

<研究課題> 高齢者におけるクローン性造血を標的とした次世代の予防医療の基盤構築

代表研究者 京都大学大学院医学研究科 助教 佐伯 龍之介

【抄録】

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リスクに及ぼす影響と、その病態基盤を解明することを目的とする。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行った結果、CH 陽性例では重症化リスクが上昇し、特に DNMT3A/TET2 以外の変異 (non-DT 変異) が有意に関連していた。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認められ、感染前から炎症応答が亢進している可能性が示唆された。さらに、バイオバンク・ジャパン 約 4.5 万例の解析により、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 BBJ の詳細な臨床情報やオミックスデータを統合し、CH に基づく疾患リスク予測や次期パンデミックにおける重症化予防への応用を目指す。

1. 研究の目的

1-1 研究の背景

クローン性造血 (Clonal hematopoiesis, CH) は、加齢に伴い造血幹細胞に生じた体細胞変異や染色体異常を有するクローンが拡大する現象であり、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、感染症など多様な疾患リスクの上昇に関与することが報告されている (Ahmad H, et al. 2023, 図 1)。一方で、CH がこれらの疾患リスクを上昇させる病態生理については、ヒト検体を用いた多層的解析に基づくエビデンスが十分とは言えない。特に新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) との関連性については、CH と重症化リスクとの関係に関する報告が一貫せず、十分な症例数

に基づく検討や分子メカニズムの解明が求められていた。

1-2 目的

本研究では、(1) 大規模 COVID-19 コホートを用いて CH と重症化・死亡リスクとの関連性を明らかにするとともに、遺伝子発現解析およびプロテオミクス解析を通じてその分子メカニズムを解明すること、(2) バイオバンク・ジャパン (BBJ) の検体を用いた高感度 CH 解析により、感染症以外の疾患を含むより一般的な CH の病態と疾患リスクとの関連性を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法と経過

日本最大の COVID-19 レジストリであるコロナ制圧タスクフォースに由来する 4,731 例の COVID-19 患者について、末梢血由来 DNA を用いた標的シーケンス解析および SNP アレイ解析を実施し、CH 関連遺伝子変異およびモザイク染色体異常 (mCA) を検出した。さらに、CH による予後への影響を検討するため、2,994 例について全血 RNA-seq、1,200 例について血漿プロテオミクス解析を実施した。また、BBJ に登録された 45,958 例についても同様の高感度解析を行い、CH 関連ゲノム異常と臨床情報・アウトカムとの関連性を検討した。

3. 研究の成果

3-1 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

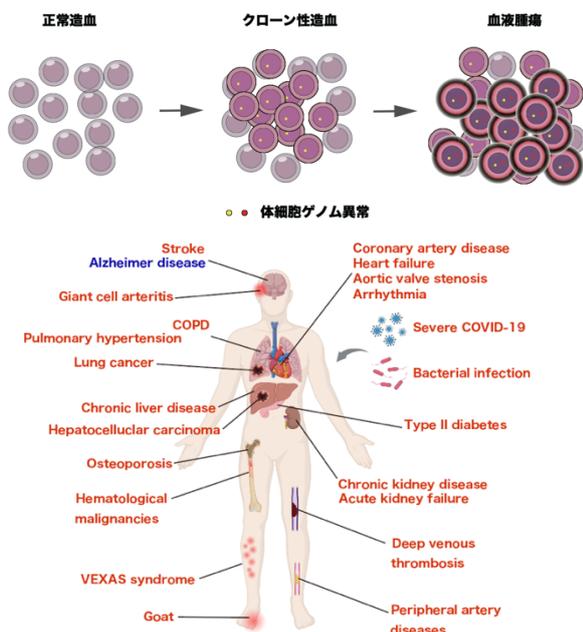


図 1: CH とさまざまなヒト疾患の関連性

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 2)

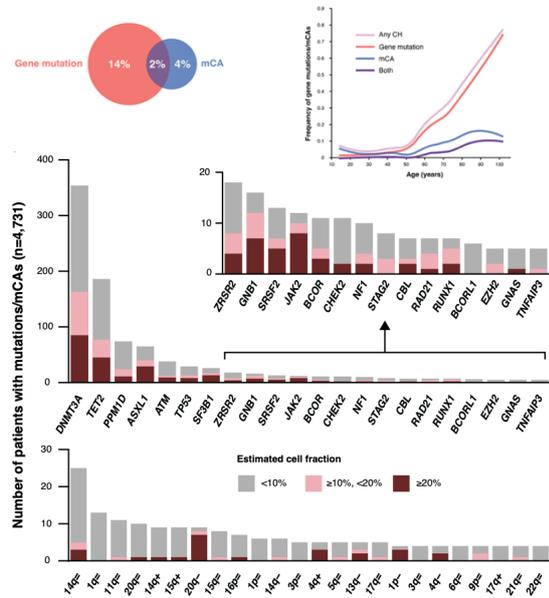


図 2: COVID-19 患者における CH の全体像

### 3-1 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: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 3)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

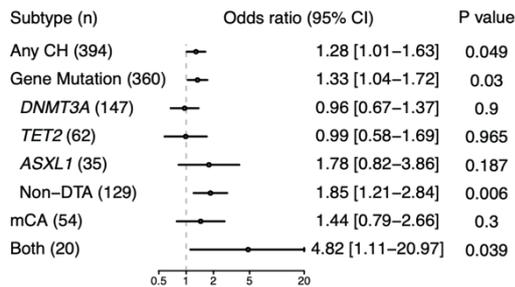


図 3: CH による重症化リスクへの影響

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。

### 3-2 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 6534 および 6403 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。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 4)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。

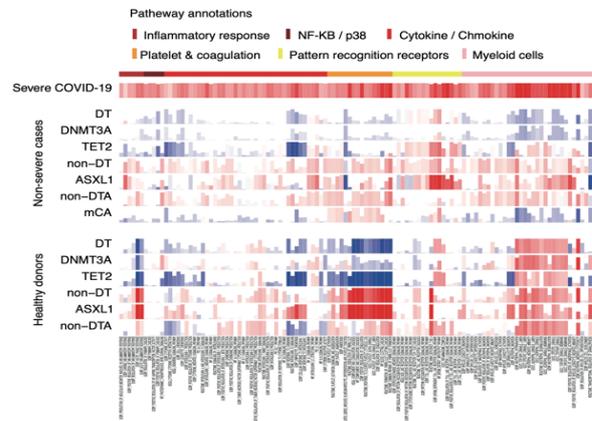


図 4: 炎症関連パスウェイと CH の関連

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 4)

### 3-3 他の疾患との関連性：BBJ の解析

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。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。(図 5)

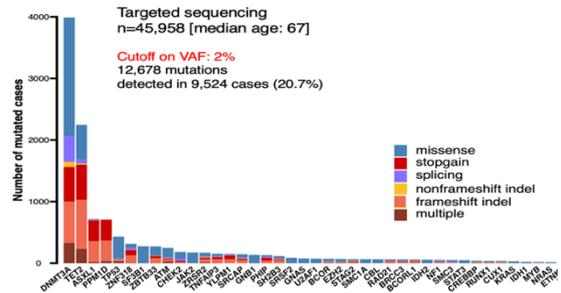


図 5: BBJ における CH の変異解析

### 4. 今後の課題

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。

### 5. 研究成果の公表方法

近日中に学術論文により公表の予定

以上

# Establishing a Foundation for Next-Generation Preventive Medicine Targeting Clonal Hematopoiesis in Older Adults

**Primary Researcher:** Ryunosuke Saiki  
Associate professor, Kyoto University

This study aims to elucidate the impact of clonal hematopoiesis (CH) on COVID-19 severity and a broad range of disease risks, as well as the underlying pathophysiological mechanisms. Using Japan's largest COVID-19 cohort comprising 4,731 individuals, we performed integrated genomic, transcriptomic, and proteomic analyses. CH-positive individuals exhibited an increased risk of severe COVID-19, with mutations other than DNMT3A and TET2 (non-DT mutations) showing a particularly strong association. RNA-seq analyses revealed activation of inflammatory pathways in individuals with non-DT mutations, suggesting that inflammatory responses are already heightened prior to infection. In addition, analysis of approximately 55,000 participants from Biobank Japan identified CH in about 20% of individuals and led to the discovery of both known and novel CH driver genes. Moving forward, we plan to integrate comprehensive clinical data and multi-omics datasets from Biobank Japan to further characterize CH-associated pathophysiology. These findings provide an important foundation for developing CH-based disease risk prediction models and preventive strategies for severe outcomes in future pandemics.