

常染色体優性多発性嚢胞腎における遺伝子変異と病態の解析

順天堂大学 泌尿器外科学講座

河野 春奈

1. 諸言

常染色体優性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD) は、国の定める難病の1つで、最も頻度の高い遺伝性の腎疾患であり、国内に約1万5千人の患者がいると推定される。両側の腎臓に無数の嚢胞が発生し、継時的に嚢胞が増加、増大することで腎機能が低下し、70歳までに約半数の患者が末期腎不全にいたり腎代替療法を必要とする。また、腎臓のみならず肝嚢胞、脳動脈瘤などの合併症を引き起こす全身性の疾患である。ADPKDの原因遺伝子として、*PKD1* 遺伝子と *PKD2* 遺伝子が同定されており、遺伝子変異パターンにより病状が異なることが知られている。しかし本邦では遺伝子診断の報告が少なく、日本人の遺伝子変異と病態進行の関連の実態が明らかになっていない。

偽遺伝子の存在などにより、長く *PKD* 遺伝子解析は困難であったが、次世代シーケンサー (next generation sequencing : NGS) を用いた全ゲノムシーケンスにより、比較的容易に解析が可能となった。われわれは、既に前研究にて ADPKD 遺伝子のパネル検査法を確立している¹⁾。そこで本研究では、本邦における ADPKD 患者の遺伝子変異の実態と病態との関連を明らかにするため、自施設通院中の ADPKD 患者を対象に遺伝子解析を行い、臨床情報と組みあわせ考察を行った。

2. 方法

患者の末梢 7 mL より genomic DNA を抽出し、常染色体優性多発性嚢胞腎の生殖細胞系列変異の解析と、その病態との関連を検討した。ターゲットシーケンスとして、対象疾患ならびに鑑別すべき疾患の既知原因遺伝子をターゲットとした生殖細胞系列変異のパネル遺伝子検査を行った。対象とする遺伝子は *PKD1*、*PKD2*、*PKHD1*、*TSC1*、*TSC2*、*PRKCSH*、*SEC63*、*LRP5*、*VHL*、*HNF1B*、*MUC1*、*UMOD*、*OFD1*、*GANAB* である。上記ターゲットリシーケンスでカバーできない *PKD1* 遺伝子の Exon1 領域については、遺伝子特異的 Long PCR を行い、これを鋳型としたダイレクトシーケンスを行なった。さらにコピー数多型 (copy number variation) 解析として、Multiplex ligation- dependent probe assay (MLPA) 法で遺伝子の Exon 単位でのコピー数変化を検出した。

このときいくつもの遺伝子変異が検出されるが、ここからどれが病原の変異であるかを特定することが、重要かつ難しいポイントである。ここで、われわれはさまざまなデータベースの情報を用いることで、病原変異の抽出を簡便にした。データベースは、日本人の健常者を集めて新たに構築された、日本人における遺伝子多型データや、Mayo Clinic の ADPKD 変異データベース PKDB (<http://pkdb.mayo.edu>)、米国生物工学情報センターの多型データベース dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) 等を参照した。このようにして得られた遺伝子解析結果と、カルテ上より抽出した患者の臨床情報を照らし合わせ解析を行った。

3.結果

ADPKD と確定診断がついている患者 258 人に対し、遺伝子解析を行った。*PKD1* 変異 186 例、*PKD2* 変異 69 例であり、*PKD2* 変異が全体の 26%と、これまでの報告に比べやや割合が高かった。

258 人の中で、同一家系内での解析は 20 家系計 44 名であった。血縁者間での遺伝子変異部位ならびに病態の違いを解析した。同一家系内の遺伝子変異部位は全て一致した。20 家系中 *PKD1* 変異は 10 家系 26 名、*PKD2* 変異は 10 家系 18 名であった。

親もしくは同胞の年長者を A 群、子もしくは同胞の年少者を B 群と定義した。A 群と B 群の腎機能の差の解析を行う際、ADPKD は年齢とともに進行する疾患であるため、補正を行う必要があった。そのために、B 群が A 群の年齢に達した時の予測腎機能を、Mayo 分類より算出した (図 1)。B 群に対してはこの予測腎機能を用い、A 群と B 群ともにトルバプタン内服例に対しては、内服前の腎機能ならびに Mayo 分類を使用した。

A 群と B 群を比較したところ、A 群の実測推算糸球体濾過量 (estimated glomerular filtration rate : eGFR) 値と B 群の予測 eGFR 値の差が $15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ 以下であったのは、11 家系 (55%) であった。

その他に非典型的な遺伝子変異部位として、*SEC63* 変異 1 例、*OFD* 変異 1 例、*GANAB* 変異 1 例をみとめた。

4.考察

常染色体優性多発性嚢胞腎のガイドラインに基づき、臨床所見より ADPKD と確定診断された患者 258 例のうち、3 例が *PKD1*、*PKD2* ではない部位の遺伝子変異を呈した。うち *SEC63* 変異、*GANAB* 変異は ADPKD に準ずるとされ、これまでも報告がみられる。*OFD* 1 変異例は、ADPKD ではなく、口顔指症候群 1 型であるということが遺伝子診断より明らかになった。この遺伝子変異は、男性の場合ほぼ致死的で出生せず、患者のほとんどが女性である。X 連鎖優性形式で遺伝し、本人のみならずリスクのある近親者も含め遺伝カウンセリングが必要な疾患であることから³⁾、今回の遺伝子解析で明らかになった例も遺伝

カウンセリングへと進んだ。

このように、臨床所見上は ADPKD と考えられていた症例の中にも、遺伝子診断により非常に重要な別の疾患と診断されることがあり、大変有益である。

ADPKD の *PKD1*、*PKD2* 変異症例においては、まず同一家系内での考察を行った。これは、同一家系内では同様の遺伝子変異部位であるにもかかわらず、一定の割合で病状が異なることが知られているためである⁴⁾。今回の研究においては前述のように、同一家系内の遺伝子解析に Mayo 分類を組み合わせることで、腎予後予測に有用な可能性が示唆された。

5. 結語

遺伝子解析にて、臨床所見より ADPKD と確定診断された患者群においても、大変重要な他疾患と診断が変更される例を認めた。また、同一家系内の遺伝子解析に Mayo 分類を組み合わせることで、腎予後予測に有用な可能性が示唆された。

6. 文献

1) Kinoshita M, Higashihara E, **Kawano H**, Higashiyama R, Koga D, Fukui T, et al. Technical Evaluation: Identification of Pathogenic Mutations in PKD1 and PKD2 in Patients with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease by Next-Generation Sequencing and Use of a Comprehensive New Classification System. PLoS One. 2016 Nov 11;11(11): e0166288.

doi: 10.1371/journal.pone.0166288.

2) María V Irazabal¹, Laureano J Rangel², Eric J Bergstralh², Sara L Osborn¹, Amber J Harmon¹, Jamie L Sundsbak, et al. Imaging classification of autosomal dominant polycystic kidney disease: a simple model for selecting patients for clinical trials. J Am Soc Nephrol.

2015 Jan;26(1):160-72. doi: 10.1681/ASN.2013101138.

3) Toriello HV, Franco B, Bruel AL, Thauvin-Robinet C. Oral-Facial-Digital Syndrome Type I. 2002 Jul 24 [updated 2016 Aug 4].

4) Emilie Cornec-Le Gall¹, Marie-Pierre Audrézet, Jian-Min Chen, Marie-Pascale Morin, Régine Perrichot, Christophe Charasse, et al. Type of PKD1 mutation influences renal outcome in ADPKD. J Am Soc Nephrol. 2013 May;24(6):1006-13. doi: 10.1681/ASN.2012070650.

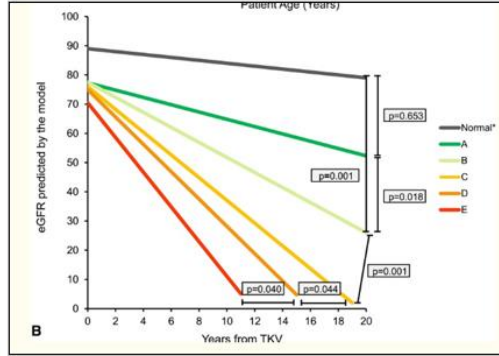
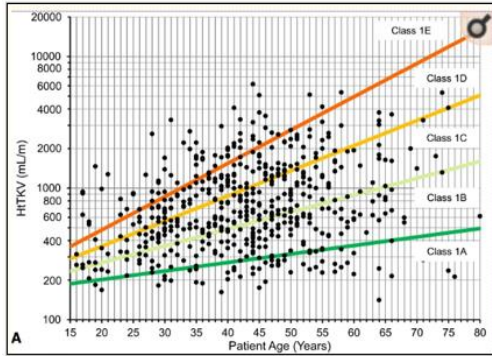
7. 成果発表

(予定、採択済み)

学会発表

- 河野春奈、武藤智、堀江重郎 「同一家系内 ADPKD 患者における遺伝子変異型の検討」第 64 回日本腎臓学会学術総会、パシフィコ横浜、2021/06/20

図 1 : Mayo 分類



[Irazabal MV, et al. J Am Soc Nephrol. 201より引用](#)

(注：転載許諾を受けています)