

学位授与番号：甲 9 9 1 号

氏 名：倉重 眞大

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 27 年 5 月 27 日

学位論文名：

常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の日本人集団における PKD1, PKD2 遺伝子包括的変異解析

主論文名：

**A comprehensive search for mutations in the PKD1 and PKD2 in Japanese subjects with autosomal dominant polycystic kidney disease.**

（常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の日本人集団における PKD1, PKD2 遺伝子包括的変異解析）

学位審査委員長：教授 大橋十也

学位審査委員：教授 浦島充佳 教授 佐々木敬

# 論 文 要 旨

論文提出者名

倉重 眞大

指導教授名 横尾 隆

A comprehensive search for mutations in the *PKD1* and *PKD2* in Japanese subjects with autosomal dominant polycystic kidney disease.

(常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の日本人集団における *PKD1*, *PKD2* 遺伝子包括的変異解析)

Kurashige M, Hanaoka K, Imamura M, Udagawa T, Kawaguchi Y, Hasegawa T, Hosoya T, Yokoo T, Maeda S.

Clin Genet. 3 Apr 2014. [Epub ahead of print]

doi: 10.1111/cge.12372. PMID:24611717

常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎 (Autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD) は *PKD1*, または *PKD2* 遺伝子の異常を起因として, 無数の腎嚢胞を形成する難治性遺伝性腎疾患である. 本疾患の病態進行度は, 個々の患者がもつ変異遺伝子の種類により多様性をもつことが示されているが, その結果は, 欧米からの報告をもとに得られたもので, 日本人を含む東アジア人集団における情報は極めて乏しい. そこで我々は161家系180人の日本人ADPKD患者において, 包括的 *PKD1/2* 遺伝子変異解析を行い, 本邦集団におけるADPKDの遺伝的特徴, 臨床像との関連を検証した.

シーケンス (Sanger法), *in-silico*解析, mini gene splicing assay, multiplex PCR invader法, 定量PCR法, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) 法を用い, 変異解析を行った. また, 解析結果に基づき, 複合的な重症度分類化をすることで, 病的変異を決定した.

解析により112変異 (89 *PKD1*変異, 23 *PKD2*変異) を135家系に同定した (変異同定率 83.9%). *PKD2*変異は全体の23.6%を占めた. 同定した変異のうち, 過去に報告のない75は新規変異であった. 腎機能低下速度 (eGFR変化率) は *PKD1*変異群の方が *PKD2*変異群より大きかった (-3.25 vs -2.08 ml/min/年,  $p < 0.01$ ).

本研究により, 既報の欧米人集団と同様, 日本人ADPKD患者では大部分が *PKD1/2* 変異が原因となっていること, および *PKD1* 変異をもつ患者の方が腎予後不良であることが明らかになった. 一方, 全体における *PKD2* 変異の比率は, 欧米人集団での報告 (12.3-18.3%) に比べ有意に高く (23.6%,  $p < 0.01$ ), ADPKDの遺伝背景には人種差が存在する可能性があると考えられた.

## 論文審査の結果の要旨

倉重眞大氏の学位申請論文は主論文1編からなり、タイトルは「A comprehensive search for mutations in the PKD1 and PKD2 in Japanese subjects with autosomal dominant polycystic kidney disease.」、日本語では「常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎の日本人集団におけるPKD1, PKD2 遺伝子包括的変異解析」と題され、2014年にClinical Genetics誌に発表された。同誌のインパクトファクターは2013年で3.652である。以下、学位申請論文の要旨と審査委員会における審査結果を記載する。

常染色体優性遺伝多発性嚢胞腎 (Autosomal dominant polycystic kidney disease: ADPKD) はPKD1, またはPKD2 遺伝子の異常を起因として、無数の腎嚢胞を形成する難治性遺伝性腎疾患である。本疾患の病態進行度は、個々の患者がもつ変異遺伝子の種類により多様性をもつことが示されているが、その結果は、欧米からの報告をもとに得られたもので、日本人を含む東アジア人集団における情報は極めて乏しい。そこで倉重氏は161家系180人の日本人ADPKD患者において、包括的PKD1/2 遺伝子変異解析を行い、本邦集団におけるADPKDの遺伝的特徴、臨床像との関連を検証した。シーケンス (Sanger法), in-silico解析, mini gene splicing assay, multiplex PCR invader法, 定量PCR法, MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification)法を用い、変異解析を行った。また、解析結果に基づき、複合的な重症度分類化をすることで、病的変異を決定した。

解析により112変異(89PKD1変異, 23PKD2変異)を135家系に同定した(変異同定率83.9%)。PKD2変異は全体の23.6%を占めた。同定した変異のうち、過去に報告のない75は新規変異であった。腎機能低下速度(eGFR変化率)はPKD1変異群の方がPKD2変異群より大きかった(-3.25 vs -2.08 ml/min/年,  $p < 0.01$ )。

本研究により、既報の欧米人集団と同様、日本人ADPKD患者では大部分がPKD1/2変異が原因となっていること、およびPKD1変異をもつ患者の方が腎予後不良であることが明らかになった。一方、全体におけるPKD2変異の比率は、欧米人集団での報告(12.3-18.3%)に比べ有意に高く(23.6%,  $p < 0.01$ )、ADPKDの遺伝背景には人種差が存在する可能性があると考えられたとしている。

平成27年4月8日、浦島充佳、佐々木敬両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、倉重氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

(1) 家系内の発症前診断は行ったか? (2) 発症前診断をする時の遺伝カウンセリングの方針はどうだったか? (3) 診断した場合の治療、予防薬はあるのか? (4) アミノ酸の変異と臨床症状の関係はあるのか? (5) PKD1/2両者に遺伝子変異がある患者はいなかったか? (6) 遺伝子変異をもっていて発症しないヒトはいるのか? (7) 対象患者のリクルートはどうしたのか? (8) 161家系が独立しているということの保障はあるのか? (9) founder effectはあったか? (10) 偽遺伝子を除去する方法をとったか? (11) 1500人中2人以上にバリエーションが存在した場合をcommon variantとした根拠は何か? (12) 優性遺伝だがメカニズムはハプロ不全か、ドミナントネガティブか? (13) mRNAの解析はしたか? (14) PKD1/2は結晶化されていないのか? これらの質問に対して、倉重氏は適切に回答し、有用な議論がなされた。

その後、浦島、佐々木両教授と慎重に審議した結果、本研究は日本人におけるADPKDの遺伝子異常を明らかにし、欧米人などとの違いを明らかにしたものであり、

基礎研究はもとより遺伝カウンセリングなどにおいても重要な情報をもたらすものであり、学位を授与するに十分な価値があると認めた次第である。