

## 172. 高 HDL コレステロール血症新規原因分子の網羅的探索

多田 隼人

金沢大学附属病院 救急部

Key words : エクソームシーケンシング, HDL コレステロール

### 緒言

当研究室で30年以上にわたり蓄積した、脂質異常症のデータベースの中で、高LDLコレステロール血症を呈する家族性高コレステロール血症（FH）では約2,000例中、約80%の症例で原因分子を同定した<sup>1)</sup>。しかしながら、高HDLコレステロールを呈する原発性（家族性）高HDLコレステロール血症ではこれまで、本邦において高頻度で認められるコレステリルエステル転送蛋白（*CETP*）遺伝子の2つの変異のスクリーニングにより、382例の症例の中143例（37%）に遺伝子変異が同定されたが、残る239例（63%）で原因分子の同定には至っていなかった。

### 方法

このように原発性高HDLコレステロール血症を呈しながら*CETP*遺伝子高頻度変異が認められなかった症例に対して次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析により、新規原因分子の同定を試みた。その中で、3世代に渡り詳細な臨床像を追跡し得た家系のうち4名（図1）に対して全エクソームシーケンシング解析を行った。ゲノムDNAを末梢血白血球より抽出し、アジレント社 SureSelectXT Target Enrichment System を用いて断片化されたDNAにアダプターを付加し、同社の SureSelectXT Human All Exon 50 Mb Kit にてエクソーム領域のキャプチャーを行った。産物をイルミナ社 HiSeq2000 にてシーケンス反応を行い解析した。

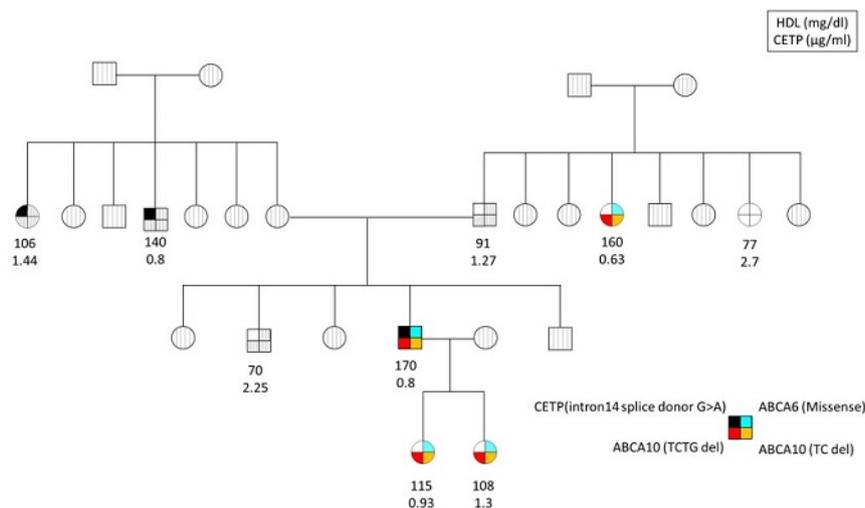


図1. *ABCA6*及び*ABCA10*遺伝子変異による高HDLコレステロール血症家系

*CETP*遺伝子変異に加えて*ABCA6*及び*ABCA10*遺伝子変異による高HDLコレステロール血症家系。このうちカラー表示の4名（平均HDLコレステロール138 mg/dl）について、全エクソームシーケンシング解析を行った。

## 結 果

4名において同定された117,930個の遺伝子変異の中から、研究協力機関である、米国マサチューセッツ総合病院 Sekar Kathiresan 博士の協力を得て、低HDLコレステロール集団において認められた約300,000の遺伝子変異と照合し、それらと同一の変異は排除した。これにより残った54,777個のうち、4名ともに、1個以上の変異を有する変異は1,335個であった。これらの中から、大規模な公共データベース Exome Variant Server や、ExAC (Exome Aggregation Consortium) 遺伝子変異の頻度のうち、1%以上であると報告されているものを除外した。これらのフィルターリングにより、結果として69個の候補遺伝子変異に絞り込んだ(図2)。

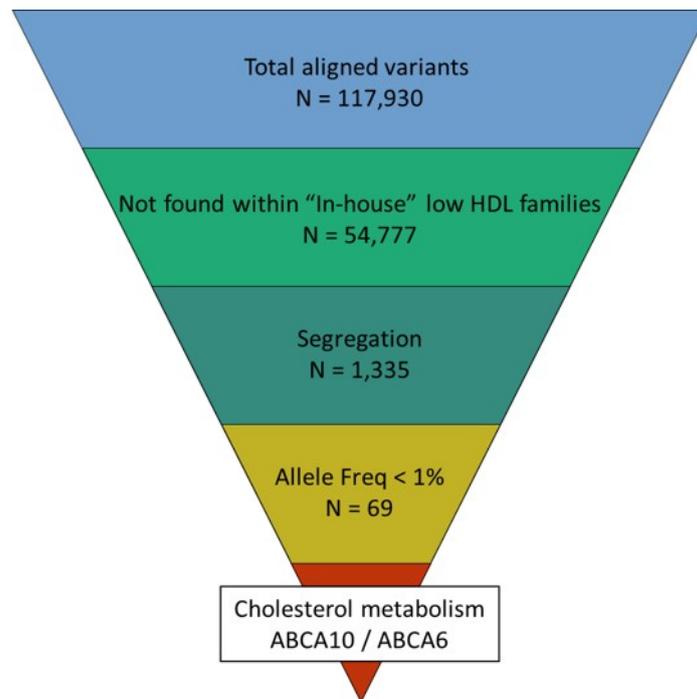


図2. エクソームシーケンシング後の変異絞り込み

家系内で認められた全変異のうち疾患に関連が薄いと思われるものを徐々に除外した。

この中で、コレステロール代謝との関連を照合した結果、ABCトランスポーターの1つである *ABCA10* にフレームシフト変異の複合型ヘテロ接合体変異 (c.1331\_1334delACAG, c.4515\_4516delGA)、及び隣接するABCトランスポーターである *ABCA6* 遺伝子にミスセンス変異 (c.212T > C/p.N71S) が最終候補として絞り込まれた。両蛋白ともにマクロファージにおけるコレステロール輸送に関与することが知られており<sup>2,3)</sup>、これらのいずれか、ないしは両者に起因する原発性高HDLコレステロール血症であることが強く示唆された。それぞれの遺伝子変異については、サンガー法での直接塩基配列決定法(図3)により確認された<sup>4)</sup>。

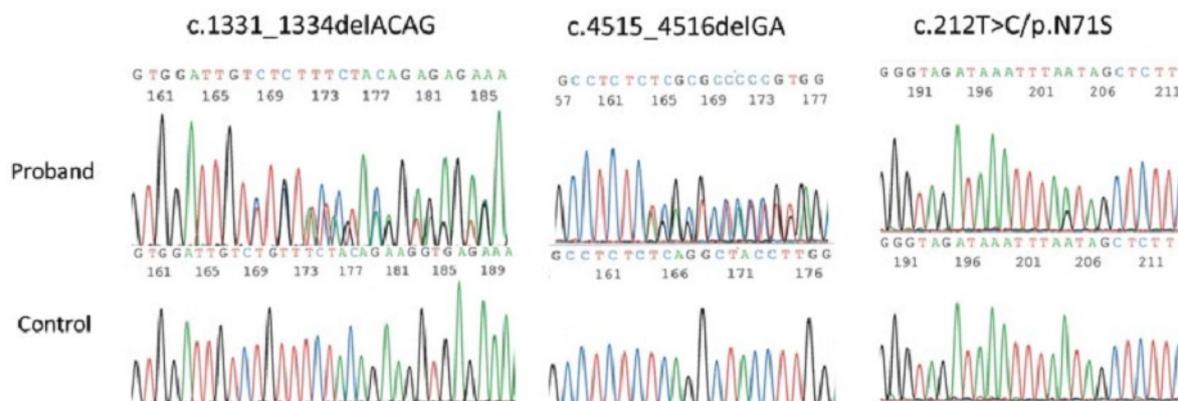


図3. サンガー法による変異確認  
サンガー法により、変異を確認した。

## 考 察

血清 HDL コレステロールについてはこれまで疫学研究の結果から冠動脈疾患との逆相関関係にあり、「善玉」コレステロールと呼ばれてきた。しかし、近年、HDL コレステロールを上昇させ、冠動脈疾患の抑制を目指した大規模臨床試験はその期待された効果が得られず終了している。従って、冠動脈疾患抑制を視野に入れた全く新たな HDL 関連分子の同定が期待される場所である。これらの知見により新たな視座からの HDL 上昇作用を有する新規創薬につながる可能性があり、さらなる機能解析を予定している。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は米国マサチューセッツ総合病院の Sekar Kathiresan 博士である。最後に、ご支援賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Inoue T, Mori M, Tada H, Nakanishi C, Yagi K, Yamagishi M, Ueda K, Takegoshi T, Miyamoto S, Inazu A, Koizumi J; Hokuriku FH Study Group. Genotypic and phenotypic features in homozygous familial hypercholesterolemia caused by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gain-of-function mutation. *Atherosclerosis*. 2014 Sep;236(1):54-61. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.06.005. PMID: 25014035
- 2) Wenzel JJ, Kaminski WE, Piehler A, Heimerl S, Langmann T, Schmitz G. ABCA10, a novel cholesterol-regulated ABCA6-like ABC transporter. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Jul 11;306(4):1089-98. PMID: 12821155
- 3) van Leeuwen EM, Karssen LC, Deelen J, Isaacs A, Medina-Gomez C, Mbarek H, Kanterakis A, Trompet S, Postmus I, Verweij N, van Enkevort DJ, Huffman JE, White CC, Feitosa MF, Bartz TM, Manichaikul A, Joshi PK, Peloso GM, Deelen P, van Dijk F, Willemsen G, de Geus EJ, Milaneschi Y, Penninx BW, Francioli LC, Menelaou A, Pulit SL, Rivadeneira F, Hofman A, Oostra BA, Franco OH, Mateo Leach I, Beekman M, de Craen AJ, Uh HW, Trochet H, Hocking LJ, Porteous DJ, Sattar N, Packard CJ, Buckley BM, Brody JA, Bis JC, Rotter JI, Mychaleckyj JC, Campbell H, Duan Q, Lange LA, Wilson JF, Hayward C, Polasek O, Vitart V, Rudan I, Wright AF, Rich SS, Psaty BM, Borecki IB, Kearney PM, Stott DJ, Adrienne Cupples L; Genome of The Netherlands Consortium, Jukema JW, van der Harst P, Sijbrands EJ, Hottenga JJ, Uitterlinden AG, Swertz MA, van Ommen GJ, de Bakker PI, Eline Slagboom P, Boomsma DI, Wijmenga C, van Duijn CM. Genome of The Netherlands population-specific imputations identify an ABCA6 variant associated with cholesterol levels. *Nat Commun*. 2015 Mar 9;6:6065. doi: 10.1038/ncomms7065. PMID: 25751400.
- 4) Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Mabuchi H, Kathiresan S, Yamagishi M. Whole exome sequencing identifies deleterious variants in ABCA6 and ABCA10 genes possibly associated with hyper HDL-cholesterolemia. *Eur Heart J Vol 36 (suppl 1) : 282*