

厚労科学研究補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

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必要性、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、次世代シークエンサー（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】

2021年4月から2022年3月までに104家系の患者検体を採取し、先天性腎尿路異常、ネフロン癆、多発性囊胞腎、間質性腎疾患など51家系について原因遺伝子を同定した（同定率49.0%）。

【考察】

104家系のうち69家系にNGS解析を施行し、うち38家系（55.1%）で原因遺伝子を同定できた。また、3例は臨床的にTSC2-PKD1隣接遺伝子欠失を疑い、MLPA法で迅速に診断することが出来た。

【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）は小児難治性腎疾患への理解を深め、診療研究体制を確立することが目的である。小児の慢性腎疾患（chronic kidney disease, CKD）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。腎疾患は非特異的な臨床症状を呈することも多く、その正確な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手法の併用が有用である。

研究分担者（森貞）は引き続き本分野での遺伝学的診断の有用性を検討・啓発するため、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。遺伝子解析の対象は、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）、常染色体顕性（優性）または潜性（劣性）多発性囊胞腎（autosomal dominant or recessive polycystic kidney disease, ADPKD or ARPKD）、ネフロン癆（nephronophthisis, NPHP）および関連シリオパチー（NPHP related ciliopathy, NPHP-RC）、常染色体顕性（優性）尿細管間質性腎疾患（autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease, ADTKD）などの囊胞性腎疾患とした。原因遺伝子解析は、主に神戸大学でデザインした次世代シークエンサー（next generation sequencing, NGS）腎疾患解析パネルを用いた。一部の症例は臨床診断からサ

ンガー法やMLPA法による遺伝子解析を施行した。

（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

2021年4月から2022年3月までに104家系の患者検体を採取し、遺伝子解析を施行した。69家系はNGSパネルを使用した。104家系のうち51家系について原因遺伝子を同定した（同定率49.0%）。内訳は、CAKUT関連遺伝子（HNF1B 8家系、PAX2 4家系、SALL1、GREB1L、RET、GATA3各1家系）、多発性囊胞腎関連遺伝子（PKD1 9家系、TSC2/PKD1隣接遺伝子欠失5家系、PKHD1、PKD2各1家系）、NPHP-RC関連遺伝子（NPHP1 3家系、NPHP3、TMEM67、SDCCAG8、WDR19、IFT172、TTC21B、OFD1各1家系）、ADTKD（MUC1 2家系、UMOD 2家系、REN 1家系）その他（HPRT1、ACE、ALG8、NOTCH2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30.0%から49.0%に大幅に上昇した。理由としては、事前に臨床情報を十分に勘案したことが挙げられる。知的障害をともなう先天異常（多発奇形）症候群などは各施設の遺伝子診療部と相談して未診断疾患イニシアチブ（IRUD）に依頼していたことなどして、効率の良い遺伝子解析を心がけた。

今回解析を施行した104家系のうち69家系に腎疾患解析パネルを用いたNGS解析を施行し、うち38家系（55.1%）で原因遺伝子を同定できた。臨床情報を整理して対象を絞り込んだことが解析率の上昇

に寄与したと考えた。一方で未診断症例が約半数あるため、これらは全エクソン解析や全ゲノム解析を施行し、新規遺伝子の発見に結びつける必要がある。

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）を組織している。令和3年度は日本泌尿器科学会でロールプレイング実習を開催し、幅広い分野での遺伝カウンセリングの必要性を啓発している。

## 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、適切な臨床診断が最も重要であり、遺伝学的診断と臨床情報の同時活用、および遺伝カウンセリングの必要性を啓発していく。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sakakibara N, Nozu K, Yamamura T, Horinouchi T, Nagano C, Ye MJ, Ishiko S, Aoto Y, Rossanti R, Hamada R, Okamoto N, Shima Y, Nakanishi K, Matsuo M, Iijima K, Morisada N. Comprehensive genetic analysis using next-generation sequencing for the diagnosis of nephronophthisis-related ciliopathies in the Japanese population. *J Hum Genet*. 2022 Feb 9. [Online ahead of print.]
2. Suzuki H, Nozaki M, Yoshihashi H, Imagawa K, Kajikawa D, Yamada M, Yamaguchi Y, Morisada N, Eguchi M, Ohashi S, Ninomiya S, Seto T, Tokutomi T, Hida M, Toyoshima K, Kondo M, Inui A, Kurosawa K, Kosaki R, Ito Y, Okamoto N, Kosaki K, Takenouchi T. Genome Analysis in Sick Neonates and Infants: High-yield Phenotypes and Contribution of Small Copy Number Variations. *J Pediatr*. 2022 Feb 4:S0022-3476(22)00064-6. [Online ahead of print.]
3. Masuda M, Kanno A, Nara K, Mutai H, Morisada N, Iijima K, Morimoto N, Nakano A, Sugiuchi T, Okamoto Y, Masuda S, Katsunuma S, Ogawa K, Matsunaga T. Phenotype-genotype correlation in patients with typical and atypical branchio-oto-renal syndrome. *Sci Rep*. 2022 Jan 19;12(1):969.
4. Tao K, Morisada N, Awazu M. What is the cause of kidney dysfunction in a newborn with trisomy 21? *Answers*. *Pediatr Nephrol*. 2022 Feb;37(2):353-355.
5. Tao K, Morisada N, Awazu M. What is the cause of kidney dysfunction in a newborn with trisomy 21? *Questions*. *Pediatr Nephrol*. 2022 Feb;37(2):351-352.
6. Sakakibara N, Ijuin T, Horinouchi T, Yamamura T, Nagano C, Okada E, Ishiko S, Aoto Y, Rossanti R, Ninchoji T, Awano H, Nagase H, Minamikawa S, Tanaka R, Matsuyama T, Nagatani K, Kamei K, Jinnouchi K, Ohtsuka Y, Oka M, Araki Y, Tanaka T, Harada MS, Igarashi T, Kitahara H, Morisada N, Nakamura SI, Okada T, Iijima K, Nozu K. Identification of novel OCRL isoforms associated with phenotypic differences between Dent disease-2 and Lowe syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2022 Jan 25;37(2):262-270
7. Ishiko S, Morisada N, Kondo A, Nagai S, Aoto Y, Okada E, Rossanti R, Sakakibara N, Nagano C, Horinouchi T, Yamamura T, Ninchoji T, Kaito H, Hamada R, Shima Y, Nakanishi K, Matsuo M, Iijima K, Nozu K. Clinical features of autosomal recessive polycystic kidney disease in the Japanese population and analysis of splicing in PKHD1 gene for determination of phenotypes. *Clin Exp Nephrol*. 2022 Feb;26(2):140-153.
8. Morisada N, Ishida Y, Tokumoto S, Maruyama A, Iijima K. Severe neurodevelopmental disorder caused by an MEF2C nonsense mutation. *Pediatr Int*. 2021; 63(12):1536-1538.
9. Kondo A, Nagano C, Ishiko S, Omori T, Aoto Y, Rossanti R, Sakakibara N, Horinouchi T, Yamamura T, Nagai S, Okada E, Shima Y, Nakanishi K, Ninchoji T, Kaito H, Takeda H, Nagase H, Morisada N, Iijima K, Nozu K. Examination of the predicted prevalence of Gitelman syndrome by ethnicity based on genome databases. *Sci Rep*. 2021; 11(1):16099.
10. Ozaki K, Mituboshi A, Nagai M, Nishiyama A, Nishimura G, Morisada N, Iijima K. Mild progressive osseous heteroplasia overlap syndrome with PTH and TSH resistance appearing during adolescence and not early childhood. *Endocrine*. 2021; 74(3):685-689.
11. Nakamura M, Kanda S, Kajihara Y, Morisada N, Iijima K, Harita Y. A case of 17q12 deletion syndrome that presented

- antenatally with markedly enlarged kidneys and clinically mimicked autosomal recessive polycystic kidney disease. *CEN Case Rep.* 2021; 10(4):543-548.
12. Wijaya YOS, Ar Rohmah M, Niba ETE, Morisada N, Noguchi Y, Hidaka Y, Ozasa S, Inoue T, Shimazu T, Takahashi Y, Tozawa T, Chiyonobu T, Inoue T, Shiroshita T, Yokoyama A, Okamoto K, Awano H, Takeshima Y, Saito T, Saito K, Nishio H, Shinohara M. Phenotypes of SMA patients retaining SMN1 with intragenic mutation. *Brain Dev.* 2021; 43(7):745-758.
13. 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; 86:82-84.
14. 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; 10(2):184-188.
15. Otake S, Tamashiro R, Morisada N, Kasai M. Infant Pyogenic Liver Abscess Complicated With Autoimmune Neutropenia: Two Cases. *Pediatr Infect Dis J.* 2021; 40(2):151-153.
16. 白鳥孝俊, 三浦健一郎, 白井陽子, 安藤太郎, 池野かおる, 金子直人, 薮内智朗, 石塚喜世伸, 森貞直哉, 飯島一誠, 服部元史. 低カリウム血症を契機に発見されたMAPKBP1遺伝子変異を伴うネフロン癆の11歳女児例. *日本小児体液研究会誌.* 13; 45-50, 2021.
17. 洪本加奈, 森貞直哉, 沖田空, 飯島一誠. アレイ CGH で 15q11.2q13.1 欠失を同定後に DNA メチル化解析で Angelman 症候群と確定診断した女児の遺伝カウンセリング. *小児科.* 62(3); 282-285, 2021.
18. 森貞直哉. こどもたちのための遺伝医療. *日本小児科学会雑誌.* 125(12): 1633-1639, 2021.
19. 森貞直哉、洪本加奈. 医療としての腎疾患遺伝子解析. *日本小児腎臓病学会雑誌*、34(2): 109-114, 2021.
20. 森貞直哉, 洪本加奈. 【腎疾患の移行期医療】移行期医療と遺伝カウンセリング. *腎臓内科.* 14(2): 158-163, 科学評論社, 2021.
21. 洪本加奈, 森貞直哉, 山田崇弘. 【新生児マススクリーニングと治療の最前線】新生児マススクリーニングと遺伝カウンセリング. *遺伝子医学*; 11(3): 88-92, メディカルドゥ, 2021.
22. 森貞直哉. 【腎臓症候群(第3版)-その他の腎臓疾患を含めて】先天性腎病変 Jeune 症候群. *日本臨床別冊腎臓症候群.* 80-82, 日本臨床社, 2021.
23. 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*; 13(1):105-112, 科学評論社, 2021.
24. 森貞直哉. 言葉の発達の遅れと遺伝性疾患. *小児科.* 62(1): 45-51, 金原出版, 2021.
25. 清水健司、大友孝信、森貞直哉 (編集). 臨床遺伝専門医テキスト 各論 II 臨床遺伝学小児領域, 診断と治療社, 2021.
2. 学会発表
1. 森貞直哉、河本和泉、衣笠真紀、坂田亮介、小林大介、尾崎佳代、洪本加奈、片桐岳信、西村玄、池川志郎、山田崇弘、飯島一誠、薩摩眞一. 当院で遺伝学的に診断された骨系統疾患の検討. *日本小児遺伝学会、2021/1/8-9, Web*
  2. 森貞直哉. こどもたちのための遺伝医療. *日本小児科学会. 2021/4/16-18、京都*
  3. 森貞直哉. 野津寛大、飯島一誠. 遺伝学的解析が囊胞性腎疾患診療に与えてきたインパクトと課題. *日本腎臓学会. 2021/6/18-20、横浜 (Web)*
  4. 岡田絵里、森貞直哉、臼井丈一、山縣邦宏、野津寛大. 当科で PKD1 遺伝子変異を同定した小児 15 例の臨床・遺伝学的特徴. *日本腎臓学会. 2021/6/18-20、横浜 (Web)*
  5. 森貞直哉、野津寛大、飯島一誠. 医療としての腎疾患遺伝子解析. *日本小児腎臓病学会. 2021/7/9-10、高知*
  6. 森貞直哉. 腎疾患分野のゲノム医療と遺伝カウンセリング. *日本腎臓学会東部大会. 2021/9/25-26、Web*
  7. 森貞直哉、洪本加奈、近藤淳、Rini Rossanti、石河慎也、青砥裕哉、岡田

- 絵里、榎原奈々、長野智那、山村智彦、堀之内智子、貝藤裕史、飯島一誠、野津寛大. 囊胞性腎疾患の包括的遺伝子解析. 日本人類遺伝学会.  
2021/10/14-16、横浜 (Web)
8. 森貞直哉、花房宏昭、山口宏、岡田絵里、洪本加奈、長岡由修、鈴村宏、郭義胤、福田智文、下野九理子、本郷裕斗、貝藤裕史、飯島一誠、野津寛大. MLPA 法で診断した TSC2-PKD1 隣接遺伝子欠失症候群 7 例の検討. 日本小児遺伝学会、  
2021/11/12-13、Web
9. 森貞直哉. 最近報告された新しい Dysmorphology 関連疾患. Dysmorphology の タベ. 2021/11/12、Web
10. 森貞直哉. WT1 遺伝子異常症. 小児腎臓病セミナー2021 in 浜松. 2021/12/4、Web  
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
- 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