

# 高齢者のクローン性造血による疾患リスクのメカニズム解明と 新規予防医療への応用

京都大学大学院 医学研究科 腫瘍生物学講座  
助教 佐伯 龍之介

## はじめに

クローン性造血 (Clonal hematopoiesis, CH) は血液腫瘍の前駆状態であるのみならず、心血管疾患、固形がん、感染症等の様々な病態の促進に關与することから、近年注目されている (Ahmad H, et al. 2023) (図1, 2)。本プロジェクトにおいては、CHに基づく疾患リスクモデルの構築、バイオマーカーの同定、CHによる疾患発症メカニズムの解明等を目的として研究を進めてきた。現時点の成果としては、特にCHと新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の重症化リスクの關連性について興味深い知見が得られた。また、現在、感染症以外にも様々な疾患との關連解析のためバイオバンク・ジャパン (BBJ) の検体を用いた解析も進捗しており、これらの解析結果について報告する。

まず、COVID-19との關連性については、研究代表者らは日本における最大のCOVID-19レジストリである「コロナ制圧タスクフォース」(図3)に参画し、CHとCOVID-19の重症化リスクの關連性について検討を行った。CHと重症化リスクの關連性については、肯定的な報告と否定的な報告が混在しており、十分な症例数に基づく解析が存在しなかったことに加え、CHによって重症化リスクが上昇のメカニズムも明らかではなかった (Bolton KL, et al. 2021) ことから、今回は多数例のCOVID-19症例においてCHの解析を行うことに加え、多層的なオミックス解析による機能的解析を実施した。

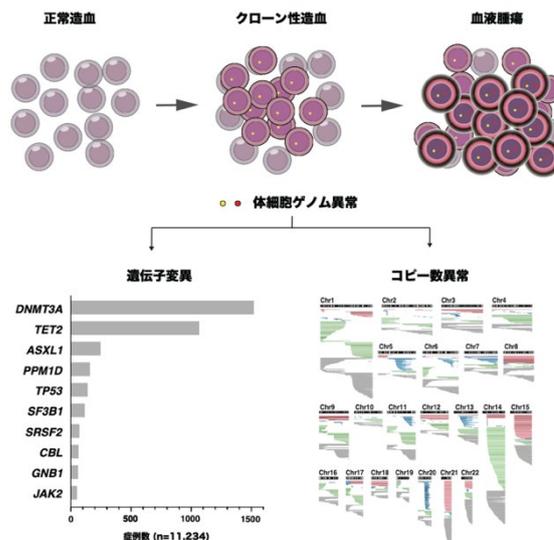


図1 CHの概念

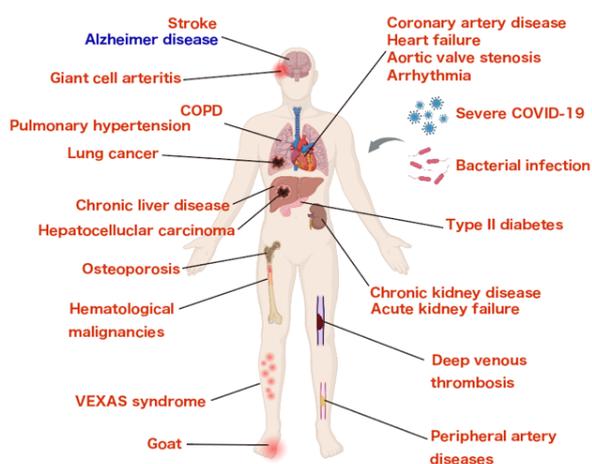


図2 CHとさまざまなヒト疾患の關連性

一方で、その他の疾患との関連性については、すでにUKバイオバンクなどの大規模リソースを用いた解析が世界的に実施されているが (Kessler MD, et al. 2022)、多くの研究はゲノム異常の同定と疾患関連解析にとどまっており、リスク上昇のメカニズムまで判明しているとは言い難い。BBJには20万人を超える様々な疾患の症例が登録されており、基本的なゲノム解析に加えて、多層的なオミックス解析も実施されているため、そのリソースを活用することで、CHによる疾患リスクの背景にある病態について追求できる可能性がある。そのため、代表者らはBBJの保存DNAを用いてCHの解析を行なった。



図3 コロナ制圧タスクフォースの概要

## 結果

### (対象と方法)

代表者らは、コロナ制圧タスクフォースに由来する過去最大のCOVID-19コホート(4,731名)について、末梢血由来DNAの標的シーケンス解析、およびSNPアレイ解析を実施し、CHに関連する遺伝子変異および染色体異常を検出した。また、重症化リスクと関連する場合はそのメカニズムを解明するため、2,994例については末梢血のRNAシーケンス (RNA-seq)、1,200例ではOlink社のアッセイを用いた血漿プロテオミクス解析を実施した。また、BBJにおける解析については、約55,000例の被験者について、同様の解析によってCH関連のゲノム異常を検出した。

### (COVID-19患者におけるCHの全体像)

4,731例のCOVID-19患者におけるゲノム解析の結果、全体の20% (924例) においてCHに関連するゲノム異常を検出した。具体的には、遺伝子変異について、合計1,035個の変異が748症例 (15.9%) において同定され、mCAについては、328個の異常が278症例 (6.0%) において同定された。また、遺伝子変異とmCAは全体の2%の症例で共存しており、これらの異常の頻度は年齢依存に

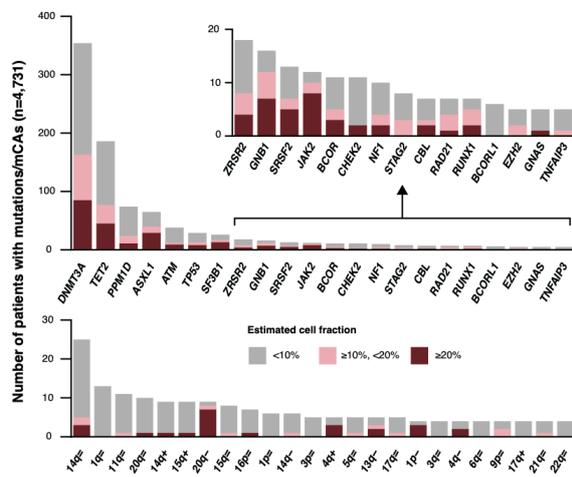


図4 COVID-19患者におけるCHの全体像

増加する傾向を認めた。既存の報告と同様に、最も頻度の高い異常は、*DNMT3A*、*TET2*、*PPM1D*、*ASXL1*、*14qUPD*、*del (20q)*であった(図4)。

### (COVID-19の重症度との関連性)

コロナ制圧タスクフォースの被験者4,731例の解析の結果、全体の16%において遺伝子変異、6%において染色体異常を同定した。2551人の重症例と2180人の非重症例の間で、これらの頻度を比較したところ、末梢血中における細胞割合が10%以上のCHは重症例に有意に濃縮しており、年齢・性別について層別化したオッズ比は1.28 [95%信頼区間:

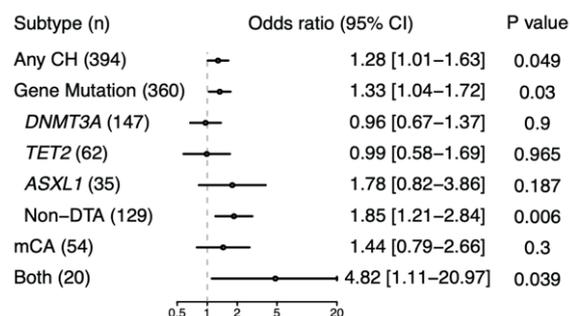


図5 CHによる重症化リスクへの影響

1.01-1.61]であることから、CHはリスクの上昇に関与していると考えられた(図5)。しかし、遺伝子変異・染色体異常による詳細な層別化のもとリスクを評価すると、CHの中で最も頻度の高い異常である、*DNMT3A* および*TET2*の変異(DT変異)は全くリスクに関与しておらず、リスク上昇に寄与しているのは専らそれ以外の変異(non-DT変異)であった(オッズ比:1.75 [1.21-2.54])。また、CHに関連する染色体異常についても、重症化リスクとの関連が示唆されていたが、今回の検討で遺伝子変異が共存しない単独の染色体異常はリスクに全く関連しないことが判明した。

### (COVID-19患者における遺伝子発現解析)

上記の結果を受けて、特にnon-DT変異陽性のCHによるCOVID-19の重症化のメカニズムを明らかにするため、末梢血のRNA-seqの解析を行った。CHの効果を評価する前に、COVID-19の重症化に関わる分子・パスウェイを明らかにするために、重症例と非重症例の比較を行ったところ、重症例では6,534および6,403個の遺伝子が有意に発現上昇、低下しており、特徴的なパスウェイの変動としては、IL6シグナル、TNF/NF-KBシグナルをはじめとする、全般的な炎症性応答の増強を認めた。上記の解析により、遺伝子発現プロファイルはCOVID-19の重症度によって強く変動していることが明らかとなり、CHに効果を評価するためには重症度の影響を排除する必要があるため、重症例・非重症例を分けて解析を行った。

まず重症例の解析では、DT変異、non-DT変異の有無に関わらず重症例においてはほぼ同様の変化が起こっていることが明らかとなった。この結果から、すでに重症化によって強い炎症性応答が惹起された状態では、CHの効果を観測することは困難と考えられた(図6)。一方で、非重症例における解析では、重症化によって強く上昇していた遺伝子が、非重症のnon-DT変異陽性例においても上昇する傾向が認められた、パスウェイ解析においても重症化において活性化が認められていた複数の炎症関連パスウェイが、non-DT陽性の非重症例

においても有意に活性化していた (図7)。これらの傾向は、リスクに関与しなかったDT変異においては全く認められなかった。

これらのことから、臨床的に重症化していない患者でも、non-DT変異がある場合には重症例に類似した炎症性応答が認められ、non-DT変異を有するCHは炎症の増強を通じてCOVID-19の重症化に関与している可能性が示唆された。

さらに、このようなnon-DT変異による炎症性応答の増強が、COVID-19感染化ではなくとも観測される一般的な特徴であるか確認するため、健常者672名について追加解析を行った。その結果、非重症のCOVID-19症例と同様に、non-DT変異特異的に、炎症関連パスウェイの上昇を認め、non-DT変異例ではベースラインで炎症性応答が亢進しており、そのような状態がSARS-CoV-2感染時に重症化の引き金となっている可能性が考えられた。(図7)

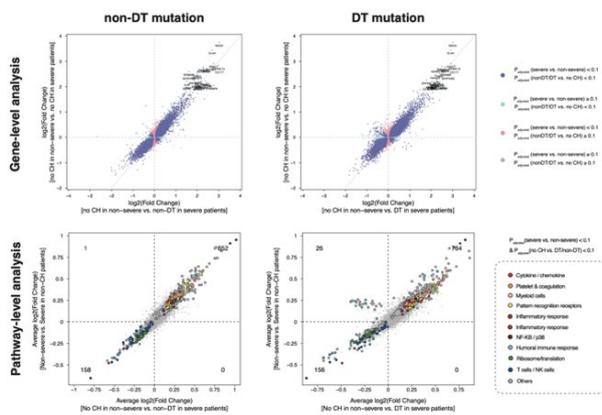


図6 CHによる遺伝子発現への影響

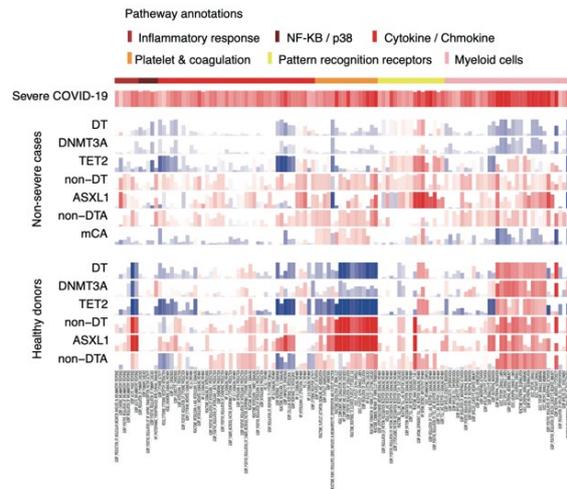


図7 炎症関連パスウェイとCHの関連

(他の疾患関連性について:BBJにおける解析)

こちらについては、45,958例の検体について標的シーケンス解析を終了した (図8)。シーケンスカバレッジとしては、中央値1415 [112~3792] と、微小クローンの同定を行う上でも十分なデータを得ることに成功している。変異アレル頻度の閾値を2%に設定した場合、合計12,678変異を9,524例 (全体の20%) で同定した。検出された変異のアレル頻度の分布としては、中央値5%で大部分の変異が10%以下の比較的微小なクローンであった。変異遺伝子のスペクトラムとしては、古典的な血液腫瘍のドライバー遺伝子であるDNMT3A、TET2、ASXL1、PPM1D、TP53等を既存の報告通りに検出したことに加えて、ZNF318、ZBTB33、YLPM1、SRCAPなど、近年CHで初めてドライバーとして報告され

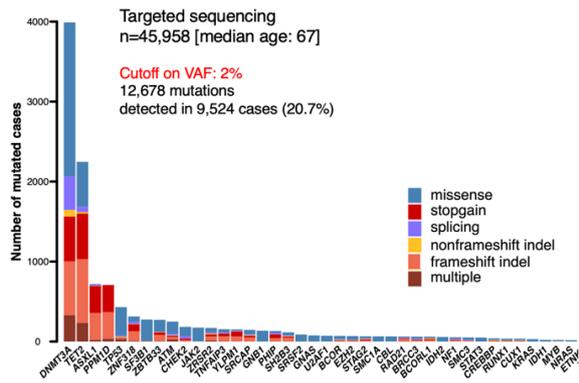


図8 BBJにおけるCHの変異解析

ている遺伝子についても今回標的に含めており、多くの症例で変異を同定することに成功している。

## 考 察

上記の知見は、CHに基づくCOVID-19重症化リスクの予測に役立つのみならず、重症化リスクの上昇メカニズムについて示唆が得られたことにより、次のパンデミックが訪れた際のための適切な予防方法の開発にも貢献することが期待される。また、BBJにおけるCHの基礎解析を終えたことから、2025年度以降はCOVID-19以外の疾患（固形がん、循環器疾患、自己免疫疾患等）のリスク関連性についても検討を広げていく。

## 要 約

本研究は、クローン性造血 (Clonal Hematopoiesis, CH) がCOVID-19重症化および多様な疾患に及ぼす影響を包括的に解析し、疾患リスクとの関わりやその背景となる病態を解明することを目的とする。まず、日本最大規模のCOVID-19コホート (4,731例) を対象にゲノム、RNA、プロテオミクス解析を実施した結果、CH陽性例では重症化リスクが上昇し、とくにDNMT3A/TET2以外の変異 (non-DT変異) が有意な影響を示した。RNA-seq解析では、non-DT変異陽性例において炎症関連パスウェイの活性化が確認され、感染前から炎症応答が亢進していることが示唆された。また、バイオバンク・ジャパン約5.5万例に対する解析でも約20%にCHを検出し、既知および新規ドライバー遺伝子を同定した。今後は、CHがもたらす病態についてさらに詳細に解明するため、BBJにおける網羅的な臨床情報、オミックスデータとの統合解析を計画している。これらの成果は、CHを基盤とした疾患リスク予測モデル構築や次期パンデミックにおける重症化予防法の開発に資する重要な知見を提供する。

## 文 献

1. Ahmad H, et al. Clonal Hematopoiesis and Its Impact on Human Health. *Annu Rev Med.* 2023 Jan 27;74:249-260.
2. Bolton KL, et al. Clonal hematopoiesis is associated with risk of severe Covid-19. *Nat Commun.* 2021 Oct 13;12(1):5975.
3. Kessler MD, et al. Common and rare variant associations with clonal haematopoiesis phenotypes. *Nature.* 2022 Dec;612(7939):301-309.