

厚生科学研究費補助金（厚生科学研究こども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

小児難治性腎尿路疾患の病因・病態の解明、早期発見、管理・治療に関する研究

分担研究者	東京大学医学部附属病院分院小児科	五十嵐 隆
研究協力者	筑波大学基礎医学系病理学	長田 道夫
	静岡県立こども病院腎臓内科	高橋 昌里
	兵庫県立淡路病院小児科	田中亮二郎
	東北大学医学部小児科	根東 義明

研究要旨 Dent 病（特発性尿細管性蛋白尿症）の患者 6 家系のクロライドチャンネル 5 遺伝子(*CLCN5*) に新たな遺伝子変異を検出した。世界で初めて $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter 遺伝子(*SLC4A4*)の機能を低下させる変異が眼球異常を伴う純型永続性近位尿細管性アシドーシスの病因となることを明らかにした。小児期腎不全の原因として約 30%を占める低形成腎の発症機序を病理組織学的に明らかにした。ウィルムス腫瘍を有する腎には未熟糸球体が高率に存在することにより、術後の腎機能低下をきたす可能性を明らかにした。Clc-K1 が細いヘンレ上行脚のクロライド輸送の大半を占め、この障害が重篤な腎性尿崩症の原因となることを世界で初めて明らかにした。

A. 研究の目的

先天性腎尿路疾患の病因・病態の研究により、個別の疾患のみならず腎症の普遍的な発症・進展機序への先天性要因関与の解明を目指す。

B. 研究方法

Dent 病（特発性尿細管性蛋白尿症）、純型永続性近位尿細管性アシドーシス、IgA 腎症、ネフローゼ症候群、腎性尿崩症の患者の原因遺伝子の解析あるいは増悪因子の解明を目的に分子生物学的解析を行った。Wilms 腫瘍、低形成・異形成腎については患者の腎組織を病理組織学的に解析した。

C. 研究結果

a) Dent 病（分担研究者 五十嵐 隆）

今年度は特発性尿細管性蛋白尿症 6 家系の *CLC-5* 遺伝子(*CLCN5*)の異常を明らかにした。その内訳は nonsense mutation (704CGA→TGA), missense mutation (516CGG→TGG, 706CTG→CCG), frameshift mutation (T deletion at exon 64), A insertion at exon 100, splice site mutation (intron 10 gtaagg→gttgtaagg)であった。これらの結果から本症の病因の heterogeneity

がより一層明らかとなった。また、母の尿中 $\beta 2$ -microglobulin が高値の本症患者には 83%に *CLCN5* の異常を検出することができた。

b) 眼球異常を伴う純型永続性近位尿細管性アシドーシスの病因遺伝子の解明（分担研究者 五十嵐 隆）

純型永続性近位尿細管性アシドーシス患者に認められた $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter (NBC)遺伝子 (*SCL4A*) の missense mutation (298AGA→AGC)を合成し、ツメガエル卵細胞に発現させ変異 NBC 蛋白の機能解析を行った。その結果、変異 NBC は正常の 58%に機能が低下していた。以上より、*SCL4A* の inactivating mutation は眼球異常を伴う純型永続性近位尿細管性アシドーシスの病因であることが証明された。

c) 低形成・異形成腎（研究協力者 長田 道夫）

尿路閉塞による異形成腎は在胎 14-16 週で始まり、この時期には皮質深層にはすでに濾過可能なネフロンが誘導されている。初期の形態変化は被膜下（ネフロン形成層）にみられる多数の糸球体性嚢胞であり、これにより

新しいネフロン形成が阻害される。嚢胞はどのネフロンの部位にも出来るが、ネフロン構造に沿って連続性であり（盲端ではなく）最終的には原始尿管と接合する。すなわち、在胎 14 週までに胎児エコーで発見し尿路閉塞を解除することで異形成腎におけるネフロン形成障害を修飾できる可能性がある。

d) Drash 症候群（研究協力者 高橋 昌里）

Wilms 腫瘍の片腎摘 16 例で、摘出腎の健常部分の観察を行った。16 例のうち 5 例は健常部分が少なく判定不能、残り 11 例中 10 例に（91%）に未熟糸球体を認めた。尿蛋白は未熟糸球体を認めた 10 例中 7 例、判定不能例 5 例中 3 例（計 10 例；62%）に認めた。非 Wilms 腫瘍の片腎摘例では蛋白尿は 19 例全例において認められず、未熟糸球体も dysplastic kidney（17 例）以外の 2 症例には認めなかった。Wilms 腫瘍の発生側は偶発的に決まると考えられるが、腎摘後の患児においては非摘出健側腎にも未熟糸球体があると考えられ腎機能低下が進行しやすいことが想定される。腎機能の追跡検査が必要である。

e) IgA 腎症、ネフローゼ症候群（研究協力者 田中亮二郎）

小児 IgA 腎症やネフローゼ症候群の発症には遺伝的素因が関与することが推定されている。小児期 IgA 腎症の組織障害や蛋白尿の程度、ステロイド依存性ネフローゼ症候群の再発の頻度には、Angiotensin converting enzyme (ACE) 等のレニン-アンギオテンシン系の遺伝子多型や platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF) の遺伝子変異が関与し、小児期腎疾患の発症・進展には、遺伝的背景が重要な役割を果たすことを明らかにした。

f) 腎性尿崩症（研究協力者 根東 義明）

新しい腎性尿崩症の原因と病態を解明するため、集合尿管抗利尿ホルモンレセプター障害や水チャンネル異常症などの集合尿管機能異常症に加え、新たにヘンレループの機能異常による腎性尿崩症の発症の可能性をノックアウトモデルを用いて検討した。とりわ

け、哺乳類にのみ存在するヘンレの細い上行脚の遺伝的機能障害モデルを作成し、引き起こされる病態を解明することにより、集合尿管機能異常ではない、新しいタイプの腎性尿崩症の概念を確立した。この目的のため、細いヘンレの上行脚に存在し、NaCl の受動的再吸収機構を支えるクロライドチャンネル ClC-K1 のノックアウトマウスにおける機能検討を行った。

D. 考察と結論

a) Dent 病（分担研究者 五十嵐 隆）

本症の遺伝子異常は患者家系毎に異なっており、heterogeneity の高い疾患であることが明らかとなった。本症と類似する臨床症状を有しながら *CLCN5* の異常の検出できない患者がいることから、本症と類似する表現型を引き起こす *CLCN5* 以外の原因遺伝子の存在が推定される。

b) 眼球異常を伴う純型永続性近位尿管性アシドーシスの病因遺伝子の解明（分担研究者 五十嵐 隆）

本症患者に機能を低下させる *SCL4A4* のミスセンス変異を証明した。機能を低下させる *SCL4A4* の異常が本症の原因遺伝子であることを世界で初めて明らかにした。

c) 低形成・異形成腎（研究協力者 長田 道夫）

尿路閉塞による腎異形成の発症機序を明らかにすると共に、在胎 14 週までの操作により尿路閉塞による腎異形成を予防する可能性を明らかにした。

d) Drash 症候群（研究協力者 高橋 昌里）

Wilms 腫瘍をきたす腎には未熟糸球体が高率に存在し、腎摘出後の残存腎の機能低下に関与する可能性が推定された。

e) Alport 症候群（研究協力者 田中亮二郎）

ACE 遺伝子多型や PAF 遺伝子多型が IgA 腎症の組織障害や蛋白尿の程度、ネフローゼ症候群の再発の頻度に影響を与えることを明らかにした。

f) 腎性尿崩症 (研究協力者 根東 義明)

CIC-K1 が細いヘンレ上行脚のクロライド輸送の大半を占めることとこの障害により重篤な腎性尿崩症が発症することを明らかにした。その結果、世界で初めて集合尿細管以外の部位の機能異常による新たなタイプの腎性尿崩症の概念を確立した。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Igarashi T, Inatomi J, Sekine T, Cha SH, Kanai Y, Kunimi M, Tsukamoto K, Satoh H, Shimadzu M, Tozawa F, Mori T, Shiobara M, Seki G, Endou H: Mutations in *SLC4A4* cause permanent isolated proximal renal tubular acidosis with ocular abnormalities. *Nature genetics* 23:264-266, 1999
- 2) Tanaka R, Iijima K, Xu H, Inoue Y, Murakami R, Shirakawa T, Nishiyama K, Miwa M, Shiozawa S, Nakamura H, Yoshikawa N. Role of platelet-activating factor acetylhydrolase gene mutation in Japanese childhood IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 34:289-295, 1999
- 3) 長田道夫: 腎発生異常の分子機構. *Annual Review 腎臓* 1999.1-7, 1999
- 4) 柴田佐和子, 重田みどり, 長田道夫: ネフロン の発生と嚢胞形成. *小児腎不全学会誌* 19:55-57, 1999
- 5) 森本哲司, 千葉明子, 根東義明, 五十嵐隆, 他: 尿中落下尿細管細胞培養系の臨床応用—CLCN5 異常症の新しい診断法— *日児腎誌* 12: 127-129, 1999
- 6) Y. Matsumura, S Uchida, Y. Kondo, et al : Overt nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking the CIC-K1 chloride channel. *Nature genetics* 21:95-98, 1999

2. 学会発表

- 1) 五十嵐隆, 稲富淳, 関根孝司, 川村智之, 八田秀一, 田中理江子, 栗津緑, 宇都宮靖, Rajesh V Thakker : 母親の尿中 β 2-microglobulin

値は特発性尿細管性蛋白尿症におけるクロライドチャンネル5 遺伝子の変異を予測させるか? 第34回日本小児腎臓病学会, 1999 (新潟)

- 2) 五十嵐隆: 特発性尿細管性蛋白尿症における CLCN5 遺伝子異常と機能解析 第42回日本腎臓学会ワークショップ, 1999 (横浜)
- 3) 五十嵐隆, 稲富淳, 関根孝司, 関常司, 遠藤仁: 純型永続性近位尿細管生アシドーシスの病因遺伝子の解明 第34回日本小児腎臓病学会, 1999 (新潟)
- 4) 五十嵐隆, 稲富淳, 関根孝司, 関常司, 遠藤仁: 純型永続性近位尿細管生アシドーシスの病因遺伝子の解明 第42回日本腎臓学会学術総会, 1999 (横浜)
- 5) Igarashi T, Inatomi J, Sekine T, Matsuyama T, Thakker RV: Genotype-phenotype correlation in Japanese childhood patients with Dent's disease. The 32nd American Society of Nephrology, 1999 (Miami, USA)
- 6) 越川真男, 澤井一智, 横井秀基, 前田康司, 田中敬雄, 後藤昌久, 吉田寿幸, 菅原照, 桑原隆, 五十嵐隆: メサンギウム増生(IgG 沈着)を認めた特発性尿細管性蛋白尿症の症例 第29回日本腎臓病学会西部会, 1999 (神戸)
- 7) 柴田佐和子, 長田道夫, 渡辺照男: 異形成腎における上皮細胞の分化, 第34回日本小児腎臓病学会, 1999 (新潟)
- 8) 堀之内兼一, 稲垣徹史, 和田尚弘, 高橋昌里, 白田和正, 五十嵐隆, 鈴木順造, 尻枝勝敏, 藤本藤四郎: Wilms 腫瘍の感児の腎摘出後の尿蛋白の推移とその非腫瘍部分の病理学のおよび分子生物学的検討, 第34回小児腎臓病学会, 1999 (新潟)
- 9) 森本哲司, 劉文, 根東義明: CIC-K1 ノックアウト尿崩症マウスの解析, 第42回日本腎臓学会学術総会, 1999 (横浜)

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究要旨 Dent 病 (特発性尿細管性蛋白尿症) の患者 6 家系のクロライドチャンネル 5 遺伝子 (CLCN5) に新たな遺伝子変異を検出した。世界で初めて $\text{Na}^+ / \text{HCO}_3^-$ -cotransporter 遺伝子 (SLC4A4) の機能を低下させる変異が眼球異常を伴う純型永続性筋位尿細管性アシドーシスの病因になることを明らかにした。小児期腎不全の原因として約 30% を占める低形成腎の発症機序を病理組織学的に明らかにした。ウイルムス腫瘍を有する腎には未熟糸球体が高率に存在することにより、術後の腎機能低下をきたす可能性を明らかにした。C1C-K1 が細いヘンレ上行脚のクロライド輸送の大半を占め、この障害が重篤な腎性尿崩症の原因となることを世界で初めて明らかにした。