

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  
（班長 伊藤 拓 国立小児病院副院長）  
小児難治性腎尿細管疾患の病因・病態の研究

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** 特発性尿細管性蛋白尿症の患者4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。これまで不明であった純型永続性近位尿細管性アシドーシスの病因遺伝子が  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  cotransporter であることを初めて明らかにした。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لمス腫瘍の病因遺伝子である WT1 遺伝子は糸球体形成とその機能維持に関与することを明らかにした。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。

#### 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、純系永続性近位尿細管性アシドーシス、Drash 症候群、Alport 症候群、腎性尿崩症の患者の原因遺伝子の解析あるいは解明を目的に分子生物学的検討を行った。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）

特発性尿細管性蛋白尿症4家系の CLCN5 遺伝子に Nonsense mutation(コドン 648 CGA TGA)、missense mutation(コドン 270 AGC CGC, 278 TTG TTC)、splice site mutation (イントロン 4 ag

cg) を検出した。患児の母にも患児と同一の変異を認めた。コドン 648 の変異は英国の Dent 病患者と同一の異常であった。

b) 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）

低身長、軽度知能低下、血清アミラーゼ高値、緑内障、白内障、帯状角膜変性症を呈する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 の codon298 に missense mutation (AGA AGC) を検出した (homozygote)。患者と両親の同遺伝子にも同一の変異が見られた (両親は heterozygote)。同変異が CfoI による切断部位を生み出すことを利用して同遺伝子上の変異を再確認し、コントロールには見られない変異であることを確認した。

c) 低形成・異形成腎（研究協力者 長田 道夫）

異形成腎の病理学的解析により以下の結果を得た。1) 完全尿路閉塞の場合にも在胎 14 週では嚢胞形成がないが 18 週では異形成を認めた。2) 胎児異形成腎の初期病変は皮膜下系球体嚢胞(GC)であった。3) GC はネフロン形成層を mass effect として障害し、週令と共に線維性間質が増加した。4) 異形成成分には間葉細胞でのテネイシン、上皮細胞での bcl-2 の発現が亢進した。5) 嚢胞形成はネフロンのどの位置でも起こるが、嚢胞を形成するネフロンには傍系球体装置形成が見られた。

d) Drash 症候群 (研究協力者 高橋 昌里)

静岡県立こども病院で Wilms 腫瘍による片腎摘出後腎機能低下と蛋白尿を呈した症例は 19 例中 2 例であった。摘出腎の健常部に未熟系球体を多数認めた。2 例中 1 例にこれまで検出された物と同一の WT1 遺伝子の異常が認められた。泌尿器科的疾患にて片腎摘出した症例 30 例には腎機能低下や蛋白尿の出現する症例は見られなかった。

e) Alport 症候群 (研究協力者 田中亮二郎)

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。

f) 腎性尿崩症 (研究協力者 根東 義明)

腎髄質部内層に存在する細いヘンレの上行脚のクロライド輸送が尿濃縮に重要な役割を果たすことを提唱してきた。東京医科歯科大学医学部第二内科との共同研究により、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。

#### D. 考察と結論

a) Dent 病 (分担研究者 五十嵐 隆)

2 つの missense mutation は exon 8 に認められており、これまでに私どもが報告した 14 変異の内

7 変異が exon 8 に生じており、exon 8 は CLCN5 遺伝子異常の好発部位と思われた。

b) 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)

$\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  cotransporter 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)

腎異形成の発症機序には初期ネフロンの発声が必要で、在胎 14-16 週から発生することが判明した。

d) Drash 症候群 (研究協力者 高橋 昌里)

WT1 遺伝子は系球体形成とその機能維持に参与することが推定された。

e) Alport 症候群 (研究協力者 田中亮二郎)

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。

f) 腎性尿崩症 (研究協力者 根東 義明)

世界で初めて 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。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Igarashi T, et al: Functional characterization of renal chloride channel, CLCN5, mutations associated with Dent's disease. *Kidney Inter* 54: 1850-1856, 1998

2) Nagata M, et al: Cell cycle regulation and differentiation in the human podocyte lineage. *Am J Pathol* 153: 1511-1520, 1998

3) Tanaka M, et al: ACE gene polymorphism in childhood IgA nephropathy: Association with clinicopathological findings. *Am J Kidney Dis* 31: 774-779, 1998

4) Tanaka R, et al: Platelet-activating factor acetylhydase gene mutation in Japanese nephrotic children. *Kidney Inter* 54: 1867-1871, 1998

5) Kondo Y, et al: Overt diabetes insipidus in ClC-K1 deficient mice. Nature Genetics (in press)

## 2. 学会発表

1) Igarashi T, et al: The mutations of chloride channel gene in Japanese patients with idiopathic low molecular weight proteinuria. The 2<sup>nd</sup> International Forum. Tokyo, Japan, 1998, May.

2) Igarashi T, et al: The mutations of chloride channel gene in Japanese patients with idiopathic low molecular weight proteinuria, hypercalciuria and nephrocalcinosis. The 11<sup>th</sup> congress of the international Pediatric Nephrology Association. London, United Kingdom. 1998, September.

3) Igarashi T, et al: The mutations of renal chloride channel gene (CLCN5) in Japanese patients with idiopathic low molecular weight proteinuria. The 31<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology. Philadelphia, U.S.A. 1998, October.

4) 五十嵐 隆、他：CLCN5 遺伝子と Dent 病および類縁疾患 第 41 回日本腎臓学会、東京、1998 年 5 月

5) 五十嵐 隆、他：特発性尿細管性蛋白尿症における CLCN5 遺伝子異常の解析 第 101 回日本小児科学会、米子、1998 年 5 月

6) 五十嵐 隆、他：ミスセンス変異による異常クロライドチャンネル 5 蛋白のツメガエル卵細胞での発現とその機能解析、第 33 回日本小児腎臓

病学会、横浜、1998 年 6 月

7) 五十嵐 隆、他：Dent 病と類縁疾患における遺伝子解析、第 33 回日本小児腎臓病学会、横浜、1998 年 6 月

8) 長田 道夫、他：異形成腎の発症と進展に関する病理組織学的検討、第 87 回日本病理学会、広島、1998 年 4 月

9) 長田 道夫、他：異形成腎における尿路閉塞と嚢胞形成過程、第 33 回日本小児腎臓病学会、横浜、1998 年 6 月

10) 田中 亮二郎、他：血小板活性化因子分解酵素の遺伝子変異は IgA 腎症の発症進展に関与する、第 41 回日本腎臓学会、東京、1998 年 5 月

11) 田中 亮二郎、他：血小板活性化因子分解酵素の遺伝子変異は IgA 腎症の発症進展に関与する、第 33 回日本小児腎臓病学会、横浜、1998 年 6 月

12) Tanaka R, et al: Role of platelet-activation factor acetylhydase gene mutation in Japanese childhood IgA nephropathy. The 31<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society of Nephrology. Philadelphia, U.S.A. 1998, October.