

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17752

研究課題名(和文)腎障害および眼球運動障害、内耳障害を合併する遺伝性疾患の背景

研究課題名(英文)Clinical genetic background in patients with kidney disease, eye movement disorder and inner ear defects

研究代表者

佐藤 芳憲 (sato, yoshinori)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：80515312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で集積できた患者はDRSまたはCCDDを含めて5名(5家系)であった。そのうち4名では腎障害を合併し、病理形態学的にFSGSが3名、IgA腎症が1名であった。家族性は認められなかった。これらの患者には既知の遺伝子変異は認められずまた関連がある遺伝子を含めても変異を認めなかった。これら5名のうち3名(3家系)については家族の方の同意を得てRNA-Seq、Mi-RNA-seqを施行しそのた。これらの患者に共通するDNAレベルでの遺伝子はないものの3名に共通するPathwayとして、DIANDではAxonGuidanceが最も関連しMi-RNAは共通するものがあることが推定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2021年現在においてCCDDを対象にしたRNA-Seqの家系内集団を対象にした研究は行われていない。すべてのCCDDが遺伝を背景にしているかどうかという点も未解明であったが、少なくともRNAのレベルにおいてAxonGuidanceに関するPathwayは同一に障害されていることが見いだされたが、その遺伝学的な背景は全ゲノム解析を用いたDNAレベルの解析ではそれを裏付けできるような変化は認められなかった。この原因としては解析数が限られていたこと、および孤発性であったため、DNAレベルでの遺伝子の絞り込みが困難であったことが考えられる。

研究成果の概要(英文)：All enrolled patients with CCDD(Congenital Cranial Dysinnervation Disorder) are sporadic not familial cases. 4 of 5 patients presented renal phenotype who diagnosed by FSGS (Focal Segmental Glomerular Sclerosis) and IgA nephropathy. We conducted whole genome (WGS) or whole exome sequence (WES) and RNA-seq (including small-RNA) study. As result of WGS and WES, described deleterious mutations are not detected. RNA-seq and small RNA sequence sequence reveal common pathway in three patients showed Axon Guidance analyzed by KEGG pathway using DIAND-miRPath ver3.0, which means the hypothesis reflected by undiscovered inherited common mechanisms.

研究分野：clinical genetics

キーワード：CCDD FSGS DRS RNA-seq

1. 研究開始当初の背景

巣状系球体硬化症は難治性ネフローゼ症候群の代表的病理疾患名であり腎不全への進展が認められる点で腎臓内科領域では重要な疾患群である。同症には他の疾患に続発する二次性と、単独で起こる一次性が存在するがいずれも遺伝性の背景を伴い発症するものが少なからず存在する。

CCDD(Congenital Cranial Dysinnervation Disorder)も同様であり、遺伝性の背景を伴い発症するものが少なからず存在する。その代表的な疾患である DRS (Duane Retraction Syn) では Syndromic DRS と総称される眼以外の症状を特徴とするものが存在する。

CCDD は一部では遺伝性が明らかでありこれまで 3 つの遺伝子 (CHN1、COL25A1,MAFB) が原因遺伝子として同定されている。これらの中には、腎障害を合併する家系もあり、研究者らは MAFB の DNA 結合領域のミスセンス変異が原因遺伝子と同定し報告した(Kidney Int. 2018 Aug;94(2):396-407) .

現在までに精力的にこれらの CCDD の患者に対してこれら 3 つの遺伝子変異の合併の有無を検索する遺伝子研究がおこなわれてはいるが、いまだに大多数の患者ではこれらの遺伝子変異は存在しておらず、さらに明確な家系を呈する家系でもこれらの遺伝子変異はあまり検出されていないことから、劣性・優性遺伝いずれの形態においても、まだ多くの未知の原因遺伝子が存在すると考えられている。

本研究者らが発見した表現型は腎障害を合併しておりこれらの表現型は SALL-4 などの一部でしか認められない。表現型として CCDD に腎障害を合併している患者でもこれらの変異遺伝子 (SALL-4、MAFB) が同定されない患者もいるため、未知の遺伝子が関与している可能性が考えられている。それらは MAFB・SALL-4 と会合する遺伝子群が推察されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は既知の 3 つの遺伝子変異 (CHN1、COL25A1,MAFB) がどれだけ CCDD の中で検出されるのか

腎障害を合併する CCDD の患者ではこれらの変異は同定されるのか？また未知の遺伝子変異は同定されるのか？

DNA レベルでの変化は RNA レベルでどのように機能的な変化を起こし Axon Guidance にどのような影響を及ぼすのか？

3. 研究の方法

本研究では CCDD の頻度が少なくとも 0 . 1 % と見積もられている一方で原因遺伝子はわずかに 3 つしか同定されていない点に着目し主に CCDD を症候性の有無にかかわらず研究参加を依頼しその中で症候性のものがないかを精査していく方針とした。研究同意が得られた患者様の採血においては最初から DNA、RNA の解析が可能な採血を行い保存を行った。

遺伝子解析においては CCDD の新規の原因遺伝子を同定するため、まず既知の遺伝子変異がある家系は除き、MAFB 遺伝子到会合するものから絞り込みを行い遺伝的背景に関しては DNA レベルのみでなく RNA (SmaIIRNA 含む) レベルからの解析を併用することとした。

腎障害の合併の有無にかかわらず広く CCDD (主に Duane 症候群、DRS) の患者を幅広く募集し、全ゲノム解析・RNA-Seq を家系内に施行した。その遺伝的背景の観察を行った。原因遺伝子の同定には、家系内の症状の有無から Segregation を追う方法を採用し絞り込みを行った。また、遺伝性疾患に対しては用いられることの少ない RNA-Seq を併用した家系内の表現型の差異

の背景の観察を試みた。

4. 研究成果

本研究で集積できた患者は DRS または CCDD を含めて 5 名 (5 家系) であった。そのうち 4 名では腎障害を合併し、病理形態学的に FSGS が 3 名、IgA 腎症が 1 名であった。内耳障害は 3 名に認められており、そのうち 2 名は両側性であった。CCDD のうち DRS が 4 名であり両側性は 2 名であった。残りの 1 名は先天性両側眼瞼下垂を伴う外転神経麻痺であり、現在まで報告のない表現型であった。家族性は認めらなかった。

これらの患者には既知の遺伝子変異 (MAFB/CHN1/COL25A1) は認められず、また関連がある遺伝子を含めても変異を認めなかった。これら 5 名のうち 3 名 (3 家系) については家族の方の同意を得て RNA-Seq、Mi-RNA-seq を施行した。これらの患者に共通する DNA レベルでの遺伝子はないものの 3 名に共通する Pathway を認めた。RREACTOME、KEGG などの Pathway 解析ではいずれも Axon guidance が最も上位に関連していた。

Mi-RNA Seq では miR-30a-5p、miR-656-3p、miR-4518 などが特に上昇しており DIAND Mi-Path でも RNA-Seq と同様に AxonGuidance が最も関連し Mi-RNA の変化において共通するものがあることが推定された。これらの変化が DNA レベルでの変化を反映しているのか、それとも疾患そのものをただ反映しているのかは今後の研究が必要であると考えられる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Usui Toshiaki, Morito Naoki, Shawki Hossam H., Sato Yoshinori, Tsukaguchi Hiroyasu et.al	4. 巻 98
2. 論文標題 Transcription factor MafB in podocytes protects against the development of focal segmental glomerulosclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 391 ~ 403
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2020.02.038	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Sato Yoshinori
2. 発表標題 A mutation in transcription factor MAFB causes Focal Segmental Glomerulosclerosis with Duane Retraction Syndrome.
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2019年 ~ 2020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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------