



Clinically diverse phenotypes and genotypes of patients with branchio-oto-renal syndrome

Unzaki, Ai

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2020-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7722号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007722>

※ 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

Clinically diverse phenotypes and genotypes of patients with
branchio-oto-renal syndrome

鰓耳腎症候群における多様な臨床表現型と遺伝型の検討

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)

運崎 愛

【背景】

鰓耳腎 (Branchio-oto-renal (BOR)) 症候群は鰓原性奇形、種々の難聴、先天性腎尿路異常 (congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT)) を特徴とする常染色体優性遺伝疾患である。BOR 症候群はまれな疾患で、頻度はヨーロッパ人口では 4 万出生に 1 人、わが国では 2010 年の全国調査で医療受療者数約 250 人と推定された。BOR 症候群の原因遺伝子として *EYAI* (8q13.3)、*SLXI* (14q23.1)、*SIX5* (19q13.32) が知られている。また、Townes-Brocks 症候群 (TBS) の原因遺伝子である *SALL1* (16q12.1) の病的変異を、BOR 症候群様の表現型の患者で認めることがある。BOR 症候群の原因遺伝子として *EYAI* 変異が最も高頻度である。*EYAI* は腎の発生に重要な転写因子であり、第 1、第 2 鰓弓の発生においても重要である。*EYAI* の病的変異を持つ患者の表現型は、特に腎疾患において様々である。現在のところ、BOR 症候群の遺伝型と表現型との関連は見いだされていない。この研究では、日本人の BOR 症候群患者において、表現型と原因遺伝子についての関連を検討した。

【方法】

2010 年 9 月から 2017 年 9 月に、臨床的に BOR 症候群と診断された日本人患者について、その遺伝型と表現型を検討した。BOR 症候群の診断は Chang らの診断基準を用いた。主症状として、①第 2 鰓弓奇形 (頸嚢胞、頸瘻を含む)、②難聴、③耳小窩、④耳介奇形、⑤腎奇形、副症状として①外耳道奇形、②中耳奇形、③内耳奇形、④副耳、⑤顔面非対称、口蓋奇形があり、家族歴がない患者は主症状 3 つ以上、もしくは主症状 2 つ以上と副症状 2 つ以上で BOR 症候群と診断した。家族歴がある患者は主症状 1 つ以上で BOR 症候群と診断した。中等度から重度の知的障害や運動発達遅滞、眼瞼裂開大、軸前多指症、鎖肛など他に特徴的な症状を認める患者は他の症候群である可能性が高いため解析から除外した。遺伝子解析は、まず *EYAI*、*SIX1*、*SALL1*、*SIX5* の直接シーケンスを行い、必要に応じて MLPA 法、アレイ CGH、次世代シーケンサーによるパネル解析を追加した。

【結果】

<遺伝子解析>

36 家系、51 例の患者が臨床的に BOR 症候群と診断され、26 家系 38 例の患者で原因遺伝子が同定された。15 例は直接シーケンス法、6 例は MLPA 法、3 例は次世代シーケンサーを用いた網羅的解析、2 例はアレイ CGH で同定した。このうち、22 家

系 34 例の患者で *EYAI* 変異を認めた。内訳はナンセンス変異 6 家系、フレームシフト変異 4 家系、ミスセンス変異 3 家系、スプライスサイトの変異 3 家系、MLPA 法でエクソン単位の欠失を 6 家系で認めた。*SIXI* 変異は 1 家系、*SALLI* 変異は 2 家系で、1 家系は 22q テトラソミーであった。10 家系 13 例の患者は BOR 症候群関連遺伝子の変異を認めなかった。

<臨床症状>

原因遺伝子の変異を同定できた患者のうち、聴力検査を行なった患者はすべて難聴を認めた。*EYAI* 変異患者のうち、18 家系 23 例の患者に CAKUT を認めた。*EYAI* 変異患者の CAKUT のうち、最も頻度が高かったのは低形成・異形成腎で 10 例に認めた。また原因不明の腎機能不全は 7 例に認めた。したがって *EYAI* 変異患者の 50% 以上で低形成・異形成腎もしくは原因不明の腎機能不全を認めた。4 例が腎移植を必要とした。同じ家系内でも表現型は様々であった。

【考察】

本研究では、わが国での BOR 症候群の原因遺伝子と臨床症状の関連について検討した。我々は臨床的に BOR 症候群と診断された患者の 72.2% に病的変異を検出した。この検出率は我々の既報の研究より高かった。*EYAI* は変異が最も高頻度に検出された遺伝子であり、日本、台湾、西洋諸国からの既報でも同様の結果であった。*EYAI* 変異型と臨床症状の関連性については関連を見いだせなかった。

SIXI 変異は 1 例に認め、一般的に *SIXI* 変異患者は腎疾患の合併頻度が低いと言われており、本患者も腎疾患を認めなかった。*SALLI* 変異は 2 例に認め、どちらも TBS に特徴的な所見は認めず、臨床的には BOR 症候群と診断された。これまでも BOR 症候群の患者で *SALLI* のフレームシフト変異を認めた患者の報告が 1 例存在している。そのため BOR 症候群で *EYAI* もしくは *SIXI* に変異を認めなかった場合は *SALLI* の解析をすることが重要である。

腎機能障害は重症貧血、骨疾患、発育不全、心血管疾患につながる。BOR 症候群にとって CAKUT は最も重要な合併症であるが、明らかな遺伝型と表現型との関連は見られず、*EYAI* 変異の有無によって、腎疾患を予測することは難しいと考えられた。これは BOR 症候群の家族歴を有する家族への遺伝カウンセリングの際に重要である。

アレイ CGH で 22 番染色体部分テトラソミーを検出した例が 1 例あった。22 番染

色体部分テトラソミーは外耳奇形、難聴、腎形成不全に加えて眼合併症を認めるが、本例も同様の所見を認めていた。眼合併症を認める場合は 22 番染色体部分テトラソミーも考慮する必要があると考えた。

SIX5 変異は今回の解析では検出されなかった。2007 年に *SIX5* が BOR 症候群の原因遺伝子の 1 つと報告されて以降、BOR 症候群で *SIX5* 変異が検出されたという報告はみられていない。本研究では 10 家系 13 例の患者で BOR 症候群関連遺伝子に病的変異が検出されなかった。今後の研究では全エクソーム解析もしくは全ゲノム解析が必要と考えられる。

本研究は日本における BOR 症候群患者の遺伝子解析を行った初めての大規模研究である。本研究により、BOR 症候群の遺伝子解析において *EYAI* に対する MLPA 法を用いた解析や、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析は有用であると考えられ、BOR 症候群に対する原因遺伝子の解析戦略を示すことができた。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第2939号	氏名	運崎 愛
論文題目 Title of Dissertation	Clinically diverse phenotypes and genotypes of patients with branchio-oto-renal syndrome 鰓耳腎症候群における多様な臨床表現型と遺伝型の検討		
審査委員 Examiner	主査 Chief Examiner	丹生 健一	
	副査 Vice-examiner	西 慎一	
	副査 Vice-examiner	南 康博	

【背景】

鰓耳腎 (Branchio-oto-renal (BOR)) 症候群は鰓原性奇形、種々の難聴、先天性腎尿路異常 (congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT)) を特徴とする常染色体優性遺伝疾患である。BOR 症候群はまれな疾患で、頻度はヨーロッパ人口では4万出生に1人、わが国では2010年の全国調査で医療受療者数約250人と推定された。BOR 症候群の原因遺伝子として *EYA1* (8q13.3)、*SIX1* (14q23.1)、*SIX5* (19q13.32) が知られている。また、Townes-Brocks 症候群 (TBS) の原因遺伝子である *SALL1* (16q12.1) の病的変異を、BOR 症候群様の表現型の患者で認めることがある。BOR 症候群の原因遺伝子として *EYA1* 変異が最も高頻度である。*EYA1* は腎の発生に重要な転写因子であり、第1、第2鰓弓の発生においても重要である。*EYA1* の病的変異を持つ患者の表現型は、特に腎疾患において様々である。現在のところ、BOR 症候群の遺伝型と表現型との関連は見いだされていない。この研究では、日本人の BOR 症候群患者において、表現型と原因遺伝子についての関連を検討した。

【方法】

2010年9月から2017年9月に、臨床的に BOR 症候群と診断された日本人患者について、その遺伝型と表現型を検討した。BOR 症候群の診断は Chang らの診断基準を用いた。主症状として、①第2鰓弓奇形 (頸嚢胞、頸瘻を含む)、②難聴、③耳小窩、④耳介奇形、⑤腎奇形、副症状として①外耳道奇形、②中耳奇形、③内耳奇形、④副耳、⑤顔面非対称、口蓋奇形があり、家族歴がない患者は主症状3つ以上、もしくは主症状2つ以上と副症状2つ以上で BOR 症候群と診断した。家族歴がある患者は主症状1つ以上で BOR 症候群と診断した。中等度から重度の知的障害や運動発達遅滞、眼瞼裂開大、軸前多指症、鎖肛など他に特徴的な症状を認める患者は他の症候群である可能性が高いため解析から除外した。遺伝子解析は、まず *EYA1*、*SIX1*、*SALL1*、*SIX5* の直接シーケンシングを行い、必要に応じて MLPA 法、アレイ CGH、次世代シーケンサーによるパネル解析を追加した。

【結果】

<遺伝子解析>

36家系、51例の患者が臨床的に BOR 症候群と診断され、26家系38例の患者で原因遺伝子が同定された。15例は直接シーケンシング法、6例は MLPA 法、3例は次世代シーケンサーを用いた網羅的解析、2例はアレイ CGH で同定した。このうち、22家系34例の患者で *EYA1* 変異を認めた。内訳はナンセンス変異6家系、フレームシフト変異4家系、ミスセンス変異3家系、スプライスサイトの変異3家系、MLPA 法でエクソン単位の欠失を6家系で認めた。*SIX1* 変異は1家系、*SALL1* 変異は2家系で、1家系は22q テトラソミーであった。10家系13例の患者は BOR 症候群関連遺伝子の変異を認めなかった。

<臨床症状>

原因遺伝子の変異を同定できた患者のうち、聴力検査を行なった患者はすべて難聴を認めた。*EYA1* 変異患者のうち、18 家系 23 例の患者に *CAKUT* を認めた。*EYA1* 変異患者の *CAKUT* のうち、最も頻度が高かったのは低形成・異形成腎で 10 例に認めた。また原因不明の腎機能不全は 7 例に認めた。したがって *EYA1* 変異患者の 50%以上で低形成・異形成腎もしくは原因不明の腎機能不全を認めた。4 例が腎移植を必要とした。同じ家系内でも表現型は様々であった。

【考察】

本研究では、わが国での BOR 症候群の原因遺伝子と臨床症状の関連について検討した。我々は臨床的に BOR 症候群と診断された患者の 72.2%に病的変異を検出した。この検出率は我々の既報の研究より高かった。*EYA1* は変異が最も高頻度に検出された遺伝子であり、日本、台湾、西洋諸国からの既報でも同様の結果であった。*EYA1* 変異型と臨床症状の関連性については関連を見いだせなかった。

SIX1 変異は 1 例に認め、一般的に *SIX1* 変異患者は腎疾患の合併頻度が低いと言われており、本患者も腎疾患を認めなかった。*SALL1* 変異は 2 例に認め、どちらも TBS に特徴的な所見は認めず、臨床的には BOR 症候群と診断された。これまでも BOR 症候群の患者で *SALL1* のフレームシフト変異を認めた患者の報告が 1 例存在している。そのため BOR 症候群で *EYA1* もしくは *SIX1* に変異を認めなかった場合は *SALL1* の解析をすることが重要である。

腎機能障害は重症貧血、骨疾患、発育不全、心血管疾患につながる。BOR 症候群にとって *CAKUT* は最も重要な合併症であるが、明らかな遺伝型と表現型との関連は見られず、*EYA1* 変異の有無によって、腎疾患を予測することは難しいと考えられた。これは BOR 症候群の家族歴を有する家族への遺伝カウンセリングの際に重要である。

アレイ CGH で 22 番染色体部分テトラソミーを検出した例が 1 例あった。22 番染色体部分テトラソミーは外耳奇形、難聴、腎形成不全に加えて眼合併症を認めるが、本例も同様の所見を認めていた。眼合併症を認める場合は 22 番染色体部分テトラソミーも考慮する必要があると考えた。

SIX5 変異は今回の解析では検出されなかった。2007 年に *SIX5* が BOR 症候群の原因遺伝子の 1 つと報告されて以降、BOR 症候群で *SIX5* 変異が検出されたという報告はみられていない。本研究では 10 家系 13 例の患者で BOR 症候群関連遺伝子に病的変異が検出されなかった。今後の研究では全エクソーム解析もしくは全ゲノム解析が必要と考えられる。

本研究は日本における BOR 症候群患者の遺伝子解析を行った初めての大規模研究である。本研究により、BOR 症候群の遺伝子解析において *EYA1* に対する MLPA 法を用いた解析や、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析は有用であると考えられ、BOR 症候群に対する原因遺伝子の解析戦略を示すことができた価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。