

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893094

研究課題名(和文) 家族性高コレステロール血症の新規原因遺伝子の網羅的解析

研究課題名(英文) Comprehensive genetic analysis for the patients with familial hypercholesterolemia

研究代表者

多田 隼人 (TADA, HAYATO)

金沢大学・大学病院・助教

研究者番号：90623653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：LDL受容体変異が同定されたが、新規分子の同定には至らなかった。国際共同研究の結果、同様の41家系のうち、9家系において責任変異の同定に至ったが、やはり新規分子の同定には至らなかった。また劣性形式のFH家系に対して同様に解析を行ったが、LDL受容体に突然変異(c.1136G>A or p.Cys379Tyr)が確認された。本症においてこのような報告は世界初であると思われる。また、全エクソーム領域の中で、突然変異は1個程度起こり得ることは、これまでの網羅的遺伝子解析により推定されていたが、我々の解析においてこの現象を再現することができた。人類遺伝学的にも貴重なデータであると思われる。

研究成果の概要(英文)：We identified a pathogenic mutation in LDL receptor gene, but could not lead to the identification of any novel genes. We conducted an international collaboration, collecting similar cases, leading to conclude that success rate of genetic analysis was ~20%. In addition, we identified a family with de novo mutation in LDL receptor gene, which, was the novel findings at least in the cases with familial hypercholesterolemia in an exome-wide manner.

研究分野：循環器内科

キーワード：家族性高コレステロール血症 エクソーム解析

### 1. 研究開始当初の背景

家族性高コレステロール血症(FH)は、著明な高 LDL コレステロール血症・腱黄色腫・早発性冠動脈硬化症を三主徴とする最多の単一遺伝子異常症である。主な原因は LDL 受容体遺伝子の欠損・変異である。申請者らは、2,000 例以上を有する国内最大規模の FH コホートを有し、その原因遺伝子・病態を解析し、その約 82%の遺伝子異常を同定したが、残る約 18%の症例に既知の LDL 受容体及びその関連蛋白の遺伝子異常は同定されていない。このような症例に対するゲノムの網羅的解析により、脂質異常症関連新規分子の同定が可能であり、脂質代謝における LDL 受容体以外の重要な新規分子が発見され、ホモ FH を含めた難治性高脂血症に対しても有効な新規薬剤のターゲット分子となり得るとの発想に至り研究を開始した。

### 2. 研究の目的

遺伝子診断が未確定の FH 症例に対して網羅的遺伝子解析法(エクソームシーケンシング法)で未解明の原因分子を同定し、その機能を明確とすることである。

### 3. 研究の方法

臨床的に FH と診断された症例に対して LDL 受容体及びその関連蛋白の遺伝子変異スクリーニング (MLPA 法・HRM 法) を行い、既知遺伝子変異が除外された 4 家系 20 名に対して全エクソームシーケンシング解析を行った。また、同様の解析を行った米国マサチューセッツ総合病院との国際共同研究を行い、我々の家系を含めて 41 家系 213 例での解析を評価した。また、劣性形式の FH 家系に対して同様の解析を追加した。

### 4. 研究成果

結果として 1 家系において LDL 受容体変異が同定されたが、残る 3 家系においても新規分子の同定には至らなかった。国際共同研究の結果、同様の 41 家系のうち、9 家系において責任変異の同定に至ったが、やはり新規分子の同定には至らなかった (図 1, 2)。

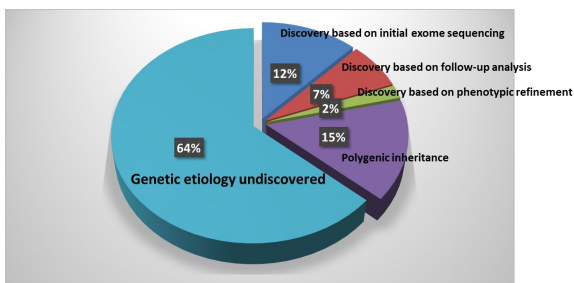


図1. Exome sequencing による診断率

Family (Trait)	Gene	Genomic position	Ref	Alt	Effect
Genetic Etiology discovered during initial exome sequencing analysis					
A4 (high LDL)	APOB	2:21229554	C	T	p.A3396T
A9 (high LDL)	PCSK9	1:55509689	T	A	p.S127R
B2 (low LDL)	APOB	2:21233022	T	A	p.K2240*
B13 (low LDL)	APOB	2:21229005	-	G	p.T3579Hfs*34
C1 (low HDL)	ABCA1	9:107553287	T	C	p.N1948S
Genetic Etiology discovered from follow-up analysis					
A1 (high LDL)	APOE	19:45412048	CTC	-	p.L167del
A10 (high LDL)	APOE	19:45412048	CTC	-	p.L167del
A13 (high LDL)	LIPA	10:90982268	G	T	Disruption of donor splice site
Genetic Etiology discovered based on phenotypic refinement within the family					
A7 (high LDL)	LDLR	19:11216264	G	A	p.E228K

図2. 9/41家系における責任変異

また劣性形式の FH 家系に対して同様にエクソームシーケンシング解析を行ったが、LDL 受容体に de novo 変異 (c.1136G>A or p.Cys379Tyr) が確認された (図 3)。

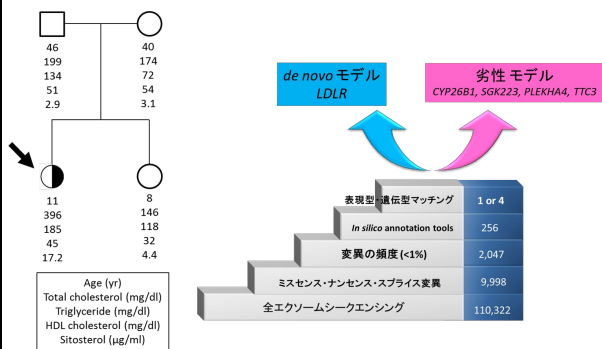


図3. 全エクソーム解析による“de novo” FHの同定

本症においてこのような報告は世界初であると思われる。また、全エクソーム領域の中で、突然変異は 1 個程度起こり得ることは、これまでの網羅的遺伝子解析により推定されていたが、我々の解析においてこの現象を再現することができた。人類遺伝学的にも貴重なデータであると思われる (図 4)。

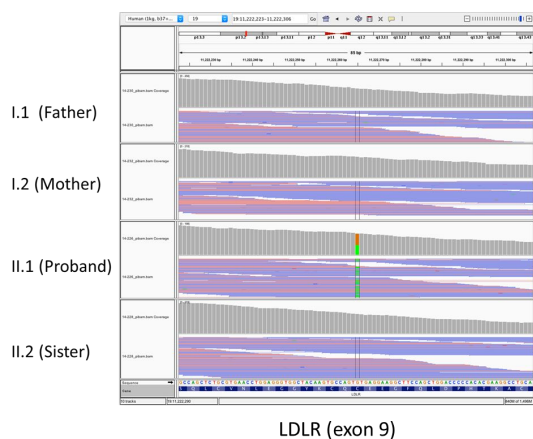


図4. Integrative Genomics Viewer

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

Tada H, Hosomichi K, Okada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Tomizawa S, Tajima A, Mabuchi H, Hayashi K. A rare coincidence of sitosterolemia and familial Mediterranean fever identified by whole exome sequencing. J Atheroscler Thromb. 2016 in press, 査読有

Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Yamagishi M, Hayashi K. Lipoprotein metabolism in familial hypercholesterolemia: Serial assessment using a one-step ultracentrifugation method. Practical Laboratory Medicine. Volume 1, 1 April 2015, Pages 22-27, doi:10.1016/j.plabm.2015.03.001, 査読有

Stitzel NO, Peloso GM, Abifadel M, Cefalu AB, Fouchier S, Motazacker MM, Tada H, Larach DB, Awan Z, Haller JF, Pullinger CR, Varret M, Rabès JP, Noto D, Tarugi P, Kawashiri MA, Nohara A, Yamagishi M, Risman M, Deo R, Ruel I, Shendure J, Nickerson DA, Wilson JG, Rich SS, Gupta N, Farlow DN, Neale BM, Daly MJ, Kane JP, Freeman MW, Genest J, Rader DJ, Mabuchi H, Kastelein JJ, Hovingh GK, Averno MR, Gabriel S, Boileau C, Kathiresan S. Exome sequencing in suspected monogenic dyslipidemias. Circ Cardiovasc Genet. 2015 Apr;8(2):343-50, doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000776, 査読有

Tada H, Kawashiri MA, Okada H, Teramoto R, Konno T, Yoshimuta T, Sakata K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M, Hayashi K. Assessment of coronary atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia by coronary computed tomography angiography. Am J Cardiol. 2015 Mar 15;115(6):724-9, doi: 10.1016/j.amjcard.2014.12.034, 査読有

〔学会発表〕(計7件)

Tada H, et al. A rare coincidence of sitosterolemia and familial Mediterranean fever identified by whole exome sequencing. 第80回日本循環器学会学術集会 March 18-20, 2016, 仙台国際会議場 (宮城・仙台市)

Tada H, et al. A rare coincidence of sitosterolemia and familial Mediterranean fever identified by whole exome sequencing. The 88th American Heart Association 2015

Scientific Sessions Nov.7-11, 2015, Orlando (USA)

Tada H, et al. Whole Exome Sequencing in 23 Families with Familial Hypobetalipoproteinemia. 第60回日本人類遺伝学会 October 14-17, 2015, 京王プラザホテル (東京・新宿区)

Tada H, et al. Coronary Plaque Burden Assessed with Coronary Computed Tomography Angiography Predicts Future Coronary Events in patients with Familial Hypercholesterolemia. 第79日本循環器学会学術集会 April 24-26, 2015, 大阪国際会議場 (大阪・大阪市)

Tada H, et al. Coronary Plaque Burden Assessed with Coronary Computed Tomography Angiography Predicts Future Coronary Events in patients with Familial Hypercholesterolemia. The 87th American Heart Association 2014 Scientific Sessions Nov.15-19, 2014, Chicago (USA)

Tada H, et al. Abnormal Lipoprotein Metabolism Other than LDL Fraction in Familial Hypercholesterolemia: Serial analysis using Ultracentrifugation Method. The 87th American Heart Association 2014 Scientific Sessions Nov.15-19, 2014, Chicago (USA)

多田隼人. 心臓血管病研究におけるバイオインフォマティクス: Current Perspectives in Common and Rare Variant Association Study for Plasma lipids and Coronary Artery Disease. 第62回日本心臓病学会学術集会 September 26-28, 2014, 仙台国際会議場 (宮城・仙台市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:  
取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

多田 隼人 (TADA, Hayato)  
金沢大学・大学病院・助教・  
研究者番号：90623653

(2)研究協力者

Sekar Kathiresan  
米国マサチューセッツ総合病院 ヒトゲノ  
ム研究所 部長