有の遺伝リスクも不明である。

### 【目 的】

ゲノム研究の手法を用い、その分子メカニズム理解と新規治療標的の創出、患者層別化と最適な治療提案など、日本人の精密医療実現に資する研究を行う。しかし、日本人サンプルの収集には時間がかかるため、先にサンプルが即時入手可能な欧米人サンプルの研究を利用し、アントラサイクリン系抗がん剤による心筋症の遺伝要因の検討を行った。

### 【方 法】

研究目的の達成のために東京大学病院腫瘍循環器部門、日本腫瘍循環器学術ネットワークと連携しながら、以下の方法にて研究を行う。

#### 1) 臨床データの収集と患者遺伝型の決定

協力施設でフォローしているアントラサイクリン心筋症患者約 200 名を対象に、アレイによるゲノムワイド SNP(一塩基)ジェノタイプング(遺伝型決定)を行う。その 50-60 万 SNP のジェノタイプングの結果から、理研にある約 2,000 人の全ゲノムデータと 1,000 ゲノムプロジェクトの東アジア人約 1,000 人の全ゲノムデータをリファレンスとしてインピュテーションを行い、1,000 万~SNP の情報を得る。また臨床データは通常的心筋症の有無だけでなく、薬剤使用量や発症期間、心筋症発症後の心機能リカバリーの状況、心不全治療薬剤などの詳細な情報を収集し、アントラサイクリン心筋症患者を層別化し治療方針の決定に資することができるような結果変数を設定する。

#### 2) 疾患感受性遺伝子領域の同定と疾患発症や病型決定に有用な遺伝子マーカーの決定

1) で得られた情報と国立長寿医療研究センターの持つ健常対象群 1 万人のジェノタイプデータを比較し、疾患群に有意な遺伝子・遺伝子変異を検出する。加えて疾患遺伝子群に対しターゲットシーケンスを行い、希少であるが効果の強い遺伝子変異群と疾患との因果関係を検討する。また、心筋症発症群内での少量群 vs 多量薬剤使用群、心不全治療効果群 vs 非効果群などの比較を行い、疾患群の精密な群分けを可能とする遺伝子マーカーを検索する。

#### 3) 遺伝型に基づく疾患メカニズムの解明と治療ターゲットの推定

患者末梢血検体を用いて RNA シーケンスを行い、疾患感受性遺伝子変異群が下流の RNA バイオロジーに与える効果から生物学的パスウェイに与える影響を検討する。効果の強い遺伝子変異に対しては、RNA 干渉を使った細胞モデルやノックアウトマウスなどを用いて、遺伝子変異を再現しその分子メカニズムを明らかにする。この過程においてネットワーク解析などの技術を用い、包括的な疾患メカニズムの推測と治療ターゲットや分子マーカーになる得る標的を決定する。

#### 4) アドリアマイシン心筋症発症や病型を予測するリスクスコアの作成

1 つ 1 つの遺伝子マーカーの予測精度は低くても、それらを組み合わせることにより臨床で有用なスコアが作成できることが知られている。本研究課題ではゲノム情報を利用した精密化医療を実現するために、得られた遺伝情報を用いて心筋症の発症、重症度、治療効果を予測するリスクスコアを作成する。このスコアの有効性を、協力施設で前向きにリクルートされた、アドリアマイシン使用予定癌患者によって検証する。

また欧米人サンプルを用いたゲノム検索は以下の方法によって行われる。

循環器疾患の既往歴と積算アントラサイクリン使用量のデータがある 213 名のアントラサイクリン心筋症患者をリクルートした。コントロール群はがんゲノムアトラスの参加者 2,053 名及び健康なボランティア 445 名を用いた。また、心筋症遺伝子の希少遺伝子変異がその背景にあると仮定し、9 個の心筋症関連遺伝子にターゲットリシーケンスを施行した<sup>2)</sup>。

#### 【結 果】

日本人のスタディについては各協力施設で倫理申請を通過させ、患者血液試料を収集中である。また、ターゲットリシーケンスを 100 遺伝子規模で行う予定であり、予備実験(プライマー設計、きちんと読めているかの確認など)を行った。

欧米人スタディについては以下に示す。

1. 心筋症発症は抗がん剤治療後 0.4 年～9 年の間に発症していた。
2. これらの患者の循環器疾患の既往は北米人口の平均と大きな違いはなかった。
3. 9 個の心筋症関連遺伝子について、心筋症発症群においてタンパク質短縮遺伝子変異が有意に多かった( $P \leq 1.98e-4$ )。
4. この中でタイチン遺伝子のタンパク質短縮遺伝子変異が大部分を占めた(ケース 7.5%、がんゲノムアトラスコントロール 1.1%、健常人ボランティアコントロール 0.7%)。
5. タイチン遺伝子のタンパク質短縮遺伝子変異を持つ心筋症患者群で、有意に心不全や心房細動を発症する率が高かった( $P=0.003$ )。また同様に心不全からの回復率も低かった( $P=0.03$ )。
6. 上記の現象は、タイチン遺伝子のタンパク質短縮遺伝子変異を持つマウスでも確認された。

#### 【考 察】

日本人のスタディの予備実験とサンプル収集は順調に進んでいる。また欧米人の結果から、心筋症関連遺伝子群のうちタイチン遺伝子のタンパク質短縮遺伝子変異が、アントラサイクリン心筋症の背景に存在し、発症リスクを増加させているものと考えられた。この結果から、アントラサイクリンの積算使用量や臨床像だけでなく、遺伝子検査も、アントラサイクリン心筋症発症の予測に重要であると考えられた。

#### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

欧米人の研究は、抗がん剤による心筋脆弱性の基盤と、心筋症の遺伝的基盤に重複があることを示した点は、今後の臨床応用において大変インパクトがあると考えられる。また、日本人の研究は日本腫瘍循環器学術ネットワークとそのハブ施設である東京大学病院腫瘍循環器部門と協力し、腫瘍循環器領域のゲノム研究を本邦初でスタートさせている。そのオールジャパン体制を活用することで、日本人を対象とした大規模なゲノム研究の推進、さらに日本人のエビデンスに基づいた診療の実現が可能となるため、臨床への貢献度は極めて大きい。

#### 【参考・引用文献】

- 1) Aminkeng F, Bhavsar AP, Visscher H, Rassekh SR, Li Y, Lee JW, Brunham LR, Caron HN, van Dalen EC, Kremer LC, van der Pal HJ, Amstutz U, Rieder MJ, Bernstein D, Carleton BC, Hayden MR, Ross CJ; Canadian Pharmacogenomics Network for Drug Safety Consortium. A coding variant in RARG confers susceptibility to anthracycline-induced cardiotoxicity in childhood cancer. *Nat Genet.* 2015 Sep;47(9):1079-84.

- 2) Garcia-Pavia P, Kim Y, Restrepo-Cordoba MA, Lunde IG, Wakimoto H, Smith AM, Toepfer CN, Getz K, Gorham J, Patel P, Ito K, Willcox JA, Arany Z, Li J, Owens AT, Govind R, Nuñez B, Mazaika E, Bayes-Genis A, Walsh R, Finkelman B, Lupon J, Whiffin N, Serrano I, Midwinter W, Wilk A, Bardaji A, Ingold N, Buchan R, Tayal U, Pascual-Figal DA, de Marvao A, Ahmad M, Garcia-Pinilla JM, Pantazis A, Dominguez F, John Baksi A, O'Regan DP, Rosen SD, Prasad SK, Lara-Pezzi E, Provencio M, Lyon AR, Alonso-Pulpon L, Cook SA, DePalma SR, Barton PJR, Aplenc R, Seidman JG, Ky B, Ware JS, Seidman CE. Genetic Variants Associated With Cancer Therapy-Induced Cardiomyopathy. *Circulation*. 2019 Jul 2;140(1):31-41.