

令和 3 年 4 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08064

研究課題名(和文) 家族性高コレステロール血症網羅的遺伝子解析スキームの樹立

研究課題名(英文) The establishment of comprehensive genetic analysis scheme for familial hypercholesterolemia

研究代表者

山岸 正和 (Yamagishi, Masakazu)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：70393238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：家族性高コレステロール血症に対する網羅的遺伝子解析スキームを開発し、確定診断に至るのみならず、鑑別診断に対しても有用であることを示した。特に、家族性コレステロール血症類似疾患であるシトステロール血症やそのキャリアの頻度やその臨床的意義についても明確とした。このようなステロール排泄に關するABCG5ないしはABCG8遺伝子変異のキャリアの頻度及びその臨床的意義について、明確とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家族性高コレステロール血症に対する網羅的遺伝子解析スキームを開発し、確定診断に至るのみならず、鑑別診断に対しても有用であることを示した。特に、家族性コレステロール血症類似疾患であるシトステロール血症やそのキャリアの頻度やその臨床的意義についても明確とした。このようなステロール排泄に關するABCG5ないしはABCG8遺伝子変異のキャリアの頻度及びその臨床的意義について、明確とした。このような成果により、著明な高コレステロール血症を呈した患者に対して網羅的遺伝子解析スキームにより性格な診断のみならず、より適切な治療に結び付けられる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We have developed an useful scheme of comprehensive genetic analysis for the patients with familial hypercholesterolemia (FH). We have shown that this scheme is useful not only for their accurate diagnosis, but also for differential diagnosis, leading to appropriate medical therapies. In addition, we have shown that a substantial proportion of individuals who have been diagnosed as clinical FH exhibit deleterious mutations in ABCG5 or ABCG8, suggesting that those mutations exacerbate or mimic the FH phenotype.

研究分野：循環器内科学

キーワード：LDLコレステロール 遺伝子解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

家族性高コレステロール血症(FH)の頻度は全世界的に一般人200~300人に1人と推測され、最多の先天性代謝異常症である。生誕時から持続する高LDLコレステロール血症により、無治療では60%以上が心血管死を遂げ、正常者と比較し寿命は10~15年以上短い。一方、スタチン等のコレステロール低下療法が適正に行われると正常者と同等の予後を得られるため、予防医学の恩恵を最大限享受する患者群と言える。成人後のLDLコレステロール値が同等でも、生誕後から常に高コレステロール血症に暴露されるためその累積値が高く、一般の高脂血症と比較し心血管イベントのリスクは高く、正確な診断が求められる。FHの臨床診断はLDLコレステロール値とアキレス腱を代表とする腱黄色腫、皮膚結節性黄色腫の存在により行われるが、実地臨床へ浸透しているとは言い難い。一方、FHの疾患浸透率はほぼ100%と考えられ、遺伝子異常が発見されれば診断が確定するため、遺伝子診断の意義は深い。

2. 研究の目的

- (1) わが国のFHの遺伝子診断の精度と有効性を評価すること
- (2) FH遺伝子診断と冠動脈疾患リスクの関連を明確とすること

3. 研究の方法

(1) 金沢大学附属病院において新規に高LDLコレステロール血症(LDLコレステロール140mg/dL以上)と診断された連続症例500例に対してDNAを採取するとともに、家族歴の聴取やアキレス腱肥厚の測定などの検査を行う。冠動脈疾患の有無について運動負荷心電図・冠動脈CT・冠動脈造影検査などにより評価する。金沢大学グループが独自に樹立した、原発性脂質異常症に対する次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析(パネル解析)スキームによりFHの原因遺伝子とされるLDLR・APOB・PCSK9・LDLRAP1遺伝子ならびに関連遺伝子(ABCG5及びABCG8等)の解析を行う。

(2) <FH遺伝子パネル解析> FHの原因遺伝子(LDLR、APOB、PCSK9およびLDLRAP1)を網羅した遺伝子検査パネルを作成し(ロシュ・ダイアグノスティックス社)次世代シーケンサー(イルミナ社MiSeqシステム)で解析する。また、LDL受容体遺伝子構造異常の診断目的に、エクソーム隠れマルコフモデル(XHMM)ソフトウェアを用いたin silico解析、およびMultiplex Ligation Probe Amplification (MLPA)法での検証も行う。

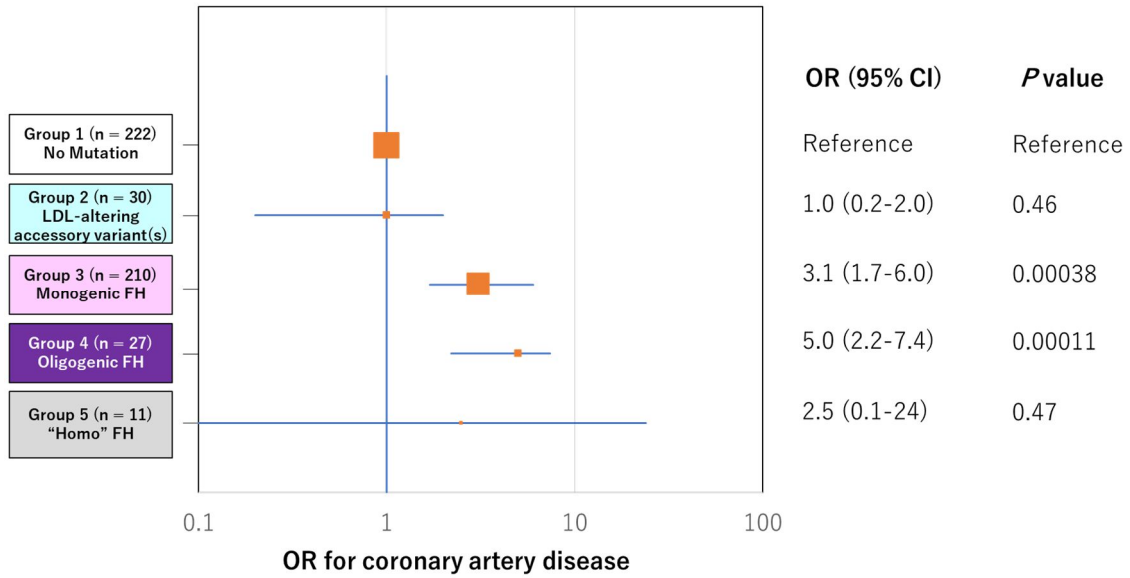
網羅的遺伝子解析：
次世代シーケンサーによる候補遺伝子パネル解析



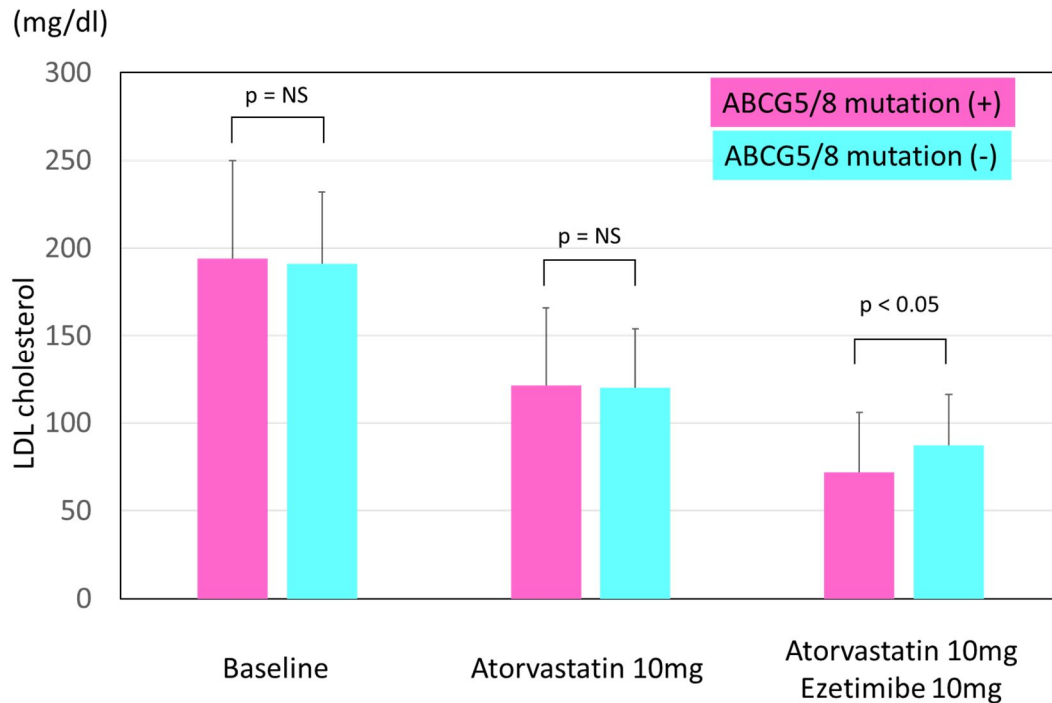
(3) <病原性変異の決定> クオリティコントロール後の遺伝子変異のうち、蛋白切断変異(中途終止変異[premature stop]、スプライシングに関わる部位の変異[canonical splice sites]、フレームシフト変異)およびアミノ酸置換を伴う(ミスセンス)変異かつ変異機能予測ツールにより疾患との関連が強く示唆され、かつ変異の頻度が目的とする疾患の発症頻度以下の変異を抽出する。複数の候補変異が残存した場合には、家系内の表現型・遺伝型を改めて評価し責任変異を同定する。パネル解析にて同定された変異はサンガー法(直接法)にて検証を行った。

4. 研究成果

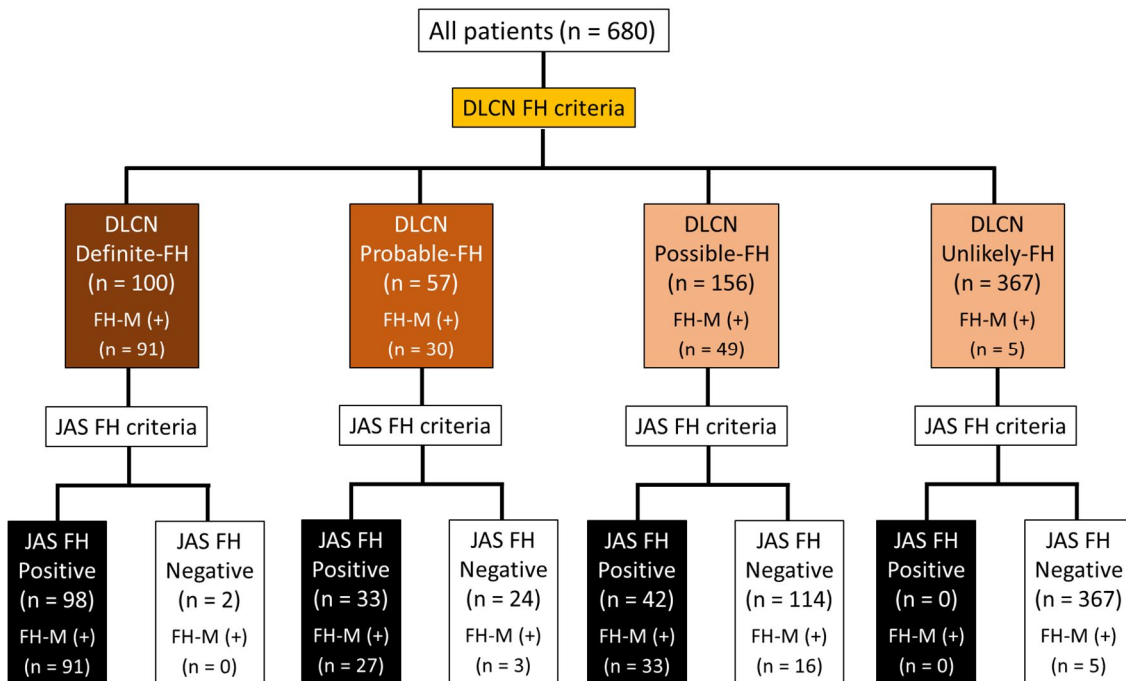
(1) 家族性高コレステロール血症変異に加えて ABCG5 ないしは ABCG8 遺伝子変異を有する群において冠動脈疾患オッズ比の増悪を確認した。これにより、重症例においては遺伝子変異の重責がありうること、さらには個別化医療の可能性が考慮される。



(2) ABCG5 ないしは ABCG8 変異を有する高コレステロール血症ではエゼチミブがより有効であることを示した。これにより、高コレステロール血症診療において、スタチンに加えてエゼチミブを追加投与すべき症例が明確となった。



(3) FHの臨床診断基準として広く使用される Dutch Lipid Clinical Network Criteriaの基準と比較し、我が国におけるFH診断基準(日本動脈硬化学会2017年版)は、シンプルが基準で感度・特異度など遜色ないことを示した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tada H, Okada H, Nomura A, Usui S, Sakata K, Nohara A, Yamagishi M, Takamura M, Kawashiri MA	4. 巻 in press
2. 論文標題 Clinical Diagnostic Criteria of Familial Hypercholesterolemia - A Comparison of the Japan Atherosclerosis Society and Dutch Lipid Clinic Network Criteria	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Circ J	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1253/circj.CJ-20-0901	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tada H, Okada H, Nomura A, Nohara A, Yamagishi M, Takamura M, Kawashiri MA	4. 巻 in press
2. 論文標題 Prognostic impact of cascade screening for familial hypercholesterolemia on cardiovascular events	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Lipidol	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacl.2020.12.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tada H, Okada H, Nomura A, Nohara A, Takamura M, Kawashiri MA	4. 巻 69
2. 論文標題 A Healthy Family of Familial Hypobetalipoproteinemia Caused by a Protein-truncating Variant in the PCSK9 Gene.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 783, 787
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.3737-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tada H, Okada H, Nomura A, Takamura M, Kawashiri MA	4. 巻 19
2. 論文標題 Beneficial effect of ezetimibe-atorvastatin combination therapy in patients with a mutation in ABCG5 or ABCG8 gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lipids Health Dis	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12944-019-1183-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tada H, Okada H, Nomura A, Yashiro S, Nohara A, Ishigaki Y, Takamura M, Kawashiri MA	4. 巻 83
2. 論文標題 Rare and Deleterious Mutations in ABCG5/ABCG8 Genes Contribute to Mimicking and Worsening of Familial Hypercholesterolemia Phenotype	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circ J	6. 最初と最後の頁 1917, 1924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-19-0317	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tada H, Kawashiri MA, Nomura A, Teramoto R, Hosomichi K, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Tajima A, Yamagishi M	4. 巻 6
2. 論文標題 Oligogenic familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, and coronary artery disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Lipidol	6. 最初と最後の頁 1436, 1444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jacl.2018.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野村 章洋 (NOMURA AKIHIRO) (30707542)	金沢大学・附属病院・特任准教授 (13301)	
研究分担者	川尻 剛照 (KAWASHIRI MASA AKI) (90345637)	金沢大学・医学系・准教授 (13301)	
研究分担者	多田 隼人 (TADA HAYATO) (90623653)	金沢大学・附属病院・助教 (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------