

小児期・移行期を含む包括的対応を要する希少難治性肝胆膵疾患の調査研究

遺伝性膵炎患者のレジストリシステム構築にむけて-遺伝子検査体制の整備

研究分担者 清水俊明 順天堂大学小児科 教授
研究分担者 竹山宜典 近畿大学肝胆膵外科 教授
研究分担者 正宗 淳 東北大学消化器内科 教授
研究協力者 鈴木光幸 順天堂大学小児科 准教授
研究協力者 箕輪 圭 順天堂大学小児科 非常勤助教
研究協力者 中野 聡 順天堂大学小児科 非常勤助教

研究要旨

遺伝性膵炎は平成 27 年 1 月から小児慢性特定疾病（慢性消化器疾患、大分類：遺伝性膵炎）に、同年 7 月には成人の指定難病に認定された。小児慢性特定疾病では「対象基準」が、指定難病では「重症度分類」が医療費助成対象者の認定基準として設定されている。遺伝性膵炎患者のレジストリ構築のためには、診断基準に基づきカチオニックトリプシノーゲン（PRSS1）遺伝子解析を行い、患者数を正確に把握する必要がある。しかし、わが国では PRSS1 遺伝子検査は保険適応外である。保険収載のためには、まず ISO 認証施設での検査体制を構築する必要がある。具体的には ISO 認証施設である「かずさ DNA 研究所」で PRSS1 および SPINK1 遺伝子などを含むターゲットシーケンス（パネルシーケンス）実施体制を整え、保険収載に備えた検査受託システムを立ち上げた。将来的には令和 4 年の診療報酬改定での PRSS1 遺伝子解析の保険収載を目指す。

A. 研究目的

遺伝性膵炎 (hereditary pancreatitis) は、家系内に慢性膵炎が多発する稀な疾患である。多くは幼少時から腹痛、悪心、嘔吐などの急性膵炎発作を繰り返し、慢性膵炎に進行する。カチオニックトリプシノーゲン（PRSS1）遺伝子変異によるトリプシン活性の持続が膵炎の原因となる。本邦における遺伝性膵炎家系の調査では約 3 割に膵分泌性トリプシンインヒビター（SPINK1）遺伝子変異が認められている。

再発性急性膵炎あるいは慢性膵炎（確診及び準確診）症例で、以下の①～④の 4 項目のうち①を満たす場合、あるいは②、③、④の全てを満たす場合、遺伝性膵炎と診断される。① PRSS1 遺伝子の p. R122H ないし p. N29I 変異が認められる。② 世代にかかわらず、膵炎患者 2 人以上の家族歴がある。③ 少なくとも 1 人の膵炎患者は、大量飲酒など慢性

膵炎の成因と考えられるものが認められない。④ 単一世代の場合、少なくとも 1 人の患者は 40 歳以下で発症している。

遺伝性膵炎患者のレジストリ構築のためには、診断基準に基づき PRSS1 遺伝子解析を行い、患者数を正確に把握する必要がある。しかし、わが国では診断基準にも含まれる PRSS1 遺伝子解析は保険適応外である。そこで ISO 認証施設において、PRSS1 および SPINK1 遺伝子などを含むターゲットシーケンス（パネルシーケンス）検査体制を整え、まずは非保険検査としての検査受託システムを立ち上げることを目的に本研究を実施した。

B. 研究方法

血液から回収したゲノム DNA から、PRSS1 (protease serine 1)、SPINK1 (*Kazal* type 1)、CEL (carboxyl ester lipase)、CFTR (cystic

fibrosis transmembrane conductance regulator)、CPA1(carboxypeptidase A1)、CTRC (chymotrypsin C)、TRPV6 (transient receptor cation channel subfamily V member 6 gene)、CLDN2 (claudin-2)、CTRB1/CTRB2 (chymotrypsin B1 and B2)、PNLIP (pancreatic lipase)遺伝子のたんぱく質コード領域エクソンとそのイントロン境界部分をハイブリダイゼーションあるいは酵素的増量法(polymerase chain reaction法)により濃縮し、次世代シーケンサー(ターゲットシーケンス)あるいは従来のダイレクトシーケンスによる遺伝子配列決定を行い、検査対象遺伝子のたんぱく質コード領域におけるシーケンシングで検出可能な低出現頻度の塩基配列変化の有無を検出した。

C. 研究結果

ダイレクトシーケンス法ですでに変異が判明している10症例(PRSS1、SPINK1、CEL、CFTR、CPA1、CTRC、TRPV6遺伝子変異あり)に対し、前述の方法で作成したターゲットシーケンスを行った。一致率は100%であった(図1)。なお、残りのCEL、CLDN2、CTRB1/CTRB2、PNLIP遺伝子変異は作成したターゲットシーケンスでは検出されなかった。

D. 考察

膵炎関連遺伝子により反復性膵炎および慢性膵炎の原因遺伝子変異は、PRSS1 遺伝子変異が約4割、SPINK1 遺伝子変異が約3割、その他・不明が約3割とされる。膵炎発症の第一段階は、膵腺房細胞内でのトリプシノーゲンの異所性活性化である。生体内には異所性のトリプシノーゲン活性化、さらに活性化したトリプシンを介する他の消化酵素の活性化による自己消化から膵臓を守るための防御機構が存在している。PRSS1 遺伝子変異により、トリプシンの活性化・不活性化のアンバランスが生じるとトリプシンの持続的活性化が生じ、膵炎を発症すると考えられている。しかしながら、SPINK 遺伝子における最多の変異(p.N34S 変異)による膵炎発症機序は解明されておらず、また3割の家系では原因遺伝子異常を認めず、発病機構は明らかではない。

今回作成した膵炎関連遺伝子解析パネルでは、10種類の遺伝子変異解析が可能である。遺伝性膵炎における炎症の反復が将来的な糖尿病や膵癌のリスクファクターであることも考慮すると、これらの遺伝子検査が保険診療内で速やかに膵炎の原因が明らかになることで、小児期から膵炎発作予防のための栄養管理や内服治療を積極的に行う意義は大きい。また、医療者サイドの治療方針の決定、および患児および家族の治療継続のための動機付けにも遺伝子診断の有用性は高いと考えられる。我が国における遺伝性膵炎の診断基準、およびSPINK1 遺伝子変異による膵炎の頻度が多いことを鑑み、本検査が保険収載された際には、PRSS1 遺伝子変異の報告を基本とし、補助診断遺伝子としてSPINK1 遺伝子の解析も同時に報告することを想定している。

E. 結論

令和4年の診療報酬改定で遺伝子検査の保険収載を目指し、ISO 認証施設である「かずさDNA研究所」でPRSS1 遺伝子、および補助診断遺伝子としてSPINK1 遺伝子解析が行える検査体制を構築した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki M, Minowa K, Isayama H, Shimizu T. Acute Recurrent and Chronic Pancreatitis in Children. *Ped Int* 63: 137-149, 2021
2. Suzuki M, Minowa K, Nakano S, Isayama H, Shimizu T. Genetic abnormalities in pancreatitis: An update on diagnosis, clinical features, and treatment. *Diagnostics* 11: 31, 2021
3. 鈴木光幸, 平井沙依子, 清水俊明. 小児の急性膵炎の実態(成人例とは異なる特徴は). *肝胆膵* 82: 39-44, 2021
4. 鈴木光幸. 遺伝性膵炎の疫学, 診断, 治療法など最近の知見について. *日本醫事新報* 55: 5096, 2021
5. Ren H, Mori N, Hamada S, Takasawa C, Mugikura S, Masamune A, Takase K.

Effective apparent diffusion coefficient parameters for differentiation between mass-forming autoimmune pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Abdom Radiol (NY)* 46: 1640-7, 2021

6. Nakazawa T, Kamisawa T, Okazaki K, Kawa S, Tazuma S, Nishino T, Inoue D, Naitoh I, Watanabe T, Notohara K, Kubota K, Ohara H, Tanaka A, Takikawa H, Masamune A, Unno M. Clinical diagnostic criteria for IgG4-related sclerosing cholangitis 2020: (Revision of the clinical diagnostic criteria for IgG4-related sclerosing cholangitis 2012). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 28: 235-42, 2021
7. Naitoh I, Kamisawa T, Tanaka A, Nakazawa T, Kubota K, Takikawa H, Unno M, Masamune A, Kawa S, Nakamura S, Okazaki K; collaborators. Clinical characteristics of immunoglobulin IgG4-related sclerosing cholangitis: Comparison of cases with and without autoimmune pancreatitis in a large cohort. *Dig Liver Dis* 53: 1308-14, 2021
8. Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Ikeura T, Itoi T, Ito T, Inui K, Irisawa A, Uchida K, Ohara H, Kubota K, Kodama Y, Shimizu K, Tonzuka R, Nakazawa T, Nishino T, Notohara K, Fujinaga Y, Masamune A, Yamamoto H, Watanabe T, Nishiyama T, Kawano M, Shiratori K, Shimosegawa T, Takeyama Y; Members of the Research C. Amendment of the Japanese consensus guidelines for autoimmune pancreatitis, 2020. *J Gastroenterol* 57: 225-45, 2022

2. 著書

なし

3. 学会発表

1. 佐野 貴紀, 菊田 和宏, 正宗 淳 前向き追跡調査からみた自己免疫性膵炎に対するステロイド治療の有効性と有害事象の現況 第107回日本消化器病学会総会 4月15-17日
2. Sano T, Kikuta K, Masamune A. The M-ANNHEIM-AiP-Activity Score is useful for predicting relapse of type 1 autoimmune pancreatitis The 4th International Symposium on IgG4-Related Diseases: diagnosis and treatment development 12月3-5日

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