

厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

総括研究報告書

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

主任研究者 伊藤 拓 国立小児病院副院長

研究要旨 小児難治性腎疾患の予後改善を目的として、腎不全の予防・治療上特に重要な課題である4分野について研究を行った。1. 先天性腎尿路奇形の早期発見法を検討し、最も有用と考えられる超音波診断法についてスクリーニング基準（案）を作成した。2. 小児腎不全データベースの調査表を作成し、次年度よりデータの集積を進める。3. 小児期においても最も問題の多い腎疾患である IgA 腎症のカクテル治療を開発し、その長期効果を確認することが出来た。4. 先天性尿細管疾患の遺伝子異常について新知見を得る事が出来た。また、腎炎の組織障害機転への遺伝子の関与を明らかにした。

分担研究者 村上睦美（日本医大北総病院小児科教授）、本田雅敬（都立清瀬小児病院小児科部長）、吉川徳茂（神戸大学医学部保健学科教授）、五十嵐隆（東大分院小児科講師）

早期診断法の研究は未解決である天性腎尿路奇形早期診断スクリーニング法とし、治療研究は最も重症な病態である末期腎不全と、小児期腎疾患の中で最も頻度が高く、難治で至急の治療法確立が必要な IgA 腎症に絞り、有効な治療法を研究することとした。病因・病態研究の対象は臨床に結びつく基礎的研究に絞り、小児科領域に特徴的な先天性腎・尿細管疾患の DNA 診断と、腎障害機転に関する遺伝子異常について研究した。以上の費用効率の高い研究を行う事により上述の目標の達成を目指した。

A. 研究目的

近年の医療の進歩にも拘わらず小児慢性特定疾患研究事業の対象となる難治性腎尿路疾患患児数は年間 8,400 名、末期腎不全に至る患児も年間 100 名に達しており、適切な管理・治療法を研究・確立することが、患児の QOL の改善、医療費の節減のみならず、健全な小児の育成という母子保健の目標に適切、社会に大きく貢献する事となる。しかしその研究課題は多岐にわたるため、私共は選択基準を国内外で未だ十分な成果が得られていない新しい研究分野で、且つ適切な研究方法により3年間で確実な成果を期待出来る研究とした。

B. 研究方法

1. 有用な先天性腎尿路奇形のスクリーニングシステムを確立するため、本年度は分担研究者、研究協力者が行って来た超音波（ECHO）スクリーニングの成績を解析し、腎奇形のチェック項目、チェック基準、チェック時期のスタンダードを探索した。膀胱尿管逆流（VUR）スクリーニングのための

ECHO の有用性についても検討した。

2. 小児期腎不全のデータベースを作成するため、集計項目表の検討を行った。既にデータベースが蓄積されつつある PD 患者についてはモデルケースとして解析を行った。

3. 小児期 IgA 腎症に対するカクテル治療の共同試験結果を解析し、短期のみならず長期予後についても分析した。

4. 特発性尿細管性蛋白尿症、純系永続性近位尿細管性アシドーシス、腎性尿崩症などの先天性腎尿細管機能異常の原因遺伝子の解析、Drash 症候群、IgA 腎症、ネフローゼ症候群などの糸球体障害機転への遺伝子異常の関与を解明するため分子生物学的検討により研究を行った。

#### C. 研究結果

1. 現在までのデータ分析から ECHO スクリーニング基準として時期は生後 6 カ月以内に行うこと、測定は、腎の大きさ ( $\pm 3SD$ ),

中心部エコーの異常(8mm 以上), エコー輝度の異常, その他の異常(腫瘍性病変, 腎実質の菲薄化など), を基準とすることとした。ECHO による VUR 早期診断について松山は、通常の ECHO 診断法での成績は不良であること、平岡は自然排尿誘発法を用いれば早期診断法として有用であると報告した。

2. 小児期腎不全のデータベースを作成するため、研究協力者の竹林から統計処理上の指導を受け別紙報告のごとき第一次、第二次調査表を作成し、現在全国の各該当施設へ発送中である。既にデータベース作成が先行して

いる小児 PD 症例 807 例について原病、予後、合併症、死因について検索した。我が国においては腎提供が不十分のために長期透析に頼らざるを得ない現状と、その中でも患者家族の知的水準の高さのために欧米に比して良好な透析経過を維持していることが明らかになった。しかし、小児の中でも低年齢時(乳幼児)は腹膜炎を含め合併症の頻度が高く、長期の透析維持もより困難であり、また、透析の長期化により小児でも硬化性腹膜炎が問題となりつつあることが明らかになった。

3. びまん性増殖性病変を示す重症 IgA 腎症にプレドニゾロン、アザチオプリン、ヘパリン/ワーファリン、ジピリダモールのカクテル治療を 2 年間投与し、尿所見と腎組織所見の改善を得る事が出来た。本研究においてこれらの患児を治療終了後長期にわたる経過観察を行った結果、9 年後の腎生存率は 100% で、以前の非治療群の 73% に比して有意の改善が認められた。

4. 特発性尿細管性蛋白尿症家系に英国の Dent 病患者で異常が報告されている CLCN5 遺伝子に mutation を検出した。

純型永続性近位尿細管性アシドーシス患者末梢血  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  cotransporter cDNA に mutation を検出した。

腎性尿崩症についてクロライドチャンネル CIC-K1 のノックアウトマウスを作成し、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。

Drash 症候群における Wilms 腫瘍摘出後の残存腎での WT1 遺伝子による糸球体硬化機転

を検索することが出来た。また、angiotensin converting enzyme(ACE)遺伝子多型や platelet-activating acetylhydase(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。

#### D. 考察

1. 小児期腎不全の原因疾患の約半数を占める先天性腎尿路疾患（奇形及び VUR）の早期発見・治療法を確立することは極めて重要な課題である。我々は本研究で先天性腎尿路奇形の ECHO によるスクリーニングについて基準案を作成する事が出来た。従って次年度はこの基準による共同研究を開始し、その有用性を確認し、更に異常を発見された患児に対する治療方針についても検討したい。

小児期末期腎不全の原因の中で VUR 単独例の占める率は明らかではないが、本疾患では早期治療の効果が高いと考えられるために、早期発見のための多くの試みが為されてきている。ECHO スクリーニングもその一つであるが、我々の検討でも有用性を証明出来なかった。しかし平岡らの自然排尿誘発法を用いる方法はスクリーニングとしての難易度を含め更に検討が必要と考えている。

2. 腎疾患の予後で最も悪い結果は腎機能の廃絶：末期腎不全であり、医療の目的は腎不全にしないための腎尿路疾患の治療と、不幸にして末期腎不全に至った場合の透析、腎移植による治療社会復帰である。この目的のための治療法の解明のためには腎不全患児の病状、臨床経過などのデータが必要となる。ど

のような腎臓病で、どの程度の重さの場合に予後が問題となるのか、その場合にどのような治療が有効であるのかなどをより正確に知るためには、より大きな患者情報が蓄積されている事が必要である。欧米においては成人のみならず小児においても国規模の腎不全データベースが作られており、小児腎疾患の治療研究に大いに役立っている。残念ながら本邦では今回の企画が出発点であるが、これを成功させる事が極めて重要な事であるため、本研究班の最重要課題として力を注いでいきたい。既に先行している小児 PD 調査から欧米と比較して特異な小児腎不全の現状が明らかにされ、また、硬化性腹膜炎への対策、透析効率評価など今後重点的に研究を進めるべき課題が明らかにされたことも高く評価されて良いと考える。

3. IgA 腎症の加齢治療が短期のみならず長期においても有効であり、小児期では予後不良の IgA 腎症症例においても腎不全への進展を阻止することが出来る画期的成績を得る事が出来た。しかし、一方で本治療は強力な治療であるために、成長抑制、骨粗しょう症、白血球減少などの副作用が問題となる。したがってより安全で有用な治療法を探るために現在ス剤単独使用、ス剤 + 他の免疫抑制剤治療などの検討を進めている。

4. 特発性尿細管性蛋白尿症における上述の検討結果より五十嵐らは exon 8 が CLCN5 遺伝子異常の好発部位と考えている。純型永続性近位尿細管性アシドーシスについて  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  cotransporter が本症の原因遺伝子であることを五十嵐が世界で初めて明らかにし

た。また、根東らの腎性尿崩症の研究成果を含め、全て新知見であり、これらの知見は極めて基礎的な成果であるが、知見が蓄積することによりヒト腎尿細管の働きがより明らかになれば、これらの難病に悩む子ども達を苦しみから救うことも可能となる。

Alport 症候群、IgA 腎症、ネフローゼ症候群での遺伝子検索から、種々の遺伝子が糸球体形成とその機能維持、機能障害に関与することが推定された。このことは当該遺伝子の形成蛋白の補充、拮抗物質の投与が治療に結びつくことを示唆しており、次の段階での薬剤試験の可能性を探りたい。

#### E. 結論

1. 先天性腎尿路奇形の早期スクリーニング基準(案)を完成し、次年度よりその有用性についての共同研究を進める。

2. 小児腎不全データベースの調査表を作成し、次年度よりデータの集積を進める。

3. IgA 腎症カクテル治療の長期効果を確認出来たので、次年度より副作用の少ない薬剤の組み合わせを検討する。

4. 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、腎性尿崩症の遺伝子異常について新知見を得る事が出来た。種々の腎炎の組織障害機転における遺伝子の関与を明らかにした。次年度以降の研究で腎炎治療薬剤開発への糸口を掴みたい。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Ito H, Yoshikawa N, Honda M

Around the world : Japan , in "Pediatric Nephrology , edited by Holliday MA, Barratt TM, Avner ED, Baltimore, Williams & Wilkins, 1999 in Press.

2) Yoshiakwa N et al: Treatment trial on IgA nephropathy. In: Pediatric Nephrology, edited by Holliday MA, Barratt TM, Avner ED, Baltimore, Williams & Wilkins, 1999

3) Yoshikawa N, Ito H et al : A controlled trial of combined therapy with prednisolone, azathioprine, heparin-warfarin, and dipyridamole for newly diagnosed severe childhood IgA nephropathy.

J Am Soc Nephrol 10:101-109 1999

4) 吉川徳茂、伊藤拓、酒井糾他  
日本小児 IgA 腎症治療研究会 巢状・微小メサンギウム増殖を示す小児期 IgA 腎症における柴苓湯治療のプロスペクティブコントロールスタディ.

日本腎臓学会誌 39 : 503-506 1997

5) 松山 健、伊藤 拓他  
小児の膀胱尿管逆流現象における通常の超音波検査法による診断率

小児科学会雑誌 101 : 958-962 1997

6) Honda M et al. Recent development in the management of infants with end-stage renal disease.

Clin Exp Nephrol 2 : 1-11 1998

7) Honda M, Yoshikawa N et al  
The Japanese national registry data on pediatric CAPD patients : A ten year experience. A report of the study group

- of pediatric PD conference . Peritoneal Dialysis International 16 : 269-275 1996
- 8) Igarashi T et al : Idiopathic low molecular weight proteinuria associated with hypercalciuric nephrocalcinosis in Japanese children is due to mutations of the renal channel (CNCL5).  
J Clin Invest 99 : 561-568 1997
- 9) Igarashi T et al : Mutations of CNCL5 in Japanese children with idiopathic low molecular weight proteinuria.  
Kidney Int 52 : 911-916 1997
- 10) Igarashi T. et al  
Functional characterization of renal chloride channel,CLCNS, mutations associated with Dent ' s Japan disease.  
Kidney Inter 54: 1850 1856, 1998
- 11) Yoshikawa N. et al  
ACE gene polymorphism in childhood IgA nephropathy: Association with clinicopathologic findings.  
Am J Kidney Dis 31:774-779 1998
- 12) Yoshikawa N et al  
Platelet-activating factor acetylhydrolase gene mutation in Japanese nephrotic children.  
Kidney Int 54 : 1867-1871 1998
- 13) Hiraoka, M et al  
Use of ultrasonography in the detection of ureteric r in children suspected of having urinary infection.  
Clin Ultrasound 25 : 195-199 1997
- 14) Hiraoka,M et al Vesicoureteral reflux in male and female neonates as detected by voiding ultrasonography.  
Kidney Int: in press
- 15) Kondo Y, et al Overt diabetes insipidus in CIC-KI deficient mice.  
Nature Genetics in press
- 16) Nagata M et al  
Cellcycle regulation and differentiation in the human podocyte lineage.  
Am J Pathol 153 : 1511-1520 1998