

遺伝性腎疾患の原因遺伝子解析と臨床遺伝専門医の関与について

研究分担者 森貞直哉 神戸大学医学研究科・客員准教授

研究要旨

【研究目的】

本研究班の研究対象である難治性腎疾患には多くの遺伝性腎疾患が含まれる。臨床遺伝専門医として本研究に参画して各種疾患の遺伝子解析を施行し、遺伝カウンセリングについて考察した。

【研究方法】

小児慢性腎疾患(CKD)の原因となる先天性腎尿路異常(CAKUT)、鰓耳腎症候群、ネフロン癆などについて、その原因遺伝子解析を主に次世代シーケンサーを用いて包括的に施行した。

【結果】

平成 29 年度は CAKUT 53 家系の遺伝子解析を施行し、21 家系で遺伝子変異を同定した。その中には 4 例の鰓耳腎症候群が含まれた。その他 *HNF1B* 変異 7 例のほか、*PKD1* や *OFD1* 変異例があった。

【考察】

今回の解析では当初 CAKUT と考えられていた症例の中に、実際は常染色体優性多発性嚢胞腎やネフロン癆関連シリオパチーと診断された例があった。

【結論】

包括的な遺伝子解析は原因遺伝子の同定および遺伝カウンセリングに有用である。

A. 研究目的

本研究（小児腎領域の希少・難治性疾患群の診療・研究体制の確立）の対象疾患である難治性腎疾患には多くの遺伝性腎疾患が含まれる。研究分担者（森貞）は臨床遺伝専門医として本研究に参画し、小児の慢性腎疾患(chronic kidney disease, CKD)の原因となる各種腎疾患の遺伝子解析を施行した。その上で本邦小児 CKD の遺伝学的背景を明らかにし、適切な遺伝カウンセリング体制を構築することを目的とした。

B. 研究方法

わが国の各医療機関から提供された患者検体（末梢血由来 DNA）を用いて解析を施行した。小児 CKD の最大の原因疾患である先天性腎尿路異常（congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT）や鰓耳腎症候群をはじめ、これらと混同しやすい多発性嚢胞腎、ネフロン癆の原因遺伝子解析を、われわれが独自でデザインした次世代シーケンサー（next generation sequencing, NGS）腎疾患解析パネル（159 種、右表）を用いて包括的に施行した。

一部の症例についてはアレイ CGH や、さらに多数の遺伝子（4,813 種）を包含した NGS 解析パネルを用いて解析を行なった。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析は神戸大学倫理委員会において承認された研究計画書、説明書を用いて説明を行ない、書面による同意書を取得した上で施行した。

ACE	BBS1	CEP41	DYNC2H1	GANAB	IFT80	LMNA	PDE6D	SIX1	TMEM107	WDPCP
AGT	BBS2	CEP83	DZIP1L	GATA3	IFT81	LMX1B	PIBF1	SIX2	TMEM138	WDR19
AGTR1	BBS4	CEP104	EP300	GDNF	IFT122	LZTFL1	PKD1	SIX5	TMEM216	WDR34
AGTR2	BBS5	CEP120	EVC	GLIS2	IFT140	MKKS	PKD2	SLIT2	TMEM231	WDR35
AHI1	BBS7	CEP164	EVC2	GLIS3	IFT172	MKS1	PKHD1	SOK17	TMEM237	WDR60
ALG9	BBS10	CEP290	EXOC4	GRIPI1	INPP5E	MUC1	PTHB1	SPRY1	TNXB	WNT4
ALMS1	BBS12	CHD1L	EXOC8	GRLF1	INVS	NEK1	REN	SRGAP1	TRAF3IP1	WT1
ANKS3	C2CD3	CHD4	EYA1	HNF1B	IQCB1	NEK8	RET	TBC1D1	TRIM32	XPNPEP3
ANKS6	C5orf42	CHRM3	FAN1	HOXA13	ITGA8	NPHP1	ROBO2	TBC1D32	TSC1	ZNF423
ARL6	C21orf2	CITED1	FGF9	HPRT1	JAG1	NPHP3	RPLIP1L	TBX1	TSC2	
ARL13B	CC2D2A	CSPP1	FGF20	HYLS1	KAL1	NPHP4	SALL1	TBX18	TTBK2	
ATXN10	CCDC28B	CTDNBP1	FGFR2	ICK	KIAA0586	OFD1	SARS2	TCTN1	TTCH	
B9D1	CDC5L	DCDC2	FRAS1	IFN2	KIF7	PAX2	SCLT1	TCTN2	TTC21B	
B9D2	CENPF	DDX59	FREM1	IFT27	KIF14	PAX8	SDCCAG8	TCTN3	UMOD	
BBIP1	CEP19	DSTYK	FREM2	IFT43	LIFR	PBX1	SEC61A1	TMEM67	VANGL2	

C. 研究結果

2017 年度は全体で 114 家系の検体を受諾し解析を施行した。そのうち当初 CAKUT と考えられた症例は 56 家系で、うち 21 家系の遺伝子変異を同定した（変異同定率 37.5%）。その中に鰓耳腎症候群 4 例を含む（全例 *EYA1* 遺伝子の異常による）。その他 *HNF1B* 変異例が 7 例（うち 3 例は *HNF1B* を含む 17q11.2 微細欠失）、*PAX2* 変異が 3 例、*SALL1* が 1 例などであった。その他、*PKD1*、*PKD2*、*PKHD1*、*TSC1*、*OFD1* による症例が認められた。1 例はアレイ CGH で同定された 16p11.2 微細欠失によるものであった。またネフロン癆は 18 例中 9 例で変異が同定された。*NPHP1* のホモ接合性全欠失が 3 例、*BBS2* 変異によるものが 2 例の他、*MKKS*、*WDR35* が 1 例ずつ、さらに *AHI1* と *CEP290* の digenic 変異による症例が 1 例認められた。他の 1 例は *PKHD1* 変異によるもので、遺伝子解析後に常染色体劣性多発性嚢胞腎（Autosomal recessive

porcystic kidney disease, ARPKD) に診断が変更された。

#### D. 考察

今回の解析では、当初 CAKUT と考えられていた症例の中に実際は常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease,

ADPKD、原因遺伝子 *PKD1*, *PKD2*) や ARPKD (*PKHD1*), またネフロン癆 (*OFD1*) と診断された例があった。小児 CKD の原因疾患として重要な CAKUT、ネフロン癆はともに検尿異常は軽微で学校検尿では発見されにくく、また家族集積性もあるが、CAKUT は常染色体優性遺伝、ネフロン癆は常染色体劣性遺伝疾患と異なる点がある。腎予後もネフロン癆の方が重症になりやすいことから、原因遺伝子を明らかにすることは遺伝カウンセリングを施行する上できわめて重要である。

#### E. 結論

包括的な遺伝子解析が原因遺伝子の同定および遺伝カウンセリングに有用である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究成果の公表

##### 1. 論文発表

1. Unzaki A, Morisada N, Nozu K, Ye MJ, Ito S, Matsunaga T, Ishikura K, Ina S, Nagatani K, Okamoto T, Inaba Y, Ito N, Igarashi T, Kanda S, Ito K, Omune K, Iwaki T, Ueno K, Yahata M, Ohtsuka Y, Nishi E, Takahashi N, Ishikawa T, Goto S, Okamoto N, Iijima K. Clinically diverse phenotypes and genotypes of patients with branchio-oto-renal syndrome. *J Hum Genet*. 査読あり、63, 2018, 647-656. doi: 10.1038/s10038-018-0429-8. Epub 2018 Mar 2. PubMed PMID: 29500469.
2. Minamikawa S, Nozu K, Nozu Y, Yamamura T, Taniguchi-Ikeda M, Nakanishi K, Fujimura J, Horinouchi T, Shima Y, Nakanishi K, Hattori M, Kanda K, Tanaka R, Morisada N, Nagano C, Sakakibara N, Nagase H, Morioka I, Kaito H, Iijima K. Development of ultra-deep targeted RNA sequencing for analyzing X-chromosome inactivation in female Dent disease. *J Hum Genet*. 査読あり、63, 2018, 589-595. doi: 10.1038/s10038-018-0415-1.
3. Nagano C, Nozu K, Morisada N, Yazawa M, Ichikawa D, Numasawa K, Kourakata H, Matsumura C, Tazoe S, Tanaka R, Yamamura T, Minamikawa S, Horinouchi T, Nakanishi K, Fujimura J, Sakakibara N, Nozu Y, Ye MJ, Kaito H, Iijima K. Detection of copy number variations by pair analysis using next-generation sequencing data in inherited kidney diseases. *Clin Exp Nephrol*. 査読あり、印刷中、2018. doi: 10.1007/s10157-018-1534-x.
4. Yamamura T, Nozu K, Fu XJ, Nozu Y, Ye MJ, Shono A, Yamanouchi S, Minamikawa S, Morisada N, Nakanishi K, Shima Y, Yoshikawa N, Ninchoji T, Morioka I, Kaito H, Iijima K. Natural History and Genotype-Phenotype Correlation in Female X-Linked Alport Syndrome. *Kidney Int Rep*. 査読あり、2, 2017:850-855. doi: 10.1016/j.ekir.2017.04.011.
5. Tsuji Y, Nozu K, Sofue T, Hara S, Nakanishi K, Yamamura T, Minamikawa S, Nozu Y, Kaito H, Fujimura J, Horinouchi T, Morisada N, Morioka I, Taniguchi-Ikeda M, Matsuo M, Iijima K. Detection of a Splice Site Variant in a Patient with Glomerulopathy and Fibronectin Deposits. *Nephron*. 査読あり、138, 2018:166-171. doi: 10.1159/000484209.
6. Nakanishi K, Nozu K, Hiramoto R, Minamikawa S, Yamamura T, Fujimura J, Horinouchi T, Ninchoji T, Kaito H, Morisada N, Ishimori S, Nakanishi K, Morioka I, Awano H, Matsuo M, Iijima K. A comparison of splicing assays to detect an intronic variant of the OCRL gene in Lowe syndrome. *Eur J Med Genet*. 査読あり、60, 2017:631-634. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.08.001.
7. Yoshikawa T, Kamei K, Nagata H, Saida K, Sato M, Ogura M, Ito S, Miyazaki O, Urushihara M, Kondo S, Sugawara N, Ishizuka K, Hamasaki Y, Shishido S, Morisada N, Iijima K, Nagata M, Yoshioka T, Ogata K, Ishikura K. Diversity of renal phenotypes in patients with WDR19 mutations: Two case reports. *Nephrology (Carlton)*. 2017 Jul;22(7):566-571. doi: 10.1111/nep.12996.
8. Nozu K, Minamikawa S, Yamada S, Oka M, Yanagita M, Morisada N, Fujinaga S, Nagano C, Gotoh Y, Takahashi E, Morishita T, Yamamura T, Ninchoji T, Kaito H, Morioka I, Nakanishi K, Vorechovsky I, Iijima K. Characterization of contiguous gene deletions in COL4A6 and COL4A5 in Alport syndrome-diffuse leiomyomatosis. *J Hum Genet*. 査読あり、62, 2017:733-735. doi: 10.1038/jhg.2017.28.

##### 2. 学会発表

1. Naoya Morisada, Akemi Shono, Kandai Nozu, Ryojiro Tanaka, Kazumoto Iijima. Comprehensive analysis using target sequencing panel for congenital anomalies of the kidney and urinary tract and nephronophthisis in Japan. American society of Human Genetics 2017 2017.10.20, Orland
2. Yuko Fujii, Hiroshi Tamai, Akira Ashida, Hideki Matsumura, Akihiko Shirasu, Satoshi Yamazaki, Hyogo Nakakura, Naoya Morisada, Kazumoto Iijima, Motoshi Hattori. Clinical Diagnosis of Senior Loken Syndrome in a

Patient with SDCCAG8 Mutation Genetically Diagnosed as Having Bardet-Biedle Syndrome. Kidney Week (American Society of Nephrology) 2017 2017.10.31, New Orleans

3. 森貞直哉、野津寛大、飯島一誠、NPH・MCKDの遺伝子診断と病型、第60回日本腎臓学会学術総会、2017.5.26、仙台国際センター（宮城県）
4. 森貞直哉、庄野朱美、野津寛大、忍頂寺毅史、田中亮二郎、飯島一誠、NGSターゲット遺伝子シークエンスパネルによるCAKUTおよびNPHの包括的原因遺伝子解析、第60回日本腎臓学会学術総会、2017.5.26、仙台国際センター（宮城県）
5. 森貞直哉、庄野朱美、野津寛大、忍頂寺毅史、叶明娟、井藤奈央子、神田祥一郎、亀井宏一、石倉健司、伊藤秀一、山本勝輔、塚口裕康、里村憲一、田中亮二郎、飯島一誠、NGSターゲット遺伝子シークエンスパネルによるCAKUTおよびNPHの包括的原因遺伝子解析、第52回日本小児腎臓病学会学術集会、2017.6.3、京王プラザホテル（東京都）
6. 森貞直哉、野津寛大、飯島一誠、未診断疾患における網羅的ゲノム解析時代の遺伝カウンセリング 小児CKD(慢性腎臓病)の原因遺伝子解析と遺伝カウンセリング、第41回日本遺伝カウンセリング学会学術集会、2017.6.25、近畿大学（大阪府）
7. 森貞直哉、叶明娟、庄野朱美、野津寛大、飯島一誠、原因遺伝子が同定された稀少ネフロン癆関連シリオパチー症例の検討、第62回日本人類遺伝学会、2017.11.15、神戸国際会議場（兵庫県）
8. 森貞直哉、清水順也、庄野朱美、野津寛大、飯島一誠、OFD1ヘミ接合性変異を認めたネフロン癆関連シリオパチーの1男児例、第271回日本小児科学会兵庫県地方会、2017.5.20、兵庫県医師会館（兵庫県）
9. 森貞直哉、Potter Sequenceの原因となり得る遺伝性腎泌尿器疾患、Dysmorphologyのタベ、2017.10.13、大宮ソニックシティ（埼玉県）

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特記事項なし