

小児期発症の希少難治性肝胆膵疾患における医療水準並びに患者 QOL の向上のための調査研究

## 小児期発症膵炎に対するTRPV6およびCELA3B遺伝子変異の関与

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 近畿大学病院 非常勤教員  
研究分担者 正宗 淳 東北大学消化器内科 教授  
研究分担者 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

2020年に、膵炎に関連する新しい遺伝子として Transient Receptor Potential Vanilloid subfamily member 6 (TRPV6)の変異が報告された。TRPV6はカルシウムを選択的に透過する膜タンパク質であり、本変異により膵細胞内のカルシウムの恒常性を維持できずトリプシンの細胞内滞留を起し膵炎を発症する。また、chymotrypsin-like elastases 3B(CELA3B)は膵外分泌細胞内に豊富に存在している消化性プロテアーゼである。2019年、糖尿病を伴う家族性膵炎家系で *CELA3B* p. R90C による機能獲得型変異が膵炎発症に関連していることが報告された。本研究では、再発性急性膵炎または慢性膵炎の患児90例のうち、1つ以上の既知の膵炎関連遺伝子変異を持つ患者に対して *TRPV6* または *CELA3B* 変異の有無を検討した。14例(15.6%)に *TRPV6* 変異が検出された。その内訳は、p. A18S (n=3), p. I223T (n=3), p. D324N (n=4), p. V540F (n=1), p. A606T (n=1), および p. C197R + p. M418V + p. M721T (n=3)であった。このうち p. D324N, p. V540F, p. A606T が pathogenic 変異であった。p. D324N 変異を有する4例の内訳は、(1) *PRSSI* p. G208A との複合変異2例、(2) *PRSSI* p. G208A および *SPINK1* c. 194+2T>C との複合変異2例であった。機能獲得型ミスセンスバリエーションである *CELA3B* codon 90 change を有する症例はなかった。1例で非病原性変異である *CPIA1* p. A341T/A および *CFTR* p. E217G/E と *CELA3B* p. W162C/W の共存が確認された。*PRSSI* の「古典的変異」である p. R122H または p. N29I を有する20例では、*TRPV6* または *CELA3B* との複合変異はなかった。若年性膵炎患者の一部では *TRPV6* や *CELA3B* 変異が疾患感受性遺伝子の1つとして機能している可能性がある。

### 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 (*PRSSI*) 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。2020年、Genome Wide Association Studyにより Transient Receptor Potential Vanilloid subfamily member 6 (TRPV6)変異が新たな膵炎関連遺伝子として報告された。TRPV6はカルシウムを選択的に透過する膜タンパク質であり、本変異により膵細胞内のカルシウムの恒常性を維持できずトリプシンの細胞内滞留を起し膵炎を発症する。早期発症の慢性膵炎(CP)では、TRPV6と Serine protease inhibitor Kazal type 1(SPINK1)との複

合変異が 20-58%の症例で観察されている。

Chymotrypsin-like elastases 3B(CELA3B)は膵外分泌細胞内に豊富に存在している消化性プロテアーゼである。2019 年、糖尿病を伴う家族性膵炎家系で *CELA3B* p. R90C による機能獲得型変異が膵炎発症に関連していることが報告された。Codon 90 change では upregulation translation により CELA3B 変異タンパク質量が上昇し、このタンパク質はトリプシンによってより容易に活性化される。さらに 2022 年に欧州のコホート研究にて CELA3B の機能喪失型変異が非アルコール性慢性膵炎の発症と関連していることが示された。

今回、既知の膵炎遺伝子変異を有する症例で *TRPV6* および *CELA3B* 変異の関与を検討した。

## B. 研究方法

2007-2021 年の間に既知の膵炎関連遺伝子である Cationic trypsinogen (*PRSSI*), *SPINK1*, Chymotrypsin C(*CRTC*), Carboxypeptidase A1(*CPA1*), Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) の解析を行った再発性急性膵炎(ARP)または CP 患児 [男:女(40:50), 年齢 8.0 歳 (2-15 歳)], のうち、1つ以上の変異を有する 90 例 (*PRSSI*:18 例, *SPINK1*:20 例, *CPA1*:4 例, *CFTR*: 12 例, その他+重複:36 例) を対象とし、サンガーシーケンシング法により *TRPV6* および *CELA3B* 変異を検索した。

(倫理面への配慮)

本研究は順天堂大学の施設審査委員会の承認を得た(承認番号 M18-0016)。本研究への登録に先立ち、各対象者の両親からインフォームド・コンセントを得た。本研究は、1964 年のヘルシンキ宣言およびその後の改正、または同等の倫理基準(2000 年にエジンバラで改訂)に準拠して実施された。

## C. 研究結果

< *TRPV6* 変異 >

*TRPV6* 変異を 14/90 例(15.6%)に認めた[p. A18S (n=3), p. I223T (n=3), p. D324N (n=4), p. V540F

(n=1), p. A606T (n=1), p. C197R + p. M418V + p. M721T(n=3), 重複変異あり]。このうち p. D324N, p. V540F, p. A606T が pathogenic 変異であった。p. D324N 変異を有する 4 例の内訳は、(1) *PRSSI* p. G208A との複合変異 2 例, (2) *PRSSI* p. G208A および *SPINK1* c. 194+2T>C との複合変異 2 例であった。(3) p. V540F 変異を有する 1 例は *CFTR* p. V470M と, (4) p. A606T 変異を有する 1 例は *CFTR* p. V470M, p. R1453W と複合変異を示した。*PRSSI* の「古典的変異」である p. R122H または p. N29I を有する 20 例では、*TRPV6* との複合変異は認めなかった。

< *CELA3B* 変異 >

機能獲得型ミスセンスバリエーションである *CELA3B* codon 90 change を有する症例はなかった。1 例で非病原性変異である *CPA1* p. A341T/A および *CFTR* p. E217G/E と *CELA3B* p. W162C/W の共存が確認された。p. W162C 変異は ClinVar データベースには登録されておらず、MetaRNN 病原性予測スコアは 0.9869(scores range from 0 to 1)であった。この症例は急性リンパ球性白血病(ALL)の 2 歳女児で、膵炎の家族歴はなかった。L-アスパラギナーゼ薬剤性膵炎を初発として、その後膵炎発作を反復していた。ALL 寛解後に膵炎発作は認めていない。

## D. 考察

< *TRPV6* 変異 >

本集団では 6/90(6.7%)例に *TRPV6* の pathogenic 変異を確認した。*TRPV6* p. D324N, *PRSSI* p. G208A, および *SPINK1* c. 194+2T>C はいずれもアジア人に頻度が高い変異であることが知られている。これまでにこれら 3 遺伝子の重複変異による膵炎例の報告はなく、若年性膵炎発症の原因として我が国特有の遺伝学的背景である可能性がある。

< *CELA3B* 変異 >

本集団において 1/90(1.1%)例に *CELA3B* 変異を認めたが、病原性のある既知の膵炎関連遺伝子変異との重複はなかった。この 1 例は化学療法中に膵炎発作を反復しており *CELA3B* 変異は疾患感受性遺伝子の 1 つとして機能した可能性がある。

## E. 結論

本研究では *TRPV6* または *CELA3B* 変異の存在とその複合変異が膵炎発症のリスクになり得ることを報告した。特に，*TRPV6* p.D324N 変異と *PRSS1* p.G208A，*SPINK1* c.194+2T>C の複合変異が確認され，アジア人に特有の若年性膵炎発症の遺伝的背景の存在が示唆された。*CELA3B* 変異は疾患感受性遺伝子として機能している可能性があり，今後さらなる検討が必要である。

## F. 研究発表

### <論文発表>

1. Hirai S, Suzuki M, Sakurai Y, Nakano S, Minowa K, Shimizu T. Co-existence of *TRPV6* variants with other pancreatitis-associated genes affects early-onset chronic pancreatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2023; 76: 483-8.
2. Suzuki M, Hirai S, Sakurai Y, Shimizu T. Does the coexistence of *CELA3B* variants with other pancreatitis-related genes enhance childhood pancreatitis development? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2023;77: e62.
3. Isayama H, Ishii, S, Suzuki M, Shimizu T. Editorial Commentary: From Cradle to Grave: seamless management of chronic pancreatitis but consider the special requests for children. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2023; 12:585-9.
4. Goma M, Hagiwara S, Wada T, Maeyama T, Okamoto N, Ishii S, Etani Y, Atsushi Masamune A. A case of early - onset idiopathic chronic pancreatitis associated with a loss - of - function *TRPV6* p.R483Q variant successfully treated by pancreatic duct stenting. *Clin J Gastroenterol*. 2023; 16:623-7.
5. Ikeda M, Kikuta K, Hamada S, Takikawa T, Matsumoto R, Sano T, Sasaki A, Sakano M, Tarasawa K, Fujimori K, Fushimi K, Masamune A. Trends and clinical characteristics of pediatric acute pancreatitis patients in Japan: A comparison with adult

cases based on a national administrative inpatient database. *Pancreatology*. 2023; 23:797-804.

6. Masson E, Kume K, Kikuta K, Hamada S, Masamune A, et al. The PRSS3P2 and TRY7 deletion copy number variant modifies risk for chronic pancreatitis. *Pancreatology*. 2023; 23:48-56.

### <学会発表>

1. 福嶋健志，鈴木光幸，平井沙依子，櫻井由美子，中野 聡，神保圭佑，箕輪 圭，清水俊明. 小児期反復性・慢性膵炎患者における *CELA3B* バリエーションの検討. 2023.10.20-22 第50回日本小児栄養消化器肝臓学会(仙台)
2. 佐々木滉，菊田和宏，正宗淳. *SPINK1* 変異陽性膵炎症例の臨床像の検討. 2023.11.2-5. 第31回日本消化器病関連学会週間(神戸)
3. 有賀啓之，鹿志村純也，滝川哲也，濱田晋，菊田和宏，正宗淳. カチオニックトリプシノーゲン(*PRSS1*)遺伝子変異を認めた遺伝性膵炎の一家系. 2023.7.21-22. 第54回日本膵臓学会大会(福岡)
4. 濱田晋，佐々木滉，松本諒太郎，菊田和宏，滝川哲也，坂野美紗子，林秀大，正宗淳. 膵特異的 *Trpv6* 欠損は *Spink1* 欠損による膵腺房細胞脱落を促進する. 2023.7.21-22. 第54回日本膵臓学会大会(福岡)

## 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