

## 次世代シーケンサーによる家族性低βリポ蛋白血症の新規原因分子の網羅的探索

多田隼人

金沢大学医薬保健研究域医学系 臓器機能制御学講座

### 【研究の背景】

日本人死因の第 2 位と第 4 位は心疾患と脳血管疾患であり、その合計は第 1 位の悪性新生物に匹敵する。粥状動脈硬化症は心筋梗塞や脳梗塞などの基礎病態であり、人口の高齢化に伴い今後も増加の一途をたどると考えられ、人類が克服すべき疾患の一つである。粥状動脈硬化は脂質異常症、糖尿病、高血圧や喫煙など古典的危険因子の集積により発症することが知られているが、中でもコレステロールは病変に直接蓄積しており、単なる危険因子のひとつではなく原因物質と考えられる。したがって、コレステロール代謝への介入が粥状動脈硬化の克服に合目的であるが、HMG-CoA 還元酵素阻害剤(スタチン)が唯一その成功例であり、更なる脂質代謝改善薬の開発が待たれる。逆に著明な低 LDL コレステロールを呈する家族性低βリポ蛋白血症(FHBL)は、LDL コレステロールなどのアポリポ蛋白 B(アポ B)含有リポ蛋白の低値を呈する遺伝性の病態であり、脂肪肝を呈する症例は散見されるが、通常は無症候である。無症候であるが故に一般人口における頻度は正確には不明である。原因遺伝子としては、アポ B 遺伝子変異が最も頻度が高いが、アポ B は 4,536 アミノ酸から成る非常に大きな蛋白であり、その遺伝子解析は従来法では非常に困難であった。現状では我々の有する約 50 家系・100 例の症例の中で殆ど原因分子の同定には至っていない(約 8%の症例で遺伝子診断)。

### 【目 的】

今回の研究の目的は、遺伝子変異未確認の FHBL 症例に対して、次世代シーケンサーを用いた拡大候補遺伝子解析によりアポ B を含めた既知遺伝子変異の有無を網羅的に探索すると共に、既知遺伝子変異が除外された家系に対して、網羅的遺伝子解析法(エクソームシーケンシング法)を用いて FHBL における未解明の原因分子を同定することである。

### 【方 法】

FHBL 家系のうち、同意が得られた 19 家系の合計 32 名に対してエクソームシーケンシング解析を行った。候補変異の中から①変異の効果予測(SNPEFF)によりミスセンス変異、ナンセンス変異、フレームシフト変異、欠失・挿入変異、②変異の頻度(ExAC exome project でのアジア人における頻度)が 1%未満ないしは未報告、③家系が得られる場合にはその表現型・遺伝型のマッチング、④既知遺伝子座(アポ B、PCSK9、MTTP、ANGPTL3)での変異を各々抽出して検討を行った。

### 【結 果】

全 19 家系のうち 7 家系において、上記を満たし、疾患起因性と思われるアポ B 遺伝子ヘテロ接合体性の変異が確認された。さらには 3 家系においてはアポ B 遺伝子の複合型ヘテロ接合体ないしはホモ接合体性の変異が確認された。1 家系においては、PCSK9 遺伝子座に、複合型ヘテロ接合体性の変異が確認された。これらの変異のうち、アポ B 遺伝子座においては、6 つの新規変異(c.394A>T/p.Lys132\*、c.1902\_1903delTC/p.Ser634fs、c.2702T>G/p.Met901Arg、c.2946delC/p.Ser982fs、c.4437G>C/p.Leu1479Phe、c.4439\_4440delTT/p.Phe1480fs)、PCSK9 遺伝子座においては 1 つの新規変異(c.1301G>A/p.Arg434Gln)を同定した。また、既知遺伝子座に疾患起因性変異が確認されなかった 8 家系のうち、4 家系において、oxysterol binding protein-like 7(OSBPL7) 遺伝子座に有害変異が確認された。

## 【考 察】

今回の網羅的遺伝子解析による検討では、FHBL19 家系中 11 家系 (58%) で既知遺伝子座に疾患起因性変異を同定可能であった。新規分子の探索については、OSBPL7 遺伝子座に有害変異が 4 家系において確認された。オキシステロールについては LXR がオキシステロールの受容体としてコレステロール代謝を調節していることが知られており、これらの変異により病態が説明し得る可能性がある。今後、本遺伝子の改変動物モデルでの実験を予定し新たな仮説を検証予定としたい。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、

- ① 全エクソームシーケンシング法により、FHBL の約 6 割に対して遺伝子診断可能であることが示された。
- ② 新たに OSBPL7 遺伝子が、FHBL 発症との関連が示唆され、本遺伝子の更なる検討により、新たな脂質代謝改善薬創薬に繋がる可能性がある。