

# 遺伝子から見た嚢胞性腎疾患

東京大学医学部附属病院小児科

張 田 豊

## はじめに

腎疾患の遺伝的原因が判明するにつれて、その複雑性も明らかになってきた。嚢胞腎などを含む嚢胞性病の原因遺伝子は100近くにもものぼるため<sup>1)</sup>、一つ一つのエクソンを解析するという古典的な手法では原因に辿りつくまでに膨大な時間がかかってしまうことになるが、近年の網羅的な遺伝子解析手法はこの問題を解決した。本稿では網羅的遺伝子解析の動向とその問題点を踏まえ、遺伝子という観点から嚢胞性腎疾患をどのように捉えるかについて概説する。

## 遺伝子解析技術の進歩

サンガー法は古くからシーケンス技術のゴールドスタンダードであったが、その高い感度と特異度から今もその価値は揺るぎないものである。しかし、原因遺伝子が多数存在する場合にはサンガー法で検査をすることの時間と労力、費用を考慮すると実用的にはほぼ不可能である。

短いDNA断片を並列で同時にシーケンスするという次世代シーケンス (Next Generation Sequencing : NGS) 技術はシーケンスにかかるコストと時間を大幅に削減することを可能にし、この技術は遺伝医学全般に革新をもたらした<sup>2)</sup>。NGSの

表1 各種遺伝子検査の特徴

	次世代			古典的
	WGS	WES	ターゲットパネル	サンガー法
ターゲット	全ゲノム	全エクソン	幾つかの遺伝子	1セグメントのみ (-1kb)
解析範囲	ゲノムすべての情報	エクソンすべての情報	原因遺伝子がパネルに含まれている場合のみ解析可能	ゴールドスタンダード
カバー率	>97.5%	90-95%	-100%	-
新規遺伝子変異の検出	+	+	-	-
コピー数異常の検出	+ すべての構造的な異常が検出可能	+ 大きな構造的異常のみ検出可能	パネルの遺伝子について検出可能	
予期せぬ変異の発見	+	+	-	-
イントロンの多型	+ 解釈は困難	-	-	-
費用と時間	高価 (>3x of WES)、 解析時間長い	WGSより安い	WESより安い	複数の遺伝子の場合 高価で時間がかかる
感度特異度	低い	低い	高い	高い
適応	セカンドライン	第一選択	第一選択	変異の確認には 必要不可欠

方法としては以下の三つが臨床的に多用される。ゲノムの全体をシーケンスする全ゲノム解析と、エクソンのみを精製して解析する全エクソン解析、そして幾つかの興味のある遺伝子のみを増幅して検査する遺伝子パネル法である。それぞれの方法の利点と欠点を表1にまとめた<sup>35)</sup>。

全ゲノム解析はエクソンとイントロンのすべての遺伝子多型を検出するものであるが、大量のデータ（全エクソン解析の50倍）を解析する複雑性と高コストのため、臨床的検査としてのハードルは高い。全エクソン解析では幾つかの方法により全遺伝子のエクソンを精製し、解析する。蛋白をコードする部分のみを解析することと低コストであることから全エクソン解析は希少疾患の遺伝子解析手法として広く使われている。遺伝子パネル法では目的とする任意の遺伝子のみを増幅して解析する。そのため目的とする部分についてはリード数（同じ部位をシーケンスする回数）が多くなり、全ゲノムあるいは全エクソン解析より正確な結果を得ることができる。また全エクソン解析よりも低コストであることも利点の一つである。しかし遺伝子パネル法では解析に用いた遺伝子以外のシーケンスは行わないため、未知の遺伝子についての情報は得られないことと、その時点の原因遺伝子のデータしか得られず、原因遺伝子が時代とともに増えるたびにパネルに含まれる遺伝子自体を増やしていく必要があることなどの短所がある。

遺伝子解析技術の一般化は加速度的に進んでおり、全ゲノムを999ドルで解析するサービスもインターネット上で探すことができる。またイルミナという企業は将来全ゲノムを100ドルで解析する技術の開発を目指していると報道されている。こうした網羅的遺伝子解析が一般的な臨床検査として応用されるのはすでに時間の問題と言って良いであろう。

### 遺伝子変異の判定

膨大な遺伝子情報の解析においてはいくつもの変異候補が同定されるため、個々の変異／多型が病原性を持つのかどうかの判断が極めて重要である。一人のヒトの30億対のDNA塩基配列には300万程度の多型が存在し、そのうち遺伝子の中にある多型でも10万と非常に多い。その中で疾患と関係することが知られているエクソンの内部に存在する多型は

1000-5000個存在するが、99%以上は病原とならない良性の多型である<sup>6)</sup>。また病的意義が不明な遺伝子変化多型はVUS (variant of uncertain significance) と呼ばれ、100個ほど検出される。見つかった変異が過去に同様の病態を呈すると報告された変異であれば病気の原因と判断することは容易であるが、小児腎疾患の場合そのようなケースはむしろ少数である。過去に報告がない変異／多型については、最終的には細胞レベルあるいは動物レベルでの機能解析による証明が必要となることも多い。

変異／多型の解釈の上では一般人口での頻度が重要である。病原性の判断シーケンス技術の進歩に併せて大規模なゲノムデータベースの構築も加速度的に進んでおり（東北メディカルメガバンクによる日本人2,049人の全ゲノム解析やExome Aggregation Consortium (ExAC) やgnomADによる10万人以上の全エクソンデータベースなど<sup>7)</sup>、病原性の判断にあたり威力を発揮する。特にgnomADデータベースは東アジア人の遺伝子情報としても最大のものである。米国臨床遺伝学会 (ACMG) と米国分子病理学会は、バリエーションの病原性に対して人口における頻度・in silico予測・機能解析結果・segregation等を総合的に判断し5段階に分けて評価する方法を提唱している<sup>8)</sup>。変異の判断はこのように絶対的なあるいは定性的な（すなわち病原である／ではないという区分）ものではないこと、明らかな異常が検出できない場合にもそれぞれの検査法の限界を理解する必要がある。

### 遺伝子から見た嚢胞性腎疾患

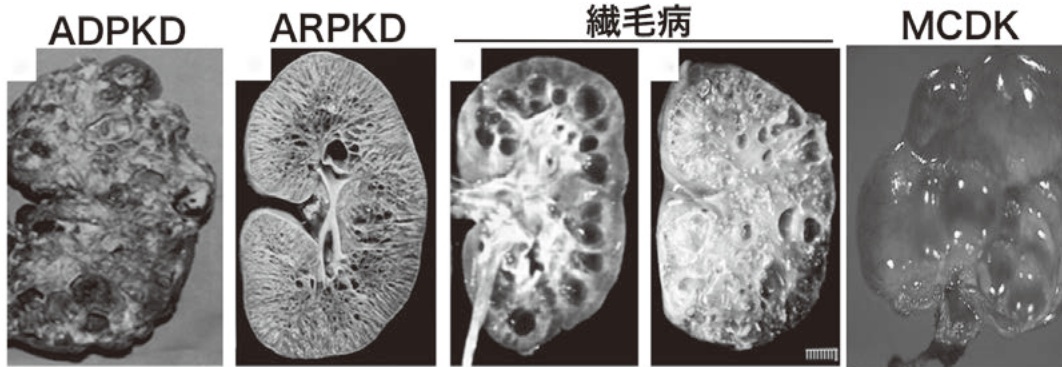
嚢胞性腎疾患としては臨床的にも病理学的にも多彩な疾患が含まれ、それぞれについて遺伝的な背景が明らかになっている。

#### (i) 常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD)

ADPKDは最も多い遺伝性腎疾患であり、海外では500-100人に一人の有病率とされる。両側腎臓に多数の嚢胞が進行性に発生・増大し、60歳までに約半数が末期腎不全に至る。ADPKDは腎病変や高血圧だけではなく肝嚢胞、脳動脈瘤などを合併する。末期腎不全に至る前でも嚢胞感染や脳動脈瘤破裂など致命的な合併症を呈することがある。

ADPKDはPKD1遺伝子（遺伝子座16p13.3）また

図1 様々な嚢胞性腎疾患



はPKD2遺伝子（遺伝子座4q21）の変異により発症する。遺伝子変異を有する患者はほぼ100%発症する。しかし多発する嚢胞により両側の腎臓や肝臓が腫大している典型例については画像診断での診断が容易であり、多くの場合ADPKDは遺伝学的検査の適応にならない。

PKD1あるいはPKD2のいずれが原因であるかにより、臨床像が異なることが知られている。発症年齢はPKD1でより若年であり、末期腎不全に至る年齢も一般に早期である<sup>9)</sup>。PKD1とPKD2は細胞膜上で複合体を形成し、繊毛の根元に局在する。そのため、両者は細胞内の流速を感知するなどの機能を担っていると考えられている。

遺伝子検査としてみるとPKD1は同じ染色体内に偽遺伝子が6つ存在する<sup>10)</sup>ため、特異的にPKD1遺伝子だけを増幅して解析するサンガー法や遺伝子パネル以外の手法（全ゲノム解析あるいは全エクソン解析）ではPKD1の変異を同定することは困難である。近年遺伝子パネル法により本邦の101人のADPKD患者の遺伝子解析が行われ、多くの新規変異が報告されている<sup>11)</sup>。現時点ではADPKDは発症前の予防法や発症後の治療法が確立されておらず発症前診断においては、検査前後の被検者の心理への配慮および支援が必須である。

ADPKDの鑑別疾患としては表2の疾患が挙げられる。結節性硬化症は皮膚、神経系、腎、肺、骨などに過誤腫（良性腫瘍）が発生し、新生児期には心臓の腫瘍（横紋筋腫）、乳児期にはてんかん発作や知的障害、学童期からは顔面血管線維腫が問題になる。この疾患で合併する腎嚢胞は進行性に肥大し腎実質を圧迫して腎不全に至ることが多く、また嚢胞内感染のリスクが高い。Von Hippel-Lindau病は脳や脊髄の血管腫、網膜の血管腫、副腎褐色細胞腫、

表2 ADPKDの鑑別疾患

- ・多発性単純性腎嚢胞（単純性腎嚢胞は40歳で25%、50歳で50%）
- ・多嚢胞化萎縮腎（ACDK、萎縮腎に後天的に嚢胞が出現）
- ・多房性腎嚢胞
- ・常染色体性劣性多発性嚢胞腎（ARPKD）
- ・髄質嚢胞性疾患（ネフロン癆）
- ・多嚢胞腎（多嚢胞性異形性腎 MCDK）
- ・結節性硬化症
- ・Von Hippel-Lindau病
- ・尿細管性アシドーシス

膵臓腫瘍、精巣上体腫瘍等血管の豊富な腫瘍を発症する。腎臓には嚢胞形成と腎細胞癌（70%）を発症する。遠位尿細管性アシドーシスでは尿の酸性化障害を原因として乳幼児期に成長障害で診断される。原因遺伝子はATP6V1B1, ATP6VOA4, AE1が報告されており、代謝性アシドーシス、低K血症が著明である。しばしば多発性の腎嚢胞を合併する。

#### (ii) 常染色体劣性多発性嚢胞腎（ARPKD）

ARPKDは集合管の拡張と胆管異形成および肝内門脈周囲線維化を含む肝病変を特徴とする。肝病変は一般的に単独では先天性肝線維症と呼ばれる臨床的概念であり、ductal plate malformationと呼ばれる組織像を伴う<sup>12)</sup>。頻度は出生一万から四万に一人である。

ADPKDとARPKDの鑑別のポイントを図1に示す。ARPKDは出生前や出生直後に診断される例も多いが、乳児期以降に腎腫大、肝腫大、肝脾腫による腹部膨満などで発見されることもある。また幼少期を乗り越えても門脈圧亢進、食道静脈瘤破裂、細



図2 ADPKDとARPKDの鑑別のポイント



菌性胆管炎などの合併症の管理が重要である<sup>13)</sup>。原因遺伝子はFibrocystin（別名Polyductin）をコードするPKHD1遺伝子である。truncating変異のホモあるいはコンパウンドヘテロでは新生児期を超えての生存は困難なため、患者で同定されるのはmissense変異同士の組み合わせ、またはmissenseとtruncating変異の組み合わせである。FibrocystinもPKD1やPKD2と同様に繊毛部に位置し繊毛を介した細胞内シグナルの調整を行っていると考えられる。

### (iii) 繊毛病

ネフロン癆は常染色体性劣性遺伝を取り、慢性間質性腎障害により慢性腎不全をきたす疾患である。腎髄質の嚢胞形成が特徴であり、病理学的には皮髄境界部に小嚢胞が多数認められる<sup>14)</sup>。ネフロン癆の15%には腎外症状を合併し、様々な症候群が定義されている（Joubert症候群：重度精神運動発達遅滞、先天性視覚障害、眼瞼下垂、小脳虫部欠損、下部脳幹形成異常、Bardet-Biedl症候群：肥満、知能障害、糖尿病、多指症・合指症、網膜色素変性症、性腺機能低下症、Senior-Loken症候群：網膜色素変性症、レーバー先天性黒内障、内臓逆位、口顔指症候群：正中口唇裂、鼻翼低形成、前頭突出、両眼隔離、口角下垂、非対称性の皮膚性合指症、指骨奇形など）。ネフロン癆あるいはそれに類する疾患の原因遺伝子は100近くに及ぶが、いずれも繊毛の機能に関係する分子であり、これらの疾患は広く繊毛病と呼ばれる。

繊毛病では原因遺伝子と症候群名は一対一に対応しておらず、また一つの症候群の原因遺伝子も多数存在すること<sup>15)</sup>に注意すべきである。そのため遺伝的な原因が明らかになることと、臨床像から症候群を定義することは独立した判断となる。現状では遺伝的背景を明らかにする意義は、遺伝形式が明らかになるということと腎外症状の推定ができるという点に限定される。しかし症例の蓄積により遺伝的背景による腎予後の推定が可能となるかもしれない。

ネフロン癆は常染色体性劣性遺伝形式で発症するが、常染色体性優性遺伝形式で発症するものはMedullary cystic kidney disease (MCKD) と呼ばれ、UMOD, REN, MUC1, HNF1Bなどの遺伝子異常が同定されてきた。嚢胞形成が目立たない場合も多く、KDIGOではMCKDに変わりAutosomal dominant tubulointerstitial kidney disease (ADTKD) という用語を推奨している。

### (iv) 多嚢胞性異形成腎

(Multicystic dysplastic kidney : MCDK)

頻度は4300人に一人と日常臨床で接する機会の多い腎疾患である。腎の正常組織が交通のない多数の嚢胞に置き換わる。多くは片側に発症し、半数程度の患者では時間は様々であるが退縮する。片側だと対側が代償性に肥大し、両側だと重度の腎機能障害を呈する。近年では原因遺伝子としてUPIIIA (ウロプラキシン IIIa), HNF1B, PAX2が報告されている。また一部の症例では遺伝子変異ではなくHNF1B遺伝子のコピー数異常も同定されている<sup>16)</sup>。

## おわりに

網羅的遺伝子解析は今後より一般的になることは確実であり、技術的な進展は精密医療（Precision Medicine）を強力に後押しする。一方で現在の情報量では変異や多型の病原性の判断は時に困難である。遺伝子検査結果は患者さんの一生を左右するため、その解釈には慎重な判断が求められる。

現在多くの嚢胞性腎疾患では特異的な治療は未確立であるが、遺伝的原因を同定することにより遺伝カウンセリングや腎外病変の早期発見が可能となる。今後臨床像と合わせた遺伝子情報が蓄積されることにより予後の判定や特異的な治療への道が拓けることを期待したい。

## 【参考文献】

- 1) Vivante A, Hildebrandt F. Exploring the genetic basis of early-onset chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(3):133-146.
- 2) Lee H, Deignan JL, Dorrani N, et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *JAMA.* 2014;312(18):1880-1887.
- 3) Sun Y, Ruivenkamp CA, Hoffer MJ, et al. Next-generation diagnostics: gene panel, exome, or whole genome? *Hum Mutat.* 2015;36(6):648-655.
- 4) Prakash S, Gharavi AG. Diagnosing kidney disease in the genetic era. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2015;24(4):380-387.
- 5) Harita Y. Application of next-generation sequencing technology to diagnosis and treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Clin Exp Nephrol.* 2017.
- 6) Evans JP, Powell BC, Berg JS. Finding the Rare Pathogenic Variants in a Human Genome. *JAMA.* 2017;317(18):1904-1905.
- 7) Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016;536(7616):285-291.
- 8) Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-424.
- 9) Torres VE, Harris PC, Pirson Y. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet.* 2007;369(9569):1287-1301.
- 10) Symmons O, Váradi A, Arányi T. How segmental duplications shape our genome: recent evolution of ABC6 and PKD1 Mendelian disease genes. *Mol Biol Evol.* 2008;25(12):2601-2613.
- 11) Kinoshita M, Higashihara E, Kawano H, 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;11(11):e0166288.
- 12) Hoyer PF. Clinical manifestations of autosomal recessive polycystic kidney disease. *Curr Opin Pediatr.* 2015;27(2):186-192.
- 13) Bergmann C, Senderek J, Windelen E, et al. Clinical consequences of PKHD1 mutations in 164 patients with autosomal-recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *Kidney Int.* 2005;67(3):829-848.
- 14) Hildebrandt F, Zhou W. Nephronophthisis-associated ciliopathies. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(6):1855-1871.
- 15) Braun DA, Hildebrandt F. Ciliopathies. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(3).
- 16) Fu F, Chen F, Li R, et al. Prenatal diagnosis of fetal multicystic dysplastic kidney via high-resolution whole-genome array. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(10):1693-1698.