

資料1 腎性低尿酸血症に関する2次アンケート調査（合併症のある症例用）

「合併症のある症例」 腎性低尿酸血症（RHUC、血清尿酸値 2.0 mg/dl 以下）についてお答え下さい。

(\*欄（研究班記入欄）は記載不要です。）

運動後急性腎不全及び尿路結石の合併症のある症例用です。  
(血清尿酸値 2.1~3.0 mg/dL 用も別に用意しています。)

生年月：(M・T・S・H) 47年 9月 (男・女)

\*追跡 ID：RH101 (○○病院)

RHUC 初診時年齢 ( 25 歳)

運動後急性腎不全の初発年齢 ( 27 歳)

尿路結石の初発年齢 ( 22 歳)

記入例は青字で示してあります。

あらかじめ追跡用 ID を記載しています。後日、お問い合わせさせていただくことがある場合に使用いたします。

質 問 事 項	発作回数	発作時年齢、 時期 (何月頃)	透析の 有無	運動の種類、内容 (例：サッカー)	運動強度 (軽度、中等度、重度)	運動時間
						(5分以下、6-30分、 31-60分、61分以上)
運動後急性腎不全 (発作回数が4回以上の 場合、裏面または別紙に記載願います)	1 回目	27 歳 (8 月)	有・無	400m 走	軽・中・重	5 分以下・6-30 分 31-60 分・61 分以上
	2 回目	31 歳 (2 月頃)	有・無	軽いジョギング	軽・中・重	5 分以下・6-30 分 31-60 分・61 分以上
	3 回目	38 歳 (4 月)	有・無	野球	軽・中・重	5 分以下・6-30 分 31-60 分・61 分以上
尿路結石 (発作回数が4回以上の 場合、裏面または別紙に記載願います)	1 回目	22 歳 (6 月頃)				
	2 回目	24 歳頃 (8 月)				
	3 回目	34 歳 (10 月)				

質 問 事 項	回答欄		*研究班 記入欄
発作当時に内服をしていましたか。 内服薬 (ルル (市販薬) ) )	はい	いいえ	
造影 CT 検査を行いましたか。(「あり」の場合は読影結果を同封願います。)	はい	いいえ	
運動後急性腎不全や尿路結石以外の合併症はありましたか。 発症年齢 ( ) 歳、病名または症状 ( ) 治療及び予後 ( )	はい	いいえ	
家族歴はありますか。 家族歴 (祖母：糖尿病、父：尿路結石 ) )	はい	いいえ	
RHUC の原因遺伝子検査を行いましたか。 実施施設 ( )	はい	いいえ	
RHUC の治療内容及び予後を記載して下さい。 治療内容及び予後 (急性腎不全初回発作時は一時的に人工透析を導入 (1 週間で離脱) した。健診結果から RHUC と診断し、飲水指導を行い経過観察中。)			
症例報告を行いましたか。 文献等 (四ノ宮成祥ら、第 45 回痛風核酸代謝学会、2012.2.16 ) )	はい	いいえ	
症例についてご意見等ありましたら、ご記入下さい。 ご意見等 ( )			

血液・尿検査 (血中・尿中尿酸値、血中・尿中クレアチニン値を含む) 及び画像検査の結果を同封願います。

「合併症 (運動後急性腎不全及び尿路結石) のない症例」 腎性低尿酸血症 (RHUC、血清尿酸値 2.0 mg/dl 以下) についてお答え下さい。 (\*欄 (研究班記入欄) は記載不要です)

資料2 腎性低尿酸血症に関する2次アンケート調査（合併症のない症例用）

生年月：(M・T・ <b>S</b> ・H) 56年 2月 ( <b>男</b> ・女)		*追跡ID：RC101	
RHUC 初診時年齢（ 28歳）		あらかじめ追跡用IDを記載しています。後日、お問い合わせさせていただくことがある場合に使用いたします。	
質問事項	回答欄		班記入欄
運動後急性腎不全や尿路結石以外の合併症はありましたか。 発症年齢（ ）歳、病名または症状（ ） 治療及び予後（ ）	はい	<b>いいえ</b>	
家族歴はありますか。 家族歴（ ）	はい	<b>いいえ</b>	
RHUCの原因遺伝子検査を行いましたか。 実施施設（防衛医大分子生体制御学（松尾講師））（ ）	<b>はい</b>	いいえ	
RHUCの治療内容及び予後を記載して下さい。 治療内容及び予後（ ）			
症例報告を行いましたか。 文献等（Kawamura, Y, et al. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 30: 1105-1111,2011.）（ ）	<b>はい</b>	いいえ	
症例についてご意見等ありましたら、ご記入下さい。 ご意見等（なし）（ ）			

血液・尿検査結果（血中・尿中尿酸値、血中・尿中クレアチニン値を含む）を同封願います。

ご協力ありがとうございました。

# F. 研究発表

## 【原著論文】

1. Chiba T, Matsuo H, Nagamori S, Nakayama A, Kawamura Y, Shimizu S, Sakiyama M, Hosoyamada M, Kawai S, Okada R, Hamajima N, Kanai Y, Shinomiya N. Identification of a hypouricemia patient with SLC2A9 R380W, a pathogenic mutation for renal hypouricemia type 2. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2014. (in press)
2. Matsuo H, Nakayama A, Sakiyama M, Chiba T, Shimizu S, Kawamura Y, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Oikawa Y, Takada T, Nakaoka H, Abe J, Inoue H, Wakai K, Kawai S, Guang Y, Nakagawa H, Ito T, Niwa K, Yamamoto K, Sakurai Y, Suzuki H, Hosoya T, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. ABCG2 dysfunction causes hyperuricemia due to both renal urate underexcretion and renal urate overload. *Sci Rep*. 4:3755, 2014.
3. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, Yamanashi Y, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Inoue H, Okada C, Utsumi Y, Ikebuchi Y, Ito K, Nakamura M, Shinohara Y, Hosoyamada M, Sakurai Y, Shinomiya N, Hosoya, T, Suzuki, H. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nat Commun*. 3: 764, 2012.
4. Matsuo H, Ichida K, Takada T, Nakayama A, Nakashima H, Nakamura T, Kawamura Y, Takada Y, Yamamoto K, Inoue H, Oikawa Y, Naito M, Hishida A, Wakai K, Okada C, Shimizu S, Sakiyama M, Chiba T, Ogata H, Niwa K, Hosoyamada M, Mori A, Hamajima N, Suzuki H, Kanai Y, Sakurai Y, Hosoya T, Shimizu T, Shinomiya N. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout. *Sci Rep*. 3:2014, 2013.
5. Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Nakashima H, Nakayama A, Chiba T, Naito M, Takada T, Suzuki H, Hamajima N, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. A common variant of organic anion transporter 4 (OAT4/SLC22A11) gene is associated with renal underexcretion type gout. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2013. (in press)
6. Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Chiba T, Nakayama A, Takada Y, Nakamura T, Takada T, Morita E, Naito M, Wakai K, Inoue H, Tatsukawa S, Sato J, Shimono K, Makino T, Satoh T, Suzuki H, Kanai Y, Hamajima N, Sakurai Y, Ichida K, Shimizu T, Shinomiya N. A common variant of leucine-rich repeat containing16A (LRRC16A) gene is associated with gout susceptibility. *Hum Cell*. 27: 1-4, 2014

7. Takada Y, Matsuo H, Sakiyama M, Nakayama A, Fuji A, Shimizu S, Chiba T, Nakasima H, Matsumura K, Suzuki K, Hamajima N, Niwa K, Suzuki S, Uchino S, Kobayashi Y, Shinomiya N. ABCG2 SNP typing by HRM method; an effective method for gout/hyperuricemia risk evaluation. *J Clin Welfare*. 10:64-69, 2013.
8. Nakayama A, Matsuo H, Shimizu T, Ogata H, Takada Y, Nakashima H, Nakamura T, Shimizu S, Chiba T, Sakiyama M, Ushiyama C, Takada T, Inoue K, Kawai S, Hishida A, Wakai K, Hamajima N, Ichida K, Sakurai Y, Kato Y, Shimizu T, Shinomiya N. A common missense variant of monocarboxylate transporter 9 (MCT9/SLC16A9) gene is associated with renal overload gout, but not with all gout susceptibility. *Hum Cell*. 26:133-136, 2013.
9. Nakayama A, Matsuo H, Shimizu T, Takada Y, Nakamura T, Shimizu S, Chiba T, Sakiyama M, Naito M, Morita E, Ichida K, Shinomiya N. Common variants of a urate-associated gene LRP2 are not associated with gout susceptibility. *Rheumatol Int*. 2013. (in press)
10. Takeuchi S, Wada K, Toyooka T, Shinomiya N, Nagatani K, Otani N, Osada H, Uozumi Y, Matsuo H, Nawashiro H. Increased xCT expression correlates with tumor invasion and outcome in patients with glioblastoma. *Neurosurgery* 72(1):33-41, 2013.
11. Nakashima M, Kinoshita M, Nakashima H, Habu Y, Miyazaki H, Shono S, Hiroi S, Shinomiya N, Nakanishi K, Seki S. Pivotal Advance: Characterization of mouse liver phagocytic B cells in innate immunity. *J Leukoc Biol*. 91(4): 537-546, 2012.
12. Tanaka M, Kinoshita M, Yoshihara Y, Shinomiya N, Seki S, Nemoto K, Hirayama T, Dai T, Huang L, Hamblin MR, Morimoto Y. Optimal photosensitizers for photodynamic therapy of infections should kill bacteria but spare neutrophils. *Photochem Photobiol*. 88(1): 227-232, 2012.
13. Miyazaki K, Morimoto Y, Nishiyama N, Maekawa Y, Hu WZ, Nakatate KI, Kaneda K, Shinomiya N, Kataoka K. A novel homogeneous irradiation fiber probe for whole bladder wall photodynamic therapy. *Lasers Surg Med* 44(5), 413-20, 2012.
14. Takeuchi S, Nawashiro H, Wada K, Nomura N, Toyooka T, Otani N, Osada H, Matsuo H, Shinomiya N. L:-Leucine induces growth arrest and persistent ERK activation in glioma cells. *Amino Acids*. 43(2):717-24, 2012.
15. Nakamura M, Yuichiro Y, Sass JO,

- Matsumura T, Schwab KO, Nishino T, Hosoya T, Ichida K. Identification of a xanthinuria type I case with mutations of xanthine dehydrogenase in an Afghan child. *Clin Chim Acta* 414:158-60, 2012
16. Fujiwara Y, Kawakami Y, Shinohara Y, Ichida K. A case of hereditary xanthinuria type 1 accompanied by bilateral renal calculi. *Intern Med* 51:1879-84, 2012
17. Kikuchi K, Hamano S, Mochizuki H, Ichida K, Ida H. Molybdenum cofactor deficiency mimics cerebral palsy: differentiating factors for diagnosis. *Pediatr Neurol* 47:147-9, 2012
18. Stiburkova B, Sebesta I, Ichida K, Nakamura M, Hulkova H, Kryov V, Kryspinova L, Jahnova H. Novel allelic variants and evidence for a prevalent mutation in URAT1 causing renal hypouricemia: biochemical, genetics and functional analysis. *Eur J Hum Genet* 21, 1067-73, 2013.
19. Bayram E, Topcu Y, Karakaya P, Yis U, Cakmakci H, Ichida K, Kurul SH. Molybdenum cofactor deficiency: review of 12 cases (MoCD and review). *Eur J Paediatr Neurol* 17, 1-6, 2013.
20. Tomioka NH, Nakamura M, Doshi M, Deguchi Y, Ichida K, Morisaki T, Hosoyamada M. Ependymal cells of the mouse brain express urate transporter 1 (URAT1). *Fluids Barriers CNS* 10, 31, 2013.
- 【総説・著書】
21. 高田雄三, 松尾洋孝, 中山昌喜, 中島宏, 松村耕治, 鈴木康司, 濱嶋信之, 櫻井裕, 四ノ宮成祥, 小林靖. 全自動 SNP タイピング装置を利用した痛風の遺伝子タイピング. *DNA 多型*. 2013; 21:256-60.
22. 千葉俊周, 松尾洋孝, 市田公美, 四ノ宮成祥. 痛風の遺伝子, 基礎から臨床へ. *医薬の門*. 2013; 53:74-9.
23. 松尾洋孝, 市田公美, 高田龍平, 中山昌喜, 四ノ宮成祥. 尿酸動態の支配要因としての尿酸トランスポーター. *細胞工学*. 2012; 31: 553-7.
24. 千葉俊周, 松尾洋孝, 中山昌喜, 市田公美, 四ノ宮成祥. 遺伝性腎性低尿酸血症. *日本臨床*. 2012; 807-11.
25. 千葉俊周, 松尾洋孝, 市田公美, 四ノ宮成祥. テーマ:A. 診断 8. 低尿酸血症の頻度, 原因, 分類を教えてください. *腎と透析*. 2012; 301-4.
26. 中山昌喜, 松尾洋孝, 市田公美, 四ノ宮成祥. 【腎疾患治療マニュアル 2012-13】尿細管疾患 尿細管機能異常症 腎性低尿酸血症. *腎と透析*, 2012; 370-3.
27. 松尾洋孝, 四ノ宮成祥. 腎性低尿酸血症の遺伝学. *Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌*. 2012; 145-154.
28. 松尾洋孝. 【臨床医のための高尿酸血症・痛風のABC】 その他 痛風の遺伝素因を教えてください. *高尿酸血症と痛風*. 20: 84-86, 2012.
29. 市田公美: 痛風 Q&A 排泄低下型痛風の主な原因は URAT1 の異常と考えて

- よいのでしょうか. **高尿酸血症と痛風** 21: 188-190, 2013.
30. 市田公美: 痛風と高尿酸血症の最新治療 尿酸の生体内での役割. **成人病と生活習慣病** 43: 951-956, 2013.
  31. 市田公美: トランスポーター異常による腎疾患 トランスポーター異常症としての高尿酸血症と低尿酸血症. **Nephrol Front** 12: 174-178, 2013.
  32. 市田公美: 結晶誘発性関節炎に関連した最新の知識 尿酸代謝異常の新たな知見. **リウマチ科** 21: 54-61, 2013.
  33. 市田公美: 肝以外の尿酸の産生部位 (Q&A). **日本医事新報** 4647: 68-69, 2013.
  34. Ichida K, Amaya Y, Okamoto K, Nishino T. Mutations associated with functional disorder of xanthine oxidoreductase and hereditary xanthinuria in humans. **Int J Mol Sci** 13:15475-95, 2012
  35. Bayram E, Topcu Y, Karakaya P, Yis U, Cakmakci H, Ichida K, Kurul S H. Molybdenum cofactor deficiency: Review of 12 cases (MoCD and review). **Eur J Paediatr Neurol**, 2012
  36. 市田公美, 天谷吉宏, 西野武士. キサンチン酸化還元酵素研究 110 年 (第 3 回) 酵素のクローニングと欠損症. **高尿酸血症と痛風**. 2012; 20: 175-181.
  37. 市田公美. 痛風・高尿酸血症研究における最近の進歩一腎障害と新しい高尿酸血症発症メカニズムを中心に  
一. **適応医学** 2012; 16: 23-30.
  38. 市田公美. 低尿酸血症の臨床的取り扱い. **Medicina**. 2012; 49: 1355-1357.
  39. 市田公美. 健診で尿酸値の低い人がいます。その対応を教えてください.  
**腎と透析**. 2012; 73: 305-308.
  40. 市田公美. 尿酸トランスポーター異常症 (GLUT9). **小児内科**. 2012; 44: 1693-1696.
  41. 市田公美. 遺伝性キサンチン尿症.  
**日本臨床別冊先天代謝異常症候群 (第 2 版) (上)**. 2012; 592-595.
  42. 市田公美. モリブデンコファクター欠損症. **日本臨床別冊先天代謝異常症候群 (第 2 版) (上)**. 2012; 596-599.
  43. 市田公美. 尿酸トランスポーター研究の進歩. **THE BONE**. 2012; 26: 331-333.
  44. 市田公美. 【高尿酸血症・痛風治療における新たな時代の幕開け】今後の創薬の戦略. **Medicina**. 2012; 2: 30-38.
  45. 市田公美. 【高尿酸血症・痛風治療の実践ガイド】腎障害・慢性腎臓病 (CKD) 合併例. **Progress in Medicine**. 2012; 32: 41-46.
  46. 市田公美. 高尿酸血症に伴う腎障害.  
**日本臨床別冊腎臓症候群 (下)**. 2012; 342-346.
  47. 市田公美. 腎性低尿酸血症 [特発性、続発性]. **日本臨床別冊腎臓症候群 (下)**. 2012; 842-845.
  48. 市田公美. キサンチン尿症. **日本臨床別冊腎臓症候群 (下)**. 2012;

- 365-368.
49. 市田公美. 尿酸代謝異常症の最前線. *BIO Clinica*. 2012; 27: 124-129.
  50. 市田公美. 【臨床医のための高尿酸血症・痛風の ABC】 その他 健康診断で血清尿酸値の低い人がいます。何か不都合はありますか？ *高尿酸血症と痛風*. 20: 78-80, 2012.
  51. 市田公美. 尿酸代謝異常症の最前線 *Bio Clinica*. 27: 124-129, 2012.
  52. 市田公美. 併存疾患別にみた高尿酸血症治療・管理のあり方 腎障害・慢性腎臓病 (CKD) 合併例 *Progress in Medicine*. 32: 41-46, 2012.
- 【学会発表】
53. Matsuo H, Sander SE, Hamann M, Richter A, Hamada T, Nakayama A, Utsumi Y, Kawamura Y, Hiroyuki O, Kaida K, Kobayashi Y, Kamakura K, Shinomiya N: Genetic analysis of paroxysmal dystonic choreoathetosis (PDC/PNKD); Patient and hamster model study, the 16th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Dublin, Ireland, 2012. 6. 17-2012. 6. 21.
  54. Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Shimizu T, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Utsumi Y, Ogata H, Nakamura M, Sakurai Y, Hosoya T, Shinomiya N, Suzuki H, Ichida K. Common dysfunctional variants of ABCG2 decrease extra-renal urate excretion and cause hyperuricemia, 2012 American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting, San Francisco, USA, 2012. 11. 6-2012. 11. 10.
  55. Danjoh I, Shiota R and Nakamura Y. Development of a robust method for establishing B cell lines using Epstein-Barr Virus. 2012 American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting, San Francisco, USA, 2012. 11. 6-2012. 11. 10.
  56. Chiba T, Matsuo H, Nakayama A, Kawamura Y, Sakiyama M, Hosoyamada M, Hamajima N, Shinomiya N: Identification of a hypouricemia patient with SLC2A9 R380W, a RHUC2 mutation, Madrid, Spain, 2013. 6. 9-2013. 6. 13.
  57. Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Shimizu T, Sakiyama M, Hosoya T, Shinomiya N, Ichida K: ABCG2 dysfunction increases the risk of renal overload hyperuricemia, Madrid, Spain, 2013. 6. 9-2013. 6. 13.
  58. Takada T, Ichida K, Matsuo H, Nakayama A, Suzuki H: Dysfunction of a urate exporter ABCG2 as a major risk factor of hyperuricemia and gout, 15th International Symposium on Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, Madrid, Spain, 2013. 6. 9-2013. 6. 13.
  59. Ito M, Yamanashi Y, Toyoda Y, Suzuki H, Takada T, Adachi-Akahane

- S. Disruption of Stard10 Gene alters the PPAR $\alpha$ -mediated bile acid homeostasis, The 2nd HD Physiology International Symposium: Multi-level Systems Biology, Tokyo, Japan 2013. 6. 28-2013. 6. 29
60. Takada T, Ikeda Y, Toyoda Y, Suzuki H. Abcg2 dysfunction increases serum uric acid level by decreased intestinal urate excretion, The 2nd HD Physiology International Symposium: Multi-level Systems Biology, Tokyo, Japan 2013. 6. 28-2013. 6. 29
61. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Shimizu T, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Utsumi Y, Ogata H, Nakamura M, Sakurai Y, Shinomiya N, Suzuki H, Hosoya T: Common dysfunctional variants of ABCG2 decrease extra-renal urate excretion and cause hyperuricemia, Up Close and Personalized, International Congress on Personalized Medicine, Paris, France, 2013. 7. 25-2013. 7. 28.
62. Takada T, Matsuo H, Ichida K, Nakayama A, Suzuki H: ABCG2/BCRP dysfunction as a major risk factor of gout, BioMedical Transporters 2013, St. Moritz, Switzerland, 2013. 8. 11-2013. 8. 15.
63. Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Shimizu T, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Hosoya T, Shinomiya N, Ichida K: Common dysfunctional variants of *ABCG2* cause renal overload hyperuricemia, Bali, Indonesia, 2013. 8. 30-2013. 9. 1.
64. Kurashige Y, Takayanagi M, Muta K, Omata T, Ichida K: First case of isolated sulfite oxidase deficiency in Japan, International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIM) 2013, Barcelona, Spain, 2013. 9. 3-2013. 9. 6.
65. Matsuo H, Takada T, Ichida K, Nakayama A, Shinomiya N: Genetic analyses of renal hypouricemia type 1 and 2 (RHUC1&2), Molecular basis of uric acid transport and gout, Prague, Czech, 2013. 10. 15.
66. Nakayama A, Matsuo H, Ichida K, Takada T, Sakiyama M, Shinomiya N: Urate transporter gene ABCG2, a major causative gene for gout, Molecular basis of uric acid transport and gout, Prague, Czech, 2013. 10. 15.
67. Takada T, Matsuo H, Ichida K, Nakayama A, Shinomiya N, Suzuki H: Molecular functional analysis of urate transporters related to “urate transport disorders”, Molecular basis of uric acid transport and gout, Prague, Czech, 2013. 10. 15.
68. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Hosoyamada M, Shinomiya N, Hosoya T: Mechanism of



- hyperuricemia induced by ABCG2 dysfunction, Molecular basis of uric acid transport and gout, Prague, Czech, 2013.10.15.
69. Nakamura M, Hosoyamada M, Takada T, Matsuo H, Hosoya T, Ichida K: Construction of fluorescent uricase fusion protein for characterization of urate transporters, Molecular basis of uric acid transport and gout, Prague, Czech, 2013.10.15.
70. Matsuo H, Ichida K, Takada T, Nakayama A, Nakashima H, Nakamura T, Kawamura Y, Takada Y, Yamamoto K, Shimizu S, Sakiyama M, Chiba T, Hamajima N, Sakurai Y, Shinomiya N: Common dysfunctional variants of urate exporter gene ABCG2/BCRP are a major cause of early-onset gout, The American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA, 2013.10.22-2013.10.26.
71. Sakiyama M, Matsuo H, Chiba T, Nakayama A, Kawamura Y, Shimizu S, Hamajima N, Shinomiya N: Identification of a new hypouricemia patient with a pathogenic *GLUT9/SLC2A9* mutation (R380W), The American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA, 2013.10.22-2013.10.26.
72. 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史: ABCG2/BCRP による腸管への尿酸排泄の低下は腎外排泄低下型高尿酸血症を引き起こす. 日本薬剤学会第25年会, 神戸, 2012.5.24-2012.5.26.
73. 内海由貴、松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、中村真希子、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美: 高尿酸血症の新たな発症機序の解明: ABCG2 の機能低下による腸管からの尿酸排泄低下. 第7回日本トランスポーター研究会年会, 京都, 2012.6.9-2012.6.10.
74. 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史: ABCG2/BCRP による腸管への尿酸排泄の低下は腎外排泄低下型高尿酸血症の原因となる. 医療薬学フォーラム2012/第20回クリニカルファーマーシンポジウム, 福岡, 2012.7.14.-15.
75. 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史: ABCG2/BCRP による腸管への尿酸排泄の低下は腎外排泄低下型高尿酸血症をもたらす. 第6回トランスポーター研究会九州部会, 福岡, 2012.9.1.
76. 田代雄祐、酒井玲、牧野利明、水上元、杉浦智子、加藤将夫、高田龍平、鈴木洋史、松尾洋孝: 生薬からの尿酸トランスポーターURAT1 阻害物質の探索. 日本生薬学会第59回年会,

- 千葉, 2012. 9. 17. -18.
77. Danjoh I, Nakamura Y. Development of a robust method for establishing B cell lines using Epstein-Barr Virus. 第 71 回日本癌学会, 札幌, 2012. 9. 19-2012. 9. 21.
  78. 松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、内海由貴、中村真希子、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美: ABCG2 遺伝子変異に基づく高尿酸血症の病態解明と新規病型分類. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012. 10. 25-2012. 10. 27.
  79. 中山昌喜、松尾洋孝、高田龍平、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、内海由貴、中村真希子、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美: ABCG2 機能低下による「腎外排泄低下型」高尿酸血症. 日本薬理学会関東部会, 東京, 2012. 10. 20-2012. 10. 27.
  80. 山本敏充、佐久間雅宣、加納祐一、川口裕佳、檀上稲穂、中村幸夫. 南米少数民族における Y ハプログループの比較. 第 66 回日本人類学会, 横浜, 2012. 11. 2-2012. 11. 4.
  81. 高田雄三、松尾洋孝、中山昌喜、中島宏、松村耕治、鈴木康司、浜島信之、櫻井裕、四ノ宮成祥、小林靖: 全自動 SNP タイピング装置を利用した痛風の遺伝子タイピング. 日本 DNA 多型学会第 21 回学術集会, 京都, 2012. 11. 7-2012. 11. 9.
  82. 田代雄祐、酒井玲、牧野利明、杉浦智子、加藤将夫、高田龍平、鈴木洋史、松尾洋孝、水上元 蛇床子の尿酸トランスポーターURAT1 阻害作用とその活性成分. 第 42 回日本東洋医学会東海支部学術総会, 名古屋, 2012. 11. 11.
  83. 高田龍平、市田公美、松尾洋孝、中山昌喜、村上啓造、山梨義英、春日裕志、四ノ宮成祥、鈴木洋史: 尿酸トランスポーターABCG2/BCRP の機能低下型遺伝子変異多型は腎外排泄低下型高尿酸血症をもたらす, 第 33 回日本臨床薬理学会, 沖縄, 2012. 11. 29-2012. 12. 1.
  84. 檀上稲穂、城田涼子、中村幸夫. Epstein-Barr virus を用いた B 細胞株樹立の効率に影響を与える因子の探索. 第 35 回日本分子生物学会, 博多, 2012. 12. 11-2012. 12. 14.
  85. 松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、中村真希子、櫻井裕、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美: 痛風病因遺伝子 ABCG2 の解析による高尿酸血症の新規病態の解明, 第 23 回日本疫学会学術総会, 大阪, 2013. 1. 24-2013. 1. 26.
  86. 中山昌喜、松尾洋孝、高田雄三、中島宏、佐藤弘樹、中村好宏、森厚嘉、内藤真理子、菱田朝陽、若井建志、清水聖子、及川雄二、丹羽和紀、櫻井裕、市田公美、浜島信之、四ノ宮成祥: 痛風病因遺伝子 ABCG2 の変異が血清尿酸値におよぼす影響, 第 23 回日本疫学会学術総会, 大阪, 2013. 1. 24-2013. 1. 26.

87. 小縣開、松尾洋孝、中山昌喜、高田雄三、櫻井裕、四ノ宮成祥：ABCG2の機能低下に基づく高尿酸血症の病態解明と新規病型「腎負荷型」の提唱，第58回防衛衛生学会，東京，2013.1.31.
88. 高田雄三、松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、四ノ宮成祥、市田公美：ABCG2遺伝子タイピングに基づく高尿酸血症における新規病型分類の提唱，第23回生物試料分析科学学会年次学術集会，大阪，2013.2.10-2013.2.11.
89. 松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、高田雄三、井上寛規、岡田千沙、中村真希子、細山田真、四ノ宮成祥、細谷龍男、市田公美：ABCG2の機能低下による腎外の尿酸排泄低下：高尿酸血症の症例解析と動物モデル解析，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
90. 中山昌喜、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、岡田千沙、清水聖子、千葉俊周、崎山真幸、細谷龍男、四ノ宮成祥：腎性低尿酸血症の実態把握調査について（第1報），第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
91. 杉原志伸、加藤雅彦、山本一博、浜田紀宏、荻野和秀、市田公美、桑原正成、久留一郎：URAT1遺伝子異常は酸化ストレスを介して血管内皮機能異常をきたす，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
92. 松田安史、岸慎治、山内高弘、吉田明、上田孝典、山田裕一、三澤美和、江川克哉、中村真希子、市田公美：若年発症の高尿酸血症・痛風により判明したLesch-Nyhan-variantの一家系症例，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
93. 渡部多真紀、富岡直子、道志勝、金子希代子、土屋雅勇、細山田真、中村真希子、市田公美、内田俊也、藤森新：マウス血清尿酸値のインビトロ上昇，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
94. 西川元、西尾信一郎、山口雄一郎、上竹大二郎、疋田美穂、岡部英明、五味秀穂、大野岩男、細谷龍男、市田公美：IgA腎症における病理組織学所見と尿酸動態についての検討，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
95. 田村好古、久保英二、島朋子、矢野弘史、新井繁幸、加藤秀樹、藤森新、内田俊也、細山田真、金子希代子、市田公美：運動後急性腎不全をきっかけに発見された腎性低尿酸血症の1例，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
96. 中村真希子、市田公美、細山田真：ウリカーゼ融合タンパク質を用いた尿酸トランスポーター機能評価法の開発，第46回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013.2.14-2013.2.15.
97. 塚田愛、市田公美、塚田愛、木村徹、

- 福富俊之、櫻井裕之、大槻純男、上原一朗、谷垣伸治、岩下光利：胎盤上皮細胞における claudin の発現と尿酸輸送，第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013. 2. 14-2013. 2. 15.
98. 木村徹、櫻井裕之、塚田愛、市田公美、塚田愛：上皮細胞における尿酸の paracellular 輸送，第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013. 2. 14-2013. 2. 15.
99. 市田公美：腎外排泄低下型高尿酸血症，第 46 回日本痛風・核酸代謝学会総会，東京，2013. 2. 14-2013. 2. 15.
100. 高田雄三、松尾洋孝、中山昌喜、及川雄二、中島宏、中村好宏、井上寛規、清水聖子、阿部淳子、崎山真幸、千葉俊周、牛山千紗貴、岡田千沙、丹羽和紀、櫻井裕、浜島信之、四ノ宮成祥、鈴木晟幹、内野滋雄：血清尿酸値と遺伝子変異の関係について，敬心学園学術集会，東京，2013. 2. 23-2013. 2. 24.
101. 高田雄三、松尾洋孝、内野滋雄、鈴木晟幹：高尿酸血症の新規病型分類と遺伝子多型について，敬心学園学術集会，東京，2013. 2. 23-2013. 2. 24.
102. 松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、内海由貴、中村真希子、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美：尿酸の腸管排泄低下は高尿酸血症の主要な新規機序である，第 99 回日本消化器病学会総会，鹿児島，2013. 3. 21-2013. 3. 23.
103. Takada T, Ichida K, Matsuo H, Nakayama A, Murakami K, Yamanashi Y, Kasuga H, Shinomiya N, Suzuki H: Decreased ABCG2-mediated urate excretion from intestine is a common cause of hyperuricemia, 第 86 回日本薬理学会年会，福岡，2013. 3. 21-2013. 3. 23.
104. 市田公美、松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、春日裕志、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、内海由貴、中村真希子、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史：尿酸の腸管排泄低下は高尿酸血症の主要な新規機序である．日本消化器学会第 99 回総会，鹿児島，2013. 3. 21.-2013. 3. 23.
105. 松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、中島宏、中村好宏、高田雄三、櫻井裕、細谷龍男、四ノ宮成祥、鈴木洋史、市田公美：腸管における尿酸排泄の低下は高尿酸血症の新規機序である，第 90 回日本生理学会大会，東京，2013. 3. 27-2013. 3. 29.
106. 富岡直子、道志勝、出口芳春、細山田真、市田公美、森崎隆幸：尿酸トランスポーターURAT1 の脳内局在解析，日本薬学会第 133 回年会，横浜，2013. 3. 27-2013. 3. 30
107. 木村徹、福富俊之、櫻井裕之、塚田愛、市田公美、塚田愛、大槻純男：上皮細胞における尿酸輸送と claudin の発現，日本薬学会第 133 回年会，横浜，2013. 3. 27-2013. 3. 30
108. 市田公美、松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、四ノ宮成祥、鈴木洋史、

- 細谷龍男：高尿酸血症の主要な新規機序の発見—腎外排泄低下型高尿酸血症，第110回日本内科学会総会・講演会，東京，2013.4.12-2013.4.14.
109. 中山昌喜、松尾洋孝、細谷龍男、四ノ宮成祥、市田公美：痛風・高尿酸血症の新たな発症機序の解明：腸管における尿酸排泄低下，第57回日本リウマチ学会総会・学術集会/第22回国際リウマチシンポジウム，京都，2013.4.18-2013.4.20.
110. Nakayama A, Matsuo H, Hosoya T, Shinomiya N, Ichida K: A common mechanism of gout/hyperuricemia with decreased urate excretion from intestine, 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会/第22回国際リウマチシンポジウム，京都，2013.4.18-2013.4.20.
111. 松尾洋孝：ABCG2/BCRP 遺伝子変異に基づく高尿酸血症の病態解明と新規病型分類 痛風と尿酸のはなし，日本薬物動態学会 第27回ワークショップ，東京，2013.5.9.
112. 中村真希子、松尾洋孝、高田龍平、中山昌喜、清水徹、細山田真、四ノ宮成祥、鈴木洋史、細谷龍男、市田公美：腸管における尿酸排泄低下に起因する新たな高尿酸血症の解明，第56回日本腎臓学会，東京，2013.5.10-2013.5.12.
113. 高田雄三、松尾洋孝：ABCG2 遺伝子タイピングによる尿酸排泄機能と新規病型分類，第62回日本医学検査学会，高松，2013.5.18-2013.5.19.
114. 松尾洋孝：尿酸トランスポーター—ABCG2 と痛風・高尿酸血症，第8回トランスポーター研究会，熊本，2013.6.15-2013.6.16.
115. 加藤八重、松尾洋孝、中山昌喜、高島瑤子、高田雄三、中島宏、中村好宏、高田龍平、清水聖子、崎山真幸、千葉俊周、小縣開、及川雄二、丹羽和紀、櫻井裕、浜島信之、市田公美、四ノ宮成祥：環境要因よりも強い遺伝要因：輸送体 ABCG2 機能が血清尿酸値に与える影響，第8回トランスポーター研究会年会，熊本，2013.6.15-2013.6.16.
116. 清水聖子、松尾洋孝、千葉俊周、小縣開、高田雄三、河村優輔、中山昌喜、崎山真幸、立川誠四朗、佐藤純輝、浜島信之、市田公美、四ノ宮成祥：尿酸トランスポーター GLUT9 遺伝子の R380W 変異を認める低尿酸血症の新規症例の同定，第8回トランスポーター研究会年会，熊本，2013.6.15-2013.6.16.
117. 大澤朱子、大塚恵子、五十嵐則紀、山浦千恵、中村真希子、市田公美：運動後急性腎不全の発症機序における angiotensin II 亢進の寄与の検討，第128回日本薬理学会関東部会，東京，2013.7.14.
118. 足立匠、中村真希子、松尾広大、市田公美、細山田真：蛍光化合物を用いた尿酸トランスポーター Urate Transporter1 (URAT1) 機能解析法の開発，第128回日本薬理学会関東部会，東京，2013.7.14.

119. 山根千佳、光石昌平、細野彩奈、中村真希子、市田公美：新規蛍光タンパク質プローブを用いた尿酸トランスポーター機能解析法の開発，第 128 回日本薬理学会関東部会，東京，2013. 7. 14.
120. 杉本大輔、柴崎透、清水考大、篠原佳彦、中村真希子、市田公美：Lesch - Nyhan 病における神経症状の病因解明に関する検討，第 128 回日本薬理学会関東部会，東京，2013. 7. 14.
121. 松尾洋孝、四ノ宮成祥：痛風・高尿酸血症と尿酸トランスポーター，第 31 回日本ヒト細胞学会，所沢，2013. 8. 10-2013. 8. 11.
122. 清水聖子、松尾洋孝、千葉俊周、高田雄三、河村優輔、崎山真幸、中山昌喜、永森収志、金井好克、浜島信之、市田公美、四ノ宮成祥：*GLUT9/SLC2A9* 遺伝子の R380W 変異を認める低尿酸血症の新規症例の同定，第 31 回日本ヒト細胞学会，所沢，2013. 8. 10-2013. 8. 11.
123. 千葉俊周、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、清水徹、中島宏、中村好宏、高田雄三、河村優輔、崎山真幸、井上寛規、岡田千沙、櫻井裕、細谷龍男、鈴木洋史、四ノ宮成祥：*ABCG2* の分子機序解明による新規高尿酸血症分類の提唱，第 31 回日本ヒト細胞学会，所沢，2013. 8. 10-2013. 8. 11.
124. 崎山真幸、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、中島宏、中村好宏、河村優輔、高田雄三、井上寛規、清水聖子、千葉俊周、浜島信之、鈴木洋史、金井好克、櫻井裕、細谷龍男、清水徹、四ノ宮成祥：若年発症痛風の主たる要因としての *ABCG2* 遺伝子の機能低下型変異，第 31 回日本ヒト細胞学会，所沢，2013. 8. 10-2013. 8. 11.
125. 高田雄三、松尾洋孝、崎山真幸、中山昌喜、清水聖子、千葉俊周、及川雄二、松村耕治、鈴木康司、浜島信之、小林靖、宮平靖、四ノ宮成祥：痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子である *ABCG2* の遺伝子検査法の検討，第 31 回日本ヒト細胞学会，所沢，2013. 8. 10-2013. 8. 11.
126. 高田龍平：生活習慣病とトランスポーターに関する研究，西日本薬剤学研究会，第 38 回九重セミナー，熊本，2013. 8. 23-2013. 8. 24
127. 吉岡亘、長村茉由子、島田晃成、市田公美：フルクトース経口投与がラットの血漿尿酸値に及ぼす影響，第 130 回成医会総会，東京，2013. 10. 10.
128. 斉藤剛、長野誠、松尾洋孝、高田雄三、高田龍平、市田公美、山口敏和：*ABCG2* 遺伝子多型検査による痛風予防，第 4 回国際観光医療学会，京都，2013. 10. 12.
129. 小池晋太郎、豊田優、高田龍平、中村真希子、長谷川弘、市田公美：高尿酸血症治療における尿酸排泄トランスポーター *ABCG2* の役割，第 57 回日本薬学会関東支部大会，東京，2013. 10. 26
130. 松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、中島宏、中村好宏、高田

- 雄三、山本健、清水聖子、崎山真幸、千葉俊周、浜島信之、鈴木洋史、櫻井裕、細谷龍男、清水徹、四ノ宮成祥：*ABCG2* 遺伝子の機能低下型変異は若年発症の痛風の主要な病因である，日本人類遺伝学会第 58 回大会，仙台，2013. 11. 20-2013. 11. 23.
131. 高田雄三、松尾洋孝、中山昌喜、清水聖子、崎山真幸、千葉俊周、中島宏、松村耕治、宮平靖、櫻井裕、清水徹、四ノ宮成祥：痛風・高尿酸血症のリスク評価のための迅速遺伝子検査，日本 DNA 多型学会第 22 回学術集会，仙台，2013. 11. 21-2013. 11. 22.
132. 高田龍平、鈴木洋史：トランスポーターによる尿酸動態制御と疾患，Transporter-mediated regulation of urate and related disorders，第 7 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム，仙台，2013. 11. 23-2013. 11. 24
133. 高田龍平：トランスポーターによる生活習慣病関連物質の体内動態制御，第 9 回平成の会学術講演会，東京，2013. 11. 28
134. 高田龍平：尿酸排出トランスポーター ABCG2 と高尿酸血症・痛風について，生理学研究所研究会 細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会，岡崎，2013. 11. 28-2013. 11. 29
135. 浅見友一、小池晋太郎、豊田優、高田龍平、中村真希子、長谷川弘、市田公美：尿酸排泄トランスポーター ABCG2 による高尿酸血症治療薬輸送の検討，第 36 回日本分子生物学会年会，神戸，2013. 12. 3-2013. 12. 6.
136. 松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、中島宏、中村好宏、河村優輔、高田雄三、及川雄二、内藤真理子、菱田朝陽、若井建志、清水聖子、崎山真幸、千葉俊周、森厚嘉、浜島信之、櫻井裕、清水徹、四ノ宮成祥：尿酸輸送体遺伝子 *ABCG2* の機能低下型変異は若年性痛風の主要な原因である，第 24 回日本疫学会学術総会，仙台，2014. 1. 23-2014. 1. 25.
137. 中山昌喜、松尾洋孝、清水卓也、高田雄三、中島宏、中村好宏、清水聖子、千葉俊周、崎山真幸、高田龍平、井上勝央、川合紗世、菱田朝陽、若井建志、浜島信之、市田公美、櫻井裕、加藤将夫、清水徹、四ノ宮成祥：輸送体遺伝子 *MCT9* のミスセンス変異は腎負荷型の痛風と関連する，第 24 回日本疫学会学術総会，仙台，2014. 1. 23-2014. 1. 25.
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
- 特許（出願中）：発明の名称：尿酸トランスポーター，並びに，尿酸輸送関連疾患素因及び炎症関連疾患素因の評価方法及び評価キット，検査体及び薬．特許出願中，発明者：松尾洋孝，高田龍平，鈴木洋史，池淵祐樹，伊藤晃成，市田公美，中村好宏，四ノ宮成祥．
2. 実用新案登録
- 該当無し

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業)

分担研究報告書

腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子群の網羅的解析系の開発

研究分担者 小崎 健次郎

慶應義塾大学医学部 臨床遺伝学センター 教授

## 研究要旨

本研究は、臨床診断が困難である腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患を遺伝子診断により原因を特定し、合併症を回避することによって質の高い診療を提供することを目的としている。遺伝子診断を行う臨床的意義が高いと思われる腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患を選定し、ターゲット・エンリッチメントのためのシステムを設計した。79個の腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子の蛋白質コーディング全領域を網羅的に解析する系を設計できた。読み深度の検討をおこなったところ、全遺伝子の平均カバレッジは約200、個別遺伝子の平均カバレッジは最も少ない遺伝子においても約75となり変異を検出するには十分なDNA配列データを得ることができた。腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の遺伝子診断ネットワークの基盤の一つが確立した。

## A. 研究目的

本研究は次世代シーケンサーを用いることにより、臨床診断が困難である腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患を遺伝子診断により原因を特定し、合併症を回避することによって質の高い診療を提供することを目的としている。初年度は、遺伝子診断を行う臨床的意義が高いと思われる疾患を選定し、ターゲット・エンリッチメントのためのシステムを設計した。

## B. 研究方法

### ①解析系の設計

比較的頻度の高い腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子および腎・泌尿器系において発現される遺伝子84個の遺伝子を選出し、遺伝子をリストアップした。これらの遺伝子を標準的な登録番号(カリフォルニア大学サンタクルツ校ゲノムデータベース UCSD ID)に変換した。患者ゲノムDNAからこれらの遺伝子に対応する領域を効率的に回収するためのオリゴヌクレオチドアレイを設計した。具体的にはAgilent社のカスタムマイクロアレイを用いることとし、同社のマイクロアレイ設計ソフトウェアである「eArray」を使用した。eArrayで自動設計したカスタムキットにはGC含量が高い領域や反復配列の混入を避けるために、複数のエクソン領域でプローブが未設計であった。そこでプローブの配列とUCSCのエクソン位置情報を比較し、可能な限り未設計領域へ新たにプローブを追加設計し、Agilent社に合成を依頼した。

### ②ヒトゲノムDNAの前処理

市販ヒトDNAに対して、インターカレーション法による精密なDNA濃度測定を行い、Covaris社製超音波破碎機を用い、至適条件下で、約

300bpへ断片化した。これをベックマン社AMPure磁性ビーズを用いて精製しSureSelectターゲットエンリッチメントライブラリーとハイブリダイズさせ、解析対象となる腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患を濃縮した。コントロール(市販)のゲノムDNAはインデックスタグを付加し増幅し、イルミナ社製次世代シーケンサーMiSEQを用いて塩基配列データを創出した。品質チェックを経て参照ゲノムDNA配列上へのマッピングを行った。

### ③ 変異の同定のためのデータの可視化

得られたDNA配列データをヒトの標準的なゲノム配列に整列(アラインメント)し、アラインメントのあとのデータ解析にはグラフィカルユーザーインターフェースを有するプログラムを使用した。

### ④ アミノ酸置換の病的意義の解釈について

香港大学Liらが開発した、KggSeq法(<http://statgenpro.psychiatry.hku.hk/limx/kggseq/>)を導入した。10以上の予測プログラムを組み合わせた判定法である。Li MX, Gui HS, Kwan JS, Bao SY, Sham PC. A comprehensive framework for prioritizing variants in exome sequencing studies of Mendelian diseases. Nucleic Acids Res. 40:e53, 2012

### ④DNA配列データのクオリティの確認

得られたDNA配列データがターゲットとした遺伝子領域を十分にカバーしているかを確認するため、FrommoltらによるソフトウェアNGSrich

(<http://sourceforge.net/projects/ngsrich/>)を用いて系統的に評価した。

Frommolt P, Abdallah AT, Altmuller J,



Motameny S, Thiele H, Becker C, Stemshorn K, Fischer M, Freilinger T, Nurnberg P. Assessing the enrichment performance in targeted resequencing experiments. *Hum Mutat.* 33:635-41, 2012.

## C. 研究結果

### ①解析系の設計

84個の腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子の蛋白質コーディング全領域を網羅的に解析する系を設計可能であった。パネルに搭載した遺伝子群を別表に示す。

②次世代シーケンサーからの粗配列の出力  
ターゲット濃縮（アジレント社SureSelect）とデスクトップ型シーケンサー（イルミナ社MiSeq）を用いた。

### ③粗配列のアラインメント

次世代シーケンサーからDNA配列と塩基毎の精度がfastqフォーマットで出力した。そこで、得られたfastqファイルをヒト参照配列にbwa (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) によりアラインメントした。

### ④アノテーション

SnEffプログラムを用いて、点変異やindelに対してアノテーションを行うことができた。

さらに、アミノ酸置換の病的意義の解釈について10以上の予測プログラムを組み合わせた判定法KggSeqを導入することで、結果判定が容易となった。

⑤NGSrichソフトウェアによる評価において、今回設計したすべての遺伝子の平均カバレッジ\*は約200、また個別の遺伝子の平均カバレッジは最も少ない遺伝子においても約75となり変異を検出するには十分なDNA配列データを得ることができた。それぞれの遺伝子の平均カバレッジについては別表に示す。

\*カバレッジとはターゲットとなる領域の読み深度、つまりその個所が何度読まれたかになる。

## D. 考察

本研究では腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子を網羅的に解析する系を開発している。読み深度の観点から、検討したところ、すべての遺伝子の平均カバレッジ\*は約200、また個別の遺伝子の平均カバレッジは最も少ない遺伝子においても約75が得られた。別に行っている神経線維腫症を対象とした研究によれば、平均200倍程度のカバレッジがあれば、次世代シーケンサーの結果と従来法で、精度の点からはゴールドスタンダードと考えられているSanger法と同等の頻度が得られることが示されている。このデータを参照すると、今回開発した腎・泌尿器系の解析パネルについても、

十分な解析精度が得られていると判断した。

計画通り、次世代シーケンサーを用いて腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の遺伝子解析系を作成することが出来た。臨床症状から、特定の疾患が疑われ、当該疾患の原因とされる遺伝子にナンセンス変異やフレームシフト変異など、明らかに病的意義がある変化については、解釈に困難を要することは無い。しかし、鑑別疾患に含まれる複数の疾患の原因遺伝子にミスセンス変異が複数個同定された場合には、病的意義の解釈が容易ではない。本研究により人泌尿器系の分野でもKggSeqプログラムの統合スコアが参考になることが示された。常染色体優性遺伝の孤発例であれば、両親の検体を調べ、デノボ変異であるかどうかを確認することが望まれる。常染色体優性遺伝病の場合、正常日本人集団に含まれている可能性は低いこと。今年度、共闘大学の松田教授を班長とする松田班の正常日本人エクソームデータを発表したが、これを参照することにより、効率的に稀な正常多型を除外することが可能となった。

また、常染色体劣性遺伝病の場合、同一遺伝子について異なるアミノ酸置換の複合ヘテロ接合体となっていることが確認されれば、当該遺伝子は、その患者の疾患の原因遺伝子である可能性は示唆されるが、特定することは難しいと考えられた。日本人におけるアミノ酸置換のレパトリーを蓄積し、研究者間で共有してゆく必要があると考えられた。また、臨床診断の重要性が改めて認識された。

## E. 結論

本研究の成果によりおよそ80個の腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の原因遺伝子を網羅的に解析する事が可能となった。読み深度の観点からも、十分な解析精度が得られることが明らかとなった。2年間の研究を通じて腎・泌尿器系の稀少遺伝性疾患の遺伝子診断ネットワークの基盤の一つが確立した。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 2013 ;56(1):50-53.
2. Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A.* 2013;161(12):3057-3062.
3. Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N,

Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K .Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. *Am J Med Genet A*. (in press)

4. Takenouchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K. Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation. *Am J Med Genet A*. 2014 ;164(2):392-396.

2. 学会発表  
なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

別表

ABCG2	URIC ACID CONCENTRATION, SERUM, QUANTITATIVE TRAIT LOCUS
ACTN4	NEPHROTIC SYNDROME, TYPE 1; NPHS1
ADAMTS13	Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome
AGXT	HYPEROXALURIA, PRIMARY, TYPE I
APOE	LIPOPROTEIN GLOMERULOPATHY; LPG
APRT	ADENINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE DEFICIENCY; APRTD
AQP2	DIABETES INSIPIDUS, NEPHROGENIC, AUTOSOMAL
ATP6VOA4	RENAL TUBULAR ACIDOSIS, DISTAL, AUTOSOMAL RECESSIVE; RTADR
ATP6V1B1	RENAL TUBULAR ACIDOSIS, DISTAL, WITH PROGRESSIVE NERVE DEAFNESS
ATP7B	WILSON DISEASE
AVPR2	DIABETES INSIPIDUS, NEPHROGENIC, X-LINKED
BSND	BARTTER SYNDROME, TYPE 4A
CA2	OSTEOPETROSIS, AUTOSOMAL RECESSIVE 3
CAPG	
CASR	HYPOPARATHYROIDISM, FAMILIAL ISOLATED; FIH
CD2AP	FOCAL SEGMENTAL GLOMERULOSCLEROSIS 3, SUSCEPTIBILITY TO; FSGS3
CD46	HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME, ATYPICAL, SUSCEPTIBILITY TO, 2; AHUS2
CEP290	MECKEL SYNDROME, TYPE 4; MKS4
CFH	HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME, ATYPICAL, SUSCEPTIBILITY TO, 1; AHUS1
CFI	HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME, ATYPICAL, SUSCEPTIBILITY TO, 3; AHUS3
CLCN5	DENT DISEASE 1
CLCNKB	BARTTER SYNDROME
CLDN16	HYPOMAGNESEMIA 3, RENAL; HOMG3
CLDN19	HYPOMAGNESEMIA 5, RENAL, WITH OCULAR INVOLVEMENT; HOMG5
COQ2	COENZYME Q10 DEFICIENCY, PRIMARY, 1; COQ10D1
CTNS	CYSTINOSIS, NEPHROPATHIC; CTNS
EGF	HYPOMAGNESEMIA 4, RENAL; HOMG4
FGF23	HYPOPHOSPHATEMIC RICKETS, AUTOSOMAL DOMINANT; ADHR
FN1	GLOMERULOPATHY WITH FIBRONECTIN DEPOSITS 2; GFND2
FXD2	Autosomal dominant isolated renal magnesium loss
GALNT3	TUMORAL CALCINOSIS, HYPERPHOSPHATEMIC, FAMILIAL; HFTC
GLIS2	NEPHRONOPHTHISIS 7; NPHP7
GRHR	HYPEROXALURIA, PRIMARY, TYPE II; HP2
HNF1B	RENAL CYSTS AND DIABETES SYNDROME
HPRT1	KELLEY-SEEGMILLER SYNDROME
INVS	NEPHRONOPHTHISIS 2; NPHP2
IQCB1	SENIOR-LOKEN SYNDROME 5; SLSN5
KCNA1	autosomal dominant hypomagnesemia and myokymia
KCNJ1	BARTTER SYNDROME, ANTENATAL, TYPE 2
KCNJ10	SESAME Syndrome
NPHP1	NEPHRONOPHTHISIS 1; NPHP1

NPHP3	NEPHRONOPHTHISIS 3; NPHP3
NPHP4	NEPHRONOPHTHISIS 4; NPHP4
NPHS1	NEPHROTIC SYNDROME, TYPE 1; NPHS1
NPHS2	NEPHROTIC SYNDROME, TYPE 2; NPHS2
NR3C2	PSEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE I, AUTOSOMAL DOMINANT; PHA1A
PAX2	PAPILLORENAL SYNDROME
PHEX	HYPOPHOSPHATEMIC RICKETS, X-LINKED DOMINANT; XLHR
PKD1	POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE 1; PKD1
PKHD1	POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE, AUTOSOMAL RECESSIVE; ARPKD
PLCE1	NEPHROTIC SYNDROME, TYPE 3; NPHS3
ROBO2	VESICOURETERAL REFLUX 2; VUR2
RPGRIP1L	RPGRIP1L
SCNN1A	PSEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE I, AUTOSOMAL RECESSIVE; PHA1B
SCNN1B	PSEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE I, AUTOSOMAL RECESSIVE; PHA1B
SCNN1G	PSEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE I, AUTOSOMAL RECESSIVE; PHA1B
SLC12A1	BARTTER SYNDROME, ANTENATAL, TYPE 1
SLC12A3	GITELMAN SYNDROME
SLC17A5	SIALURIA, FINNISH TYPE
SLC22A12	HYPOURICEMIA, RENAL, 1; RHUC1
SLC2A2	FANCONI-BICKEL SYNDROME; FBS
SLC2A9	HYPOURICEMIA, RENAL, 2; RHUC2
SLC3A1	CYSTINURIA
SLC4A1	RENAL TUBULAR ACIDOSIS, DISTAL, WITH HEMOLYTIC ANEMIA
SLC4A4	RENAL TUBULAR ACIDOSIS, PROXIMAL, WITH OCULAR ABNORMALITIES AND MENTAL RETARDATION
SLC5A2	RENAL GLUCOSURIA; GLYS1
SLC7A9	CYSTINURIA
TRPC6	FOCAL SEGMENTAL GLOMERULOSCLEROSIS 2; FSGS2
TSC1	TUBEROUS SCLEROSIS 1; TSC1
TSC2	TUBEROUS SCLEROSIS 2; TSC2
UMOD	HYPERURICEMIC NEPHROPATHY, FAMILIAL JUVENILE, 1; HNFJ1
VHL	VON HIPPEL-LINDAU SYNDROME; VHL
WNK1	SEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE IIC; PHA2C
WNK4	PSEUDOHYPOALDOSTERONISM, TYPE IIB; PHA2B
WT1	DENYS-DRASH SYNDROME; DDS
XDH	ANTHINURIA, TYPE I