

論文内容要旨

論文題目：単一遺伝子糖尿病診断への次世代シーケンサーの応用—
限定的地域内調査の特性を活かした検討

責任講座： 内 科 学 第 一 講 座
氏 名： 高 瀬 薫

【内容要旨】 (1,200 字以内)

〈緒 言〉

単一遺伝子の機能障害で発症する単一遺伝子糖尿病は、遺伝子診断により病態に合わせた治療が可能になる場合がある。

本研究では、小児期から壮年期に発症した糖尿病患者を対象として遺伝子パネルによる既知単一遺伝子糖尿病の網羅的バリエーション解析を行い、診断に次世代シーケンサーを応用することの有用性について検討した。

〈方 法〉

対象は、2017年6月6日から2020年3月31日までの間に山形大学医学部附属病院を受診した50歳未満発症の糖尿病患者のうち、1型糖尿病、二次性糖尿病、妊娠糖尿病、BMI 28 kg/m²以上の肥満症例を除外した56例の患者である。

アンプリコンシーケンス法を用いて34の主要な既知単一遺伝子糖尿病原因遺伝子の全エクソンと隣接領域の95.0%を解析可能な遺伝子パネルを設定した。

末梢血白血球から抽出したゲノム DNA を次世代シーケンサーによりターゲットシーケンスし、GRCh38.p2を参照配列に一塩基多様性や数塩基の挿入欠失配列を検出した。ヒト集団データベース (1000 Genomes、gnomAD) の東アジア集団内アレル頻度が0.5%未満、かつ機能予測アルゴリズム CADD で phred-like score が20以上のもの、フレームシフト等の機能喪失変異を絞り込み原因バリエーション候補とした。臨床症状、既報告、家系情報を基に病原性を評価した。

〈結 果〉

対象の糖尿病診断時年齢は3~49歳であった。原因バリエーション候補として16例 (28.6%) に16種類の非同義置換とフレームシフトバリエーションを同定した。

8種類の既知バリエーションのうち、糖尿病の原因として過去に報告され、患者の臨床像にも合致するものから、2例を maturity-onset diabetes of the young (MODY) 2、1例を Wolfram 症候群と診断した。8種類の新規バリエーションの中から、患者の家系情報を基に病因である可能性を推定し、2例を MODY1 と診断した。

〈考 察〉

小児期から壮年期までの発症者を幅広く集めて34種類と多様な単一遺伝子糖尿病の網羅的変異解析を行った検討は、本研究が最初であった。*In silico* 解析のみでは意義不明なバリエーションも多いが、限定地域内調査の利点を活かし家系調査を行い、新規バリエーションについても疾患との関連性を評価できた。

診断に至った5例 (8.9%) はいずれも小児期に発症しているため、大半は小児患者であったが、50歳代で診断された例もあった。いずれも診断後には、これまでの知見を基に疾患に応じた治療方針を立てることが可能となった。

〈結 論〉

多様な単一遺伝子糖尿病の遺伝子パネル検査を新たに確立し、データベース情報を基に原因バリエーション候補を絞り込み、既報告と家系情報に基づいて病原性を検討する手法により、50歳未満発症の糖尿病患者において単一遺伝子糖尿病の診断が可能な症例を同定した。

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：高瀬 薫

論文題目：単一遺伝子糖尿病診断への次世代シーケンサーの応用
-限定的地域内調査の特性を活かした検討

審査委員：主審査委員

三井 哲夫



副審査委員

小原 祐二郎



副審査委員

藤井 順逸



審査終了日：2022年1月6日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

単一遺伝子変異で発症する疾患は網羅的遺伝子解析の良い適応と考えられる。糖尿病の多くは生活習慣を含め、多遺伝子素因に起因するが、一定程度単一遺伝子による発症があり、変異遺伝子により、その臨床経過が異なることがわかってきている。一方、単一遺伝子に変異があっても、その発症時期は、必ずしも小児若年期で無い場合があることも明らかになっていて、患者の病的変異の検出とその臨床病態解明は重要な課題である。近年多くの疾患において、網羅的遺伝子パネル検査の有用性が明らかになってきているが、単一遺伝子により発症する糖尿病において、その有用性は未だ詳細には明らかでない。申請者は、この単一遺伝子糖尿病で、独自に設計した網羅的遺伝子パネルによるターゲットシーケンスを山形大学医学部附属病院における患者を対象に実施、対象者の遺伝子学的特徴と発症時期を含め臨床所見の関連を解析するとともに、パネルシーケンスの有用性を検討した。

Body Mass Index 28 以上で、自己免疫を含めた2次性糖尿病患者を除いた4~75歳というライフスパン全体を包含した56例を対象に、近年報告された遺伝子を含め病因関連34遺伝子をターゲットとし、全エクソンとその境界部を加えた全標的領域の平均95.0%を解析した。家族歴を含む臨床情報との関連性も詳細に検討、得られるものについては、両親の遺伝子解析を実施した。結果として19歳以下の若年者を中心に既報告の8変異、また新規に8変異を同定した。これら16変異の1変異はホモ接合性に15変異はヘテロ接合性に得られた。臨床情報を含めた検討で、52歳の1例が神経系を含む多臓器の症状を伴うWolfram症候群であること、若年者2例をMaturity-onset diabetes of the young (MODY)のtype 2であることを確定させ、また他の2例をMODY type1の蓋然性が高いことを示した。MODY2は治療を必要としないこと、MODY1ではスルホニルウレア剤が有用である事がわかっていて、今回の検討が、当該患者の診療方針決定に直接寄与することとなった。

この研究は、申請者らの設計した網羅的遺伝子パネル検査が単一遺伝子糖尿病において、病態解明と共に、臨床的に有用であることを初めて示したものでその重要性は高い。実用化する為には、アノテーションにおける参照配列を拡げること、血族の遺伝子解析の拡大、変異遺伝子の機能検討、エピジェネティクス制御遺伝子解析付加が必要であると指摘されたが、審査委員は、この研究の先見性と発展性に鑑み、本研究が学位の授与に値すると全員一致で判断した。