



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	X染色体連鎖型アルポート症候群女性における、遺伝子型とX染色体不活化が表現型に与える影響に関する研究 [全文の要約]
Author(s)	鈴木, 諒太
Description	配架番号 : 2909 この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16417号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95861
Type	doctoral thesis
File Information	SUZUKI_Ryota_summary.pdf



学 位 論 文 （ 要 約 ）

X 染色体連鎖型アルポート症候群女性における、遺伝子型と X 染色体不活化が表現型に与える影響に関する研究

(Studies on the phenotypic impact of genotype and X-chromosome inactivation in females with X-linked Alport syndrome)

2025 年 3 月

北 海 道 大 学

鈴 木 諒 太

学 位 論 文 （ 要 約 ）

X 染色体連鎖型アルポート症候群女性における、遺伝子型と X 染色体不活化が表現型に与える影響に関する研究

(Studies on the phenotypic impact of genotype and X-chromosome inactivation in females with X-linked Alport syndrome)

2025 年 3 月

北 海 道 大 学

鈴 木 諒 太

【諸言】

X 染色体連鎖型アルポート症候群 (X-linked Alport syndrome; XLAS)は最も重要な遺伝性腎疾患の 1 つであり、進行性の腎機能障害、感音性難聴、眼異常を特徴とする。XLAS 男性は一般に成人期の早期から中期に末期腎不全に至り、遺伝子型と表現型の間に明確な相関を示す。即ち **truncating** 変異をもつ男性は **non-truncating** 変異をもつ男性より、より重度の表現型を呈する。一方、XLAS 女性は無症状から早期に末期腎不全に至る重度まで様々な表現型を示すが、遺伝子型・表現型相関を認めない。X 染色体不活化(X chromosome inactivation; XCI)の偏りと疾患の重症度との相関は、いくつかの X 染色体連鎖型疾患の女性において報告されている。既に XLAS 雌マウスにおいて、XCI の偏りと重症度に相関があることは示されている。XLAS 女性においてもそのような報告はいくつかあるが、未だ遺伝子型と XCI の偏りの表現型への関与は結論が出ていない。我々はこのような相反する結果は、進行性の腎機能障害の症例数が少ないことや、XCI 結果を偏りの有無(**skewed** か **random**)のみでしか評価していないことなどが理由であると考えた。

即ち、既知として(1)XLAS 男性の遺伝子型・表現型相関があること、(2)XLAS 女性の遺伝子型・表現型相関がないこと、(3)いくつかの XCI が X 連鎖型疾患の女性の表現型を決める 1 つの因子であること、(4)XLAS 雌マウスにおいて XCI・表現型相関があることが分かっていることを挙げた。本研究は XLAS 女性の表現型に影響する因子を明らかにすることであり、左記から遺伝子型と XCI が関与していると考え、これまでに報告された中で最大の症例数を用いて、遺伝子型と XCI の表現型への影響を評価した。

【方法】

研究の参加者は、2015 年 3 月から 2022 年 9 月までに臨床所見や病理所見、家族歴等からアルポート症候群が疑われ、神戸大学医学部附属病院で遺伝学的検査が行われた症例のうち、臨床遺伝学的に XLAS と診断された女性を適格とした。症例の臨床情報は調査書から得た。

インフォームドコンセントは全ての症例またはその両親から同意文書を用いて取得した。ヒトを対象とした本研究はヘルシンキ宣言に従って実施された。倫理的承認は神戸大学大学院医学系研究科倫理審査委員会から得た(IRB No. 301)。

この研究では横断的にデータを収集した上で、4 つの異なった解析を試みた。第一、二の解析は、18 歳以上の成人女性を対象として、それぞれ腎機能、血尿に加え蛋白尿の発症した年齢を評価した。第三、四の解析は、18 歳未満の小児女性を対象として、それぞれ腎機能、血尿に加え蛋白尿を発症した年齢を

評価した。遺伝子型は truncating 変異と non-truncating 変異に分けて評価した。腎機能は creatinine estimated glomerular filtration rate (Cr-eGFR) で表した。末期腎不全到達の定義は $\text{Cr-eGFR} \leq 15 \text{ mL/分/1.73m}^2$ に至った時、主治医に末期腎不全と診断された時、または腎代替療法が導入された時とした。蛋白尿は早朝尿で年齢ごとの基準より多い尿蛋白クレアチニン比が 3 か月以上続いた場合を陽性とした。COL4A5 変異解析は遺伝性腎疾患を網羅した次世代シーケンサーまたは multiplex ligation-dependent probe amplification を用いた。XCI 解析は末梢白血球から抽出した gDNA を用いて、家族間で human androgen receptor assay を行うことで、病側の X 染色体の活性率(病側 X 活性率)を決定した。本研究ではその割合を 0% から 100% の絶対値で表した。統計解析は、多変量線形回帰分析や多変量 Cox 比例ハザード回帰分析、多変量ロジスティック回帰分析を試みた。

【結果】

臨床遺伝学的に XLAS と診断された 398 例のうち、XLAS 成人女性 74 人、XLAS 小児女性 65 人が適格だった。XLAS 成人女性では、検査時年齢の中央値は 37 歳、Cr-eGFR の中央値は 72 mL/分/1.73m^2 、症例の 20% が末期腎不全に至っていた。XCI 解析結果は「方法」の項目で述べた通り、全例病側 X 活性率で表した。病側 X 活性率の中央値は 53% であった。XLAS 小児女性では、検査時年齢の中央値は 7 歳、Cr-eGFR の中央値は 120 mL/分/1.73m^2 、病側 X 活性率の中央値は 52% であった。

XLAS 成人女性において、第一に遺伝子型と XCI は腎機能に影響を与えるかを、多変量線形回帰分析で評価した。Cr-eGFR 値は、病側 X 活性率が 1% 上昇する毎に $0.534 \text{ mL/分/1.73m}^2$ 減少し ($\beta = -0.53$, $P = 0.004$)、truncating 変異をもつ女性は non-truncating 変異をもつ女性よりも $1.075 \text{ mL/分/1.73m}^2$ 低かった ($\beta = 1.075$, $P = 0.892$)。またそれらの交互作用も同様に評価したが、Cr-eGFR に有意な影響を示さなかった ($\beta = -0.500$, $P = 0.185$)。第二に遺伝子型と XCI は蛋白尿の発症年齢に影響を与えるかを、多変量 Cox 比例ハザード解析で評価を試みたが、臨床統計学的に問題があり断念した。

次いで、XLAS 小児女性において、第三に遺伝子型と XCI は腎機能に影響を与えるかを、多変量線形回帰分析で評価した。Cr-eGFR 値は病側 X 活性率が 1% 上昇する毎に $0.066 \text{ mL/分/1.73m}^2$ 上昇し ($P = 0.671$)、truncating 変異をもつ XLAS 女性は non-truncating 変異をもつ XLAS 女性よりも $7.531 \text{ mL/分/1.73m}^2$ 低かった ($P = 0.198$)。第四に遺伝子型と XCI は蛋白尿の発症に影響を与えるかを、多変量 Cox 比例ハザード解析で評価した。truncating 変異をもつ女性は non-truncating 変異をもつ女性よりも蛋白尿発症リスクが 3.7 倍高く (ハザード比 3.702 (95% 信頼区間 1.681 ~ 8.150), $P = 0.001$)、病側 X 活性率が 1% 上昇する毎

に蛋白尿発症リスクが 1.043 倍高かった(ハザード比 1.043 (95%信頼区間 1.016 ~ 1.070)、 $P = 0.002$)。また、感度解析として遺伝子型と XCI は蛋白尿の発症年齢に影響を与えるかを、多変量ロジスティック回帰分析で評価した。遺伝子型と病側 X 活性率は共に蛋白尿発症に影響する有意な独立因子であった(それぞれ、 $P = 0.007$ および $P = 0.035$)。

【考察】

本研究は XLAS 女性の表現型に影響する因子として、過去最大の症例数で遺伝子型と XCI の両方を同時に評価したものであった。XLAS 男性の遺伝子型を評価することは、予後を示し治療計画を示すことができる一方で、XLAS 女性の遺伝子型のみを評価するだけでは、予後を完全に反映することはできず、XLAS 女性の表現型に影響を与える因子を同定することが急務であった。先行研究では症例数が少なかったこと、末期腎不全を含む腎機能低下症例数が不十分だったこと、XCI 解析で病側の X 染色体を明らかにしなかったことから、限られたエビデンスしか得られなかった。本研究はそれら課題を克服し、XLAS 女性に関する既存のエビデンスを更新することができた。

XLAS 成人女性において、XCI が腎機能に有意に影響する因子であることが明らかになった。我々は XLAS 女性の幅広い表現型スペクトラムを考慮したため、XCI 解析結果は従来の *skewed* と *random* の 2 値としてではなく、0~100%の絶対値の連続変数として用いるべきであると考え多変量解析を行った結果、XCI は腎機能に影響を及ぼす独立した因子であることが明らかになった。一方、遺伝子型と腎機能の間に関連は見られなかった。以前から遺伝子型と XCI は、腎機能に影響を及ぼす因子として疑われていたが、遺伝子型と腎機能の間には、ほとんどの先行研究において相関を認めなかった。いくつかの論文はこれを説明するために、更なる修飾遺伝子の存在を推察した。本研究では、XLAS 成人女性において相関がない理由として成人期特有の生活習慣病などの環境因子が考えられた。とはいえ、今回調査書では高血圧や糖尿病などの有無は評価項目に入れていなかった。まとめると、この XCI の結果は、XLAS 女性患者の腎機能を決定するいくつかの因子の一つになりうると考えられる。

XLAS 小児女性において、遺伝子型と XCI は共に蛋白尿発症の有意な独立因子であった。蛋白尿の発症年齢が早いほど末期腎不全に早期に至ることが報告されていることから、蛋白尿の発症年齢は腎における重要な因子である可能性がある。遺伝子型と蛋白尿の発症年齢との相関は、以前に報告されており、これは本研究の結果と類似していた。一方で、XCI と蛋白尿の発症年齢との相関はなかったと報告されており、これは我々の研究結果とは異なった。我々がこれら相関を明らかにできたのは、日本の年 1 回行われる検尿システムを用いて

蛋白尿の正確な発症年齢を決定することができたこと、全症例で家族間解析を行い病側の X 染色体を同定しその割合を絶対値で表すことができたことが理由として考えられた。他方、遺伝子型と XCI は両方とも腎機能に影響を与えなかったが、この結果はほとんどの小児女性に腎機能障害を呈さず正常範疇の差異の意義が不明なこと、統計学的には日本人小児の Cr-eGFR 計算式の一貫性がないことが懸念であった。今後、XCI と XLAS の表現型に相関を見出したことから、更に XCI 未評価の疾患へ XCI 解析が行われていく一石となりうる。

本研究の限界として、第一に遺伝子型と表現型の相関を評価した過去の大規模研究と比較すると本研究は症例数が少なかったこと、第二に小児の蛋白尿に関する研究では、検査時の XCI 解析結果を出生時のそれと同等と仮定したこと、最後に我々の研究では尿沈渣ではなく末梢血白血球を用いて XCI 解析を行ったことがあげられた。

【結論】

XLAS 女性において、病側 X 活性率が高いことと、成人期の腎機能が低いことは有意に相関した。また、遺伝子型及び病側 X 活性率は両方とも、小児期の蛋白尿の発症に有意に相関した。これらの結果は XLAS 女性の日々の経過観察と人生計画の基準となりえる可能性がある。XCI が X 染色体連鎖型疾患の表現型に影響することを確立するための貴重な一歩であった。