

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業)

(総合)研究報告書

型および 型高脂血症に関する遺伝学的および疫学的検討

分担研究者 後藤田 貴也 東京大学大学院臨床分子疫学特任准教授

研究要旨 まず、ヒトの血清脂質値および脂質異常症を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) に関する情報を収集・整理し、日本人を含む東アジア人に特有な遺伝子座・SNP が未同定であることを確認した。次いで、本邦における 型と 型高脂血症の調査研究を目的とした基礎検討を行い、それらの診断には便宜的に空腹時血清トリグリセライド (TG) 1000mg/dl を用いることが実用的であるが、定義によりとくに 型の対象者数が大きく変動するため調査目的に合った診断基準の設定が重要となることを示した。最後に、アポ蛋白 C- 低下症を伴う日本人 型高脂血症患者の遺伝子解析を行い、アポ蛋白 C- レベルに trans に働く別個の遺伝子の存在を示唆した。

#### A. 研究目的

高カイロミクロン血症を主徴とする 型と 型高脂血症を中心として、遺伝学的および疫学的アプローチを用いてその病態・成因を探ることを目的とする。具体的には、まず、血清脂質値・脂質異常症を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) に関する情報を収集・整理し、また本邦における実態調査を行う前段階として日本人患者データの整理・検討を行う。さらに、 型高脂血症を呈するアポ蛋白 C- 低下症例の原因となる分子機構を探る目的で、日本人のアポ蛋白 C- 低下症患者の遺伝子解析を行う。

#### B. 研究方法

ヒト血清脂質値および脂質異常症を対象とする GWAS に関する情報を、内外の文献お

よび学会抄録データベースを検索することにより収集し考察を加えた。次いで自験例を含む日本人の 型と 型高脂血症患者に関する報告文献を整理し、それらの特徴や頻度に関する考察を加えた。アポ蛋白 C- 低下症の発端者は 型高脂血症を呈し頻回に急性膵炎を繰り返す 47 歳の男性であり、血中総コレステロール値は 385mg/dl であるのに対し、血中 TG 値は 3235mg/dl に達した。家族歴の一部に近親結婚歴を認め、血中アポ蛋白 C- 濃度は 0.6mg/dl と著減を認めた。遺伝子解析は被験者の書面による同意と東京大学のヒトゲノム遺伝子解析研究倫理委員会による承認のもと行われた。

#### C. 研究結果

2007年以來、主に欧米人を対象とした血清脂質値に関するGWASの結果が次々と報告され、2010年には2つの大きなメタ解析の結果が報告されている。とくに、Global Lipids Genetics Consortium (GLGC)による報告(Nature 2010;466:707-713)は全ゲノムに及ぶ約260万個のSNPを解析し合計46のGWASの結果をまとめた過去最大規模のメタ解析であり、10万名以上の対象者にはアジア系人種も含まれている。この報告では、血清脂質濃度とゲノムワイドレベルで有意な相関を示す95の遺伝子座のリストが示され、その後幾つか新規な遺伝子座が追加報告されたが replication study で確認されたものはなく、このGLGCによる報告をベースとして研究が進められている。日本人や東アジア人を対象とし脂質値を1次的あるいは副次的エンドポイントとして行われたGWASの報告は極めて限られており、これらの人種に特異的な脂質関連遺伝子座の存在は確認されていない。

原発性Ⅰ型高脂血症の多くはリポ蛋白リパーゼ(LPL)-アポ蛋白C系に関わる各遺伝子(LPL、APOC2、GPIHBP1、LMF1、APOA5等)の劣性変異に起因する極めて稀な病態であり、本邦でも40家系あまりの報告があるに過ぎない。一方、LPLはインスリン依存性の酵素であるため未治療の1型糖尿病患者などでみられるdiabetic lipemiaは二次性に生ずるⅡ型高脂血症の代表的な病態である。診断は空腹時の血中カイロミクロン単独の増加を基本とし、通常ヘパリン静

注後血漿中のLPL活性の著しい低下を認める。多くの場合、空腹時血清TG 2000mg/dlであり、自験例ではいずれもTC/TG比<0.15であり、これが一つの目安となるものと考えられた。カイロミクロンに加えVLDLも増加を示すⅢ型の遺伝的背景はⅡ型と比較するとより希薄で非特異的である。Ⅲ型はこれらと糖尿病や飲酒を中心とした多様な環境要因との相互作用に起因する雑多な病態を含むものと考えられるが、Ⅲ型に高頻度にみられる遺伝子変異・多型はAPOA5を除きほとんど知られていない。空腹時血清TG 1000mg/dlにて血中にカイロミクロンが存在する可能性が高まるため、便宜上、この閾値をもって診断される場合が多いが、Ⅲ型などの他の高TG血症とのオーバーラップも大きく、またTC/TG比を用いてもⅢ型と判別できない場合が多いことは注意を要する。

最後に、アポ蛋白C-Ⅰ低下症患者の末梢血単球由来マクロファージを培養し解析することにより、患者では従来報告同様にアポ蛋白C-Ⅰ遺伝子のmRNAへの転写が低下していることを確認した。同様な結果は、患者アポ蛋白C-Ⅰ遺伝子を内包するミニ遺伝子を用いたリポーターアッセイにおいても確認された。しかしながら、患者のアポ蛋白C-Ⅰ遺伝子全長の塩基配列を解析した結果、50個の単一遺伝子多型を検出したが、アポ蛋白C-ⅠmRNAの転写レベルでの低下を説明するよ

うな遺伝子変異・多型はまったく検出されなかった。

#### D. 考察

GWASにより血清脂質値に関連する100あまりの遺伝子座が報告されているが、日本人を含む東アジア人に特有な遺伝子座は報告されていない。一方で、集団中の upper extreme を対象とした in depth resequencingにより rare variant を探る試みも多く行われており、原発性高脂血症を対象とした同様な試みにより今後新たな原因遺伝子変異の同定が期待される。

Ⅰ型とⅤ型高脂血症を「空腹時のカイロミクロン血症を主徴とする病態」と定義すれば、超遠心法や電気泳動法によるリポ蛋白分画の分別や、24時間4℃による血清静置試験を通じたカイロミクロンの存在証明が診断の基本であるが、上記のような背景から血清TG 1000mg/dlにてスクリーニングされる場合が多い。1986年の原発性高脂血症調査研究班による全国調査では、TG 1000mg/dlの原発性高カイロミクロン血症の推計有病者数は10万人当たり317人と推計されている。診断には血清TG値のみでなく、急性膵炎、発疹性黄色腫、網膜脂血症などの高カイロミクロン血症に随伴する臨床症状も用いる考え方もあり、基準によりとくにⅠ型の対象者数が大きく変動するため、調査目的に合った診断基準の設定が重要となるものと思われる。

アポ蛋白C-Ⅲ低下症の原因として、既報にあるようなアポ蛋白C-Ⅲ遺伝子のプロ

モーター領域の変異や mRNA スプライシング変異以外に、アポ蛋白C-Ⅲレベルに trans に働く別個の遺伝子の異常が関与する可能性が初めて示された。

#### E. 結論

GWASの結果から示唆される遺伝子座の広範な resequencingにより、Ⅰ型とⅤ型高脂血症を含む原発性高脂血症の成因解明が進むことが期待される一方、日本人におけるこれらの高脂血症に関する疫学調査研究を行う上で、スクリーニング基準の検討が重要であると思われた。アポ蛋白C-Ⅲ低下症例の遺伝子解析を通じて、アポ蛋白C-Ⅲレベルに trans に働く新規遺伝子の存在が初めて示された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Gotoda T, Shirai K, Ohta T, Kobayashi J, Yokoyama S, Oikawa S, Bujo H, Ishibashi S, Arai H, Yamashita S, Harada-Shiba M, Eto M, Hayashi T, Sone H, Suzuki H, Yamada N. Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb* 19:1-12, 2012.

後藤田貴也 GWAS とリポ蛋白受容体. *The Lipid* 23:424-432, 2012.

Takase S, Osuga JI, Fujita H, Hara K, Sekiya M, Igarashi M, Takanashi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Ohta K, Kumagai M, Nishi M, Kubota M, Masuda Y, Taira Y, Okazaki S, Iizuka Y, Yahagi N, Ohashi K, Yoshida H, Yanai H, Tada N, Gotoda T, Ishibashi S, Kadowaki T, Okazaki H.

Apolipoprotein C-II deficiency with no rare variant in the APOC2 gene. J Atheroscler Thromb 20:481-493, 2013.

Yamamoto T, Izumi-Yamamoto K, Iizuka Y, Shirota M, Nagase M, Fujita T, Gotoda T. A novel link between Slc22a18 and fat accumulation revealed by a mutation in the spontaneously hypertensive rat. Biochem Biophys Res Commun 440:521-526, 2013

## 2. 学会発表

山本隆史, 代田翠, 喬荊, 飯塚陽子, 藤田敏郎, 後藤田貴也: SHR の遺伝解析により同定された内臓脂肪蓄積関連遺伝子 SLC22A 18 と脂肪蓄積メカニズム. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会(2011 年)

後藤田貴也 遺伝子変異の網羅的解析と TG 代謝異常. 第 41 回日本動脈硬化学会総会・学術集会(2012 年)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

(共同研究者 高瀬 暁、岡崎 啓明 東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科)