

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】

2022年4月から2023年3月までに91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29家系について原因遺伝子を同定した（同定率31.9%）。

【考察】

今回解析した内、1例は海外からの症例であった（*BBIP1*変異例）。海外協力によって貴重な症例を診断できた。また*HNF1B*変異例の1例は胎内死亡症例で、NGSによって17q12欠失症候群であると推定された事例であった。遺伝子解析は死亡症例の原因解明と遺された家族への遺伝カウンセリングにも有用である。

【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。小児の慢性腎臓病（chronic kidney disease、CKD）は多くの遺伝子異常による腎疾患（以下遺伝性腎疾患）が原因となる。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所見にあわせて、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）多発性嚢胞腎（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）などの嚢胞性腎疾患とした。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ケンサー（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

2022年4月から2023年3月までに91家系の患者検体を採取し、遺伝子解析を施行した。59家系はNGSパネルを使用した。91家系のうち29家系について原因遺伝子を同定した（同定率31.9%）。内訳は、CAKUT関連遺伝子（*HNF1B* 4家系、*PAX2*、*GATA3* 各2家系、*SALL1*、*GREB1L* 各1家系）、多発性嚢胞腎関連遺伝子（*PKD1* 4家系、*PKHD1*、*PKD2*各1家系）、NPHP-RC関連遺伝子（*NPHP1* 3家系、*WDR19*、*INVS*、*EVC2*、*BBIP1*各1家系）、ADTKD（*MUC1* 1家系、*UMOD* 3家系）renal tubular dysgenesis（*REN*）およびDent病（*CLCN5*）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49.0%から31.9%に大幅に下落した。この数値は一昨年とほぼ同様であるが、理由としては、ネフロン癆が保険診療として解析できるようになったため診断しやすい症例が衛生検査所で解析されたことが考えられる。

今回解析した内、1例は海外からの症例であった（*BBIP1*変異例）。本例は臨床的にBardet-Biedl症候群（BBS）であり、*BBIP1*を原因とするBBS症例はこれまでに1例しか報告がなく、海外協力によって貴重な症例を診断できた。また*HNF1B*変異例の

1例は胎内死亡症例で、NGSによって17q12欠失症候群であると推定された事例であった。本症は新生変異であることが確認できたため、次子の再発可能性がきわめて低いことを示すことができ、家族の安心感につながった。遺伝子解析は死亡症例の原因解明と遺された家族への遺伝カウンセリングにも有用である。

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4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. Hiromoto K, Morisada N, Tairaku S, Nozu K, Iijima K, Funakoshi T. Genetic autopsy and genetic counseling for a case of fatal oligohydramnios due to de novo 17q12 deletion syndrome. *J Obstet Gynaecol Res.* 2023 Mar 12.
2. Kawanami Y, Horinouchi T, Morisada N, Kato T, Nozu K. 4q25 Microdeletion with Axenfeld-Rieger Syndrome and Developmental Delay. *Case Rep Genet.* 2023 Feb 9;2023:4592114.
3. Hanafusa H, Yamaguchi H, Kondo H, Nagasaka M, Juan Ye M, Oikawa S, Tokumoto S, Tomioka K, Nishiyama M, Morisada N, Matsuo M, Nozu K, Nagase H. Dravet syndrome and hemorrhagic shock and encephalopathy syndrome associated with an intronic deletion of SCN1A. *Brain Dev.* 2023 Feb 9;S0387-7604(23)00021-9.
4. Matsui S, Iwatani S, Morisada N, Takenouchi T, Yoshimoto S. Vocal cord paralysis in autosomal dominant spinal muscular atrophy due to BICD2. *Congenit Anom (Kyoto).* 63: 52-53, 2022
5. Yoshino M, Shimabukuro W, Takeichi M, Omura J, Yokota C, Yamamoto J, Nakanishi K, Morisada N, Nozu K, Iijima K, Takahashi Y. A case of Potter sequence

with WT1 mutation. *CEN Case Rep.* 2022 Oct 13.

6. Okada E, Morisada N, Horinouchi T, Fujii H, Tsuji T, Miura M, Katori H, Kitagawa M, Morozumi K, Toriyama T, Nakamura Y, Nishikomori R, Nagai S, Kondo A, Aoto Y, Ishiko S, Rossanti R, Sakakibara N, Nagano C, Yamamura T, Ishimori S, Usui J, Yamagata K, Iijima K, Imasawa T, Nozu K. Detecting MUC1 Variants in Patients Clinicopathologically Diagnosed With Having Autosomal Dominant Tubulointerstitial Kidney Disease. *Kidney Int Rep.* 7: 857-866, 2022
7. 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.* 67: 427-440, 2022
8. 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.* 244: 38-48. e1, 2022
9. 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.* 12: 969, 2022
10. Tao K, Morisada N, Awazu M. What is the cause of kidney dysfunction in a newborn

- with trisomy 21? Answers. *Pediatr Nephrol.* 37: 353-355, 2022
11. Tao K, Morisada N, Awazu M. What is the cause of kidney dysfunction in a newborn with trisomy 21? Questions. *Pediatr Nephrol.* 37: 351-352, 2022
 12. 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.* 37: 262-270, 2022
 13. 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.* 26: 140-153, 2022
 14. 洪本加奈、森貞直哉. 出生前から小児期に発見された Klinefelter 症候群の患者と家族に対する遺伝カウンセリングの検討. *小児科.* 63: 541-544, 2022
 15. 洪本加奈、森貞直哉、中村さやか、齋藤敦郎、城戸佐知子、小林大介、野村耕治、野津寛大. Marfan 症候群と X 連鎖性高 IgM 症候群を合併した兄弟とその家族への遺伝カウンセリング. *日本遺伝カウンセリング学会誌* 43: 29-34, 2022
 16. 洪本加奈、森貞直哉、野津寛大、飯島一誠. 生殖細胞系列の網羅的遺伝子解析によって副腎白質ジストロフィーの原因遺伝子である ABCD1 のバリエントが二次的に見つかった Kleefstra 症候群の 1 例：開示の判断に関与する要素に対する考察. *日本遺伝カウンセリング学会誌.* 42: 449-455, 2022
 17. 中谷尚子、齋藤敦郎、片山大資、市川貴之、野口隼、中村さやか、田村彰広、神前愛子、岸本健治、石田敏章、森 健、森貞直哉、吉田牧子、野村耕治、長谷川大一郎、小阪嘉之. RB1 遺伝学的検査が診断に有用であった両側網膜芽細胞腫. *日本小児科学会雑誌.* 126: 505-509, 2022
 18. 森貞直哉. 【バイオ DB とウェブツール】DECIPHER 世界中から登録された神経発達症例データベース マイクロアレイ検査の強い味方. *実験医学.* 40: 2901-2904, 2022
 19. 森貞直哉. 【腎臓症候群(第 3 版)】先天性・遺伝性腎疾患 先天奇形症候群 鰓耳腎症候群. *日本臨床別冊腎臓症候群 II.* 170-173, 2022
 20. 森貞直哉. 【小児の腎疾患を見つめ直す】腎疾患の遺伝子解析. *小児科.* 63: 583-588, 2022
2. 学会発表
 1. 森貞直哉. 先天性腎尿路異常. 第 65 回日本腎臓学会学術集会. 2022 年 6 月
 2. 森貞直哉. 多発性嚢胞腎の診断基準と遺伝子解析. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
 3. 山口宏、花房宏昭、徳元翔一、富岡和美、西山将広、丸山あずさ、森貞直哉、野津寛大、永瀬裕朗. 有熱性てんかん重積・急性脳症に単一遺伝子疾患は存在するのか? 第 67 回日本人類遺伝学会学術集会、2022 年 12 月.
 4. 洪本加奈、森貞直哉、平久進也、大西徳子、船越徹、野津寛大、飯島一誠. Genetic autopsy で 17q12 欠失症候群と診断した Potter sequence の 1 男児例. 第 67 回日本人類遺伝学会学術集会、2022 年 12 月.
 5. 内山由理、鈴木皓晴、飯村康司、菅野秀宣、川上民裕、森貞直哉、松尾皇、馬場信平、長坂美和子、瀬戸俊之、土田奈緒美、濱中耕平、藤田京志、輿水江里子、宮武聡子、水口剛、近藤聡英、松本直通. スタージウェーバー症候群の低頻度体細胞バリエントの効率的な検出法. 第 67 回日本人類遺伝学会学術集会、2022 年 12 月.
 6. 大西徳子、洪本加奈、森貞直哉、佐伯啓介、野津寛大. 周期的な不機嫌を呈した Bosch-

Boonstra-Schaaf optic atrophy syndrome の 1 例. 第 67 回日本人類遺伝学会学術集会、2022 年 12 月.

7. 島友子、向山弘展、田中侑、島袋渡、森貞直哉、野津寛大、飯島一誠、中西浩一. 遺伝性嚢胞性腎疾患の多様性. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
8. 木下亮、横山浩己、山田祐子、森貞直哉、野津寛大、難波範行. 急速な腎嚢胞拡大に対してトルバプタン治療を導入した、常染色体優性多発性嚢胞腎と結節性硬化症併発の乳児例. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
9. 榊原菜々、長野智那、ロサンティリニ、増田知佳、北角英晶、永井貞之、近藤淳、青砥悠哉、堀之内智子、森貞直哉、飯島一誠、野津寛大. The genetic basis of nephrotic syndrome and asymptomatic proteinuria in Japanese population. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
10. 辻一七子、榊原菜々、黒崎雅典、近藤淳、永井貞之、青砥悠哉、堀之内智子、森貞直哉、野津寛大. In vitro splicing 解析による HNF1B 遺伝子イントロン変異の病原性の評価. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
11. 青砥悠哉、森貞直哉、坂本信一、北角英明、増田知佳、永井貞之、近藤淳、榊原菜々、堀之内智子、野津寛大. 血尿から診断に至ったシスチン尿症と ARPKD の dual genetic disease の一例. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
12. 飯塚裕典、長岡由修、富井祐治、下村遼太郎、櫻井のどか、平川賢史、布施茂登、森俊彦、森貞直哉、野津寛大. 片側のびまん性腎腫大を契機に診断に至った HDR 症候群の 1 例. 第 57 回日本小児腎臓病学会学術集会. 2022 年 5 月.
13. 玉懸直人、中村祐貴、伊藤貞利、露久保敬嗣、柿崎裕太、小山純司、清水健司、中屋来

哉、藤澤宏光、臼田昌広、相馬淳、岡田絵里、森貞直哉、野津寛大. 姉妹間生体腎移植後に判明した無症候ドナーの MUC1 遺伝子変異. 第 55 回日本臨床腎移植学会. 2022 年 2 月.

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