

臨床遺伝専門医として各グループの補助に関する研究

研究分担者 森貞 直哉 神戸大学・大学院医学研究科内科系講座小児科学分野・客員准教授

研究要旨

【研究目的】

小児難治性腎疾患での遺伝学的検査の重要性、有用性について検討した。

【研究方法】

腎疾患患者検体について、次世代シーケンサー（NGS）腎疾患解析パネル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。本研究は神戸大学医学倫理委員会の承認を受けた。

【結果】

2019年4月から2020年3月までに90家系の患者検体を採取し、先天性腎尿路異常、ネフロン癆、多発性嚢胞腎、間質性腎疾患など41例について原因遺伝子を同定した（同定率45.6%）。

【考察】

90家系のうち74家系にNGS解析を施行し、うち33家系（44.6%）で原因遺伝子を同定できた。NGSを用いた包括的解析は有用であるが、まだ同定できない症例があり、今後の課題である。

【結論】

NGSを用いた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包含されている。その診断には臨床検査や腎組織学的検査が有用ではあるが、近年の分子遺伝学的検査の進歩にともない、遺伝子解析の併用が正確な診断にさらに有用であると考えられる。研究分担者（森貞）は令和元年度も引き続き本研究班での遺伝子解析を担当し、小児難治性腎疾患での遺伝学的検査の重要性、有用性について検討した。

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、一部は臍帯などその他の組織由来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）、常染色体優性および劣性多発性嚢胞腎、ネフロン癆および関連シリオパチー、また常染色体優性間質性腎疾患（autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease, ADTKD）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。

C. 研究結果

2019年4月から2020年3月までに90家系の患者検体

を採取し、41例について原因遺伝子を同定した（同定率45.6%）。内訳は、CAKUT関連遺伝子（*PAX2*, *HN FIB*, *SALL1*各3家系, *EYAI* 2家系, *GATA3* 1家系）、多発性嚢胞腎関連遺伝子（*PKD1* 5家系, *PKHD1* 4家系, *PKD2*, *BICCI*各1家系）、ネフロン癆関連遺伝子（*NPHP1* 4家系, *NPHP3* 3家系, *ALMS1*, *MAPBP1*, *TME M67*, *DYNC2H1*, *WDR35*, *IFT122*, *TTC21B*各1家系）、その他（*MUC1*, *UMOD*, *INF2*, *COL4A4*各1家系）であった。*EYAI*変異例では当初腎外症状なしとされていたが、遺伝子解析施行後に改めて診察を行なったところ、耳瘻孔を認めたことから、指定難病である鰓耳腎（branchio-oro-renal症候群）であることが判明した例があった。

D. 考察

今回の解析では、全体として原因遺伝子同定率は昨年報告の40.3%から45.6%と増加した。施行した90家系のうち74家系に腎疾患解析パネルを用いたNGS解析を施行し、うち33家系（44.6%）で原因遺伝子を同定できた。NGSを用いた包括的解析は有用であるが、まだ半数程度の症例は原因遺伝子が同定できない。8家系は臨床症状から原因遺伝子を推定し遺伝学的診断を行なうことができた。臨床症状と遺伝学的検査結果をあわせて検討することが確実な診断につながる。

分担研究者らは遺伝性腎泌尿器疾患に対する遺伝リテラシーの向上を目的に、「腎泌尿器臨床遺伝コンソーシアム」（代表：千葉大学泌尿器科学・市川智彦教授）を組織し活動を行なっている。令和元年度は日本泌尿器科学会、日本小児腎臓病学会、日本腎臓学会東部大会で活動を行なった。

E. 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。今後は具体的な腎泌尿器疾患に対する遺伝カウンセリング体制を

構築するための啓発活動が重要となる。

本研究期間中に、CAKUTの主な原因遺伝子である *EYA1*, *HNF1B* および *PAX2* に関する、わが国の遺伝型と表現型について論文化することができた。現在、ネフロン癆、常染色体劣性多発性嚢胞腎についても公表準備を進めており、わが国での難治性腎疾患と遺伝子異常の関わりについて、その実態を明らかにする所存である。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究成果の公表

1. 論文発表

1. Rossanti R, Morisada N, Nozu K, Kamei K, Horinouchi T, Yamamura T, Minamikawa S, Fujimura J, Nagano C, Sakakibara N, Ninchoji T, Kaito H, Ito S, Tanaka R, Iijima K. Clinical and genetic variability of PAX2-related disorder in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2020 Mar 16. [Epub ahead of print]
2. Minamikawa S, Miwa S, Inagaki T, Nishiyama K, Kaito H, Ninchoji T, Yamamura T, Nagano C, Sakakibara N, Ishimori S, Hara S, Yoshikawa N, Hirano D, Harada R, Hamada R, Matsunoshita N, Nagata M, Shima Y, Nakanishi K, Nagase H, Takeda H, Morisada N, Iijima K, Nozu K. Molecular mechanisms determining severity in patients with Pierson syndrome. *J Hum Genet.* 2020 Apr;65(4):355-362.
3. Sameshima T, Morisada N, Egawa T, Kugo M, Iijima K. MPPH syndrome with aortic coarctation and macrosomia due to CCND2 mutations. *Pediatr Int.* 2020 Jan;62(1):115-117.
4. Yamaguchi H, Morisada N, Maruyama A, Kosaki K, Nomura K. Improvement of opsoclonus after congenital cataract surgery in an infant. *Pediatr Int.* 2020 Jan;62(1):108-109.
5. Aizawa T, Morisada N, Nozu K, Tandai S, Tanaka H. Expanding the phenotype of Bardet-Biedl syndrome: Newly diagnosed sibling cases. *Pediatr Int.* 2020 Jan;62(1):101-103.
6. Nozu K, Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Sakakibara N, Ishikura K, Hamada R, Morisada N, Iijima K. Inherited salt-losing tubulopathy: an old condition but a new category of tubulopathy. *Pediatr Int.* 2019 Dec 12.
7. Suzuki H, Yoshida T, Morisada N, Uehara T, Kosaki K, Sato K, Matsubara K, Takano-Shimizu T, Takenouchi T. De novo NSF mutations cause early infantile epileptic encephalopathy. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019; 6(11):2334-2339.
8. Yamada M, Uehara T, Suzuki H, Takenouchi T, Fukushima H, Morisada N, Tominaga K, Onoda M, Kosaki K. IFT172 as the 19th gene causative of oral-facial-digital syndrome. *Am J Med Genet A.* 2019;179(12):2510-2513.
9. Masunaga Y, Inoue T, Yamoto K, Fujisawa Y, Sato Y, Kawashima-Sonoyama Y, Morisada N, Iijima K, Ohata Y, Namba N, Suzumura H, Kuribayashi R, Yamaguchi Y, Yoshihashi H, Fukami M, Saito H, Kagami M, Ogata T. IGF2 Mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(1).
10. Saida K, Kamei K, Morisada N, Ogura M, Ogata K, Matsuoka K, Nozu K, Iijima K, Ito S. A novel truncating PAX2 mutation in a boy with renal coloboma syndrome with focal segmental glomerulosclerosis causing rapid progression to end-stage kidney disease. *CEN Case Rep.* 2020;9(1):19-23.
11. Watanabe Y, Fujinaga S, Sakuraya K, Morisada N, Nozu K, Iijima K. Rapidly Progressive Nephronophthisis in a 2-Year-Old Boy with a Homozygous SDCCAG8 Mutation. *Tohoku J Exp Med.* 2019;249(1):29-32.
12. Horinouchi T, Nozu K, Yamamura T, Minamikawa S, Nagano C, Sakakibara N, Nakanishi K, Shima Y, Morisada N, Ishiko S, Aoto Y, Nagase H, Takeda H, Rossanti R, Kaito H, Matsuo M, Iijima K. Determination of the pathogenicity of known COL4A5 intronic variants by in vitro splicing assay. *Sci Rep.* 2019;9(1):12696.
13. Yamamura T, Nozu K, Minamikawa S, Horinouchi T, Sakakibara N, Nagano C, Aoto Y, Ishiko S, Nakanishi K, Shima Y, Nagase H, Rossanti R, Ye MJ, Nozu Y, Ishimori S, Morisada N, Kaito H, Iijima K. Comparison between conventional and comprehensive sequencing approaches for genetic diagnosis of Alport syndrome. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(9):e883.
14. Hanafusa H, Morisada N, Nomura T, Kobayashi D, Akasaka Y, Ye MJ, Nozu K, Nishimura N, Iijima K, Nakao H. A girl with CLOVES syndrome with a recurrent PIK3CA somatic mutation and pancreatic steatosis. *Hum Genome Var.* 2019;6:31.
15. Iijima T, Hayami N, Takaichi K, Morisada N, Nozu K, Iijima K, Sawa N, Hoshino J, Ubara Y. An Orofaciodigital Syndrome 1 Patient and Her Mother Carry the Same OFD1 Mutation but Have Different X Chromosome Inactivation Patterns. *Intern Med.* 2019;58(20):2989-2992.
16. Nagano C, Morisada N, Nozu K, Kamei K, Tanaka R, Kanda S, Shiona S, Araki Y, Ohara S, Matsumura C, Kasahara K, Mori Y, Seo A, Miura K, Washiyama M, Sugimoto K, Harada R, Tazoe S, Kourakata H, Enseki M, Aotani D, Yamada T, Sakakibara N, Yamamura T, Minamikawa S, Ishikura K, Ito S, Hattori M, Iijima K. Clinical characteristics of HNF1B-related disorders in a Japanese population. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23(9):1119-1129.

17. Horinouchi T, Morisada N, Uemura H, Kobayashi D, Nozu K, Okamoto N, Iijima K. Male CDPX2 patient with EBP mosaicism and asymmetrically lateralized skin lesions with strict midline demarcation. *Am J Med Genet A*. 2019;179(7):1315-1318.
 18. Rossanti R, Shono A, Miura K, Hattori M, Yamamura T, Nakanishi K, Minamikawa S, Fujimura J, Horinouchi T, Nagano C, Sakakibara N, Kaito H, Nagase H, Morisada N, Asanuma K, Matsuo M, Nozu K, Iijima K. Molecular assay for an intronic variant in NUP93 that causes steroid resistant nephrotic syndrome. *J Hum Genet*. 2019;64(7):673-679.
 19. Ishiwa S, Sato M, Morisada N, Nishi K, Kanamori T, Okutsu M, Ogura M, Sako M, Kosuga M, Kamei K, Ito S, Nozu K, Iijima K, Ishikura K. Association between the clinical presentation of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) and gene mutations: an analysis of 66 patients at a single institution. *Pediatr Nephrol*. 2019;34(8):1457-1464.
 20. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. ネフロン癆の最近の知見. *日本腎臓学会誌*2019; 61(7), 1102-1107.
 21. 森貞直哉. こども病院における遺伝子診療部門の役割. *兵庫県小児科医会報* 2019; 72, 2-6
 22. 榊原菜々, 野津寛大, 森貞直哉, 飯島一誠. 病理診断で遺伝子検査を依頼されたら? 腎と透析 2019; 87(4), 660-663
 23. 櫻谷浩志, 藤永周一郎, 梅田千里, 富井祐治, 渡邊佳孝, 野津寛大, 森貞直哉, 飯島一誠. 新規PAX2遺伝子変異が同定されたnon-syndromic CAKUTの女児例. *日本小児腎不全学会雑誌* 2019; 39, 108-110.
 24. 倉信裕樹, 鈴木将浩, 河場康郎, 岡田隆好, 阿久津宣行, 小山淳二, 森貞直哉, 飯島一誠. 指節骨癒合症の1家系にみられたPfeiffer症候群の1例. *鳥取医学雑誌* 2019; 47(1-2), 23-26
 25. 久富隆太郎, 三浦健一郎, 神田祥一郎, 谷口洋平, 長澤武, 伴英樹, 白井陽子, 金子直人, 藪内智朗, 高木陽子, 石塚喜世伸, 秋岡祐子, 原太一, 森貞直哉, 飯島一誠, 服部元史. 腎移植前精査中にHNF1B異常を同定した先天性腎尿路異常の1例. *日本臨床腎移植学会*. 2019; 7(1), 96-98.
 26. 森貞直哉, 飯島一誠. 鰓耳腎症候群. *日本医師会雑誌* 2019; 148 (特1) S298.
 27. 森貞直哉. ここが知りたい! グレーゾーンの赤ちゃん(第3回) 気掛かりな症状がある赤ちゃん 遺伝科の立場から. *With NEO* 2019; 32(3), 468-469.
 28. 森貞直哉, Rossanti Rini, 貝藤裕史, 野津寛大, 田中亮二郎, 飯島一誠. PAX2関連腎疾患の遺伝子型と臨床像. *発達腎研究会誌*. 2019; 27(1), 31-34
 29. 和田卓三, 島友子, 浜武継, 向山弘展, 鈴木啓之, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠, 中西浩一. 男性腎不全の家族歴からネフロン癆関連シリオパチーの診断に至った3歳男児例. *発達腎研究会誌*. 2019;27(1), 9-11.
2. 学会発表
 1. Naoya Morisada, Kandai Nozu, Kazumoto Iijima. The causative genes of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) in Japan. The 17th Japan-Korea-China Pediatric Nephrology Seminar 2019. 4 海外
 2. 森貞直哉, 榊原菜々, 長野智那, 野津寛大, 飯島一誠. ネフロン癆関連シリオパチー (NPHP-RC) の原因遺伝子と臨床像. 第122回日本小児科学会. 2019. 4 国内
 3. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. ネフロン癆関連シリオパチーの原因遺伝子と臨床症状. 第62回日本腎臓学会, 2019. 6 国内
 4. 岡田絵里, 森貞直哉, 李紀廉, 森維久郎, 福田亜純, 上原正樹, 川口武彦, 首村守俊, 北村博司, 野津寛大, 飯島一誠, 今澤俊之. ADTKD-MUC1/UMODの抗体診断法確立へ向けた検討. 第62回日本腎臓学会, 2019. 6 国内
 5. 藤丸季可, 久富隆太郎, 松田百代, 野津寛大, 飯島一誠, 森貞直哉. ネフロン癆5例の臨床病理学的検討. 第62回日本腎臓学会, 2019. 6 国内
 6. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. 遺伝性腎疾患に対するプレジジョンメディスン 小児腎疾患における遺伝子診断の現況. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 7. 堀之内智子, 野津寛大, 石河慎也, 青砥悠哉, 榊原菜々, 長野智那, 南川将吾, 山村智彦, 貝藤裕史, 森貞直哉, 飯島一誠. 常染色体劣性Alport症候群39家系46人の臨床遺伝学的検討. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 8. 森口駿, 神田祥一郎, 森貞直哉, 梶保祐子, 張田豊, 飯島一誠, 岡明. 学校検尿を契機に診断されたARPKDの16歳女児例. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 9. 松野下夏樹, 元生和宏, 徳田央士, 山本寛子, 竹中佳奈栄, 川崎圭一郎, 森貞直哉, 榊原菜々, 南川将吾, 野津寛大, 飯島一誠. 巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) を合併した6番染色体短腕中間部欠失症候群の一例. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 10. 齊藤綾子, 泉維昌, 鈴木竜太郎, 塚越隆司, 佐藤琢郎, 林立申, 塩野淳子, 堀米仁志, 稲垣隆介, 濱田陸, 幡谷浩史, 緒方謙太郎, 森貞直哉, 飯島一誠, 須磨崎 亮. 心不全・腎不全で診断された頭蓋外胚葉異形成 (CED) の姉妹例. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 11. 久富隆太郎, 松田百代, 中西浩一, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠, 藤丸季可. 次子の着床前診断を検討している遺伝性腎疾患の2家系. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 12. 吉岡祐也, 神田祥一郎, 堀田茂, 大野真由子, 森貞直哉, 野木歩美, 白井陽子, 三浦健一郎, 横山美貴, 飯島一誠, 服部元史. IFT140遺伝子異常によるネフロン癆患者の1例 走査電子顕微鏡を用いた繊毛形状観察. 第54回日本小児腎臓病学会, 2019. 6 国内
 13. 増永陽平, 矢本香織, 才津浩智, 井上毅信, 中川憲夫, 中島久和, 長谷川龍志, 大幡泰久, 難

- 波範行, 鞆嶋有紀, 佐藤恭弘, 磯島豪, 小川英伸, 山口有, 吉橋博史, 森貞直哉, 飯島一誠, 栗林良多, 鈴木宏, 藤澤泰子, 鏡雅代, 深見真紀, 緒方勤. IGF2遺伝子変異に起因するシルバーラッセル症候群の臨床的特徴 6例での検討. 第92回日本内分泌学会. 2019.5 国内
14. 森貞直哉, 平久進也, 船越徹, 長谷川大一郎, 小阪嘉之, 飯島一誠. 兵庫県立こども病院におけるゲノム医療体制の構築～先天異常, 出生前診断, がんゲノムと遺伝カウンセリング～. 第17回兵庫県立病院学会. 2019.9 国内
15. 森貞直哉, 野津寛大, 中西浩一, 飯島一誠. 遺伝学的に診断できた常染色体劣性多発性嚢胞腎の遺伝型と臨床像. 第28回発達腎研究会, 2019.9 国内
16. 森貞直哉, 福澤宏明, 小山淳二, 野津寛大, 飯島一誠. 全前脳胞症microformを合併したCurrarino症候群の1女兒例. 第278回日本小児科学会兵庫県地方会 2019.9 国内
17. 中岸保夫, 西村明紘, 浜田佳奈, 岡本圭祐, 水田麻雄, 本田吉孝, 宮本尚幸, 井澤和司, 貝藤裕史, 黒澤寛史, 清水正樹, 森貞直哉, 八角高裕, 西小森隆太. I型インターフェロン症を疑う9歳の女兒症例. 第29回日本小児リウマチ学会, 2019.10 国内
18. 森貞直哉. 小児科領域の遺伝性腎疾患と遺伝カウンセリング. 第49回日本腎臓学会東部学術大会 2019.10
19. 渡邊佳孝, 藤永周一郎, 遠藤翔太, 梅田千里, 西野智彦, 仲川真由, 村上仁彦, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. X染色体不活化と腎病変に顕著な差を認めたOrfaciodigital syndrome 1の母子. 第49回日本腎臓学会東部学術大会 2019.10
20. 森貞直哉, 野津寛大, 中西浩一, 飯島一誠. 遺伝学的に診断できた常染色体劣性多発性嚢胞腎の遺伝型と臨床像. 第27回嚢胞性腎疾患研究会 2019.10 国内
21. 櫻谷浩志, 藤永周一郎, 梅田千里, 富井祐治, 渡邊佳孝, 野津寛大, 森貞直哉, 飯島一誠. 新規PAX2遺伝子変異が同定されたnon-syndromic CAKUTの女兒例. 第41回日本小児腎不全学会 2019.11 国内
22. 山本青葉, 久枝義也, 鶴川寿子, 山田浩之, 竹田知洋, 天方秀輔, 中尾 厚, 中原さおり, 森貞直哉, 飯島一誠, 野津寛大. 生直後に先天性胆道拡張症が疑われたZellweger症候群の一例. 第46回日本小児栄養消化器肝臓学会 2019.11 国内
23. 山口宏, 永瀬裕朗, 西山将広, 徳元翔一, 豊嶋大作, 丸山あずさ, 森貞直哉, 飯島一誠. 新規STXBP1変異を認め大田原症候群と診断したSTXBP1脳症. 第53回日本てんかん学会 2019.10 国内
24. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. 遺伝性腎疾患の包括的遺伝子解析. 第64回日本人類遺伝学会 2019.11 国内
25. 田中悠, 森貞直哉, 鈴木智大, 大橋佳隆, 野津寛大, 飯島一誠. UMOD変異による常染色体優性間質性腎疾患 (ADTKD) を合併したKBG症候群の1女性例. 第64回日本人類遺伝学会 2019.11 国内
26. 長坂美和子, 森貞直哉, 飯島一誠. 当科で遺伝学的に診断を確定したCFC症候群5例の臨床像. 第64回日本人類遺伝学会 2019.11 国内
27. 穴戸亜由美, 森貞直哉, 小野田素大, 清水健司, 大橋博文, 飯島一誠. FOXL2近傍領域欠失による眼瞼裂狭小症候群の1女兒例. 第64回日本人類遺伝学会 2019.11 国内
- 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
なし