

遺伝学的検査の実施および遺伝カウンセリングなどの倫理的配慮に関する研究

研究分担者 森貞 直哉 神戸大学・大学院医学研究科・客員准教授

研究要旨

【研究目的】

小児難治性遺伝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】

遺伝性腎疾患患者検体について、次世代シーケンサー（NGS）腎疾患解析パネルなどを用いて遺伝子解析を施行した。本研究は神戸大学医学倫理委員会の承認を受けた。

【結果】

2020年4月から2021年3月までに80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24家系について原因遺伝子を同定した（同定率30.0%）。

【考察】

80家系のうち56家系にNGS解析を施行し、うち18家系（32.1%）で原因遺伝子を同定できた。また臨床症状を再検討することで単一の遺伝子解析（*SALL4*）を施行し、診断に至った例もあった。

【結論】

NGSを用いた包括的な遺伝子解析は有用で、さらに臨床症状を加味して遺伝学的診断を行なうことが重要である。

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子異常による腎疾患（以下遺伝性腎疾患）が含まれている。その診断には臨床検査や腎組織学的検査にあわせて、家系情報の収集や遺伝子解析などの遺伝学的診断の併用が正確な診断にきわめて有用である。実際、当研究の対象疾患のうち、鰓耳腎症候群は指定難病となり、遺伝学的検査は保険償還の対象となった。

研究分担者（森貞）はさらに遺伝学的診断の有用性を検討するため、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

国内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・胎盤などその他の組織由来DNA）を用いて遺伝性腎疾患の遺伝子解析を施行した。対象は主に小児慢性腎疾患（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）、常染色体優性または劣性多発性嚢胞腎（autosomal dominant or recessive polycystic kidney disease, ADPKD or ARPKD）やネフロン癆および関連シリオパチー（nephronophthisis related ciliopathy, NPHP-RC）、常染色体優性間質性腎疾患（autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease, ADTKD）などの嚢胞性腎疾患であった。原因遺伝子解析は、神戸大学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（承認番号301）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

2020年4月から2021年3月までに80家系の患者検体を採取し、遺伝子解析を施行した。56家系はNGSパネルを使用した。80家系のうち24家系について原因遺伝子を同定した（同定率30.0%）。内訳は、CAKUT関連遺伝子（*PAX2* 3家系、*GREB1L*、*SALL4* 各1家系）、多発性嚢胞腎関連遺伝子（*PKD1* 6家系、*PKHD1*、*TSC2/PKD1*隣接遺伝子欠失各2家系）、NPHP-RC関連遺伝子（*NPHP1*、*SCLT1*、*TMEM67*、*IFT140*、*IFT172*、*BBS10*、*SDCCAG8*各1家系）、その他（*ACE*、*REN* 各1家系）であった。

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の報告の45.6%から30.0%に低下した。理由としては、これまで当科で研究的解析として引き受けていた鰓耳腎症候群が保険診療での解析対象となり、衛生検査所（かずさDNA研究所）での解析となったため、より診断の難しい症例が集まったことが要因と考えた。

今回解析を施行した80家系のうち56家系に腎疾患解析パネルを用いたNGS解析を施行し、うち18家系（32.1%）で原因遺伝子を同定できた。NGSを用いた包括的解析はやはり有用であると考えているが、パネル解析であるためパネルに含まれない遺伝子は解析されない。今後は全エクソン解析や全ゲノム解析を考慮していく必要がある。

他の6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。1例はTownes-Brocks症候群または鰓耳腎症候群が疑われ衛生検査所での解析が行なわれたが、原因遺伝子が同定でき

なかった。そのため我々研究班に相談となった症例で、臨床症状の再検討の結果SALL4異常を同定し、Duane-Radial ray (Okihiro) 症候群であると診断が確定できた。やはり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と考えた。

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）を組織している。令和2年度は日本泌尿器科学会、日本腎臓学会で講演活動を行なった。

本研究期間中に、極めてまれなSCLT1異常によるBardet-Biedl症候群の2症例について論文化することができた。引き続き症例を収集し、難治性腎疾患と遺伝子異常の関連について検討していく。

#### 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が、適切な臨床診断も重要であり、遺伝カウンセリングの必要性とあわせ遺伝学的診断の必要性を啓発していく。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究成果の公表

##### 1. 論文発表

1. Oba Y, Sawa N, Mizuno H, Hoshino J, Kinowaki K, Ohashi K, Morisada N, Iijima K, Yamaguchi Y, Ubara Y. Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease HNF1B With Maturity-Onset Diabetes of the Young: A Case Report With Kidney Biopsy. *Kidney Med.* 2020 Dec 26;3(2):278-281.
2. Matsubara Y, Akamine S, Chong PF, Kawakami S, Maehara K, Kaku Y, Kurokawa M, Morisada N, Iijima K, Kira R. Infantile spasms and early-onset progressive polycystic renal lesions associated with TSC2/PKD1 contiguous gene deletion syndrome. *Seizure.* 2021 Mar;86:82-84.
3. Horiuchi K, Kogiso T, Sagawa T, Ito T, Tani ai M, Miura K, Hattori M, Morisada N, Hashimoto E, Tokushige K. Bardet-Biedl Syndrome Caused by Skipping of SCLT1 Complicated by Microvesicular Steatohepatitis. *Intern Med.* 2020;59(21):2719-2724.
4. Tanaka Y, Morisada N, Suzuki T, Ohashi Y, Ye MJ, Nozu K, Tsuruta S, Iijima K. A woman with a dual genetic diagnosis of autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease and KBG syndrome. *CEN Case Rep.* 2021 May;10(2):184-188.
5. Otake S, Tamashiro R, Morisada N, Kasai M. Infant Pyogenic Liver Abscess Complicated

With Autoimmune Neutropenia: Two Cases. *Pediatr Infect Dis J.* 2020 Sep 22.

6. Shishido A, Morisada N, Tominaga K, Uemura H, Haruna A, Hanafusa H, Nozu K, Iijima K. A Japanese boy with NAA10-related syndrome and hypertrophic cardiomyopathy. *Hum Genome Var.* 2020 Aug 17;7:23.
7. Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Omori T, Sakakibara N, Aoto Y, Ishiko S, Nakanishi K, Shima Y, Nagase H, Takeda H, Rossanti R, Ye MJ, Nozu Y, Ishimori S, Ninchoji T, Kaito H, Morisada N, Iijima K, Nozu K. Genotype-phenotype correlations influence the response to angiotensin-targeting drugs in Japanese patients with male X-linked Alport syndrome. *Kidney Int.* 2020 Jul 23:S0085-2538(20)30832-2.
8. Sakakibara N, Nagano C, Ishiko S, Horinouchi T, Yamamura T, Minamikawa S, Shima Y, Nakanishi K, Ishimori S, Morisada N, Iijima K, Nozu K. Comparison of clinical and genetic characteristics between Dent disease 1 and Dent disease 2. *Pediatr Nephrol.* 2020 Jul 18.
9. Aoto Y, Kise T, Nakanishi K, Nagano C, Horinouchi T, Yamamura T, Ishiko S, Sakakibara N, Shima Y, Morisada N, Iijima K, Nozu K. A case with somatic and germline mosaicism in COL4A5 detected by multiplex ligation-dependent probe amplification in X-linked Alport syndrome. *CEN Case Rep.* 2020 Nov;9(4):431-436.
10. Araki Y, Kawaguchi A, Sakakibara N, Nagaoka Y, Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Morisada N, Iijima K, Nozu K. Poststreptococcal acute glomerulonephritis can be a risk factor for accelerating kidney dysfunction in Alport syndrome: a case experience. *CEN Case Rep.* 2020 Nov;9(4):418-422.
11. Horinouchi T, Yamamura T, Minamikawa S, Nagano C, Sakakibara N, Nakanishi K, Shima Y, Morisada N, Ishiko S, Aoto Y, Nagase H, Takeda H, Rossanti R, Ishimori S, Kaito H, Matsuo M, Iijima K, Nozu K. Pathogenic evaluation of synonymous COL4A5 variants in X-linked Alport syndrome using a minigene assay. *Mol Genet Genomic Med.* 2020 Aug;8(8):e1342.
12. Yamamura T, Horinouchi T, Adachi T, Terakawa M, Takaoka Y, Omachi K, Takasato M, Takaishi K, Shoji T, Onishi Y, Kanazawa Y, Koizumi M, Tomono Y, Sugano A, Shono A, Minamikawa S,

- Nagano C, Sakakibara N, Ishiko S, Aoto Y, Kamura M, Harita Y, Miura K, Kanda S, Morisada N, Rossanti R, Ye MJ, Nozu Y, Matsuo M, Kai H, Iijima K, Nozu K. Development of an exon skipping therapy for X-linked Alport syndrome with truncating variants in COL4A5. *Nat Commun.* 2020 Jun 2;11(1):2777.
13. Morisada N, Hamada R, Miura K, Ye MJ, Nozu K, Hattori M, Iijima K. Bardet-Biedl syndrome in two unrelated patients with identical compound heterozygous SCLT1 mutations. *CEN Case Rep.* 2020 Aug;9(3):260-265.
14. Hibino S, Morisada N, Takeda A, Tanaka K, Nozu K, Yamakawa S, Iijima K, Fujita N. Medullary Cystic Kidney Disease and Focal Segmental Glomerulosclerosis Caused by a Compound Heterozygous Mutation in TTC21B. *Intern Med.* 2020 Jul 15;59(14):1735-1738.
15. 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 Jun;65(6):541-549.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.* 2020 Apr;62(4):428-437.
21. 野津寛大, 森貞直哉, 長野智那, 堀之内智子, 榊原菜々, 山村智彦, 飯島一誠. 遺伝性腎疾患における遺伝学的検査方法の進歩. *腎臓内科* 2021.1; 13(1). 105-112
22. 森貞直哉. 言葉の発達の遅れと遺伝性疾患. *小児科* 2021.1; 62(1). 45-51
23. 森貞直哉, 洪本加奈. 腎臓病患者の移行期医療-小児科から成人診療科へ移行期医療と遺伝カウンセリング. *腎と透析* 2020.11; 89(5). 813-817
24. 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 PKHD1 遺伝子変異を有する多発性嚢胞腎の1例. *小児科臨床* 2020.9; 73(9). 1316-1320
25. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. 特集 遺伝情報と遺伝カウンセリング 腎疾患. *小児内科* 2020.8; 52(8). 1067-1070
26. 角田朋大, 西岡隆文, 柴野貴之, 寺崎英佑, 前川講平, 森貞直哉, 飯島一誠, 服部益治, 竹島泰弘. 同じ変異を有する同胞と表現型の差を認めた WDR35 変異によるネフロン癆関連シリオパチーの1例. *日本小児腎不全学会雑誌* 2020.7; 40. 143-147
2. 学会報告
1. 松村千恵子, 菅谷雅人, 升田真依, 小林雅代, 鶴野裕一, 金本勝義, 久野正貴, 松野大輔, 本間澄恵, 大嶋寛子, 福田亜純, 岡田絵里, 森貞直哉, 野津寛大, 末廣真美子, 山口淳. 千葉市3歳児検尿・腎エコー有所見者より発見された慢性腎臓病(CKD)と腎機能予後について. 第55回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
2. 濱田陸, 濱崎祐子, 上村治, 服部元史, 中西浩一, 丸山彰一, 伊藤秀一, 森貞直哉, 野津寛大, 張田豊, 原田涼子, 金子徹治, 本田雅敬, 石倉健司. 小児腎領域の希少・難治性疾患の発見時期および契機に関する全国調査研究. 第55回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
3. 内田奈生, 菊池敦生, 高橋俊成, 松木琢磨, 菅原典子, 熊谷直憲, 藤原幾磨, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠, 呉繁夫. BOR 症候群との鑑別に苦慮した Townes-Brocks 症候群. 第55回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
4. 森貞直哉, 岡田絵里, 今澤俊之, 野津寛大, 飯島一誠. 常染色体優性間質性腎疾患(ADTKD)の原因遺伝子と臨床像 ネフロン癆との比較. 第55回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
5. 梶保祐子, 神田祥一郎, 張田豊, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠, 岡明. 妊娠中期に一過性羊

- 水過少を呈した PAX2 変異症例. 第 55 回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
6. 荒木義則, 河口亜津彩, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. 出生時より腎嚢胞を認め遺伝子診断を行い 10 歳で末期腎不全となった常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD) の女兒. 第 55 回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
  7. 中村実沙子, 神田祥一郎, 梶保祐子, 張田豊, 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠, 岡明. 胎児期より両側腎腫大を呈し臨床的に ARPKD が疑われた、HNF1B 遺伝子欠失の男児例. 第 55 回日本小児腎臓病学会, 2021.1 国内
  8. 田中悠, 森貞直哉, 小林由典, 鶴田悟, 野津寛大, 飯島一誠. CEP104 複合ヘテロ接合性バリアントによる Joubert 症候群関連疾患の 1 例. 第 65 回日本人類遺伝学会, 2020.11 国内
  9. 森貞直哉, 野津寛大, 飯島一誠. *SALL1* 変異例の遺伝型と臨床像の検討. 第 65 回日本人類遺伝学会, 2020.11 国内
  10. Nagasaka M, Yotsumoto Y, Nakago S, Nagano C, Morisada N, Nozu K, Iijima K, Tamaoki T. A female case of antenatal Bartter' s Syndrome with a novel variant in MAGED2 manifesting with severe polyhydramnios and intrauterine fetal death. The European Society of Human Genetics 2020. 2020.6 海外
  11. 松本泰右, 井上翔太郎, 坊亮輔, 滝本大輔, 広田幸穂, 鮫島智大, 運崎愛, 福原信一, 森貞直哉. 副腎クリーゼによる意識障害をきたし原発性副腎不全と診断した 5 歳男児例, 第 281 回兵庫県地方会, 2020.9, 国内
  12. 森貞直哉. 小児腎疾患の遺伝カウンセリング. 第 63 回日本腎臓学会, 2020.8, 国内
  13. 森貞直哉, 野津寛大, 中西浩一, 飯島一誠. わが国における常染色体劣性多発性嚢胞腎 (ARPKD) の遺伝型と臨床像, 第 123 回日本小児科学会学術集会, 2020.8, 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