



Natural History and Genotype-Phenotype Correlation in Female X-Linked Alport Syndrome

Yamamura, Tomohiko

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7134号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007134>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Natural History and Genotype–Phenotype Correlation in Female X-Linked Alport Syndrome

X 染色体連鎖型 Alport 症候群女性の臨床遺伝学的検討

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
小児科学
(指導教員：飯島一誠教授)

山村 智彦

【背景】

X 染色体連鎖型 Alport 症候群 (XLAS) は、IV 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖をコードする *COL4A5* 遺伝子の変異により発症し、進行性の腎機能障害に感音性難聴や眼病変の合併を特徴とする遺伝性疾患である。ヘミ接合体変異で発症する男性患者は一般的に重症の経過を辿り、平均 35 歳程度で末期腎不全 (ESRD) に至る。過去の研究により男性患者ではナンセンス変異を有する患者が、ミスセンス変異を有する患者と比較し重症となる (遺伝子型と臨床像の相関関係) ことが明らかとなっている。一方、ヘテロ接合体変異で発症する女性患者は一般的に男性患者より軽症であることが知られているものの、その臨床症状は全くの無症状患者から若年で ESRD に至る症例まで様々である。過去に XLAS 女性患者の大規模な報告は 1 編のみであり、195 家系の XLAS 女性患者の臨床像を解析した結果、40 歳までに 12% の患者が ESRD に至り、遺伝子型と臨床像の相関関係も認められなかったと報告されている。そのため、現在まで XLAS 女性患者の重症化因子は不明となっている。

今回我々は、過去に当科で遺伝学的に診断した XLAS 女性患者についてその臨床像を明らかにするとともに、遺伝子型と臨床像の相関の有無について検討した。さらに、重症女性患者に対して次世代シーケンサー (NGS) を用いた疾患修飾遺伝子の網羅的解析を行なった。

【方法】

対象は 2006 年 1 月から 2015 年 12 月までに当科で遺伝学的に診断を行なった 250 家系の XLAS のうち、179 家系の 275 人の女性患者および、遺伝学的診断はなされていないものの、遺伝子変異を有することが予想される 61 人の有症状患者家族女性である。これら計 336 人について、診療録を元に血尿・蛋白尿の有無とその出現年齢、ESRD の有無とその到達年齢、難聴および眼合併症の有無について検討した。また、蛋白尿出現年齢と ESRD 到達年齢に関してはカプランマイヤー曲線を作成しその年齢中央値を求めた。これらの患者の大半は他院で継続フォローをされる中で、腎病理所見や家族歴から Alport 症候群が疑われ当科に遺伝子検査目的に紹介になっている。また、全ての臨床データは患者の主治医が記載した調査書の内容に基づいており、遺伝子解析時点でのデータである。日本においては 1 年に 1 回の尿検査が全ての学生および大半の成人に義務付けられており、異常所見を認めた場合には更なる評価が行われるようになっているため、早期に Alport 症候群の診断を行うことが可能である。

この研究において、蛋白尿の定義は早朝尿における蛋白/クレアチニン比 0.2g/g・Cre 以上が最低 3 か月続くこととした。また、全ての患者は遺伝子解析前に眼科医による眼合併症の評価を行うように依頼した。更に、日本においては全ての学生に対する聴覚機能スクリーニング検査が 6、7、8、10、13 および 15 歳に義務付けられており難聴はこれにより発見し得る。

遺伝学的診断は、サンガー法による *COL4A5* 遺伝子の解析もしくは NGS 疾患パネルによる *COL4A5* 遺伝子を含めた網羅的遺伝子解析を行なったのち、変異が同定できない症例についてはコピー数異常の解析や mRNA の解析を追加した。更に、60 歳以前に ESRD に至った

症例および 3 歳以前に蛋白尿が出現した症例を重症患者と定義し、これらの患者に対して NGS を用いて疾患修飾遺伝子として重症化に関与し得る既知のポドサイト関連 45 遺伝子の網羅的解析を施行した。

【結果】

遺伝学的診断を受けた 275 人の臨床的特徴を Table 1 に示した。診断時年齢中央値は 24 歳、血尿は 97.6% の患者に、蛋白尿は 72.6% の患者に認め、蛋白尿出現年齢の中央値は 7 歳であった (Figure 1)。また、ESRD は 33 人で認め、腎生存曲線を作成し求めた腎生存年齢中央値は 65 歳であり、40 歳の時点で 15% の患者が ESRD に至っていた (Figure 2)。また、合併症に関して、難聴、眼合併症についてはそれぞれ 5.5%、1.5% に認めた。治療に関しては、遺伝子解析時点の年齢の若く、蛋白尿を呈している患者において ACE 阻害薬や ARB の投与が行われている症例が少数存在したものの、ESRD 至った全ての患者を含めた年長の患者にはこれらの治療を受けていなかった。さらに、遺伝学的に確定診断に至っていない有症状女性家族を含めた 312 人について腎生存曲線を作成した結果、計 52 名が ESRD に至っており、その進行年齢中央値は 65 歳であった。(Figure 2)。

また、Table 2 にまとめた遺伝子型別に腎生存曲線を作成したが、遺伝子型と臨床像に相関は認めなかった (Figure 3, Figure 4) 他、難聴の有無で腎生存曲線を作成したものの、両者に有意な差は認めなかった。更に、重症 24 例に対する NGS による疾患修飾遺伝子の解析では 1 例で *COL4A3* 遺伝子にナンセンス変異の合併を認めたものの、その他の症例では明らかな変異を認めなかった。

【考察】

本研究において我々は、過去に同様の研究が 1 篇しか存在しない女性 XLAS 患者の臨床遺伝学的検討を行なった。今回の研究は過去の研究と同等のサンプルサイズであり、更に全例が日本人であり民族的均一性を持っているという点で優れていると考えられる。

今回の検討において血尿の陽性率は非常に高く (97.9%)、これは過去の報告 (95.5%) と同等であるものの、血尿すら認めない無症状保因者がいることに留意する必要がある。蛋白尿の陽性率 (72.6%) も過去の報告 (75.2%) と同様であった。さらに、今回の我々の検討において蛋白尿の出現年齢中央値が 7 歳であることが初めて明らかになった。日本においては毎年の学校検尿システムを導入しているため、このデータは信頼できるものと考えられる。

腎外症状に関して、難聴と眼病変は少数の患者で認めた (5.5%、1.5%) のみであった。この有症状率は過去の報告 (それぞれ 28% と 15%) と比較しかなり低くなっている。眼病変の有症状率の低さは不十分な眼科的スクリーニングの影響が考えられる。難聴の有症状率の低さに関しては、人種による差の他、今回の我々のコホートの年齢が若いことも要因の一つと考えられる。

これまで女性 XLAS 患者の腎予後は一般的に良好と考えられており、それ故に治療も最小

限のものとなっていた。過去の Jais らの報告では 349 人の女性 XLAS 患者のうち 51 人が ESRD に至り、そのうちの 55% が 40 歳までに、最も早い症例では 19 歳で ESRD に進行していた。また、彼らは 40 歳までに ESRD に陥るリスクは 12% と報告しているが、ESRD 進行年齢中央値は 80 歳以上となり算出できないとしている。今回の検討では 336 名の女性 XLAS 患者のうち 52 名が ESRD に至り、最も早い進行年齢は 15 歳であった。また、ESRD 進行年齢の中央値は 65 歳であり、40 歳までにおよそ 15% の症例が ESRD に至ることが判明した。以上の結果からは、女性 XLAS 患者の予後は決して良好ではなく、早期の薬物療法を含めた治療戦略を考慮する必要があると考えられる。

男性 XLAS 患者に関しては臨床像と遺伝子型に強い相関があることが過去に報告されているものの、女性患者においてはこの解析はほとんど行われてこなかった。我々は女性 XLAS 患者の腎予後を遺伝子型別に比較したが、ESRD 進行年齢に有意な差は認めず、遺伝子型は女性 XLAS 患者の重症度に関与しないと結論づけるに至った。また、女性 XLAS 患者の腎予後は継続的な RAS 阻害薬の使用によって影響を受ける可能性があるものの、今回解析した患者のほとんどが薬物治療導入前に遺伝子解析をしており、その時点での臨床情報から腎生存曲線を作成しているため、腎保護的に働く RAS 阻害薬の影響はほとんどないと考えられた。

本研究にはいくつかの limitation が存在する。1 点目は早期に出現した蛋白尿が腎予後に与える影響であり、これは我が国における学校検尿システムが約 40 年前に開始されたものあり、今回の調査で ESRD に至った患者の多くについてその蛋白尿出現年齢が不明であるためである。2 点目に、コントロール不良の高血圧や NSAIDs の継続使用、子癇発作、偶発的な腎疾患など腎予後に関連する臨床情報が十分に収集できていないことが挙げられ、今回の検討ではこれらの因子が腎予後に与えた影響は検討できていない。

また、過去には *COL4A5* 遺伝子と *MYH9* 遺伝子の双方に病的変異を認めた患者において、XLAS の症状が重症であったという報告や、*COL4A3*/*COL4A4*/*COL4A5* 遺伝子のいずれか 2 つに病的変異を認めた場合には、1 つの遺伝子にのみ変異を有する場合より重症となることが報告されている。これらの事実を受け、今回我々は NGS を用いて疾患修飾遺伝子となり得る遺伝子変異について網羅的解析を行ったものの、1 例で *COL4A3* 遺伝子変異を同定した以外に明らかな疾患修飾遺伝子の変異は同定できなかった。以上より疾患修飾遺伝子が女性 XLAS 患者の腎予後に与える影響は限定的と考えられた。

以上より、女性 XLAS 患者の臨床像は必ずしも軽症ではなく、臨床医は患者の臨床経過や治療管理計画に注意を払う必要がある。また、臨床像と遺伝子型に相関は認めないことが確認された。更に、ほとんどの重症患者で疾患修飾遺伝子の変異は同定されなかったことより、女性 XLAS 患者の重症度を多因子によって規定されるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲第 2757 号	氏 名	山村 智彦
論 文 題 目 Title of Dissertation	X 染色体連鎖型 Alport 症候群女性の臨床遺伝学的検討 Natural History and Genotype-Phenotype Correlation in Female X-Linked Alport Syndrome		
	主 査 西 慎一 Chief Examiner 副 査 匂坂 敏朗 Vice-examiner 副 査 錦織 千佳子 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

背景と目的:

X 染色体連鎖型 Alport 症候群は、進行性の遺伝性腎疾患である。腎臓以外にも目、耳などの異常も伴うことがある。男性の場合は、青年期までに末期腎不全に進行することが多いが、遺伝子異常のタイプにより腎機能低下速度が異なる。しかし、女性の場合は、一般に腎機能低下の進行は緩徐であり、遺伝子異常のタイプと腎疾患進行速度との関連性は十分に検討されていない。本研究では、この点を研究することを目的としている。方法: 2006 年から 2015 年までに、遺伝子診断で X 染色体連鎖型 Alport 症候群と診断されている女性症例 275 例とその女性家族 61 例を 179 家系から抽出して対象とした。症例群は、日本各地の病院から Alport 症候群を疑われ紹介された症例で、今回後方視的に解析をこころみた。臨床所見及び検査所見は臨床記録から抽出した。腎生存率の比較解析に関しては、Kaplan-Meier 法を用いた。統計解析ソフトは JMP Version10 を使用した。

結果:

蛋白尿は、275 例中 175 例 (72.6%)、血尿は 232 例 (97.9%)、末期腎不全は 33 例 (12.0%)、聴力障害は 15 例 (5.5%)、そして眼疾患は 4 例 (1.5%) に認められた。蛋白尿出現年齢は平均 7.0 歳であった。遺伝子異常が X 染色体連鎖型でない症例も含めた 336 例の患者中の解析では、52 例が末期腎不全に至り、その平均年齢は 65.0 歳であった。15%の症例は 40 歳前に末期腎不全に至っていた。

遺伝子解析では、275 例中ミスセンスミューテーションが 137 例、スプライシングミューテーションが 49 例、スモールデリションが 31 例、ナンセンスミューテーションが 25 例、ラージリアレンジメントが 21 例、インサクション+デュプリケーションが 12 例であった。これらの遺伝子異常群の間には末期腎不全発症率の差異は認められなかった。最大群である、ミスセンスミューテーション群とその他の遺伝子異常群の 2 群で比較した場合も、末期腎不全発症率には有意差は認められなかった。足細胞関連遺伝子の異常も検索したが、重症例に対する疾患修飾遺伝子となる候補は殆ど見つからなかった。

結論:

以前より女性 Alport 症候群の腎予後は比較的良好であると言われてきた。しかし、今回の解析結果からは、女性の X 染色体連鎖型 Alport 症候群例の腎予後は必ずしも良好とは言えないことが明らかとなった。また、遺伝子異常のタイプは腎予後を予測することに関しては役立たないことも示された。他の研究者の報告でも、40 歳までに末期腎不全に至る率は 55%であるとする報告もある。今回の結果からは、X 染色体連鎖型 Alport 症候群の腎予後に関しては慎重な経過観察が必要であることが判明した。

以上の研究は、重要な知見を得たものとして、価値ある業績であると認める。よって本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があるものと認める。