

令和 2 年 7 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19668

研究課題名(和文)わが国の小児における遺伝性・家族性膵炎の遺伝子変異の同定およびその臨床像の解明

研究課題名(英文)Genetic analysis in childhood hereditary/familial pancreatitis in Japan

研究代表者

箕輪 圭 (Minowa, Kei)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：90770818

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：原因不明の膵炎患児における膵炎関連遺伝子を同定し、的確な診断をつけること、および遺伝性膵炎の臨床像を明らかにすることを目的として、原因不明の反復性・慢性膵炎患者199例の末梢血DNAを用い、膵炎関連遺伝子の解析を行った。77例(38.7%)に変異を認めた(PRSS1:14.1%, SPINK1:17.6%, CTRC:1%, CPA1:8%)。PRSS1変異の内、p.N122H変異では、その単独変異により膵炎を発症していた。家族歴は12例で認められたが、うち10例はp.R122H変異例において認められた。変異を認めた症例の初発年齢中央値は5歳(2-13歳)、約半数に画像検査上の膵管形態の変化を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究集団は、構造異常や薬剤性、自己免疫等の既知の原因が検出されていない若年性の膵炎症例であり、38.7%の症例で遺伝子変異が検出された。明らかな家族歴があるに関わらず変異が検出されない例や、benignとして報告されている変異のみが検出されている例もあり、このような家系に対する網羅的遺伝子解析は今後の課題である。本研究における発症年齢の中央値は5歳と既報よりも早く、半数の症例では小児期早期に膵管形態の変化を来していた。原因不明の膵炎において、画像検査や遺伝子検索により早期の診断を行うことで、治療や経過観察などの早期介入が可能であると考えられ、患児や家族のQOL向上に寄与しうると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aims of this study are, 1) To identify pancreatitis-associated gene mutations in children with pancreatitis induced by unknown cause, 2) To clarify the etiology, clinical course and complications of familial, hereditary pancreatitis. We used blood DNA from 199 patients with repetitive or chronic pancreatitis induced by unknown etiology to determine the pancreatitis-related Genes were analyzed; 77 cases (38.7%) were found to have mutations (PRSS1: 14.1%, (SPINK1: 17.6%, CTRC: 1.0%, CPA1: 8.0%) . The median age of first onset of pancreatitis was 5 years (2-13 years). 23 patients (49%) had changes in pancreatic duct morphology. In patients with childhood-onset pancreatitis, early retrieval and diagnosis of genetic mutations may be a useful tool for therapeutic intervention and follow-up.

研究分野：小児肝胆膵疾患

キーワード：遺伝性膵炎 家族性膵炎 PRSS1遺伝子 SPINK1遺伝子 CTRC遺伝子 CPA1遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小児における急性膵炎は近年報告例が増加傾向にあり、決して稀な疾患ではない。欧米の報告では、年間発症率は小児 10 万人あたり 13.2 人と増加しており、成人の発症率に近づきつつある。成人の急性膵炎の成因として最も多いのはアルコールと胆石であるが、小児における膵炎の原因は多岐にわたり、膵胆道系の構造異常、薬剤性、外傷性、SLE などの全身疾患に伴うもの、特発性、遺伝性・家族性などが挙げられる。厚生労働省の難治性膵疾患に関する調査研究班では、2000 年に遺伝性膵炎・家族性膵炎に関する全国疫学調査を行い、56 家系 143 症例が遺伝性膵炎と、6 家系 12 症例が家族性膵炎と診断されている。さらに同研究班においては 2011 年にも同様の全国調査を行い、82 家系 214 症例の遺伝性膵炎症例を報告している。遺伝性・家族性膵炎の原因のうち、カチオニックトリプシノーゲン (cationic trypsinogen, protease serine 1: PRSS1) や膵分泌性トリプシンインヒビター (serine protease inhibitor, Kazal type 1: SPINK1) 遺伝子変異例では、小児期より膵炎を反復することで、患児およびその家族の QOL が障害され、肉体的・精神的・経済的負担がかかってくるのみならず、将来的に糖尿病や膵外分泌機能不全を発症し、さらには膵癌合併の高危険群となる。また、CPA1 遺伝子変異が第 3 の膵炎遺伝子として報告されており、現在東北大学消化器科およびその協力施設から報告が行われている。これら遺伝子変異による膵癌発症率は標準人口と比べて、約 50~60 倍高率である。PRSS1 および SPINK1 遺伝子解析は 2006 年までコマーシャルベース (SRL (株)) で行われていたが、検査依頼数が少ないために受注中止となった。研究開始当初、国内で遺伝子検査が実施可能な研究施設は 2 か所、海外受注も可能だが検査費用は高額であった。CPA1 遺伝子変異に至っては国内での検査施設は 1 か所のみである。遺伝性膵炎の平均初発年齢は 10 歳代前半であるため、小児科医または小児外科医が初期診療に携わる可能性が高く、平成 26 年には小児慢性特定疾患に認定されたが、遺伝子検査が一般的ではないこと、また本疾患に対する認知度も低いため、小児期に確定診断される症例は少ない。近年当施設において、ダイレクトシーケンス法により *SPINK1* および *PRSS1* の遺伝子変異の解析が可能となり、平成 22 年度からは院内倫理委員会の審査を経て、自施設及び国内他施設からの検体依頼の受託を開始した。大学ホームページや、学会・論文での報告により周知を図ることで、調査開始から現在までに院内症例を含め計 106 検体の解析を行い、31 検体において遺伝子変異を同定し得た。これらの遺伝子変異を有する患者における膵癌発症には、他の成因による慢性膵炎と同様に炎症の持続と反復による膵管上皮の過形成、異形成、*K-ras* 遺伝子変異などが関与していると考えられており、発作間欠期の治療のポイントは急性発作の反復を抑制することである。特に *PRSS1* 遺伝子変異例は常染色体優性遺伝とされているが、孤発例や保因者である両親や同胞が未発症 (将来的に膵炎を発症する) の場合もあり、家族歴が無い場合にも、小児期に他の成因のない再発性膵炎を見た場合には、遺伝子検査の適応となる。成人においては膵炎の原因および関連遺伝子として、*PRSS1* 遺伝子、*SPINK1* 遺伝子以外に、*CTRC* 遺伝子や *CFTR* 遺伝子、*CPA1* 遺伝子などの報告がなされており、小児においても一定数の頻度でこれらの遺伝子変異が検出されるものと思われるが、その疫学および変異に伴う臨床像は明らかではない。原因の明らかでない膵炎患者の中から膵炎関連遺伝子変異を同定し、遺伝性膵炎患者を抽出すること、そして小児期からの臨床像を明らかにすることで、患者の QOL の改善やその後の膵癌発症の抑制に寄与できると考え、今回の研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、原因の明らかでない小児膵炎患者において遺伝性・家族性膵炎の原因遺伝子の同定を行うこと、これらの遺伝子異常に伴う膵炎患者の臨床像を明らかにし、病勢のコントロールや将来的な膵癌の発症予防につなげることを目的とする。

3. 研究の方法

(1)当院および全国の小児・小児外科医療機関において原因不明の反復性膵炎および慢性膵炎として経過観察中の患者の末梢血DNAを用い、ダイレクトシーケンス法により *PRSS1*、*SPINK1*、*CTRC* および *CPA1* 遺伝子の解析を行った。(2)変異が同定された症例における家族歴、発症年齢および画像異常所見などについて情報収集を行った。

4. 研究成果

(1)合計 199 症例について遺伝子解析を行い、77 症例 (38.7%) に遺伝子変異を認めた (*PRSS1*:14.1%, *SPINK1*:17.6%, *CTRC*:1%, *CPA1*:8.0%)。 *PRSS1* 変異の内、p.N122H 変異では、その単独変異により膵炎を発症していた。検出された *CPA1* 遺伝子における変異はすべて、既報においては benign の変異であった。

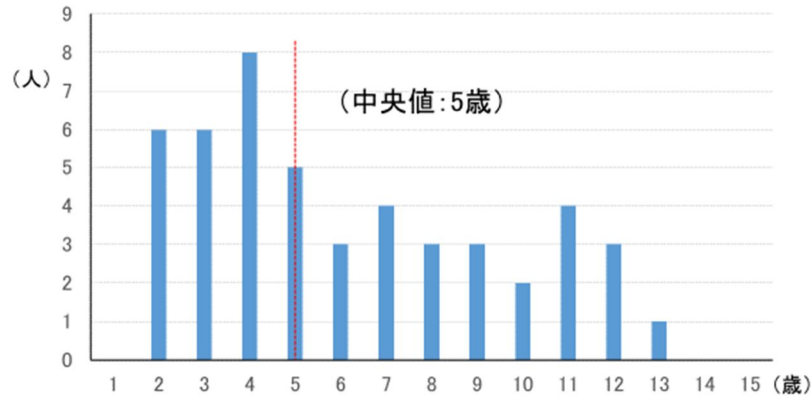
(表1) 遺伝子解析の結果

遺伝子解析症例数	199
<i>PRSS1</i> 遺伝子変異陽性	28 (14.1%)
p.R122H	12
p.N29I	1
p.G208A	7
p.R122H / <i>CPA1</i> p.A341T	2
p.N29I / <i>CPA1</i> p.A341T	1
p.G208A / <i>SPINK1</i> p.N34S	1
p.G208A / <i>SPINK1</i> c.194+2T>C	2
p.G208A / <i>SPINK1</i> p.N34S / <i>CPA1</i> p.A137G	1
p.G208A / <i>CPA1</i> p.A341T	1
<i>SPINK1</i> 遺伝子変異陽性	35 (17.6%)
p.N34S	11
c.194+2T>C	2
p.N34S/c.194+2T>C	13
p.N34S / <i>PRSS1</i> p.G208A	2
p.N34S / <i>CPA1</i> p.A341T	3
c.194+2T>C / <i>PRSS1</i> p.G208A	2
c.194+2T>C / <i>CPA1</i> p.A137G	1
c.194+2T>C / <i>CPA1</i> p.A341T	1
<i>CTRC</i> 遺伝子変異陽性	2 (1%)
p.A28T	1
p.R29Q / <i>CPA1</i> p.A341T	1
<i>CPA1</i> 遺伝子変異陽性	16 (8%)
p.A137G	3
p.A341T	13
いずれの変異も陰性	122 (61.3%)

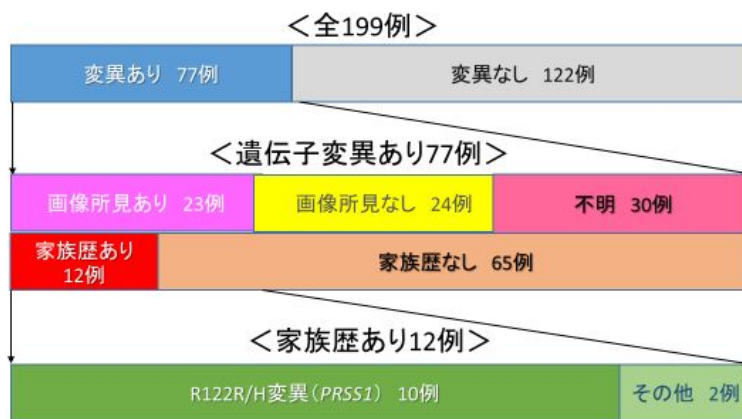
(2)変異が同定された症例についてアンケート方式で情報収集を行い、47 例について回答を得た (回答率 61%)。

遺伝子変異を認めた症例における初発時の年齢中央値は5歳(2-13歳)であった。腹部超音波やMRCP、ERCPによる画像評価では、23/47例(49%)で膵管拡張・狭窄像、膵石などの異常所見を認めた。家族歴は12例で認めたが、うち10例はp.R122H変異症例において認められた。

(図1) 変異を認めた症例における膵炎の初発年齢



(図2) 変異を認めた症例の画像検査異常, 家族歴の有無



本研究集団は、構造異常や薬剤性、外傷性、自己免疫性等の既知の原因が検出されていない若年性の膵炎症例であり、38.7%の症例で遺伝子変異が検出された。明らかな家族歴があるにもかかわらず変異が検出できない例や、benignとして報告されている変異のみが検出されている例もあり、このような家系に対する網羅的遺伝子解析は今後の課題である。本研究における発症年齢の中央値は5歳と既報よりも早く、また、半数の症例では小児期早期に膵管形態の変化を来していた。原因不明の膵炎においては、膵管形態の評価や遺伝子検索により早期の診断を行うことで、治療や経過観察などの早期介入が可能であると考えられ、患児や家族のQOL向上に寄与しうると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 箕輪圭, 鈴木光幸	4. 巻 50
2. 論文標題 小児疾患の診断治療基準 急性膵炎、慢性膵炎	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 小児内科 増刊号	6. 最初と最後の頁 1127 - 1128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iso M, Suzuki M, Yanagi K, Minowa K, Sakurai Y, Nakano S, Satou K, Shimizu T, Kaname T	4. 巻 e-collection
2. 論文標題 The CFTR gene variants in Japanese children with idiopathic pancreatitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 0 - 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-019-0049-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki M, Saito N, Minowa K, Kagimoto S, Shimizu T.	4. 巻 59
2. 論文標題 Validation of severity assessment for acute in children pancreatitis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pediatrics International	6. 最初と最後の頁 1127 - 1128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.13356	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito N, Suzuki M, Sakurai Y, Nakano S, Naritaka N, Minowa K, Sai JK, Shimizu T.	4. 巻 63
2. 論文標題 Genetic analysis of Japanese children with acute recurrent and chronic pancreatitis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of pediatric gastroenterology and nutrition	6. 最初と最後の頁 431-436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 齋藤暢知, 箕輪圭, 鈴木光幸, 清水俊明	4. 巻 37(12)
2. 論文標題 小児慢性膵炎の診断および疼痛治療	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 1587-1590
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 長谷川茉莉, 岡田和子, 高橋健一郎, 馬淵沙希子, 加藤文代, 箕輪圭, 清水俊明, 杉原茂孝
2. 発表標題 急性膵炎を3回反復し、SPINK1遺伝子変異を認めた若年性膵炎の一例
3. 学会等名 第121回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 磯まなみ, 要匡, 鈴木光幸, 柳久美子, 櫻井由美子, 箕輪圭, 清水俊明
2. 発表標題 CFTR遺伝子バリエントは他の膵炎関連遺伝子バリエントとともに小児期膵炎発症に関与する
3. 学会等名 第45回日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Manami Iso, Mitsuyoshi Suzuki, Kumiko Yanagi, Yumiko Sakurai, Kei Minowa, Toshiaki Shimizu, Tadashi Kaname
2. 発表標題 Variants of the CFTR gene in Japanese patients with childhood pancreatitis
3. 学会等名 14th APPSPGHAN (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中野聡, 齋藤暢知, 箕輪圭, 鈴木光幸, 櫻井由美子, 志田泰明, 佐々木美香, 鍵本聖一, 清水俊明
2. 発表標題 PRSS1遺伝子p.G208A変異の小児期の特発性再発性・慢性膵炎への関与
3. 学会等名 第120回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 剣持沙依子, 箕輪圭, 鈴木光幸, 青柳陽, 春名英典, 工藤孝広, 古賀寛之, 石崎陽一, 山高篤行, 清水俊明
2. 発表標題 膵全摘出術に至ったSPINK1およびCPA1遺伝子異常に伴う慢性膵炎の1例
3. 学会等名 第120回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 箕輪圭, 平井沙依子, 中野聡, 齋藤暢知, 鈴木光幸, 清水俊明
2. 発表標題 膵炎発作のコントロールが良好であるにも関わらず膵石灰化の進行を呈したSPINK1遺伝子変異に伴う慢性膵炎の1例
3. 学会等名 第44回日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 磯まなみ, 柳久美子, 鈴木光幸, 櫻井由美子, 箕輪圭, 清水俊明, 要匡
2. 発表標題 本邦の特発性膵炎患児におけるCFTR遺伝子バリエーション
3. 学会等名 第62回日本人類遺伝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 齋藤暢知, 鈴木光幸, 櫻井由美子, 箕輪圭, 中野聡, 成高中之, 藤井徹, 工藤孝広, 大塚宜一, 清水俊明
2. 発表標題 小児特発性膵炎患者における膵炎発症関連遺伝子の関与
3. 学会等名 第115回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 時田万英, 箕輪圭, 鈴木光幸, 青柳陽, 藤井徹, 工藤孝広, 石毛崇, 虻川大樹, 古賀寛之, 崔仁煥, 石崎陽一, 山高篤行, 清水俊明
2. 発表標題 伝子異常による小児期反復性膵炎の治療方針と臨床経過の検討
3. 学会等名 第43回日本小児栄養消化器肝臓学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Nobutomo Saito, Mitsuyoshi Suzuki, Yumiko Sakurai, Satoshi Nakano, Nakayuki Naritaka, Kei Minowa, Jin Kan Sai, Toshiaki Shimizu
2. 発表標題 Genetic analysis of Japanese children with acute recurrent and chronic pancreatitis
3. 学会等名 The 5th WCPGHAN 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 磯まなみ, 柳久美子, 鈴木光幸, 櫻井由美子, 箕輪圭, 清水俊明, 要匡
2. 発表標題 小児特発性膵炎患者における膵炎関連遺伝子の解析
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	鈴木 光幸 (Suzuki Mitsuyoshi)		
研究協力者	櫻井 由美子 (Sakurai Yumiko)		
研究協力者	中野 聡 (Nakano Satoshi)		
研究協力者	齋藤 暢知 (Saito Nobutomo)		