

## Associations Between *APOE* Gene Variants and Metabolite Levels in Hypercholesterolemia: A Metabolite GWAS Study in a Korean Cohort

Sangjung Park<sup>1,2,†,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, College of Life and Health Sciences, Hoseo University, Asan, Chungnam 31499, Korea

<sup>2</sup>The Research Institute for Basic Sciences, Hoseo University, Asan, Chungnam 31499, Korea

Hypercholesterolemia, a form of hyperlipidemia, is a significant risk factor for cardiovascular diseases, often linked to genetic variations in the *APOE* gene, particularly the  $\epsilon 4$  allele, which influences LDL cholesterol levels. This study aimed to examine the association between *APOE* gene variants and plasma sphingomyelin levels in Korean individuals with hypercholesterolemia, using a metabolite genome-wide association study (mGWAS) approach. Data from 7,031 participants in the Korean Genome and Epidemiology Study (KoGES) were analyzed. Genetic associations with cholesterol and sphingomyelin levels were evaluated through Exome chip analysis and metabolite profiling. Significant associations were identified between specific *APOE* variants (e.g., rs769449, rs4420638) and serum cholesterol levels. Additionally, certain SNPs were linked to variations in plasma sphingomyelin levels, suggesting a genetic influence on both lipid and sphingomyelin metabolism. The findings underscore the relevance of mGWAS in unraveling the genetic and metabolic pathways involved in hypercholesterolemia, offering potential biomarkers for disease risk and therapeutic targets.

**Key Words:** *APOE* gene, Association study, Hyperlipidemia, Hypercholesterolemia, metabolite GWAS

고콜레스테롤혈증은 혈중 콜레스테롤 농도가 비정상적으로 높은 상태로, 심혈관 질환의 주요 위험 요인 중 하나로 간주된다. 특히, 저밀도 지단백(Low Density Lipoprotein, LDL) 콜레스테롤의 증가는 동맥경화증을 촉진하여 심혈관계 질환을 유발할 수 있다. 이로 인해 고콜레스테롤혈증의 병태생리학적 이해와 치료 전략 개발이 중요한 과제로 대두되고 있다(Goldstein and Brown, 2009; Sandesara et al., 2019). 국내에서도 고콜레스테롤혈증의 유병률이 지속적으로 상승하고 있으며, 이는 심혈관계 질환의 위험을 높이는 주요 요인으로 작용하고 있다(Song et al., 2021). 따라서 고콜레스테롤혈증의 원인과 메커니즘을 이해하는

것은 효과적인 예방 및 치료의 전략을 마련하는데 매우 중요하다.

*APOE* 유전자는 콜레스테롤 대사에 중요한 역할을 하는 단백질을 암호화하며 지질 대사에서의 핵심적인 역할을 수행한다. 이 유전자의 변이는 콜레스테롤 수치와 심혈관계 질환 발생에 직접적인 영향을 미친다(Mahley, 2016; Mahley and Huang, 1999; Koopal et al., 2016). 특히, *APOE* 유전자의  $\epsilon 4$  변이형은 고콜레스테롤혈증의 발생 위험을 높이는 것으로 보고되어 있다. 이러한 유전적 변이는 LDL 수용체의 기능에 영향을 주어, LDL 콜레스테롤의 제거 효율을 저하시킴으로써 혈중 콜레스테롤 농도를 증가시키는 역

Received: August 5, 2024 / Revised: August 21, 2024 / Accepted: August 22, 2024

\*Professor.

†Corresponding author: Sangjung Park, Department of Biomedical Laboratory Science, College of Life and Health Sciences, Hoseo University, 20 Hoseo-ro 79 Beon-gil, Asan-si, Chungcheongnam-do 31499, Korea.

Tel: +82-41-540-9967, Fax: +82-41-540-9997, e-mail: sangjung@hoseo.edu

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

할을 하며, 이로 인해 다양한 인구 집단에서 고콜레스테롤혈증의 발병 위험을 증가시키는 것으로 알려져 있다 (Huang and Mahley, 2014; Corder et al., 1993; Heeren et al., 2006).

유전체 전반 연관 연구(Genome Wide Association Study, GWAS)는 복잡한 질병의 유전적 요인을 규명하는 데 중요한 역할을 해왔다. 이러한 연구들은 특정 유전적 변이가 질병과 관련된 생물학적 경로에 어떻게 기여하는지를 밝혀내며, 고콜레스테롤혈증, 당뇨병, 심혈관 질환, 알러지 질환 등 다양한 질병의 병태생리학적 이해를 증진시켜 왔다(Visscher et al., 2017; Jeon and Jin, 2019; Kong et al., 2021). 그러나 전통적인 GWAS는 유전적 변이와 복잡한 질병 간의 직접적인 연관성을 밝히는 데는 한계가 있다. 이러한 한계를 보완하기 위해 대사물질 기반의 유전체 전반 연관 연구(mGWAS)가 주목받고 있다. mGWAS는 유전적 변이가 대사물질 수준에서 어떻게 작용하는지를 규명하여, 유전자와 질병 간의 연관성을 보다 명확하게 이해할 수 있게 해준다. 대사물질은 세포 대사 과정에서 생성되거나 변형된 분자들로, 질병의 발병과 진행에 직접적으로 관여한다. 이러한 대사물질 수준의 변화를 연구함으로써, GWAS에서 밝혀진 유전적 변이들이 실제로 생리학적 경로에 어떻게 영향을 미치는지를 더 깊이 이해할 수 있다. 특히, 고콜레스테롤혈증과 같은 지질 대사 관련 질환에서는 특정 대사물질의 농도가 유전적 변이에 의해 조절될 수 있으며, 이는 질병의 위험도를 예측하거나 새로운 치료 타겟을 발견하는 데 중요한 정보를 제공할 수 있다(Rhee et al., 2013; Kettunen et al., 2012; Karjalainen et al., 2024).

이번 연구는 한국인의 코호트에서 고콜레스테롤혈증과 연관한 *APOE* 유전자의 유전변이를 Exome 영역에서 확

인하고, 이와 연관된 대사물질 분석을 수행하여, 어떤 혈중 대사물질이 *APOE* 유전자와 질병사이의 연관성이 있는지 확인하고자 하였다.

연구대상자는 한국인 유전체 역학 조사 사업(KoGES)의 일환인 지역사회기반 코호트 자료를 분양 받아 활용하였다(NBK-2022-045). 해당 코호트를 활용하기 위한 생명윤리에 대한 승인은 호서대학교 생명윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(1041231-211221-HR-138-01). 전체 연구대상자 8,840명 중 유전형 분석을 위한 Exome chip 분석 결과가 있는 7,031명을 대상으로 분석을 수행하였다.

질병-대조군의 설정은 코호트 자료에서 고지혈증을 진단받은 적이 있거나 질병관리청 국가건강정보포털 기준 ([https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts\\_sn=6054](https://health.kdca.go.kr/healthinfo/biz/health/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfo/gnrlzHealthInfoView.do?cntnts_sn=6054))에 따라 총 콜레스테롤이 240 mg/dL 이상, LDL-콜레스테롤이 160 mg/dL 이상 중 하나라도 해당할 경우 고콜레스테롤혈증 질병군으로 설정하고, 이외의 대상자를 정상 대조군으로 설정하였다. 질병군은 1,121명, 정상 대조군은 5,910명으로 질병-대조군 분석(case-control analysis)을 수행하였으며, 양적형질 분석(quantitative trait analysis)은 해당 대상자 중 약물 복용으로 인해 콜레스테롤 수치에 영향이 있는 경우는 제외하고 분석을 수행하였다. 양적형질 분석의 임상적 특성은 Table 1에 표기하였다.

연구대상자의 유전형 분석은 Exome 영역의 분석을 위해 Illumina Human Exome Chip v1.1 (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA) exome chip을 사용하여 분석하였다. DNA 시료는 연구대상자의 말초혈액에서 분리하였으며, 성별의 불일치가 있거나, SNP QC에서 유전형 판독 정확도가 95% 미만 과도한 heterogeneity가 있는 경우는 분석에서 제외하였다. QC 수행 후 77,472의 SNP가 분석에 사용되

**Table 1.** Characteristics of subject's Quantitative traits analysis with hypercholesterolemia in the Korean population

Characteristics	Quantitative traits for serum lipid	Case-control for quantitative traits analysis		
		Controls	Cases	<i>P</i> value*
Number of subjects	6,498	4,391	2,107	
Age (years ± SD)	52.2±8.8	52.4±9.1	51.6±8.2	< 0.001
Sex [number; men (%)]	3,111 (47.9)	2,120 (48.3)	991 (47.0)	
Total Cholesterol (mg/dL ± SD)	191.0±34.5	181.0±27.6	211.9±37.8	< 0.001
HDL Cholesterol (mg/dL ± SD)	44.1±10.3	44.8±10.1	42.4±10.3	< 0.001
LDL Cholesterol (mg/dL ± SD)	120.1±31.0	115.0±25.2	131.5±38.7	< 0.001

\*Significant differences in characteristics between the controls and cases were determined by the two-tailed student's *t*-test

었다. 유전 분석에서 사용한 염색체 상의 위치는 UCSC (University of Colombo school of computing) Genome browser on human Feb, 2009 (Genome Reference Consortium Human Build 37)를 기준으로 하였다.

대사물질 분석은 MetIDQ p180 플랫폼을 활용해서 2,580명을 이용하여 135개의 마커 분석을 수행하였다. 유전형 분석에 대한 내용 및 대사물질 분석에 대한 상세 내용은 해당 자세한 내역은 국립중앙인체자원은행 홈페이지 내 국립중앙인체자원은행 공개자원 상세설명에서 확인 가능하다(<https://biobank.nih.go.kr/EgovPageLink.do?menuNo=32&link=main%2Fcontent%2FDistributionHR%2FC>

ontrolPage).

통계 분석에는 PLINK version 1.90 beta (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink>)을 활용하였다. 질병-대조군에 대한 유전변이의 상관 분석은 로지스틱 회귀 분석을 시행하였다. 회귀 분석의 수행 시 나이와 성별, 지역을 공변수로 지정하였다. 양적형질 분석은 선형회귀 분석을 사용하였다. 모든 분석은 additive 유전 모델을 기준으로 분석하였으며, 모든 분석 값에 대한 유의성은 0.05 미만을 기준으로 하였다.

질병-대조군 분석을 위하여 *APOE* 유전자의 양 말단의 20 kb 영역으로 확장하여 분석을 수행하였고, 분석

**Table 2.** Association results of the hypercholesterolemia case-control with *APOE* gene in the Korean population

No.	CHR	BP	SNP	Gene	Consequence	Variation type	A1	A2	MAF			OR (95% CI)	Add <i>P</i> value*
									All	Case	Control		
1		45,395,266	rs157580	<i>TOMM40</i>	Intron	SNV	A	G	0.435	0.434	0.435	0.99 (0.93~1.07)	0.804
2		45,395,619	rs2075650	<i>TOMM40</i>	Intron	SNV	G	A	0.096	0.104	0.092	1.13 (1.01~1.28)	<b>0.040</b>
3		45,410,002	rs769449	<i>APOE</i>	Intron	SNV	A	G	0.076	0.088	0.071	1.26 (1.10~1.43)	<b>6.68.E-04</b>
4	19	45,412,079	rs7412	<i>APOE</i>	Exon	Missense_R176C	A	G	0.064	0.057	0.067	0.83 (0.72~0.97)	<b>0.017</b>
5		45,414,451	rs439401			SNV	G	A	0.389	0.395	0.387	1.03 (0.96~1.11)	0.399
6		45,415,640	rs445925	<i>APOC1</i>	Upstream	SNV	A	G	0.084	0.080	0.086	0.92 (0.81~1.05)	0.229
7		45,422,946	rs4420638	<i>APOC1</i>	500B downstream	SNV	G	A	0.113	0.130	0.105	1.27 (1.14~1.41)	<b>2.44E-05</b>

Abbreviations: CHR, chromosome; BP, base pair; SNP, single nucleotide polymorphism; A1, minor allele; A2, major allele; MAF, minor allele frequency; OR, odds ratio; SNV, single nucleotide variant

\*Bold text indicate significance at *P* value < 0.05

**Table 3.** Quantitative traits for cholesterol with *APOE* gene in the Korean population

No.	SNP	Total Cholesterol		HDL Cholesterol		LDL Cholesterol	
		BETA ± SE	<i>P</i> value*	BETA ± SE	<i>P</i> value*	BETA ± SE	<i>P</i> value*
1	rs157580	-1.30±0.63	<b>0.038</b>	-0.18±0.19	0.335	-1.58±0.57	<b>5.15.E-03</b>
2	rs2075650	2.81±1.05	<b>7.53.E-03</b>	-1.16±0.32	<b>2.53.E-04</b>	2.85±0.95	<b>2.74.E-03</b>
3	rs769449	4.15±1.17	<b>3.94.E-04</b>	-1.54±0.35	<b>1.31.E-05</b>	4.33±1.06	<b>4.48.E-05</b>
4	rs7412	-13.64±1.25	<b>2.06.E-27</b>	0.18±0.38	0.633	-16.39±1.12	<b>1.74.E-47</b>
5	rs439401	-1.70±0.64	<b>7.57.E-03</b>	-0.45±0.19	<b>0.019</b>	-1.97±0.57	<b>5.69.E-04</b>
6	rs445925	-10.07±1.11	<b>1.66.E-19</b>	-0.04±0.33	0.898	-12.35±1.00	<b>9.47.E-35</b>
7	rs4420638	2.39±0.98	<b>0.015</b>	-1.33 ± 0.29	<b>6.22E-06</b>	2.48±0.89	<b>5.13.E-03</b>

Abbreviations: SNP, single nucleotide polymorphism; HDL, High Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein

\*Bold text indicate significance at *P* value < 0.05

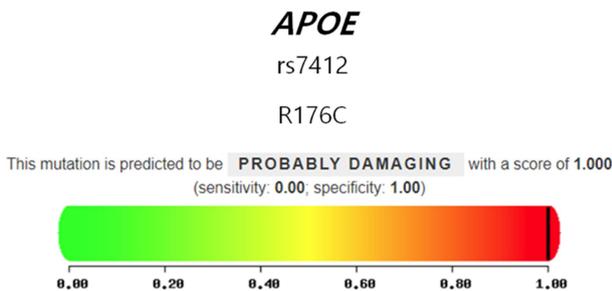
결과 Table 2의 7개의 SNP를 확인하였으며, rs769449와 rs4420638이 매우 높은 연관성이 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한 rs7412의 경우 exon 영역에서 과오 돌연변이 (missense mutation)를 유발하는 변이로 고콜레스테롤혈증과 연관성이 있는 것을 확인할 수 있었다. 해당 SNP의 양적형질 분석 결과 모든 SNP이 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 변화와 관련 있는 것으로 확인할 수 있었다. 4개의 SNP (rs2075650, rs769449, rs439401, rs4420638)은 HDL 콜레스테롤 수치 변화에도 관여하여 모든 콜레스테롤 수치 변화에 관여하는 것을 확인할 수 있었다(Table 3).

해당 7개의 SNP가 유전자 발현 및 단백질 변화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3개의 database를 활용하여 in silico 분석을 수행하였다(Table 4). 특히 rs7421의 경우 이미 pathogenic한 SNP로 보고되어 있었으며, 단백질

변화가 미치는 임상적 영향도 매우 큰 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 두 개의 SNP, rs769449와 rs439401의 경우 유전변이가 임상적 영향이 정확하게 보고된 바는 없으나, 피하지방조직에서 APOE 유전자의 발현을 조절한다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 종합적으로 결과를 확인해보면 rs7421의 경우 APOE 유전자의 점 돌연변이(point mutation)로 인하여 단백질의 구조 변화를 유도하게 되고, 이는 질병 발병위험도와 총 콜레스테롤 수치, LDL 콜레스테롤 수치를 낮아 지게 만든다. 또한 rs769449의 SNP 변화는 질병 발병위험도는 높이고, 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 수치를 증가시킨다. 이런 결과를 종합해 볼 때 19번 염색체의 APOE 유전자를 포함하여 위아래로 확장된 영역은 APOE 유전자의 발현을 조절하고, 단백질의 안정성을 제공함으로써 인체 내 콜레스테롤 수치 및 고콜레스테롤혈증 발병에 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있었다.

해당 유전자 영역의 대사물질 연관성 분석을 수행한 결과 rs7421과 rs439401, rs445925은 다양한 형태의 혈장 스핑고마이엘린(Sphingomyelin, SM) 수치와 연관성이 있다는 것을 확인할 수 있었다(Table 5). 이러한 결과를 통해 해당 영역의 유전자 변이를 통해 APOE 유전자 발현 및 단백질의 구조 변화는 혈장 콜레스테롤 및 혈장 스핑고마이엘린에 수치에 영향을 미치게 되고, 이것이 고콜레스테롤혈증을 유발한다는 것을 알 수 있었다. 고콜레스테롤혈증과 연관 있는 스핑고마이엘린의 목록은 Supplement 자료로 첨부하였다.

스핑고마이엘린은 세포막의 주요 구성 요소 중 하나로, 지질 대사와 신호 전달 경로에서 중요한 역할을 한다. 최근 연구에 따르면, 스핑고마이엘린의 혈중 농도는 심혈관



**Fig. 1. Assessment of rs7412 in the APOE Gene for potentially damaging effects using PolyPhen-2.** The rs7421 variant results in a point mutation that changes the amino acid from Arg to Cys. This alteration leads to a structural change in the protein, which is known to have a significant clinical impact. The HumDiv model, using in this analysis, is tailored for assessing rare alleles, conducting detailed mappings of regions pinpointed through genome-wide association studies, and examining patterns of natural selection.

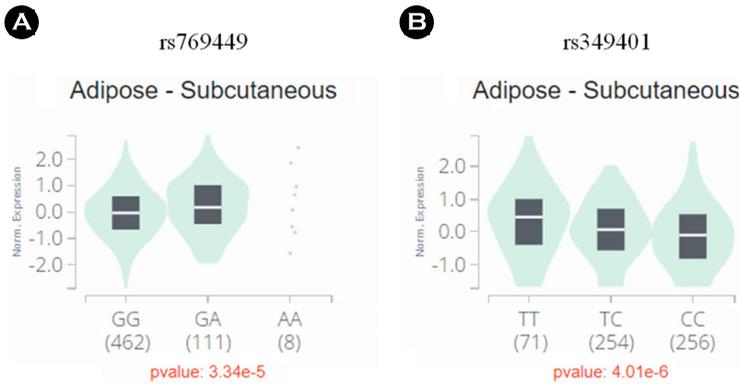
**Table 4.** In silico analysis of APOE gene variants

No.	SNP	ClinVar*	Polyphen-2**	GTEx portal (Gene / Tissue)***
1	rs157580	-	-	APOE / Brain and Lung
2	rs2075650	-	-	TOMM40 / Brain
3	rs769449	Benign	-	APOE / Adipose-subcutaneous
4	rs7412	Pathogenic	Probably damaging	-
5	rs439401	Warfarin response	-	APOE / Adipose-subcutaneous
6	rs445925	-	-	APOE / Skin
7	rs4420638	-	-	APOE / Skin

\*ClinVar : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

\*\*Polyphen-2 : <https://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>

\*\*\*GTEx portal : <https://gtexportal.org/home/>



**Fig. 2. eQTL violin plots from the GTEx portal database.** The figures show eQTL violin plots for two SNPs that regulate expression of the *APOE* gene in subcutaneous adipose tissue. (A) The plot for rs769449 demonstrates that the presence of the A allele, compared to the G allele, leads to higher gene expression. (B) For rs349401, higher gene expression is observed with the T allele compared to the C allele. These plots indicate that higher expression of the *APOE* gene is associated with increased serum cholesterol levels.

**Table 5.** Association with *APOE* gene and plasma sphingomyelin

No.	SNP	SM (OH) C14:1		SM (OH) C16:1		SM (OH) C22:1		SM (OH) C22:2		SM (OH) C24:1	
		BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*
1	rs157580	-0.050	0.106	-0.036	0.053	-0.116	0.126	-0.131	<b>0.037</b>	-0.015	0.082
2	rs2075650	-0.090	0.087	-0.054	0.092	-0.124	0.332	-0.268	<b>0.012</b>	-0.016	0.288
3	rs769449	-0.087	0.135	-0.052	0.136	-0.182	0.199	-0.295	<b>0.012</b>	-0.024	0.133
4	rs7412	-0.205	<b>1.10.E-03</b>	-0.176	<b>3.27.E-06</b>	-0.960	<b>2.7.E-10</b>	-0.521	<b>3.76.E-05</b>	-0.099	<b>1.37.E-08</b>
5	rs439401	-0.079	<b>0.013</b>	-0.059	<b>1.98.E-03</b>	-0.219	<b>4.5.E-03</b>	-0.206	<b>1.30.E-03</b>	-0.030	<b>7.09.E-04</b>
6	rs445925	-0.197	<b>4.32.E-04</b>	-0.149	<b>1.06.E-05</b>	-0.794	<b>4.8.E-09</b>	-0.438	<b>1.05.E-04</b>	-0.082	<b>1.45.E-07</b>
7	rs4420638	-0.107	<b>0.030</b>	-0.059	<b>0.047</b>	-0.234	<b>0.050</b>	-0.255	<b>0.010</b>	-0.029	<b>3.71.E-02</b>

Continue

SM C16:0		SM C16:1		SM C18:0		SM C24:0		SM C24:1		SM C26:1	
BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*	BETA	<i>P</i> value*
-0.807	0.210	-0.101	0.298	-0.071	0.611	-0.216	0.116	-0.424	0.210	-0.009	0.068
-1.654	0.129	-0.168	0.305	-0.125	0.598	-0.086	0.713	-1.457	<b>0.011</b>	-0.018	<b>0.038</b>
-1.629	0.175	-0.159	0.379	-0.168	0.519	-0.188	0.464	-1.590	<b>0.012</b>	-0.025	<b>8.93.E-03</b>
-5.899	<b>5.12.E-06</b>	-0.387	<b>0.047</b>	-1.075	<b>1.31.E-04</b>	-1.688	<b>9.48E-10</b>	-2.867	<b>2.45.E-05</b>	-0.035	<b>8.35.E-04</b>
-1.801	<b>5.99.E-03</b>	-0.211	<b>0.032</b>	-0.290	<b>0.042</b>	-0.392	<b>5.18E-03</b>	-1.101	<b>1.38.E-03</b>	-0.017	<b>1.48.E-03</b>
-4.947	<b>1.82.E-05</b>	-0.357	<b>0.040</b>	-0.783	<b>1.81.E-03</b>	-1.306	<b>1.15E-07</b>	-2.188	<b>3.08.E-04</b>	-0.024	<b>1.05.E-02</b>
-1.759	0.083	-0.152	0.318	-0.126	0.567	-0.263	0.226	-1.287	<b>0.016</b>	-0.016	<b>0.046</b>

\*Bold text indicate significance at *P* value < 0.05

질환 및 고콜레스테롤혈증과 밀접한 관련이 있는 것으로 밝혀졌다. 스핑고마이엘린은 LDL 콜레스테롤과 결합하여 동맥 내막에 축적될 수 있으며, 이로 인해 동맥경화증의 발생을 촉진할 수 있다고 보고하고 있다(Meikle et al., 2014; Borodzicz-Jaźdzyk et al., 2022; Krauss, 2004).

고콜레스테롤혈증은 심혈관 질환의 중요한 위험 요인으로, 이 질환의 복잡한 병태생리학적 메커니즘을 이해하기 위해 유전자와 대사물질의 상호작용을 분석하는 것은 필수적이다. 이번 연구는 *APOE* 유전자, 그리고 mGWAS

연구를 활용한 스핑고마이엘린과 같은 특정 대사물질과 질병과 유전자사이의 연관성을 확인하였다.

GWAS는 전체 게놈을 대상으로 수많은 SNPs를 분석하여, 복잡한 질병의 유전적 기반을 깊이 있게 이해할 수 있게 도와준다. 이 방법은 특정 질병과 관련된 유전자 변이를 사전 가설 없이 검출할 수 있는 능력을 제공하며, 다양한 인구 집단에서 질병과 유전적 변이의 연관성을 밝히는 데 유용하다(Tam et al., 2019; Schork et al., 2009). GWAS를 통해 발견된 유전적 연관성은 새로운 생물학적

경로를 밝히고, 잠재적인 진단 및 치료 전략을 개발하는 기초 자료를 제공할 수 있다. 이번 연구에서 사용한 mGWAS는 기존의 GWAS보다 유전적 변이가 대사물질에 미치는 영향을 더 명확히 분석할 수 있는 방법이다. 이러한 접근 방식은 고콜레스테롤혈증과 같은 질환에서 유전자-대사물질 간의 복잡한 상호작용을 밝혀내는 데 매우 유용하다(Long et al., 2017; Shin et al., 2014). 이런 분석 기법은 대사물질 프로파일링을 통해 질병의 기전 이해를 높이고, 새로운 치료 타겟을 식별하는 데 기여할 수 있다 (Illig et al., 2010; Suhre et al., 2011; Demirkan et al., 2012).

특히, 고콜레스테롤혈증과 같은 대사성 질환에서 대사물질 변화를 이해하는 것은 매우 중요하다. 이번 연구는 국내에서 처음으로 고콜레스테롤혈증과 연관 있는 *APOE* 유전자, 스펅고마이엘린과 같은 특정 대사물질의 상관성, 그리고 이를 바탕으로 한 mGWAS 연구의 필요성에 대해 언급하였다. 그러나 이 연구의 한계로는 이번 연구에서는 고콜레스테롤혈증 만을 질환 모델로 분석을 수행하였다는 것이다. 앞으로의 연구에서는 당뇨병, 고중성지방증, 고혈압과 같은 복합적인 대사성 질환의 질병 모델을 구축하여 질병과 유전자, 그리고 대사물질과의 상관관계를 복합적으로 분석해야 할 것으로 생각한다. 이번 연구에서 활용한 연구 방법은 유전자와 대사물질 사이의 상호작용이 질병 발병에 미치는 영향을 탐구하는 데 중요하게 활용할 수 있다. 향후 연구에서 이런 대사물질 분석을 통해 보다 정밀한 질병 발병에 대한 예측 모델을 개발하고, 개인 맞춤형 치료 전략을 수립하는 데 기여할 수 있을 것으로 생각한다.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This study was conducted with bioresources from National Biobank of Korea, the Korea Disease Control and Prevention Agency, Republic of Korea (NBK-2022-45).

This research was supported by the Academic Research Fund of Hoseo University in 20210805

#### CONFLICT OF INTEREST

All authors declare no competing interests.

#### REFERENCES

Borodzicz-Jażdżyk S, Jażdżyk P, Łysik W, et al. Sphingolipid metabolism and signaling in cardiovascular diseases. *J Front*

*Cardiovasc Med.* 2022. 9: 915961.

Corder EH, Saunders AM, Strittmatter, WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science.* 1993. 261: 921-923.

Demirkan A, van Duijn CM, Ugoicsai P, et al. Genome-wide association study identifies novel loci associated with circulating phospho- and sphingolipid concentrations. *PLOS Genet.* 2012. 8: e1002490.

Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009. 29: 431-438.

Heeren J, Beisiegel U, Grewal T. Apolipoprotein E recycling: implications for dyslipidemia and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006. 26: 442-448.

Huang Y, Mahley RW. Apolipoprotein E: structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis.* 2014. 72: 3-12.

Illig T, Gieger C, Zhai G, et al. A genome-wide perspective of genetic variation in human metabolism. *Nat Genet.* 2010. 42: 137-141.

Jeon TE, Jin HS. *PDGFC*, *MARK3* and *BCL2* polymorphisms are associated with left ventricular hypertrophy in Korean population. *Biomed Sci Letters.* 2019. 25: 237-246.

Karjalainen MK, Karthikeyan S, Oliver-Williams C, et al. Genome-wide characterization of circulating metabolic biomarkers. *Nature.* 2024. 628: 130-138.

Kettunen J, Tukiainen T, Sarin AP, et al. Genome-wide association study identifies multiple loci influencing human serum metabolite levels. *Nat Genet.* 2012. 44: 269-276.

Kong Y, Kim M, Jin HS, et al. Association with Genetic Polymorphism of rs117033348 and Allergic Disease in Korean Population. *Biomed Sci Letters.* 2021. 27: 177-181.

Koopal C, Geerlings MI, Muller M, et al. The relation between apolipoprotein E (APOE) genotype and peripheral artery disease in patients at high risk for cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2016. 246: 187-192.

Krauss RM. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2004. 27: 1496-1504.

Long T, Hicks M, Yu HC, et al. Whole-genome sequencing identifies common-to-rare variants associated with human blood metabolites. *Nat Genet.* 2017. 49: 568-578.

Mahley RW, Huang Y. Apolipoprotein E: from atherosclerosis to Alzheimer's disease and beyond. *Curr Opin Lipidol.* 1999. 10: 207-217.

Mahley RW. Apolipoprotein E: from cardiovascular disease to

- neurodegenerative disorders. *J Mol Med (Berl)*. 2016. 94: 739-746.
- Meikle PJ, Wong G, Tan R, Barlow CK, et al. Lipidomics: potential role in risk prediction and therapeutic monitoring for cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 2014. 138: 34-53.
- Rhee EP, Ho JE, Chen MH, et al. A genome-wide association study of the human metabolome in a community-based cohort. *Cell Metab*. 2013. 18: 130-143.
- Sandesara PB, Virani SS, Fazio S, et al. The Forgotten Lipids: Triglycerides, Remnant Cholesterol, and Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk. *Endocr Rev*. 2019. 40: 537-557.
- Schork NJ, Murray SS, Frazer KA, et al. Common vs. rare allele hypotheses for complex diseases. *Curr Opin Genet Dev*. 2009. 23: 212-219.
- Shin SY, Fauman EB, Petersen AK, et al. An atlas of genetic influences on human blood metabolites. *Nat Genet*. 2014. 46: 543-550.
- Song K, Jeon S, Lee HS, et al. Trends of Dyslipidemia in Korean Youth According to Sex and Body Mass Index: Based on the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2007-2018). *J Pediatr*. 2021. 237: 71-78.
- Suhre K, Wallaschofski H, Raffler J, et al. A genome-wide association study of metabolic traits in human urine. *Nat Genet*. 2011. 43: 565-569.
- Tam V, Patel N, Turcotte M, et al. Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. 2019. 20: 467-484.
- Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, et al. 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation. *Am J Hum Genet*. 2017. 101: 5-22.
- <https://doi.org/10.15616/BSL.2024.30.3.173>
- Cite this article as:** Park S. Associations Between *APOE* Gene Variants and Metabolite Levels in Hypercholesterolemia: A Metabolite GWAS Study in a Korean Cohort. *Biomedical Science Letters*. 2024. 30: 173-180

**Supplementary Table 1.** Types and Characteristics of Sphingomyelins Associated with the *APOE* Gene

No.	SM (OH) code	Characteristics
1	SM (OH) C14:1	Hydroxysphingomyelin with acyl residue sum C14:1. It is a type of sphingolipid.
2	SM (OH) C16:1	A member of the phosphocholines, practically insoluble in water, and found in blood and urine.
3	SM (OH) C22:1	Lower levels are associated with poor neurological outcomes in cardiac arrest patients.
4	SM (OH) C22:2	Associated with genetic variants and metabolite traits of type 2 diabetes.
5	SM (OH) C24:1	Lower levels are found in early-stage Alzheimer's disease patients compared to those with mild cognitive impairment.
6	SM C16:0	A sphingolipid found in various tissues, including the prefrontal cortex and cerebellum.
7	SM C16:1	Found in blood and urine, and primarily located near the cell membrane.
8	SM C18:0	Often used in HPLC columns for separating acidic and basic compounds.
9	SM C24:0	Has higher membrane rigidifying properties compared to its C24:1 homologue.
10	SM C24:1	Similar to SM C24:0 but with a different fatty acyl residue, affecting membrane properties.
11	SM C26:1	Information on this specific compound was not found in the search results.