

D. 考 察

当科では VUR を有する乳幼児に対して、VUR 発見後 6 か月間は 1 か月に 1 回の頻度で検尿を行って UTI の早期診断に努めるとともに、発熱があれば 24 時間以内に当科を受診し検尿を受けるように指導している。包茎の強い男児ではその解除に努め、男女を問わず外陰部の清浄化を目指している。自立排尿が可能な児に対しては男女を問わず排尿回数を増やすように指導している。この 6 か月間を過ぎて以降は検尿所見などを参考にしながらであるが、2~3 か月に 1 回、4~6 か月に 1 回、9~12 か月に 1 回と徐々に外来受診の間隔を広げるようにしている（参考文献：平岡政弘著「小児尿路感染症の外来診療マスターブック」2003 年）。

今回の検討では、当科にて経過観察されている現在 3 歳以上の VUR 児 40 名（男 27 名、女 13 名；男児が全体の約 2/3）において UTI を発症したのは無投薬群で 7 名（この群での 7/21 = 33%）、抗菌剤群で 6 名（この群での 6/19 = 32%）であった。この頻度は両群それぞれの患者数の約 1/3 であり、両群間に差はなかった。性別で分けると男児が 6 名（男児での 6/27 = 22%）、女児が 7 名（女児での 7/13 = 54%）であったので、男児の約 1/5、女児の約 1/2 が UTI を起こしたことになる。女児が男児よりも UTI を起こしやすいことが再確認された。外来診療の上で特に問題になるのは抗菌薬内服中止後に UTI を発症する場合であるが、今回の検討では、2 年前後の抗菌薬投与の後に UTI を発症した患者が 2 名だけいた（この群での 2/19 = 11%）。そのうちの 1 名はリスクが低いと想定される男児であった。この患者は VUR 以外に複雑な尿路異常を合併していた。抗菌薬内服中止後の 1 歳 3 か月~10 歳 4 か月の 9 年 1 か月間に 1 回だけ UTI を起こしただけであるが、別の尿路異常の存在が男児での UTI 発症のリスクを高めることを示唆する症例のように思われた。

経過観察中に 2 回以上 UTI を発症したのは 5 名（その頻度は 2~7 回）であった。患者はいずれも女児であり（女児全体での 5/13 = 38%）、すべて発熱を伴わない下部 UTI であった。その内訳は無投薬群が 3 名、抗菌薬群が 2 名（内服中が 1 名、中止後が 1 名）であった。2 回以上の UTI 発症がすべて女児であったこと、それら

の UTI がすべて下部 UTI 止まりで VUR の重症度とは関連なかったことから、女児に特に多く見られる Lazy bladder などの膀胱機能異常が VUR 児の UTI の繰り返しにかなり寄与すると考えられた。このような児に対しては、膀胱機能を精確に評価するとともに頻回排尿、2 段・3 段排尿の習慣や外陰部の清浄化などをさらに徹底させる必要があると思われた。一方、男児で UTI の繰り返しが全く見られなかったことは、当科の医師が包茎解除を含めた外陰部の清浄化に努めたことがかなり寄与したと思われた。この種の努力の重要性は小児科の外来診療において近年ますます重きを置かれているところである。

ところで、発症時も含めて UTI を全く起こさなかった患者が 12 名（男 9 名、女 3 名）、全体の 12/40 = 30%もいたことは注目すべき結果であった。その内訳は無投薬群が 6 名、抗菌薬群が 6 名であったが、これらの患者の VUR が特に軽度であるということはなかった。当科の医師は当院だけでなく周辺の医療施設の産科・小児科においてもスクリーニング超音波検査を積極的に実施している。そのような医療環境では全く UTI を経験しない VUR 症例も少なからず（30%前後）存在することを示す結果であった。また、小児科あるいは産科の外来診療の中で包茎の強い男児ではその解除に努められ、男女を問わず外陰部の清浄化を目指されていて、かつ、スクリーニング超音波検査がなされない環境であるならば、UTI を起こさず VUR そのものも検出されずに経過する患者も存在する可能性を示唆する結果であった。

最初に示した管理指針を実践することにより、3~4 度を中心に重症度が分布する VUR 患者においては数年の経過観察の後に 90%近くで抗菌薬を内服しなくても UTI が発症しなくなることが、今回の検討によってはじめて明らかになった。最終検査時に血清 Cr 値が高値であったのは 17 歳 0 か月の両側 VUR の男児 1 名のみであった（全体の 1/40 = 2.5%）。最終観察時に腎臓の矮小化が見られたのはこの児を含めて 12 名いたが、すべて男児であった（男児全体での 12/27 = 44%）。腎臓の矮小化は機能するネフロン数の減少を明示するとともに、腎臓機能低下のリスク因子の 1 つでもある。VUR 児の長期外来フォローにおいては、血液・尿検査だ

けでなく超音波による腎臓の大きさや形態の評価も重要であることが再認識された。また、特に矮小腎を呈している VUR 患者 (特に男性) については生涯にわたり腎臓機能をフォローする必要性があると考えられた。

今回の検討では、最終検査時に有意な蛋白尿を呈するもの、高血圧、低身長を有するものはいなかった。結局のところ、一般臨床検査上の異常を呈していた患者は血清 Cr 値がやや高値であった 17 歳 0 か月の両側 VUR の男児 1 名のみであった。

腎臓機能が低下しだすと原疾患によらずそれは進行する。その進展には糸球体高血圧など様々な因子が寄与するが、その場合には“酸化ストレス”負荷が亢進すると推定される。2005 年度からの研究の継続であるが、われわれは、進行性腎障害を呈する危険性のある先天性腎尿路異常症患者 38 名 (男 28 名、女 10 名) において酸化ストレス負荷が亢進しているかどうか特異的尿マーカー (8-OHdG、acrolein-lysine、NOx) を計測することにより検討した。100 名の健常者 (男 50 名、女 50 名) から年齢別の正常参考値をまず設定しそれに基づいた SD スコアを用いて患者群を評価したところ、患者群では VUR 患者 16 名の SD スコア (平均) はそれぞれ -0.13、+0.86、-0.77 であり、スコアが +2.0 を超えるのは 8-OHdG で 1 名、acrolein-lysine で 1 名いるのみであった。それ以外の 22 名の SD スコア (平均) は -0.03、+2.75、-0.39 であった。+2.0 を超えたのは 8-OHdG で 3 名、acrolein-lysine で 11 名いた (このうち多嚢腎 9 名中 acrolein-lysine で 3 名、無形成腎 4 名中 8-OHdG で 1 名、acrolein-lysine で 3 名、低・異形性腎 3 名中 acrolein-lysine で 2 名いた)。NOx で SD スコアが +2.0 を超えた患者はいなかった。21 名で血清 NOx 値 (平均) を計測したが 33 nmol/ml (NOx clearance は 25%) と正常範囲内にあった。先天性腎尿路異常症のうち多嚢腎、無形成腎、低・異形性腎では酸化ストレス亢進 (特に脂質酸化亢進) があるが、VUR では酸化ストレス亢進はないと考えられた。VUR における腎臓への負荷は多嚢腎、無形成腎、低・異形性腎に比較すると重くないのではないかと推察された。今後はこのような生化学的手法を併用しながら、当科外来にて VUR 児をさらに長期間経過観察する予定である。

E. 結 語

わが国においては UTI の小児患者は発症後早期に医療施設を受診する傾向にあり、それは欧米での医療事情とはかなり異なる。従って、UTI の診断・治療・管理指針についても、わが国の医療事情を十分に考慮したものが提示されなければならない。しかし、患者や家族そして医療者側にもいまだ“とまどい”が見られるのが実情である。本研究によって日本人小児における VUR の大体の自然歴が明らかになったと同時に、低侵襲的かつ適確と考えられる管理法が例示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Mori Y, Hiraoka M, Suganuma N, Tsukahara H, Yoshida H, Mayumi M. Urinary creatinine excretion and protein/creatinine ratios vary by body size and gender in children. *Pediatr Nephrol* 21: 683-687, 2006.

Tamura S, Tsukahara H, Ueno M, Maeda M, Kawakami H, Sekine K, Mayumi M. Evaluation of a urinary multi-parameter biomarker set for oxidative stress in children, adolescents and young adults. *Free Radic Res* 40: 1198-1205, 2006.

Tsukahara H. Biomarkers for oxidative stress: Clinical application in pediatric medicine. *Curr Med Chem* 14: 339-351, 2007.

塚原宏一. 新生児: 体液・電解質異常. 小児科診療 69 (小児の治療指針), 861-867, 2006.

塚原宏一. 尿検査: 尿中細菌. 小児臨床検査ガイド (五十嵐隆, 水口 雅編; 文光堂, 東京) 588-594, 2006.

古畑律代, 金谷由宇子, 田村知史, 徳力周子, 塚原宏一, 谷澤昭彦, 平岡政弘, 眞弓光文, 西島浩二, 宿南憲一. 胎児超音波検査で Potter sequence を疑われ、出生後 urosepsis の管理に難渋した多発性嚢胞腎の 1 女児例. *Pharma Medica* 24: 126-129, 2006.

塚原宏一. 小児における異常ナトリウム血症の管理. *小児科臨床* 59: 1543-1553, 2006.

塚原宏一. 一酸化窒素 (NO) と腎臓: 個人的考察. *小児腎臓病学会雑誌* 19: 96-103, 2006.

2. 学会発表

塚原宏一. Nitric oxide (NO) と腎臓 (教育講演). 第 41 回日本小児腎臓病学会学術集会, 6 月, 2006 年 (名古屋).

塚原宏一, 眞弓光文. 小児腎臓疾患における一

酸化窒素の役割. 第 55 回中部日本糸球体腎炎
談話会, 7 月, 2006 年 (名古屋) .

塚原宏一, 徳力周子, 古畑律代, 田村知史, 川
谷正男, 眞弓光文. 浮腫あるいは異常ナトリウ
ム血症の考え方、対処について. 第 10 回未熟
児・新生児医療研究会, 8 月, 2006 年 (大阪) .

平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金（子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早期発見、診断、管理・治療に関する研究
（主任研究者 五十嵐隆 東京大学教授）

原発性VURにおける尿路感染予防法に関する検討

分担研究者 中井秀郎 獨協医大越谷病院泌尿器科助教授

研究要旨

尿路感染症の基礎疾患として、原発性膀胱尿管逆流症（VUR）の存在は重要で、細菌の腎臓へのアクセスを容易にするために上部尿路感染を惹起する。ただ、同程度のVURであっても、少量の予防的抗菌剤内服での尿路感染再発防止が容易な症例から、困難な繰り返す症例まで、さまざまである。VUR現象以外の何がそれを規定するのかの研究は、必ずしもまだ十分に行われていないが、感染再発例は、乳児期では男児に、幼児期には女児に有意に多く認められることが解っており、複合的とされる原因の中でも、乳児（男児）における生理的包茎の重症度、幼児（とくに女児）における排尿異常（過活動膀胱）に今回着目した。

本研究では、乳児生理的包茎の自然改善の遅れている症例ほど、尿路感染の再発を来しやすく、また幼児期の排尿異常の検出には、点数化（スコア化）を可能にする質問票の作成が有用であることが示された。

A. 研究目的

乳児期の生理的包茎の程度が VUR 乳児の UTI 発症率に関連するか検討する。

小児原発性VURにおける排尿異常の関与を明らかにするために、初診後の尿路感染発症率、VURの予後、および腎瘢痕進展に与える排尿異常の影響につき検討する。

B. 研究方法

2003年から2006年までにVURの診断にて受診した乳児期男児32名を対象とした。生理的包茎(Physiological Phimosis)の程度(以下Phy-Phi grade)を

I度：外尿道口とその周囲の亀頭表面を全周にわたり手動的に露出できる。

II度：外尿道口全体を露出できるが周

囲の亀頭表面は見るできない。

III度：外尿道口の一部を露出できる。

IV度：外尿道口を全く露出できない。

の4段階に分類し、UTI発症率およびbreak through infection（以下BTI）発症率（予防的抗菌療法下UTI発症率）との関連を統計学的に後ろ向き検討した。

排尿が確立した小児原発性VUR例（初診年齢3~12歳）を対象とする。排尿異常の有無は排尿問診票により判定する。尿流測定、膀胱内圧測定などの排尿機能検査を行った症例では、その結果を付記する。

基礎データ（登録時）：来院時（VUR発見時）の主訴、VUR grade、尿路感染の既往（回数）、排尿問診票、DMSA腎シンチ（腎瘢痕の評価）、*尿流測定、膀胱内圧測定

治療内容：予防的抗菌剤投与 有、無（期間： ）、
排尿指導 有、無（指導内容： ）、抗コリン薬投与 有無（期間： ）、
緩下剤使用 有、無（期間： ）、逆流防止術 有、無（手術年齢： ）

2年目以降、毎年(Study開始後5年まで)：

VUR grade

症候性尿路感染 有、無（回数： 回）
（うち有熱性 回）

排尿問診票

DMS A腎シンチ

*尿流測定、膀胱内圧測定

治療内容（上記と同じ）

排尿問診票の内容について

「お子様の排尿の状況についての質問です。この1ヶ月間を思い出して、あてはまるところに○をおつけてください。尚、この設問内容は医学的な解析のみを行うものであり、お子様のプライバシーが外部に漏れることは全くありません。」 スコア部分は9項目の質問があり、0点、なし、1点、月の半分未満、2点、月の半分あり、3点、いつもあり、という評価基準とする。

今回は、パイロットスタディとして、医師、患者の使用感、同一患者での再現性を確認する。

C. 結果

初発 UTI 発症年齢は平均 4.2 ヶ月であった。両側高度 VUR：5 例、片側高度 VUR：19 例、両側軽度 VUR：8 例であった。前医小児科における保存的治療の主体は予防的抗菌療法であった。VUR grade と UTI 発症回数には相関は認められなかった。当科初

診時(Phi-Phi grade 評価時)までに 29 人が UTI を発症、その内 11 人 (38%) が BTI を発症していた。当科初診は平均 6.6 ヶ月であった。

当科初診時までの平均 UTI 発症回数は 1.7 回 (BTI を含む)、平均 BTI 回数は 0.5 回。Phy-Phi grade と UTI 発症回数/月齢の関連を検討すると $rs = 0.39$ ($P = 0.03$) であり、相関が認められた。Phy-Phi grade と BTI 発症回数/月齢との関連を検討すると、 $rs = 0.52$ ($P = 0.004$) であり相関が認められた。

今年度の目標とした、スコアシートの作成については、再現性は確認された。しかし若干の修辭学的な問題についての改良を要すると思われた。具体的には、お腹に力を入れる、という行為の程度を表現することが、解りづらかった。

D. 考察

乳児 VUR の保存的治療は、現在、予防的抗菌療法が主体だが、高度の生理的包茎を有する場合、陰部衛生管理を促進し、外尿道口周囲 bacterial colonization による上行性尿路感染を遮断する目的で、ステロイド塗布などの包皮伸展療法が、優先すべき治療方針となる可能性がある。

また、排尿異常を客観的に、もれなく聴取する技術としてのスコアシート（質問票）では、評価による点数化が有効な指標として用いられる期待が高く、普及に対する了解が得られるように、今後努力すべきと思われた。

E. 結論

原発性乳児 VUR の保存的治療期間において、Phy-Phi grade の高い症例、すなわち乳児生理的包茎の自然改善が遅れている症

例ほど UTI や BTI を起こしやすい。

幼児の排尿障害の診断には、今回の質問票は有効な手法である。

E. 研究発表

学会発表

- 1) 木原敏晴、中井秀郎、佐藤 両、安田耕作：Acute Focal Bacterial Nephritis をきたした VUR 症例の経過と腎予後 第 14 回日本逆流性腎症フォーラム記録集
- 2) 浅沼 宏、佐藤裕之、宍戸清一郎、中井秀郎：乳児原発性 VUR における長期的な RN の検討 第 14 回日本逆流性腎症フォーラム記録集
- 3) 森健一、中井秀郎、佐藤 両、安田耕作 乳児の高度な生理的包茎は VUR の保存的治療に抵抗する 第 15 回日本逆流性腎症フォーラム

論文

- 1) 木原敏晴、中井秀郎、北原聡史、安田耕作 急性巣状細菌性腎炎 (AFBN) の検証-泌尿器科の立場から- 小児科臨床別冊 Vol.59 No.7 1577-1581

厚生労働科学研究費補助金（子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早期発見、診断、管理・治療に関する研究

（主任研究者 五十嵐隆 東京大学教授）

先天性腎疾患の診断、治療、管理システム構築に関する研究

医学医療知識共有化システムの構築

分担研究者 飯島一誠 国立成育医療センター腎臓科医長

研究要旨

わが国の先天性腎疾患の診断における問題点として、一般臨床家の認識不足があげられる。この問題点を解決するために、本研究班のメンバーが中心となり、先天性腎疾患を中心に腎尿路異常を生じる疾患の診断・治療のための補助手段開発を目的として、財団法人医療情報システム開発センター、インターサイエンス社、NTT 東日本、NTT コムウェアなどからなる医学医療知識共有化システムの開発研究グループとの共同研究として医学医療知識検討委員会（委員長：飯島一誠）を立ち上げた。本委員会は、先天性腎疾患を含む腎尿路異常をきたす疾患を中心とした種々の小児疾患のデータベース（Medical Cell）を作成し、これらの情報の検索や鑑別診断が容易に行えるシステム構築に関しても、さまざまな提案を行い、実証実験にも参加した。今後は腎疾患にとどまらず、すべての疾患に関するデータベースが作成される予定である。このシステムを電子カルテと連動させることで、一般臨床家が診療時にリアルタイムに緊急安全性情報を含む最新の医学・医療知識を得ることが出来るようになり、一般臨床家が質の高い診療行為を行うための非常に有用なツールになるものと思われる。また、オンライン出版や各診療・研究グループ、学会内での知識の共有にも極めて有用と思われる。

A. 研究目的

小児の難治性腎疾患のなかで先天性腎疾患が占める割合は極めて高い。特に、Alport 症候群、ネフロン癆、菲薄基底膜病、Dent 病、腎性低尿酸血症などの先天性腎疾患は比較的頻度が高いにもかかわらず、

一般臨床家の認識は低い。そのため診断が遅れたり、無用あるいは有害な治療が行われることが多い。一般臨床家の先天性腎疾患に対する認識の低さを解決するためには、一般臨床家、小児腎臓病専門医以外の小児科医を対象とした啓

発活動が最も重要であろう。啓発活動の方法としては、“先天性腎疾患診療手引き”の作成、出版、あるいはインターネットでの公開などが考えられる。

一方、近年のIT化に伴って電子カルテを導入する医療機関が増加しているが、電子カルテ上でさまざまな情報の検索や鑑別診断が容易に行えるシステムを構築し、そのシステムを通じて、医師、看護師、薬剤師、その他のコ・メディカルが最新の医学医療知識を共有、より質の高い医療を実践するための補助手段の開発が行われている。

我々は、一般臨床家の先天性腎疾患を主とする小児腎疾患に対する認識を深めるために、その電子カルテシステムのコンテンツの一つとして、先天性腎疾患を中心に腎尿路異常を生じうる疾患のデータベースを作成した。また、これらの情報の検索や鑑別診断が容易に行えるシステム構築に関しても、さまざまな提案を行い、実証実験にも参加した。

B. 研究方法

独立行政法人情報処理推進機構 (IPA:Information-technology Promotion Agency, Japan)の医学医療知識共有化システムの開発研究として財団法人医療情報システム開発センター (MEDIS-DC)、インターサイエンス社、NTT 東日本、NTT コムウェア、有限会社館がコンソーシアムを形成し、開発統括責任者である東北大学医療情報学根東義明教授のもとに平成17年度から活動を開始しているが、この研究グループと厚生労働科学研究五十嵐班との共同研

究として、医学医療知識検討委員会を立ち上げた。この委員会には、五十嵐隆 (東京大学小児科)、関根孝司 (東京大学小児科)、根東義明 (東北大学医療情報学)、高橋昌里 (日本大学小児科)、中西浩一 (和歌山県立医科大学小児科)、中里仁史 (熊本大学小児科) 宝樹真理 (たからぎ医院) 及び飯島一誠 (委員長: 国立成育医療センター) が参加し、平成17年7月15日に第1回委員会を、その後、1-2ヶ月に一度の頻度で委員会を開催した。

C. 結果

医学医療知識共有化システムの開発

安全で質の高い医療を提供するためには、医療従事者が、従来のように必要に迫られてその都度、教科書や論文等を検索して医学医療知識を得るだけではなく、日常の診療において、医学医療知識の共有や教育がなされる仕組みが必要となる。このために、日進月歩の医学医療に対応できる知識構造の標準化と以下の開発が行われた。

(1) 知識の作成者毎にレベル管理された医学医療知識を蓄積・管理していくためのポータルソフトウェアの開発。

(2) ネットワークを介して医学医療知識が電子カルテ上に有機的に組み込まれ、医師、看護師、薬剤師、その他のコ・メディカルとの共有と、医療機関を超えて多彩な分野での共有が可能となる構造をもつインターフェースの開発。

(3) 共有するコンテンツを Web 上で入力、表示、登録するソフトウェアとして Medical Cell を開発。

医学医療知識検討委員会

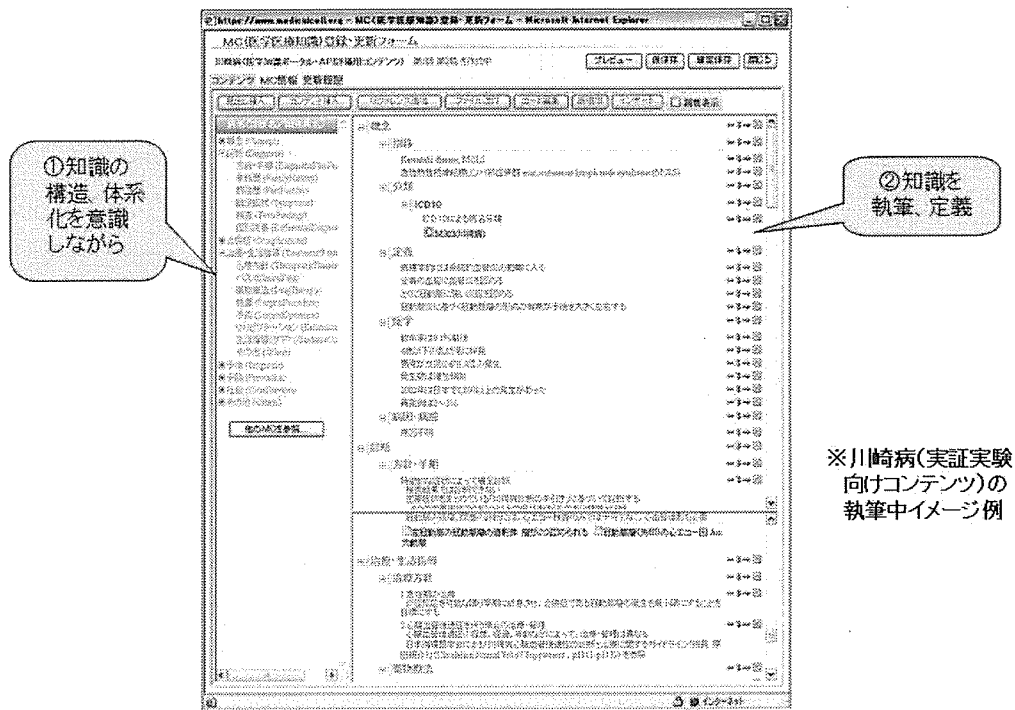
Medical Cell に先天性腎疾患を含む腎尿路異常をきたす疾患を中心として種々の小児疾患データを入力した。入力例として川崎病の Medical Cell を図に示す(図1)。Medical Cell の特徴は、知識参照者、知識利用者を意図したコンテンツ記述であり、知識分類、重要度、Push型/Pull型コンテンツ指定、知識レベル、専門性などが配慮された記述が可能なことである。Medical Cell に記述する際の操作性やその他の問題点がないかを確認するために、医学医療知識専門員会のメンバーが中心となって実証実験が行われた。その結果、操作性は概ね問題ないが、今後の課題として、医療関係者によく用いられている Macintosh コンピューターでの閲覧や操作が可能となるよう希望する意見があり、今後、コンソーシアムとして改善する意向が示された。また、電子カルテ上で、これらの情報の検索や鑑別診断が容易に行えるシステム構築に関しても、さまざまな提案を行った。

医学医療知識共有化システムは、一般臨床家の診療に役立つだけでなく、オンライン出版や各診療・研究グループ、学会内での知識の共有にも極めて有用と思われる。今後の発展が期待できる(図2参照)。

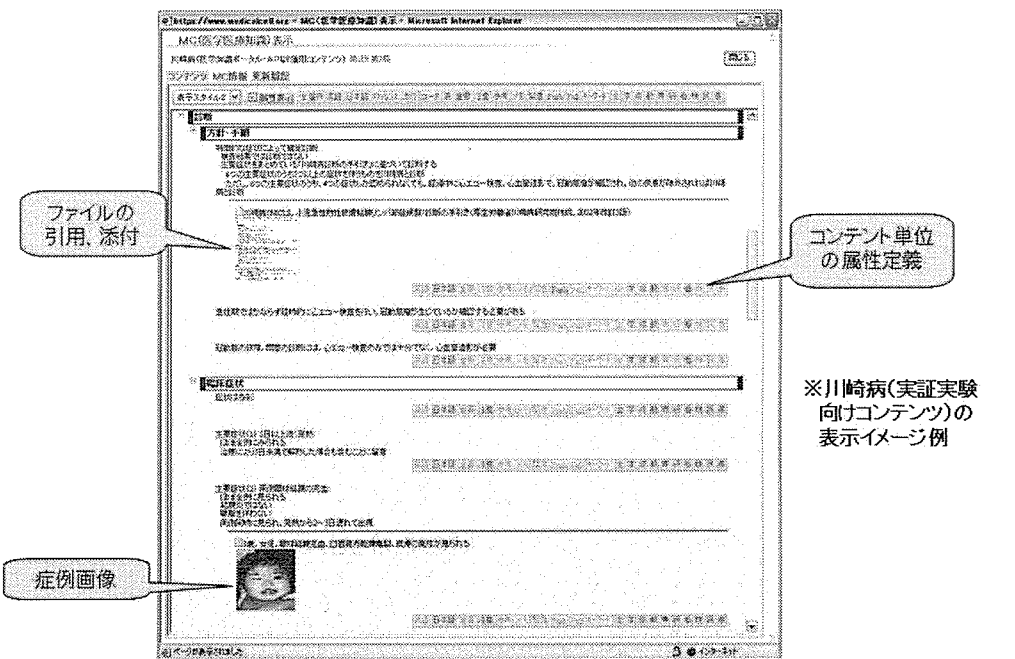
D. 結論

わが国の先天性腎疾患の診断における問題点を解決するために、

- 1) 一般臨床家を対象とした先天腎疾患の診断・治療のための補助手段開発のために、財団法人医療情報システム開発センター、インターサイエンス社、NTT 東日本、NTT コムウェアなどとの共同研究グループとして医学医療知識検討委員会を立ち上げた。
- 2) 先天性腎疾患を含む腎尿路異常を生じうる疾患を中心として種々の小児疾患データベース作成を担当し、実証実験を行った。また、電子カルテ上で、これらの情報の検索や鑑別診断が容易に行えるシステム構築に関しても、さまざまな提案を行った。
- 3) 医学医療知識共有化システムを電子カルテと連動させることで、一般臨床家が診療時にリアルタイムに緊急安全性情報を含む最新の医学・医療知識を得ることが出来るようになり、一般臨床家が質の高い診療行為を行うための非常に有用なツールになるものと思われる。また、オンライン出版や各診療・研究グループ、学会内での知識の共有にも極めて有用と思われる。今後も、医学医療知識検討委員会は存続することとなり、医学医療知識共有化システムの構築に協力する予定である。



※川崎病(実証実験向けコンテンツ)の執筆中イメージ例



※川崎病(実証実験向けコンテンツ)の表示イメージ例

図 1. Medical Cell 入力例

IPA 医学医療知識共有化システム

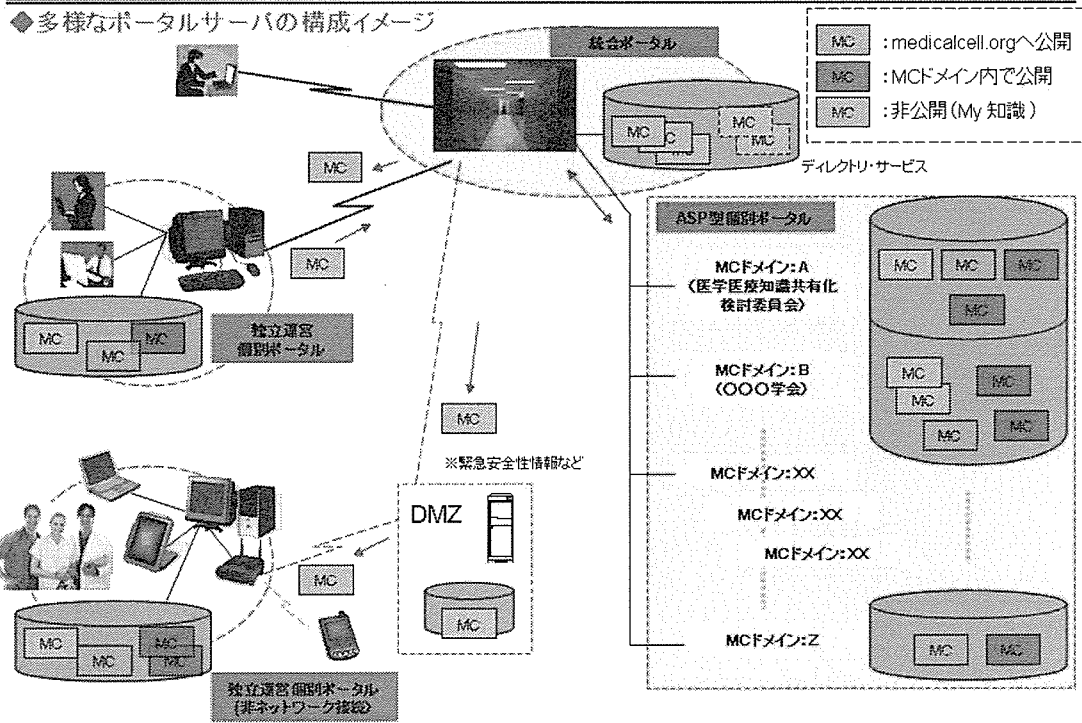


図 2. 医学医療知識共有化システムの全体像

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kitamura A, Tsukaguchi H, Hiramoto R, Shono A, Doi T, Kagami S, Iijima K. A familial childhood-onset relapsing nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2007 Feb 7; [Epub ahead of print]
- 2) Kaito H, Nozu K, Iijima K, Nakanishi K, Yoshiya K, Kanda K, Przybyslaw Krol R, Yoshikawa N, Matsuo M. The effect of aldosterone blockade in patients with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 21:1824-1829, 2006. Epub 2006 Oct 13
- 3) Sakaeda T, Iijima K, Nozu K, Nakamura T, Moriya Y, Nishikawa M, Wada A, Okamura N, Matsuo M, Okumura K. Prediction of systemic exposure to cyclosporine in Japanese pediatric patients. *J Hum Gen* 51:969-76, 2006. Epub 2006 Sep 14
- 4) Kitamura A, Tsukaguchi H, Iijima K, Araki J, Hattori M, Ikeda M, Honda M, Nozu K, Nakazato H, Yoshikawa N, Kagami S, Muramatsu M, Choi Y, Cheong HI, Doi T. Genetics and clinical features of 15 Asian families with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 21:3133-3138, 2006. Epub 2006 Sep 12
- 5) Inatomi J, Matsuoka K, Fujimaru R, Nakagawa A, Iijima K. Mechanisms of Development and Progression of Cyanotic Nephropathy. *Pediatr Nephrol* 21:1440-1445, 2006. Epub 2006 Aug 11
- 6) Fu XJ, Nozu K, Goji K, Ikeda K, Kamioka I, Fujita T, Kaito H, Nishio H, Iijima K, Matsuo M. Enamel-renal syndrome

- associated with hypokalaemic metabolic alkalosis and impaired renal concentration: a novel syndrome? *Nephrol Dial Transplant* 21:2959-2962, 2006. Epub 2006 Jun 24
- 7) Obana M, Nakanishi K, Sako M, Yata N, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Segmental membranous glomerulonephritis in children: comparison with global membranous glomerulonephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 1: 723-729, 2006
 - 8) Yoshikawa N, Honda M, Iijima K, Awazu M, Hattori S, Nakanishi K, Ito H, for the Japanese Pediatric IgA Nephropathy Treatment Study Group. Steroid treatment for severe childhood IgA nephropathy: a randomized controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 1: 511-517, 2006
 - 9) Nozu K, Iijima K, Kamioka I, Fujita T, Yoshiya K, Tanaka R, Nakanishi K, Yoshikawa N, Matsuo M: High-dose mizoribine treatment for adolescents with systemic lupus nephritis. *Pediatr Int* 48:152-157, 2006
 - 10) Okada M, Fujimaru R, Morimoto N, Satomura K, Kaku Y, Tsuzuki K, Nozu K, Okuyama T, Iijima K. EYA1 and SIX1 gene mutations in Japanese patients with branchio-oto-renal (BOR) syndrome and related conditions. *Pediatr Nephrol* 21:475-481, 2006.

11) Fujita T, Nozu K, Iijima K, Kamioka I, Yoshiya K, Tanaka R, Hamahira K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Matsuo M. Long-term follow-up of atypical membranoproliferative glomerulonephritis: are steroids indicated? *Pediatr Nephrol* 21:194-200, 2006.

2. 学会発表

1) Kamei K, Iijima K, Nakayama M, Matsuoka K, Nakagawa A. Chronic Glomerulonephritis Associated with IgG Subclass Deficiency. American Society of Nephrology 2006 Annual Meeting, Philadelphia, USA, 2006

2) Kaito H, Nozu K, Kanda K, Przybyslaw KR, Nakanishi K, Yoshiya K, Iijima K,

Yoshikawa N, Matsuo M. The Effect of Aldosterone Blockade in Patients with Alport Syndrome. American Society of Nephrology 2006 Annual Meeting, Philadelphia, USA, 2006

3) Nozu K, Fu XJ, Kaito H, Kanda K, Kamitsuji H, Yoshiya K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K, Matsuo M. American Society of Nephrology 2006 Annual Meeting, Philadelphia, USA, 2006

4) Obana M, Nakanishi K, Togawa H, Sako M, Shima Y, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. C-509T and T869C Polymorphisms in TGF- β 1 Gene and Proteinuria in Childhood IgA Nephropathy. American Society of Nephrology 2006 Annual Meeting, Philadelphia, USA, 2006

厚生科学研究費補助金（子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早期発見、診断、管理・治療に関する研究
（主任研究者 五十嵐隆 東京大学教授）

家族性ネフローゼ症候群の遺伝子診断

分担研究者

塚口 裕康 徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部・病態情報医学
研究協力者

北村 明子 徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部・小児医学

研究要旨

（背景）難治性腎疾患患者の予後やQOLを改善し、患児の社会復帰を図るためには発症機序の解明が不可欠である。ポストゲノム時代の新たな潮流の中にあって、小児腎疾患の遺伝学研究分野にも目覚ましい進歩がみられ、病態の本質的なメカニズムに迫る新たな知見が続々と明らかになっている。

（目的）本研究では、特に難治性ネフローゼ症候群（ステロイド抵抗性ネフローゼ、頻回再発・ステロイド依存性ネフローゼ症候群）に焦点をあて、病態解明に必要な臨床情報と検体を収集する。研究成果を、新たな診断や治療指針の作成や、治療法開発に役立てる。

（本年度の計画）頻回再発・ステロイド依存性ネフローゼ症候群は、しばしば治療が難渋し、再発や薬剤の副作用に悩まされる母子に与える心身の負担は多大なものである。家族性ステロイド依存性ネフローゼ症候群の症例を全国的に調査し、遺伝疫学的特徴を体系的に解析した。

（方法）3省合同の遺伝子研究倫理指針に準拠したプロトコールを用いて、ステロイド反応性（頻回再発・ステロイド依存性）の疫学調査を多施設共同で行い、一部の症例においてはネフローゼ疾患遺伝子検査を実施した。

（結果）10数例以上の家族性頻回再発・ステロイド依存性ネフローゼ症候群症例の情報が得られた。両親に検尿異常がない劣性遺伝パターン（12例）は、通常良く経験する弧発例と、臨床的特徴に明らかな差はなかった。一卵性同胞の発症が2例あり、発症に遺伝因子の寄与が重要であることを示唆している。しかし、罹患同胞内でも発症年齢や再発回数、ネフローゼの重症度には相違が見られた。主働疾患遺伝子に加えて環境因子や個体の免疫応答の相互作用により臨床病態が形成されると考えられる。

（総括）ネフローゼ症候群の遺伝的病因の解明のために、同様の症例の蓄積が重要である。今後、本研究で得られた情報を患者診療や福祉・QOL改善に役立て、新たな診断・治療法の確立を目指す。

A. 研究目的

本邦におけるネフローゼ発症頻度は年間小児 10 万人あたり 5 人である。第一選択薬であるステロイドには、易感染、眼症状、成長障害等の多彩な副作用があり、患者や家族の QOL の改善のためには、正しい病態に基づく適切な投与量、期間の選択が必須である。小児期の特発性ネフローゼ症候群の 80% はステロイド療法に感受性を示す (ステロイド反応性) が、20% はステロイドに反応せず腎予後は不良である (ステロイド抵抗性)。ネフローゼの原因の多くは、未だ説明されておらず不明な点が多い。遺伝素因に加えて、環境因子や免疫学的異常が複雑に発症に関与すると考えられる。

近年のヒトゲノム情報の急速な整備により、従来は困難であった高解像力の遺伝子マッピングや大量シーケンス解析が可能になった。特に、日本人独自の JSNP 情報の整備や、SNP マイクロアレイ、高密度マイクロサテライト等の新技術により、少数のごくまれな家系のサンプルからでも疾患遺伝子の探索が可能になりつつある。このような潮流にあって、多因子疾患と考えられていた難治性ネフローゼ症候群の疾患遺伝子も、分子レベルで説明が進みつつある。遺伝素因の解明により、病態の本質に迫り、また新たな創薬の標的の同定につながることを期待される。さらに一次予防を含めもっとも有効な個別化医療の実現も可能になる。

本研究は、難治性ネフローゼ症候群の患者 QOL 改善、治療法開発を目的とし、濃厚な家族集積をしめすネフローゼ症例の臨床情報を収集し、ゲノム情報を活用

した病態解明をめざす研究基盤確立を目指している。本年度は、前年度に引き続いて家族性ステロイド抵抗性・反応性ネフローゼ症例の遺伝疫学調査を継続した。とくに、遺伝素因の関与がいままで脚光を浴びることのなかった、ステロイド反応性ネフローゼ家系に関する臨床遺伝情報に取り組んだ。

B. 研究方法

ネフローゼ症候群の大部分は家族歴のない孤発性であるが、一部に単一遺伝子異常を反映したメンデル型遺伝様式を呈することがある。本研究では、疾患遺伝子の同定と発症の分子機序解明に向けて、まず症例の臨床像を調査して、個々の家族性症例の臨床・病理診断を確定すると共に、対象とするグループの遺伝学的、臨床的均質性の評価に取り組んだ。劣性遺伝・家族性ステロイド抵抗性ネフローゼ症例の症例は、① 早期発症蛋白尿 (3 ヶ月から 5 歳)、② 早期に腎不全に至る (10 歳以下)、③ 腎生検組織像は微小変化群から巣状糸球体硬化症、④ 腎移植後の再発なし、という診断基準を満たすものを対象とした。一方、家族性ステロイド反応性ネフローゼ症例は、① 生後 6 ヶ月以降の発症、② ステロイド治療に反応性を示す (頻回再発型、依存性を含む)、③ 腎生検組織像は微小変化群、④ 再発寛解後尿蛋白 40mg/hr/m^2 以上、あるいは試験紙法で早朝尿蛋白 100mg/dl (2+) 以上を 3 日間しめすものを、を満たす症例を対象を絞った。分担研究者らは、本研究班の研究協力者と共に、臨床遺伝疫学調査を行なった。調査に際しては、平成 17 年改訂三省合同の「ヒトゲノム・遺伝子解

析研究に関する倫理指針」に準拠したヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会承認済みの研究計画書に従い、承諾書を得た。

候補遺伝子の変異解析は、PCR産物の直接シーケンス法を用いた（ABI310自動シーケンサー）。マイクロテライト解析は蛍光プライマー（ABI linkage mapping set, Applied Biosystems）を用い、GeneScan/Genotyper program でデータ処理を行った。連鎖の有無の統計学的検証には、GeneHunter program を用いて、LOD 値、NPL 値を計算した。

C. 結果

家族性ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(SRN)

欧米の劣性遺伝、家族性SRN症例の遺伝子解析により、*NPHS1-3*を始めとする責任遺伝子が相次いで報告された。しかしながら、これらの遺伝子が本邦のSRN症例において、どの程度発症に寄与するのかわかりませんでした。そこで、研究班の飯島ら、及びソウル国立小児病院Dr.Choi, Dr.Cheongらと共同して、常染色体劣性遺伝SRN15家系(日本10家系、韓国5家系)を収集した(Kitamura A et al, 2006)。全68人、31患者の協力を得て検体を収集した。31患者の蛋白尿は6ヶ月から11歳で発症(平均3.7歳)しており、22人が平均6.1歳(8ヶ月~16歳)で末期腎不全に至った。このうち13名は腎移植後の再発はなかった。また腎生検を施行した患者27人中25人はFSGSで、残りの2人はMCNSであった。全15家系において、ネフローゼ責任遺伝子*NPHS1*(ネフリン)と*NPHS2*(ポドシ

ン)、*NEPH1*に異常はなかった。欧米諸国の劣性遺伝・家族性SRNの30-40%、孤発例の10%にポドシン(*NPHS2*)が関与する事実と相反する結果であり、アジアのSRN症例は欧米と遺伝素因が異なっていることを示している。そこで、アジア特有の遺伝素因を検索する目的で、全ゲノムにほぼ均等に20CM間隔で200個のマイクロサテライトマーカーを配置して、ゲノタイピングを行った。常染色体の3箇所において多点ロット値LOD>1.5以上の陽性領域を検出した。現在、これらの一次スクリーニング陽性領域に対し、マイクロサテライトマーカーの密度を上げてfine mappingを行っている。また孤発性で移植後再発のないFSGS数症例を含めて、連鎖の有無を確認する予定にしている。優性遺伝家族性SRNも10症例以上があり、SRNの遺伝様式は、劣性遺伝と優性遺伝はほぼ同数であった。

家族性ステロイド反応性ネフローゼ症候群(SSN)

欧米では、ステロイド反応性ネフローゼ症例の家族性集積に関するいくつかの調査報告がある。1973年Whiteらは、欧州ステロイド反応性ネフローゼ症候群の家族集積率は1%程度と報告している(Clin Nephrol 1:215, 1973)。最近ドイツ、フランスの研究グループが、劣性遺伝様式のステロイド反応性ネフローゼ症候群15家系を報告した(Fuchshuber J Am Soc Nephrol:12, 374, 2001)。このうち近親婚の1家系を含む3家系において、ホモ接合体マッピングが行われ、疾患遺伝子が染色体2番短腕部2p12-p13.2にマップされた

(J Am Soc Nephrol:14, 1897-, 2003)。しかしながら、その後疾患遺伝子は見つかっていない。

我が国においても、過去に家族性ステロイド反応性ネフローゼ症候群の報告が散見されるが、全国規模での調査や体系的な臨床的特徴の比較検討は行われてなかった。そこで分担研究者らは平成17年より、家族性ステロイド反応性ネフローゼ症候群の臨床情報の収集を開始した。今年度は、14家系28患児(2症例は一卵性双胎の同時発症)について検討した。両親や兄弟に蛋白尿の既往はなく、劣性遺伝が考えられた。ネフローゼは平均4.3歳(1-15歳)で90%の症例は6歳までに発症していた。罹患兄弟間の発症時期のずれは平均2.9年以内であった。しかし、蛋白尿の重症度、再発頻度、期間は必ずしも一致しなかった。再発頻度は低年齢層において高率で、年齢とともに減少していく傾向があった。頻回再発は8患児であった。平均最終再発年齢は10.8歳(5-24歳)であった。腎生検した8症例はすべてMCNSであった。アレルギー疾患の合併を、13患児(46%)に認めた。また、両親に一過性ネフローゼの既往がある優性遺伝の症例が数家系あり、疾患遺伝子の多様性が示唆された。

C. 結論

家族性ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(SRN)

Hildebrandtらは、欧州の原発性、早期発症ネフローゼ症候群(NS)89症例(生後一年以内に発症)の責任遺伝子解析を行い、4つの主要疾患遺伝子 *NPHS1* (24%), *NPHS2* (38%), *LAMB2* (5%), *WT1* (3%)

が大半の症例の原因を占めることを報告した(Hinkes B, Mucha B, Vlangos C, et al. Genetic Causes and Clinical Outcome of Children Manifesting with Nephrotic Syndrome in the First Year of Life: NPHS1, NPHS2, WT1 and LAMB2. (Abstract) F-PO248, the Renal Week Annual Meeting of the American Society of Nephrology 2006)。これに対し、アジアのSRN15家系でポドシン変異がないことは、欧米とアジアで疾患遺伝子が異なる可能性を示唆している。今後、新たな疾患遺伝子の解明にむけて全ゲノムレベルでの連鎖解析を進めていく予定である。

家族性ステロイド反応性ネフローゼ症候群(SSN)

ステロイド反応性ネフローゼは、一卵性双生児の2症例を含めて、劣性の家族性集積を示す全12例の情報を収集した。その臨床的特徴(発症年齢、再発頻度、アレルギー合併率、組織病理)は孤発例と差はなかった。家系内で疾病表現型が segregation しており、発症の感受性に大きく影響する主働遺伝子が存在すること示唆している。しかし、罹患同胞がともに良好なステロイド反応を示しても、重症度・再発頻度・期間は必ずしも一致しなかった。また感染や精神ストレスで増悪する例があり、遺伝的素因で規定される疾患感受性と、免疫調節の個体差の組み合わせにより、病態や予後が規定されるものと考えられる。

これらの家族性ステロイド反応性ネフローゼ症例の発症分子機序は、未だ不明である。再発頻度は年齢とともに減少しており、原因遺伝子の関与は年齢依存性に発

現量は調節され、機能欠失が他の分子で代償されると推測される。最近、経過良好な再発寛解型ネフローゼ症候群兄妹例（11歳男児、妹、4歳）の遺伝子解析を行い、糸球体濾過膜の本体であるスリット膜蛋白をコードする *NPHS1* 遺伝子の C265R と V822M の新規ミスセンス変異複合ヘテロ接合体であることを見いだした (Kitamura A et al, 2007)。患児のネフリン変異体は、スリット膜の消失にはいたらずむしろ構造脆弱性を生じることにより、蛋白尿発症の感受性を高める因子として病態を修飾すると考えられる。従来から、再発・寛解型ネフローゼの主病因として濾過膜透過性因子の存在が重要視されてきたが、糸球体構造自体の異常（ネフリン等）も、発症要因として病態に関与する可能性がある。

3年間の総括

本邦の家族性ネフローゼ症候群の症例は欧米と遺伝素因が異なることから、我が国独自の症例の集積が、病態の理解や診断・治療の向上のために必要である。特に、腎不全の主因であるステロイド抵抗性ネフローゼや、免疫抑制剤依存性に陥る頻回再発型ネフローゼの適切な治療法の確立は、社会的要望が高く極めて重要な課題である。原因遺伝子の同定は病態の解明、発症に関する新たな概念の発見につながる。また、発症機序の根本的な理解に基づく薬剤標的蛋白の同定は、ネフローゼ治療の新しい道を開くことになる。

3年間の本研究班活動で、我が国独自の症例を蓄積し、諸機関の分担研究者との情報交換、技術提携を通じて新たな協力体制

を構築した。将来の難治性腎疾患の診断・治療開発にむけて、患者QOL向上の推進に必要な研究体制を整備できた意義は大きい。研究成果は、新たな治療法の確立、小児腎不全患者・家族の支援に役立ち、広く社会に貢献するものであり、今後も本研究班で築いた基盤を基に研究を継続していく。

E. 研究発表

論文発表

1. Kitamura A, Tsukaguchi H, Iijima K, Araki J, Hattori M, Ikeda M, Honda M, Nozu K, Nakazato H, Yoshikawa N, Kagami S, Muramatsu M, Choi Y, Cheong HI, Doi T. Genetics and clinical features of 15 Asian families with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 21.3133-3138, 2006.
2. Kitamura A, Tsukaguchi H, Hiramoto R, Shono A, Kagami S, Doi T, Iijima K. A familial childhood-onset relapsing nephrotic syndrome *Kidney Int Feb 7Advanced on line publication*.
3. 塚口裕康、北村明子 遺伝性巣状糸球体硬化症の関連遺伝子の解明 日腎会誌、49巻、2号、2007
4. 塚口裕康 遺伝子検査が有用なネフローゼ疾患について 第27回日本小児腎不全学会誌、2006

学会発表

1. 塚口裕康 遺伝子変異からみたヒトネフローゼ症候群の病理と臨床病態 第95回日本病理学会総会、東京 2006
2. 塚口裕康 ヒト遺伝学を用いた巣状糸球体硬化症の病態解明へのアプローチ 第49回日本腎臓学会 東京、2006
3. Shono A, Tsukaguchi H, Hiramoto R, Iijima K, Kagami S, Doi T. Diffusional Mobility,

Oligomerization, Raft-association

Properties of *NPHS1* Variants that Serve as a Predisposing Factor for Proteinuria.

American Society of Nephrology 2006 Annual Meeting, San Diego USA, 2006

4. Shono A, Tsukaguchi H, Kitamura A, Qin X-S, Toshio Doi. A Molecular Basis for Frequent Relapsing Type of Nephrotic Syndrome in Which *NPHS1* Variants Serve as a Predisposing Factor for Proteinuria. 20th IUBMB, Kyoto, 2006.
5. Shono S, Tsukaguchi H, Liu JH, Kitamura A, Qin X-S, Doi T. Implications of a Prominent Mesangial Proliferation on the Process of Developing FSGS – Molecular Analysis of the Patient with Steroid Resistance Nephrotic Syndrome Bearing Two Partially Defective *NPHS2* Mutants. 6th International Podocyte Congress, Helsinki, Finland 2006

平成 18 年度厚生科学研究費補助金（子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早期発見、診断、管理・治療に関する研究
（主任研究者 五十嵐隆 東京大学教授）

本邦における遺伝性腎疾患データベースの構築

分担研究者 関根孝司 東京大学医学部小児科助教授

研究要旨

本分担研究の目的は、（1）インターネット上でアクセス可能な遺伝性腎疾患データベースの構築、（2）遺伝性腎疾患の解析システムの開発・提供の 2 点である。（1）については財団法人医療情報システム開発センターとの共同研究グループを立ち上げ、データベースおよびシステム開発を進めた。（2）に関して私共は遺伝性尿細管疾患を中心に解析を進め、国内外から依頼された新規の解析をおこなうとともに、Dent 病（*CLCN5* おおび *OCRL1* 遺伝子）、腎性低尿酸血症、近位尿細管性アシドーシス、Nai-Patell 症候群病などの腎疾患の遺伝子解析および機能解析を行った。これらの研究は英文にて報告した。

A. 研究目的

本分担研究班では、（1）汎用可能な先天性遺伝性腎疾患データベースの構築、および（2）国内における遺伝性腎疾患解析の推進を目的とした。（1）に関しては幸いにも財団法人医療情報システム開発センターの協力を得ることができ、従来のデータベースとは全く異なる構造のデータベースの構築に着手することができた。すでに実証実験をおこない良好な結果を得ている。このデータシステムは進展著しい遺伝子情報が時系列で蓄積される画期的なものである。本システムは臨床情報と遺伝子情報を新らたな方法で統合させる世界でも類を見ない構造をもつ。本研究部分については飯島が別項で詳細に報告する。

一方、この研究班のもう一つの目的は本邦において遺伝性腎疾患解析システムを確立する点にある。この 3 年間の研究期間の中で、国内外から依頼された遺伝子検体を用いて、Dent 病、近位尿細管性アシドーシス、

Nail-Patella 症候群、腎性低尿酸血症などの遺伝性腎疾患の解析を進めた。これまで解析が非効率的であった一部の遺伝子については解析方法を検討し直し、従来より安定したシステムを構築した。

B. 方法

以下の疾患が疑われる国内外の患者の遺伝子解析を行った。

- 1) Dent 病（尿細管性蛋白尿症）
- 2) 近位尿細管性アシドーシス
- 3) 腎性低尿酸血症
- 4) Nail-Patella 症候群

遺伝子解析の方法は基本的に、それぞれの責任遺伝子の exon および exon-intron 境界領域を PCR direct sequencing 法を用いて解析した。