

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790981

研究課題名（和文） 最新技術を駆使した先天性腎尿路奇形の網羅的遺伝子解析と疾患データベースの構築

研究課題名（英文） comprehensive gene analysis and disease database in congenital anomalies of kidney and urinary tract

研究代表者

貝藤裕史 (KAITO HIROSHI)

神戸大学・大学院医学研究科・特命助教

研究者番号：60457067

研究成果の概要（和文）：小児における腎不全の主要因である先天性腎尿路奇形（CAKUT: Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract）について、近年その責任遺伝子がいくつか同定されている。しかしこれらの遺伝子を網羅的に解析し、その割合や遺伝子型および表現型にみられる特徴などをまとめた研究は世界的にみても存在しない。本研究では、CAKUTを対象に、これまでに報告されている全責任遺伝子について解析を行い、表現型と責任遺伝子およびその異常との関係について検討し、CAKUT データベースを構築することを第一の目的とする。また同時に CAKUT 発症および重症度を修飾する遺伝子や環境因子の存在についても検討し、CAKUT 発症のメカニズムを分子生物学的に解明する。

まず、CAKUT 症例を広く収集し、これまでに CAKUT の責任遺伝子として報告され、さらに変異を有する頻度が比較的高いとされる TCF2、PAX2 について PCR および直接シーケンス法を用いて網羅的解析を行った。また、変異が同定できなかった症例についてあわせて EYA1、SIX1、SALL1、RET などその他の遺伝子についても PCR および直接シーケンス法による解析を行った。現在解析が終了している中で変異が同定された症例は計 3 例で、それぞれ PAX2 (2 例)、SALL1 (1 例)であった。いずれの変異も同定されなかった症例のうち、腎以外の臨床症状を有する症例についてはアレイ CGH など他の解析方法を導入する予定である。

研究成果の概要（英文）：Disease-causing mutations in congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT), which is the main factor of the renal insufficiency in the infant in late years, have been identified. However, there are no reports which analyze these genes comprehensively and clarify genotype-phenotype correlations. In this study, I first analyzed these genes comprehensively and examine genotype-phenotype correlations in CAKUT. In addition, I examine the existence of a gene and the environmental parameter to modify the CAKUT onset and disease severity at the same time.

At first I collected CAKUT cases widely and PCR and direct sequence method were performed in TCF2 (HNF-1 β) and PAX2. If no mutations were found, PCR and direct sequence method were also performed about EYA1, SIX1, SALL1, other genes including RET. The case that variation was identified while analysis is finished is three cases in total now; each was PAX2 (2 example), SALL1 (1 example). Both variations are going to introduce other methods of analysis including array CGH about the case having the clinical manifestations except the kidney among the cases that were not identified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	1,600,000	480,000	2,080,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：小児科学

キーワード：小児腎・泌尿器科学

1. 研究開始当初の背景

小児における腎不全の主要因である先天性腎尿路奇形 (CAKUT: Congenital Anomalies of Kidney and Urinary Tract) について、近年その責任遺伝子がいくつか同定されている。病期の進行抑制を目標とした治療開発には遺伝子型と表現型のデータを蓄積することが必須と考えられるが、現在のところこれらの遺伝子を網羅的に解析し、その割合や遺伝子型および表現型にみられる特徴などをまとめた研究は世界的にみても存在しない。

2. 研究の目的

CAKUT を対象に、これまでに報告されている全責任遺伝子について解析を行い、表現型と責任遺伝子およびその異常との関係について検討し、CAKUT データベースを構築することを第一の目的とする。また同時に CAKUT 発症および重症度を修飾する遺伝子や環境因子の存在についても検討し、CAKUT 発症のメカニズムを分子生物学的に解明する。

3. 研究の方法

日本全国から CAKUT 症例を広く収集し、以

下について検討する。

(1) 表現型のデータベース構築

収集された CAKUT 症例の表現型について、腎症状および腎外症状(外表奇形、感覚器障害、知的発達遅滞、運動発達遅滞、周産期歴など)についてデータベース化する。

(2) CAKUT 遺伝子の解析

(2)-1 CAKUT 症例の末梢血からゲノム

DNA を抽出し、CAKUT の責任遺伝子である TCF2(HNF-1 β)、PAX2 について全エクソンおよびエクソンイントロン境界領域を直接シーケンス法で解析する。

(2)-2 (2)-1 で変異が同定できなかった症例に対して、EYA1, SIX1, SALL1, RET 遺伝子について全エクソンおよびエクソンイントロン境界領域を直接シーケンス法で解析する。

(3) 遺伝子変異データベースの構築

(2)で変異が同定された症例につき責任遺伝子ごとにその遺伝子型についてデータベースを作成する。

(4) 表現型データベースと遺伝子型データベースとの検討

CAKUT 症例は日本小児腎臓病学会員に、

学術集会などを通じて広く研究内容を周知し、症例および試料の提供につき依頼する。

4. 研究成果

10 例の CAKUT 症例を収集し、解析を行った。

(1) 表現型の詳細

(1)-1 腎症状の表現型

両側低形成腎(6)

多嚢胞性異形成腎(3)

片側低形成腎、片側多嚢胞性異形成腎(1)

(1)-2 腎外症状の表現型

眼 coloboma(2)

広汎性発達障害(1)

精神発達遅滞(1)

運動発達遅滞(1)

なし(6)

(2) 遺伝子解析

2 例(両側低形成腎+眼 coloboma の 2 例)に PAX2 遺伝子異常を同定した。

1 例(両側低形成腎+精神運動発達遅滞の 1 例)に SALL1 遺伝子異常を同定した。

(3) 考察

今回、CAKUT の責任遺伝子であることがすでに明らかとなっている遺伝子について網羅的に解析を行い、表現型と責任遺伝子およびその異常との関係について検討した。解析対象となった 10 例のうち、既知の遺伝子に変異が明らかとなったしょうれいは 3 例であった。既知の遺伝子に変異が同定される症例は腎外症状を有する CAKUT 症例での検討では 10-20%と過去に報告されている。本研究では既報告と同等かあるいはやや高率に変異を同定し得た。この理由は、既知の責任遺伝子について網羅的に解析を行ったためであると考えられる。またその一方で、網羅的解析を行ったのにもかかわらず変異検出率が比較的低率であったのは、未知の責任遺伝子あるいは修飾遺伝子の存在を示唆するものと考えられる。

本研究で遺伝子変異を同定し得た 3 例はいずれも腎外症状を有していた。腎症状のみが表現型である CAKUT 症例の遺伝子型は単一遺伝子異常ではない可能性がある。今後このような症例に対しては、さらに腎表現型を詳

細に分類したうえで array CGH や CNV 解析
を行って検討する必要があるものと考えら
れた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に
は下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1) Ohtsubo H, Morisada N, Kaito H,
Nagatani K, Nakanishi K, Iijima K.
Alport-like glomerular basement
membrane changes with renal-coloboma
syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2012 Feb 21.
[Epub ahead of print]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

貝藤裕史 (KAITO HIROSHI)

神戸大学・大学院医学研究科・特命助教

研究者番号 : 60457067