

厚生労働科学研究研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

小児ネフローゼ症候群に対する初期治療確立を目指した
多施設共同臨床研究と拡大臨床試験体制整備

平成19年度 研究報告書

主任研究者 吉川 徳茂

平成 20 (2008) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）

「小児ネフローゼ症候群に対する初期治療確立を目指した多施設共同臨床研究と拡大臨床試験体制整備」班
研究構成員

2007. 12. 17

			氏名	所属	役職
主任研究者			吉川 徳茂	和歌山県立医科大学 小児科	教授
分担研究者			五十嵐 隆	東京大学 小児科	教授
			飯島 一誠	国立成育医療センター 腎臓科	医長
			本田 雅敬	都立清瀬小児病院	副院長
			中村 秀文	国立成育医療センター 治験管理室	室長
研究協力者	グループリーダー	研究責任医師	佐々木 聡	北海道大学病院 小児科	講師
	佐々木グループ	研究責任医師	山田 豊	函館中央病院 小児科	副院長
	佐々木グループ	研究責任医師	永島 哲郎	釧路赤十字病院 小児科	副院長
	佐々木グループ	研究責任医師	内藤 広行	王子総合病院 小児科	主任医長
	佐々木グループ	研究責任医師	植竹 公明	帯広厚生病院 小児科	部長
	佐々木グループ	研究責任医師	斎田 吉伯	北見赤十字病院 小児科	副部長
		研究責任医師	森本 哲司	東北大学病院 小児科	助教
	グループリーダー	研究責任医師	池住 洋平	新潟大学医歯学総合病院 小児科	講師
	池住グループ	研究責任医師	柳原 俊雄	新潟県立吉田病院 小児科	診療部長
	池住グループ	研究責任医師	大久保総一郎	新潟済生会第二病院 小児科	部長
	池住グループ	研究責任医師	渡辺 徹	新潟市民病院 小児科	副部長
	グループリーダー	研究責任医師	鈴木 順造	福島県立医科大学病態機能学領域	教授
	鈴木グループ	研究責任医師	鈴木 重雄	公立藤田総合病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	弓削田英知	日赤福島病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	佐久間弘子	星総合病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	高橋 亜衣	寿泉堂総合病院 小児科	医長
	鈴木グループ	研究責任医師	塚越 哲	公立岩瀬病院 小児科	副院長
	鈴木グループ	研究責任医師	根本 健二	白河厚生総合病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	渋谷 靖子	埼玉厚生病院 小児科	医員
	鈴木グループ	研究責任医師	長澤 克俊	竹田総合病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	片寄 雅彦	公立相馬総合病院 小児科	科長
	鈴木グループ	研究責任医師	鈴木保志朗	磐城共立総合病院 小児科	医員
	鈴木グループ	研究責任医師	三島 博	大原総合病院 小児科	科長
		研究責任医師	小林 靖明	足利赤十字病院 小児科	部長
		研究責任医師	大和田葉子	獨協医科大学病院 小児科	助手
		研究責任医師	藤永周一郎	埼玉県立小児医療センター 腎臓科	科長
	グループリーダー	研究責任医師	栗津 緑	慶應義塾大学 小児科	講師
	栗津グループ	研究責任医師	高橋 弘剛	都立大塚病院 小児科	部長
		研究責任医師	高橋 昌里	駿河台日本大学病院 小児科	部長
		研究責任医師	服部 元史	東京女子医科大学腎臓 小児科	教授
	グループリーダー	研究責任医師	亀井 宏一	国立成育医療センター 腎臓科	医員
	亀井グループ	研究責任医師	川野 豊	横浜市立みなと赤十字病院 小児科	部長
	亀井グループ	研究責任医師	宮田 理英	東京北社会保険病院 小児科	医長
	亀井グループ	研究責任医師	太田 正康	取手協同病院 小児科	部長
	亀井グループ	研究責任医師	大森 多恵	都立墨東病院 小児科	
	亀井グループ	研究責任医師	渡辺 章充	土浦協同病院 小児科	医長
	亀井グループ	研究責任医師	下田 益弘	武蔵野赤十字病院 小児科	副部長
	グループリーダー	研究責任医師	関根 孝司	東京大学医学部 小児科	准教授
	関根グループ	研究責任医師	生井 良幸	太田西の内病院 小児科	部長
	関根グループ	研究責任医師	稲富 淳	焼津市立総合病院 小児科	医員
	関根グループ	研究責任医師	林 良樹	青梅市立病院 小児科	部長
	関根グループ	研究責任医師	寺川 敏郎	都立府中病院 小児科	医長

	グループリーダー	研究責任医師	大友 義之	順天堂大学附属練馬病院 小児科	専任准教授
	大友グループ	研究責任医師	染谷朋之介	順天堂大学附属順天堂医院 小児科	助教
	大友グループ	研究責任医師	有井 直人	順天堂大学附属静岡病院 小児科	講師
	大友グループ	研究責任医師	大日方 薫	埼玉県越谷市立病院 小児科	部長
	大友グループ	研究責任医師	大山 昇一	済生会川口総合病院 小児科	部長
	大友グループ	研究責任医師	長岡理恵子	東部地域病院 小児科	医員
	グループリーダー	研究責任医師	石倉 健司	都立清瀬小児病院 腎臓内科	医長
	石倉グループ	研究責任医師	松山 健	福生病院	副院長
	石倉グループ	研究責任医師	馬場 正博	横須賀共済病院	診療部長
	石倉グループ	研究責任医師	荒木 清	埼玉社会保険病院	部長
	石倉グループ	研究責任医師	若木 均	横浜市民病院	医員
	石倉グループ	研究責任医師	長 秀男	川崎市立川崎病院	部長
	石倉グループ	研究責任医師	上牧 勇	国立病院機構埼玉病院	医長
	グループリーダー	研究責任医師	伊藤 秀一	横浜市大市民総合医療センター	助手
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	中村 智子	小田原市立病院 小児科	上級医長
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	奥山 健一	神奈川県立足柄上病院	
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	小林 慈典	国立病院機構横浜医療センター	医師
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	佐藤 厚夫	藤沢市民病院	医長
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	成相 昭吉	横浜南共済病院 小児科	部長
	伊藤秀一グループ	研究責任医師	渡辺 好宏	済生会横浜市南部病院	医員
		研究責任医師	新村 文男	東海大学医学部専門診療学系 小児科	講師
	グループリーダー	研究責任医師	和田 尚弘	静岡県立こども病院 腎臓内科	医長
	和田グループ	研究責任医師	白井 眞美	磐田市立総合病院 小児科	部長
	和田グループ	研究責任医師	武藤 庫参	市立島田市民病院 小児科	部長
	和田グループ	研究責任医師	池谷 健	藤枝市立総合病院	診療部長
	和田グループ	研究責任医師	宇佐美 等	沼津市立病院 新生児科	部長
	和田グループ	研究責任医師	鶴田 悟	静岡市立静岡病院 小児科	科長
	和田グループ	研究責任医師	水野 義仁	県西部浜松医療センター 小児科	科長
	和田グループ	研究責任医師	深澤ちえみ	富士宮市立病院 小児科	科長
		研究責任医師	都築 一夫	社会保険中京病院 小児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	上村 治	あいち小児保健医療総合センター 内科	部長
	上村グループ	研究責任医師	後藤 芳充	名古屋第二赤十字病院 第三小児科	副部長
	上村グループ	研究責任医師	藤田 直也	聖隷浜松病院 小児科	医長
	上村グループ	研究責任医師	金原 有里	豊橋市民病院 小児科	医師
	グループリーダー	研究責任医師	太田 和秀	国立病院機構金沢医療センター 小児科	医長
	太田グループ	研究責任医師	清水 正樹	金沢大学医学部附属病院	医員
	グループリーダー	研究責任医師	塚原 宏一	福井大学医学部附属病院 小児科	副部長
	塚原グループ	研究責任医師	森 夕起子	福井赤十字病院 小児科	医員
	塚原グループ	研究責任医師	安藤 徹	市立敦賀病院 小児科	部長
	塚原グループ	研究責任医師	芥川 宏	兵庫県立塚口病院 小児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	澤井 俊宏	滋賀医科大学 小児科	助教
	澤井グループ	研究責任医師	野村 康之	滋賀県立小児保健医療センター	非常勤医師
	澤井グループ	研究責任医師	岩井 勝	近江草津徳州会病院	部長
	澤井グループ	研究責任医師	田中 和彦	長浜赤十字病院	部長
	澤井グループ	研究責任医師	中嶋 敏宏	大津市民病院	部長
	澤井グループ	研究責任医師	西澤嘉四郎	近江八幡市立総合医療センター	部長
	グループリーダー	研究責任医師	西田真佐志	京都府立医科大学 小児内科	講師
	西田グループ	研究責任医師	川勝 秀一	京都市立病院 小児科	部長
	西田グループ	研究責任医師	吉原 隆夫	松下記念病院 小児科	部長
	西田グループ	研究責任医師	森本 佳子	社会保険京都病院 小児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	芦田 明	大阪医科大学 小児科	講師
	芦田グループ	研究責任医師	川村 尚久	大阪労災病院	副部長

	芦田グループ	研究責任医師	田辺 卓也	市立枚方市民病院	主任部長
	グループリーダー	研究責任医師	中島 充	星ヶ丘厚生年金病院 小児科	主任部長
	中島グループ	研究責任医師	西口 将之	奈良県立医科大学附属病院 小児科	医員
	中島グループ	研究責任医師	平 康二	県立奈良病院 小児科	部長
	中島グループ	研究責任医師	高塚 英雄	県立三室病院 小児科	医長
	中島グループ	研究責任医師	村上 智彦	市立奈良病院 小児科	科長
	中島グループ	研究責任医師	木下 清二	東大阪市立総合病院 小児科	主任部長
	中島グループ	研究責任医師	澤本 好克	八尾市立病院 小児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	里村 憲一	大阪府立母子保健総合医療センター 腎・代謝科	主任部長
	里村グループ	研究責任医師	松岡 太郎	市立豊中病院 小児科	主任部長
	里村グループ	研究責任医師	山本 勝輔	兵庫県立西宮病院 小児科	部長
	里村グループ	研究責任医師	田尻 仁	大阪府立急性期・総合医療センター 小児科	主任部長
	里村グループ	研究責任医師	志水 信彦	市立堺病院 小児科	部長
	里村グループ	研究責任医師	松崎 香土	市立吹田市民病院 小児科	主任部長
	里村グループ	研究責任医師	山本 威久	箕面市立病院	医務局長
		研究責任医師	金子 一成	関西医科大学 小児科学講座	教授
		研究責任医師	住本 真一	大阪赤十字病院 小児科	副部長
	グループリーダー	研究責任医師	中西 浩一	和歌山県立医科大学 小児科	講師
	中西グループ	研究責任医師	飯塚 忠史	和歌山県立医科大学紀北分院 小児科	院長・教授
	中西グループ	研究責任医師	大石 興	国保橋本市民病院 小児科	医長
	中西グループ	研究責任医師	山家 宏宣	公立那賀病院 小児科	科長
	中西グループ	研究責任医師	青柳 憲幸	和歌山労災病院 小児科 (第2小児科)	部長
	中西グループ	研究責任医師	吉田 晃	日赤和歌山医療センター 第一小児科	副部長
	中西グループ	研究責任医師	重里 敏子	海南市民病院 小児科	医長
	中西グループ	研究責任医師	岩橋 誠司	国保日高総合病院 小児科	部長
	中西グループ	研究責任医師	紀平 省悟	有田市立病院 小児科	医長
	中西グループ	研究責任医師	南 孝臣	社会保険紀南病院 小児科	部長
	中西グループ	研究責任医師	眞砂 州宏	新宮市立医療センター 小児科	部長
	中西グループ	研究責任医師	赤井美津代	阪南市立病院 小児科	部長
	中西グループ	研究責任医師	宮下 律子	泉大津市立病院 小児科	副院長
	中西グループ	研究責任医師	西野 昌光	高槻病院 小児科	副院長
	中西グループ	研究責任医師	秦 大資	北野病院 小児科	部長
	中西グループ	研究責任医師	後藤 幹生	岸和田市民病院	部長
	中西グループ	研究責任医師	港 敏則	公立豊岡病院 新生児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	野津 寛大	神戸大学大学院内科系研究科 小児科	助教
	野津グループ	研究責任医師	太田 國隆	六甲アイランド病院	医長
	野津グループ	研究責任医師	木花 咲子	小野市民病院	医長
	野津グループ	研究責任医師	神岡 一郎	加古川市民病院	医長
	野津グループ	研究責任医師	山根 正之	済生会兵庫県病院	医長
		研究責任医師	田中亮二郎	兵庫県立こども病院 腎臓内科	部長
		研究責任医師	浜平 陽史	姫路赤十字病院 第一小児科	副部長
		研究責任医師	桑門 克治	倉敷中央病院	部長
		研究責任医師	香美 祥二	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部発生発達医学講座分野小児医学分野	教授
	グループリーダー	研究責任医師	伊藤 雄平	久留米大学医療センター	教授
	伊藤雄平グループ	研究責任医師	市川光太郎	北九州市立八幡病院 小児科	副院長
	伊藤雄平グループ	研究責任医師	村上義比古	大牟田市立総合病院	部長
	伊藤雄平グループ	研究責任医師	岩本 二郎	飯塚病院	小児センター長
	伊藤雄平グループ	研究責任医師	久佐賀 晃	済生会日田病院 小児科	医長
	グループリーダー	研究責任医師	郭 義胤	福岡市立こども病院・感染症センター 腎疾患科	部長
	郭グループ	研究責任医師	堤 康	九州大学病院 小児科	助手
	郭グループ	研究責任医師	兼光 聡美	国家公務員共済組合連合会千早病院 小児科	部長
	郭グループ	研究責任医師	亀崎健太郎	国立病院機構小倉病院 小児科	医長

		研究責任医師	波多江 健	福岡赤十字病院 第2小児科	部長
	グループリーダー	研究責任医師	大塚 泰史	佐賀大学医学部附属病院	医員
	大塚グループ	研究責任医師	市丸 智浩	佐賀県立病院好生館 小児科	部長
	大塚グループ	研究責任医師	高柳 俊光	国立病院機構佐賀病院 第一診療部	部長
	大塚グループ	研究責任医師	佐藤 忠司	国立病院機構嬉野医療センター 小児科	医長
	大塚グループ	研究責任医師	野原 薫	唐津赤十字病院 小児科	部長
	大塚グループ	研究責任医師	力武 典子	佐賀社会保険病院 小児科	部長
		研究責任医師	仲里 仁史	熊本大学附属病院	講師
		研究責任医師	古瀬 昭夫	熊本中央病院 小児科	部長
		研究責任医師	児玉 志保	鹿児島市立病院 小児科	医師
	病理		長田 道夫	筑波大学大学院人間総合科学研究科医学系分子病理	教授
	内科		川村 哲也	東京慈恵会医科大学附属第三病院	准教授
事務局			中西 浩一	和歌山県立医科大学 小児科	講師
事務局			佐古まゆみ	国立成育医療センター 腎臓科	研究員
データセンター			大橋 靖雄	NPO日本臨床研究支援ユニット	理事長
会計責任者			松場 一成	和歌山県立医科大学事務局企画課	主事

目 次

I. 総括研究報告	
小児ネフローゼ症候群に対する初期治療確立を目指した 多施設共同臨床研究と拡大臨床試験体制整備	1
吉川徳茂	
II. 分担研究報告	
1. ネフローゼ症候群の分子病態の解析	7
五十嵐隆	
2. 小児期発症ネフローゼ症候群の治療に関する研究	15
本田雅敬	
3. わが国における小児ネフローゼ症候群に対する 初期治療に関する考察	18
飯島一誠	
4. 薬剤の用量と安全性の検討、 臨床試験体制整備のアドバイス	24
中村秀文	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	P1
IV. 研究成果の刊行物・別刷	P3
V. 資料	
1. 試験参加までの手順	S1
2. 研究実施計画書	S2
3. 使用薬剤添付文書	S60
4. 説明同意文書	S64
5. アセント文書(小児用説明文書・意思確認書)	S75
6. 症例登録票	S83
7. 治療経過報告書	S86
8. 試験中止緊急報告書	S113
9. 中止後追跡調査書	S114
10. 追跡調査書	S118
11. 有害事象緊急報告書	S126
12. 別紙(実施医療機関と研究責任医師)	S128
13. 症例管理台帳	S132
14. 有害事象共通用語規準	S133

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
総括研究報告書

小児ネフローゼ症候群に対する初期治療確立を目指した多施設共同臨床研究と
拡大臨床試験体制整備

主任研究者 吉川徳茂 和歌山県立医科大学小児科教授

研究要旨

本研究では、小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群に対する初期治療法のエビデンスを確立するために、プレドニゾロン2ヶ月（国際法）と6ヶ月（長期法）投与の多施設共同ランダム化比較試験を実施する。

初発時の小児ネフローゼ症候群患者の多くは、腎臓専門医でない一般小児科医により治療されるため、一般小児科医も参加した拡大臨床試験ネットワークの構築が必要である。

平成19年度（初年度）は、研究実施計画書等は完成していたので、各施設の倫理委員会の承認を得て、9月より試験を開始した。2月20日現在、110施設で倫理委員会の承認を得、30例が試験を開始した。

分担研究者

五十嵐隆

東京大学医学部小児科教授

本田雅敬

東京都立清瀬小児病院副院長

飯島一誠

国立成育医療センター腎臓科医長

中村秀文

国立成育医療センター治験管理室長

ローゼ症候群に対する初期治療法のエビデンスを確立するために、プレドニゾロン2ヶ月（国際法）と6ヶ月（長期法）投与の多施設共同ランダム化比較試験を実施する。

初発時の小児ネフローゼ症候群患者の多くは、腎臓専門医でない一般小児科医により治療されるため、一般小児科医も参加した拡大臨床試験ネットワークの構築が必要である。一般小児科医の臨床試験への参加は、EBMの浸透と普及に貢献し、小児腎臓病患者に対する治療の均等化と医療レベルの向上にも貢献すると考えられる。

研究者は平成15年度から臨床研究を推進し、小児腎臓病領域における質の高いエビデンス収集のための臨床試験ネットワークを構築し、質の高い臨床試験を実施している。本研究ではそのノウハウを小児腎疾患拡大臨床試験ネットワークの構築に活用する。

A. 研究目的

小児ネフローゼ症候群の初期治療として、1960年代に国際小児腎臓病研究班が合意提唱した2ヶ月のプレドニゾロン治療（国際法）が広く行われてきたが、再発が多く、ステロイドの長期投与が行われている。しかし、長期投与による副作用は大きな問題であり、コクランレビューも「適切にデザインされた十分に有効なランダム化比較試験が必要である」と述べている。

わが国の国際法の成績は、海外の国際法より良く、長期投与方法とも遜色なく、日本人患者では国際法は長期投与方法と同等の有効性がある可能性がある。

本研究では、小児ステロイド感受性ネフ

B. 研究方法

本研究では仮説「小児ネフローゼ症候群の初期治療として、再発と副作用の面から、国際小児腎臓病研究班の提唱した2ヶ月のプレドニゾロン投与が妥当である」のもとに、わが国の初期治療状況から、プレドニ

ゾロン2ヶ月と6ヶ月投与の比較試験を実施する。

1. 課題名：初発小児特発性ネフローゼ症候群患者を対象としたプレドニゾロン国際法（2ヶ月投与）と長期投与法（6ヶ月投与）の有効性と安全性の多施設共同オープンランダム化比較試験

2. 治療計画：登録された患者は以下の試験治療がおこなわれる（図1）。

A. 短期投与群：プレドニゾロン2ヶ月投与（国際法）

60 mg/m²/日4週間、

40 mg/m²/2日4週間

B. 長期投与群：プレドニゾロン6ヶ月投与

60 mg/m²/日4週間、

60 mg/m²/2日4週間、

45 mg/m²/2日4週間、

30 mg/m²/2日4週間、

15 mg/m²/2日4週間

7.5 mg/m²/2日4週間

3. 対象：1-15歳のネフローゼ症候群初発症例で治療開始3週間以内にステロイド感受性とした患者

4. 有効性評価項目

主要評価項目：頻回再発までの期間

副次的評価項目：無再発期間、再発率、ステロイド総投与量、有害事象発現割合
ステロイド感受性ネフローゼ症候群の初期治療の目的は、頻回再発への移行を回避することであり、主要評価項目を頻回再発までの期間とした。

5. 目標患者数：各群125例、計250例

国際法が長期投与法に対して、主要評価項目について非劣性であることを検証するために必要な症例数は、申請者らが実施した柴苓湯併用下のランダム化比較試験（日腎誌1998）の結果を元に設計した。ハザード比のマージンを1.3とし、ハザード比=1を有意水準片側5%、検出力80%で検証するには、両群合わせて250例が必要である。

6. 中間解析：試験開始後1年ごとに、主要評価項目と安全性評価項目に関する中間解析を行う。

7. 参加施設数：腎臓専門医のいる 50 施設

と一般小児科医のみの 100 施設、計 150 施設

（倫理面への配慮）

各研究施設の倫理委員会の承認を得てから施行する。特に以下の点に配慮して研究を行う。

I. 研究等の対象となる個人の人権の擁護：本研究の結果を医学雑誌等に発表する場合、患者名の暗号化を行うなどプライバシー保護には十分な留意を行い、各患者個人の結果に関しては一切公表しない。また、同意による研究開始後も患者自らの意志により研究を中止することは可能であり、研究中止後も患者個人に対し一切の不利益を生じないように努める。

II. 研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法：患者さんへの「治療研究についての説明書」を用いて説明を行い、書面にて同意を得ることにより統一された説明の施行と同意の承諾に努める。また保護者のみならず可能な限り患者本人にも説明を行い、ICH E-11 及びヘルシンキ宣言に則りインフォームドアセント（口頭又は文書）の取得も行う。

III. 研究等により生じる個人への不利益並びに危険性：治療中は定期的に腎機能、健康状態等必要な検査を行い、担当医師も副作用には十分注意をし、より細やかな対応を図ることにより事前に危険性を察知することに努め、患者個人に対し不利益や危険が生じないように努める。不利益や危険が生じた場合、早期に研究を中断し、不利益や危険に対し対応を行う。重篤な有害事象の発生時は、直ちに主任研究者、分担研究者に報告しその評価を行い、試験の中止を含めた対応を検討し、必要であれば家族に対する説明も行う。

C. 結果と考察

本研究では症例数の確保が重要課題である。症例数確保のために、一般小児科医も参加した拡大臨床試験ネットワークを構築し、参加施設を当初計画の60施設から155施設にふやした。その結果年間100例の患者登

録が見込まれるが、症例数確保に3年、試験期間が2年のため試験完了までに5年は必要である。平成19年度（初年度）は、研究実施計画書等は完成していたので、各施設の倫理委員会の承認を得て、9月より試験を開始した。2月20日現在、110施設で倫理委員会の承認を得、30例が試験を開始しており、順調に進んでいる。平成20年度は試験を継続し、登録患者の適格性や有害事象の発生に関してセントラルモニタリングを行い、モニタリングレポートを発行する。監査を実施しプロトコル遵守状況を調査する。試験開始後1年目の10月には有効性と安全性について中間解析を行う。患者と親のQOLの評価は、小児QOL評価法としてドイツで開発・確立され、日本語訳も存在するKID-KINDL質問紙を用いて実施する。全国多施設の小児腎臓専門医・一般小児科医は、試験計画を実行し、正確なデータを積み重ね、データを解析して評価をする、という実際のプロセスを経て、EBM、臨床試験と治療開発について学習していただく。一般小児科医には、十分な臨床試験の経験を有する小児腎臓専門医が、実施施設を訪問し直接指導する。さらに本研究終了後には、今後本格的に一般小児科医が参加した拡大臨床試験ネットワークを運用していくための問題点や解決方法についての検討を行う。

D. 結論

本研究では、小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群に対する初期治療法のエビデンスを確立するために、プレドニゾン2ヶ月（国際法）と6ヶ月（長期法）投与の多施設共同ランダム化比較試験を実施する。

初発時の小児ネフローゼ症候群患者の多くは、腎臓専門医でない一般小児科医により治療されるため、一般小児科医も参加した拡大臨床試験ネットワークの構築が必要である。

平成19年度（初年度）は、研究実施計画書等は完成していたので、各施設の倫理委員会の承認を得て、9月より試験を開始した。2月20日現在、110施設で倫理委

員会の承認を得、30例が試験を開始した。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

英文論文

1. Kamioka I, Nozu K, Fujita T, Kaito H, Tanaka R, Yoshiya K, Iijima K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Matsuo M. Prognosis and pathological characteristics of five children with non-Shiga toxin-mediated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Int.* 49:196-201, 2007
2. Nozu K, Fu XJ, Nakanishi K, Yoshikawa N, Kaito H, Kanda K, Krol RP, Miyashita R, Kamitsuji H, Kanda S, Hayashi Y, Satomura K, Shimizu N, Iijima K, Matsuo M. Molecular analysis of patients with type III bartter syndrome: Picking up large heterozygous deletions with semiquantitative PCR. *Pediatr Research.* 62:1-6, 2007
3. Fujita T, Nozu K, Iijima K, Kamioka I, Kaito H, Tanaka R, Nakanishi K, Matsuo M, Yoshikawa N. Long-term follow-up of juvenile acute nonproliferative glomerulitis (JANG). *Pediatr Nephrol.* 22:1957-1961, 2007
4. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P, Hoyer PF, Johnston A, Meyrier A, Ponticelli C, Saito T, Choukroun G, Nachman P, Praga M, Yoshikawa N. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: Workshop recommendations. *Kidney Int.* 72: 1429-1447, 2007
5. Nozu K, Inagaki T, Fu XZ, Nozu Y, Kaito H, Kanda K, Sekine T, Igarashi I, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K, Matsuo M. Molecular analysis of digenic inheritance in Bartter

- syndrome with sensorineural deafness. J Med Genetics, In press
6. Yata N, Nakanishi K, Shima Y, Togawa H, Obana M, Sako M, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Improved renal survival in Japanese children with IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol*, in press
 7. Yoshikawa N, Nakanishi K, Ishikura K, Hataya H, Iijima K, Honda M. Combination therapy with mizofibine for severe childhood IgA nephropathy: A pilot study. *Pediatr Nephrol*, in press
 8. Ishikura K, Ikeda M, Hattori S, Yoshikawa N, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Yata N, Honda M. Effective and safe treatment with cyclosporine in nephritic children: a prospective, randomized, multicenter trial. *Kidney Int*, In press

和文論文

1. 吉川徳茂 : 小児の IgA 腎症に対する EBM に基づいた治療は何か?。"EBM 小児疾患の治療 2007-2008" 五十嵐隆, 石井正浩, 滝田順子, 平岩幹男, 水口雅, 横田俊平, 横谷進, 渡辺とよ子編, pp400-404, 中外医学社, 東京, 2007
2. 中西浩一, 吉川徳茂 : 血尿, 蛋白尿を認める 14 歳男子中学生。"New 専門医を目指すケース・メソッド・アプローチ 5 腎臓疾患" 榎野博史編, pp114-124, 日本医事新報社, 東京, 2007
3. 中西浩一, 吉川徳茂 : PAX2. 腎と透析 62 : 144-146, 東京医学社, 東京, 2007
4. 吉川徳茂 : IgA 腎症の治療ガイドー 小児腎と透析 62 : 474-478, 東京医学社, 東京, 2007
5. 吉川徳茂 : 小児 IgA 腎症の治療ー 現状と今後の展望. 腎臓 29 : 201-205, 東京医学社, 東京, 2007
6. 吉川徳茂 : エビデンスに基づいた小児 IgA 腎症の治療. 小児内科 39 : 913-916, 東京医学社, 東京, 2007
7. 吉川徳茂 : 小児における慢性腎臓病対策と問題点. *Mebio* 24 : 88-89, メジカルビュー社, 東京, 2007
8. 吉川徳茂 : IgA 腎症のコントロールスタディ. 社団法人日本腎臓学会創立 50 周年記念誌 社団法人日本腎臓学会, 日本腎臓学会 50 周年記念事業委員会編, pp123-129, 社団法人日本腎臓学会, 日本腎臓学会 50 周年記念事業委員会, 東京, 2007
9. 吉川徳茂 : ネフローゼ症候群 : 小児. 腎不全治療マニュアル, 腎不全予防医学調査研究委員会編, pp169-181, 社団法人日本透析医会, 東京, 2007

2. 学会発表 国際学会

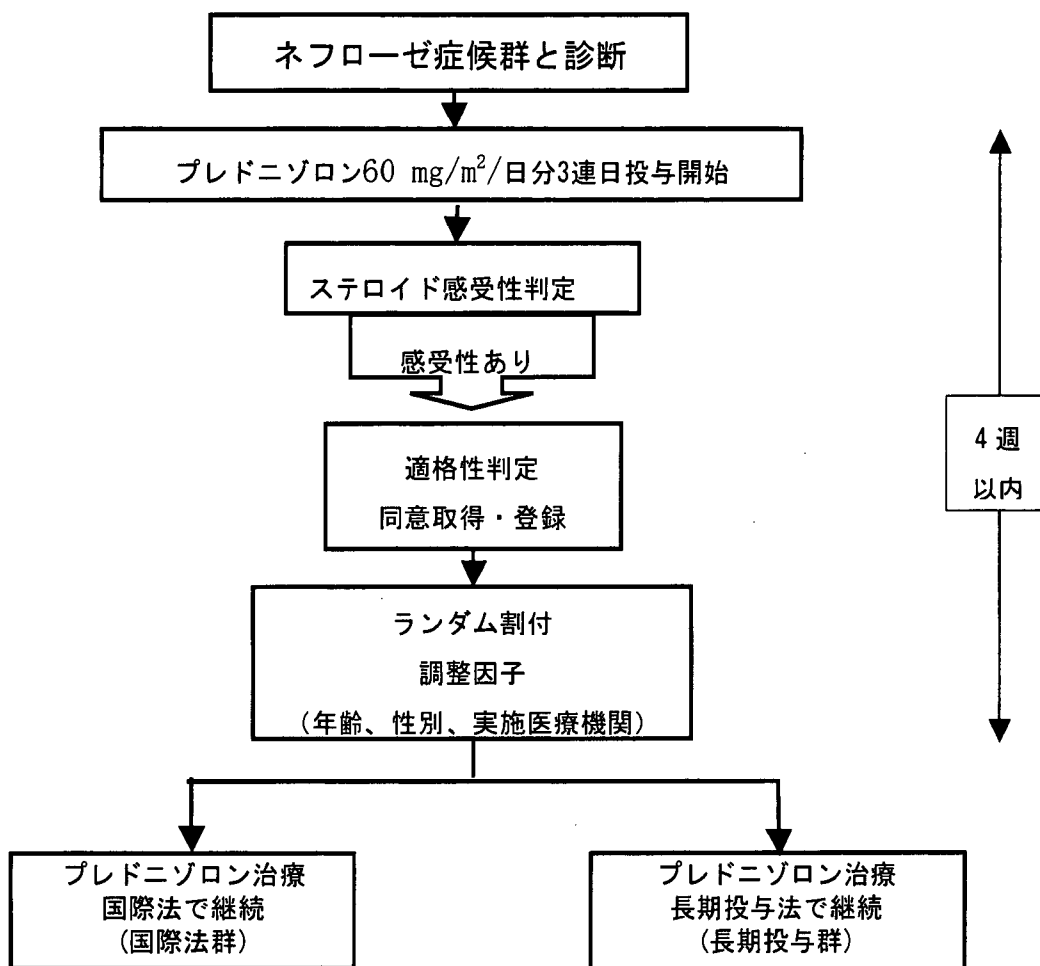
1. Kamei K, Iijima K, Hattori S, Honda M, Nakanishi K, Yoshikawa N: Long term prognosis of severe childhood IgA nephropathy after combined therapy. The 14th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Budapest, Hungary, 2007
2. Nakanishi K, Ishikura K, Hataya H, Ikeda M, Iijima K, Honda M, Yoshikawa N: Combination therapy with mizoribine for severe childhood IgA nephropathy: A pilot study. The 14th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Budapest, Hungary, 2007
3. Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Obana M, Yoshikawa N: Membranous nephropathy associated with Graves' disease. The 14th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, Budapest, Hungary, 2007
4. Kaito H, Nozu K, Kanda K, Nakanishi K, Yoshiya K, Iijima K, Yoshikawa N, Matsuo M: Genetic backgrounds in patients with exercise-induced acute renal failure. 40th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Francisco, USA, 2007
5. Togawa H, Nakanishi K, Sako Mayumi,

- Obana M, Shima Y, Miyajima M, Nishii K, Nagao S, Takahashi H, Yoshikawa N: Segment-specific E-cadherin and β -catenin expression in PCK rats. 40th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Francisco, USA, 2007
6. Nakanishi K, Ishikura K, Hataya H, Ikeda M, Iijima K, Honda M, Yoshikawa N, The Japanese pediatric IgA nephropathy treatment study group: Combination therapy with mizoribine for severe childhood IgA nephropathy: A pilot study. 40th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Francisco, USA, 2007
7. Kamei K, Iijima K, Hattori S, Honda M, Nakanishi K, Yoshikawa N: Long term prognosis of severe childhood IgA Nephropathy after combined therapy. 40th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Francisco, USA, 2007
8. Nozu K, Kaito H, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K, Matsuo M: Molecular analysis of digenic inheritance in type IV Bartter syndrome phenotype. 40th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, San Francisco, USA, 2007

国内学会

1. 吉川徳茂 : シンポジウム「IgA 腎症の治療」小児 IgA 腎症の治療. 第 50 回日本腎臓学会学術総会, 浜松, 2007. 5. 25
2. 吉川徳茂 : シンポジウム「Evidence となる臨床研究を行うために」IgA 腎症の臨床研究. 第 42 回日本小児腎臓病学会学術集会, 横浜, 2007. 6. 29

図 1



II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
小児ネフローゼ症候群に対する初期治療確立を目指した多施設共同臨床研究と
拡大臨床試験体制整備
分担研究報告書

ネフローゼ症候群の分子病態の解析

分担研究者 五十嵐 隆 東京大学大学院医学系研究科 小児医学講座 教授

研究要旨

小児ネフローゼ症候群に対しての初期治療の確立を目指すにあたり、ネフローゼ症候群発症機序についての分子レベルでの解析を試みた。本研究により、スリット膜蛋白であるNeph1の細胞内領域がリン酸化を受けることが示され、リン酸化を受けるチロシン残基を同定した。さらに2つの異なる蛋白尿発症動物モデルにおいて蛋白尿発症時期に一致したNeph1のリン酸化が生じることを明らかにした。本研究成果は特発性ネフローゼ症候群発症機序の解明の端緒となることが予測される。

A. 研究目的

1999年以降、遺伝性ネフローゼ症候群の発症に関与する分子群（nephrin, podocin, α -actin-4等）について複数の知見が得られている。一方、小児ネフローゼ症候群の大半を占める「特発性ネフローゼ症候群」の分子病態はいまだに不明である。

本研究は、糸球体において蛋白漏出のバリアー機能の一端を担っていると考えられているNeph1のリン酸化シグナル伝達経路と病態での変化について解析することを目的とした。

B. 研究方法

1. Neph1 細胞内領域のリン酸化の解析

Neph1 細胞内領域が SFK family の一つ

の Fyn によるリン酸化されるか否かを *in vitro* および 293T 細胞を用いた系にて解析した。

さらに、リン酸化を受ける Neph1 チロシン残基を同定するため、*in vitro* でリン酸化を受けた Neph1 の細胞内蛋白をトリプシンで消化し、質量分析装置（MALDI-TOF 法）を用いて解析した。

2. Neph1 後のシグナル伝達の解析

リン酸化された Neph1 に糸球体発現蛋白を添加し、リン酸化特異的に Neph1 と結合する蛋白を同定を試みた。

3. ネフローゼ発症モデル動物における Neph1 リン酸化の意義の解析

ヒトネフローゼ症候群類似モデルとして知られる PAN 腎症およびプロタミン硫酸腎症において、蛋白尿発症と Neph1 リン酸化との関連を解析した。

(研究の倫理面への配慮)

現時点では本研究は、*in vitro* および実験動物を用いた解析を行っている段階である。動物実験は定められている研究倫理指針に従った。

C. 結果

1. Neph1 細胞内領域のリン酸化の解析 (別添図 1)

in vitro で Neph1 に Fyn (Src family kinase) を添加し、抗リン酸化チロシン抗体で染色すると Fyn 存在下でのみ Neph1 のリン酸化が観察された (図 1A)

リン酸化された Neph1 の細胞内領域をトリプシンで消化し、MALDI-TOF 質量分析装置 (図 1B) および LC-MS/MS 法を用いて詳細な解析を行うことにより Fyn によりリン酸化される Neph1 のチロシン残基 (Y604, Y637, Y638, Y654 おおび Y657) を同定した (図 1C)

2. Neph1 後のシグナル伝達の解析

(別添図 2)

in vitro においてリン酸化 Neph1 にラット糸球体蛋白を添加し、リン酸化 Neph1 に特異的に結合する蛋白の同定を試みた。図 2A に示すように、Grb2 および Csk のがリン酸化 Neph1 に特異的な結合をした。一方、スリット膜蛋白として重要な nephrin にはリン酸化の有無にかかわらず Grb2 の結合は認められなかった (図 2B)。

さらに、Fyn でリン酸化を受ける 4 つのチロシン残基のそれぞれをフェニルアラニンに置換した変異体を用いて Neph1 のどのチロシン残基のリン酸化が Grb2 との結合に重要かを解析した。その結果、Neph1

と Grb2 の結合は Y637 および Y638 のリン酸化を介していることが明らかとなった (図 2C)

3. ネフローゼ発症モデル動物における Neph1 リン酸化の意義の解析

ネフローゼ発症モデル動物 (PAN 腎症およびプロタミン硫酸腎症) における Neph1 リン酸化について解析した。

ラットへのプロタミン硫酸の投与では Neph1 の蛋白量は変わらないが、Neph1 が著明にリン酸化を受けることが明らかとなった (図 3A)。

さらにプロタミン硫酸投与により Y637 のチロシン残基がリン酸化を受けることも判明した (図 3C) (図 3B は pY637 抗体の特異性を示している)。

さらに、PAN 腎症モデルでも蛋白尿発症時期に一致して Y637 のチロシン残基がリン酸化されていることが明らかとなった。

D. 考察

1999 年以降、ゲノムワイドの連鎖解析により遺伝性ネフローゼの責任遺伝子が次々に明らかにされている。一方、小児ネフローゼ症候群の原因の大半 (80%程度) は特発性ネフローゼ症候群であり、その病因・病態解明が小児腎臓病学に残された大きな課題である。

今回の研究は、糸球体において蛋白濾過障壁となっているスリット膜蛋白の Neph1 が、スリット膜での構造蛋白としてのみならず、スリット膜-上皮細胞複合体におけるシグナル伝達に働いていることが明らかにした。プロテオミクス的手法を用いることにより、Neph1 のリン酸化さ

れるチロシン残基を決定し、Neph1 にリン酸化特的に結合するアダプター蛋白 Grb2 およびチロシンキナーゼ Csk を同定した。

さらに蛋白尿発症モデルで病態発症時に、Neph1 Y637 がリン酸化を受けることも証明した。

今回の研究は、スリット膜分子の構造異常ではなく、シグナル伝達機構の破綻がネフローゼ発症の病態を説明しうる可能性を示唆するものである。

来年度は、ヒト腎生検検体を用い、実験動物で確認したスリット膜関連分子のシグナル伝達の変化がヒト蛋白尿発症期にも生じているかを明らかにする。さらに、今回明らかとなった上皮細胞関連分子のリン酸化とその下流にある関連分子の病態での変化についての解析をさらに進める予定である。

E. 結論

スリット膜蛋白の Neph1 の細胞内領域がリン酸化を受けることを証明し、またリン酸化を受けるチロシン残基を同定した。さらに 2 つの蛋白尿発症動物モデルにおいて蛋白尿発症時期に一致した Neph1 のリン酸化が生じることを明らかにした。本研究成果は、特発性ネフローゼ症候群における蛋白尿発症メカニズムの解明を大きく進展させる可能性を有している。

F. 健康危険情報

なし

G. 知的所有権の出現登録状況

なし。

H. 研究発表

1. 論文発表

1 Saitoh M, Kubota M, Kimura I, Mizuguchi M, Igarashi T: A case of Panayiotopolos syndrome showing an atypical course. *Seizure* 15: 643-648, 2006

2 Sekine T, Nozu K, Iyengar R, Fu XJ, Matsuo M, Tanaka R, Iijima K, Matsui E, Harita Y, Inatomi J, Igarashi T: OCRL1 mutations in patients with Dent phenotype in Japan. *Pediatr Nephrol* 22: 975-980, 2007

3 Takahashi K, Saitoh M, Hoshino H, Mimaki M, Takamizawa M, Mizuguchi M, Lin Z-M, Yang Y, Igarashi T: A case of primary erythralgia, wintry hypothermia and encephalopathy. *Neuropediatr* 38: 157-159, 2007

4 Saito M, Horikawa M, iwqamori Y, Mizuguchi M, Igarashi T, Fujiki Y, Iwamori M: Alterations in the molecular species of plasmalogen phospholipids and glycolipids due to peroxisomal dysfunction in Chinese hamster ovary-mutant Z65 cells by FABMS method. *J Chromato B* 852: 367-373, 2007

5 Suzuki M, Vaisbich MH, Yamada H, Horita S, Li Y, Sekine T, Moriyama N, Igarashi T, Endo Y, Cardoso TP, de Sa LC, Koch VH, Seki G, Fujita T: Functional analysis of a novel missense NBC1 mutation and of other mutations causing proximal renal tubular acidosis. *Pflugers Arch* 455: 583-593, 2008

6 Inatomi J, Yokoyama Y, Sekine T, Igarashi T: A case of cerebral salt wasting syndrome associated with aseptic meningitis in 8-year-old boy. *Pediatr Nephrol*, in press,

2008

7 Yanagisawa A, Namai Y, Sekine T, Igarashi T: A brief report: Ischemic colitis as complication in a patient with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*, in press, 2007

8 Nozu K, Inagaki T, Fu Jun Xue, Nozu Y, Kaito H, Kanda K, Sekine T, Igarashi T, Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K, Matsuo M: Molecular analysis of digenic inheritance in Bartter syndrome with sensorineural deafness. *Journal of Medical Genetics* in press, 2007

9 Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Tezuka T, Takashi Sekine, Igarashi T, Hattori S: Neph1; a component of the kidney slit diaphragm, is tyrosine phosphorylated by Src-family tyrosine kinase and modulates intracellular signaling by binding to Grb2. *J. Biol. Chem*, in press, 2008

原著論文（和文）

1 貝藤裕史、野津寛大、神田杏子、田中亮二郎、吉矢邦彦、濱平陽史、関根孝司、五十嵐隆、松尾雅文：Dent病7症例の臨床像と遺伝学的背景との関連についての検討、*日児腎誌* 20: 101-104, 2007

報告書

1 五十嵐隆：小児難治性腎尿路疾患の早期発見、管理・治療に関する研究、平成18年度厚生労働科学研究（難治性疾患克服研究事業）総合研究報告書（五十嵐隆班長）

総説論文

1 五十嵐隆：思春期の性の問題とその対応—日本小児科学会次世代育成プロジェクトチームの行動目標の一つとして—、*小児科臨床* 60: 5-6, 2007

2 五十嵐隆、宮崎千明、渡辺博、岡田賢司：わが国の予防接種の現状と今後、*日本医師会雑誌* 135: 2143-2155, 2007

3 五十嵐隆：腎尿細管性アシドーシス、*小児科臨床* 60: 187-193, 2007

4 五十嵐隆：臨床医学の展望 小児科学、*日本医事新報* 4319:19-27, 2007

5 五十嵐隆：小児の水電解質代謝の特徴、経口補液療法と重症心身障害児に見られる水電解質異常や栄養学的問題、*脳と発達* 39: 106-110, 2007

6 五十嵐隆：脱水、*小児科診療*（増刊号）70:81-84, 2007

7 五十嵐隆：Bartter症候群とGitelman症候群、*総合臨床*（増刊号）56:1344-1349, 2007

8 五十嵐隆：糸球体血管壁を通過した蛋白の再吸収機序、*Nephrology Frontier* 6: 180-183, 2007

9 五十嵐隆：Nonosmotic ADH stimulationをきたす病態と輸液施行時の注意、*小児内科* 39: 821-823, 2007

10 五十嵐隆：小児科医から見た子どもを元気にする環境、子どもとはっ育発達 5:70-75, 2007

11 五十嵐隆：Na⁺/HCO₃⁻ cotransporter、腎と透析 63: 463-465, 2007

12 五十嵐隆：小児患者の外来での輸液療法時の留意点 *東京小児科医会報* 26: 58-63, 2007

13 五十嵐隆：腎におけるカリウム代謝、*Nephrology Frontier* 6: 422-424, 2007

14 五十嵐隆：輸液療法に関する新しい知見 輸液のすべて、腎と透析（増刊号）63: 26-30, 2007

著書

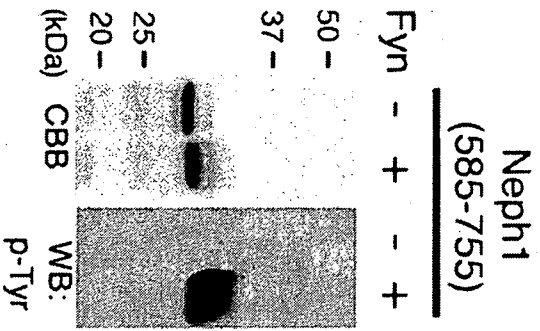
- 1 五十嵐隆：小児腎疾患の臨床、診断と治療社、改訂第2版、東京、2007
- 2 五十嵐隆：小児の慢性腎炎症候群、今日の治療指針 2007、p980-981、山口徹、北原光夫、福井次矢総編集、医学書院、東京、2007
- 3 五十嵐隆：腸管出血性大腸菌感染症の初期に抗生物質を投与すると溶血性尿毒症症候群の発症リスクは低下するか？EBM 小児疾患の治療、p427-430、五十嵐隆、石井正浩、滝田順子、平岩幹男、水口雅、横田俊平、横谷進、渡辺とよ子編集、中外医学社、東京、2007
- 4 滝田順子、五十嵐隆：先天性異常、臨床検査ガイド 2007~2008、p984-986、Medical Practice 編集委員会編、文光堂、東京、2007
- 5 五十嵐隆：小児腎疾患診療のポイント、腎臓内科レジデントマニュアル第4版、p306-324、今井圓裕編著、診断と治療社、東京、2007
- 6 五十嵐隆：遺伝性腎疾患、看護のための最新医学講座（第2版）腎疾患と高血圧、p348-357、日野原重明、井村裕夫監修、中山書店、東京、2007
- 7 五十嵐隆：腎尿細管性アシドーシス、腎・泌尿器疾患診療マニュアル、p244-245、五十嵐隆、鈴木洋通、丸茂 健監修・編集、日本医師会、東京、2007

2. 学会発表

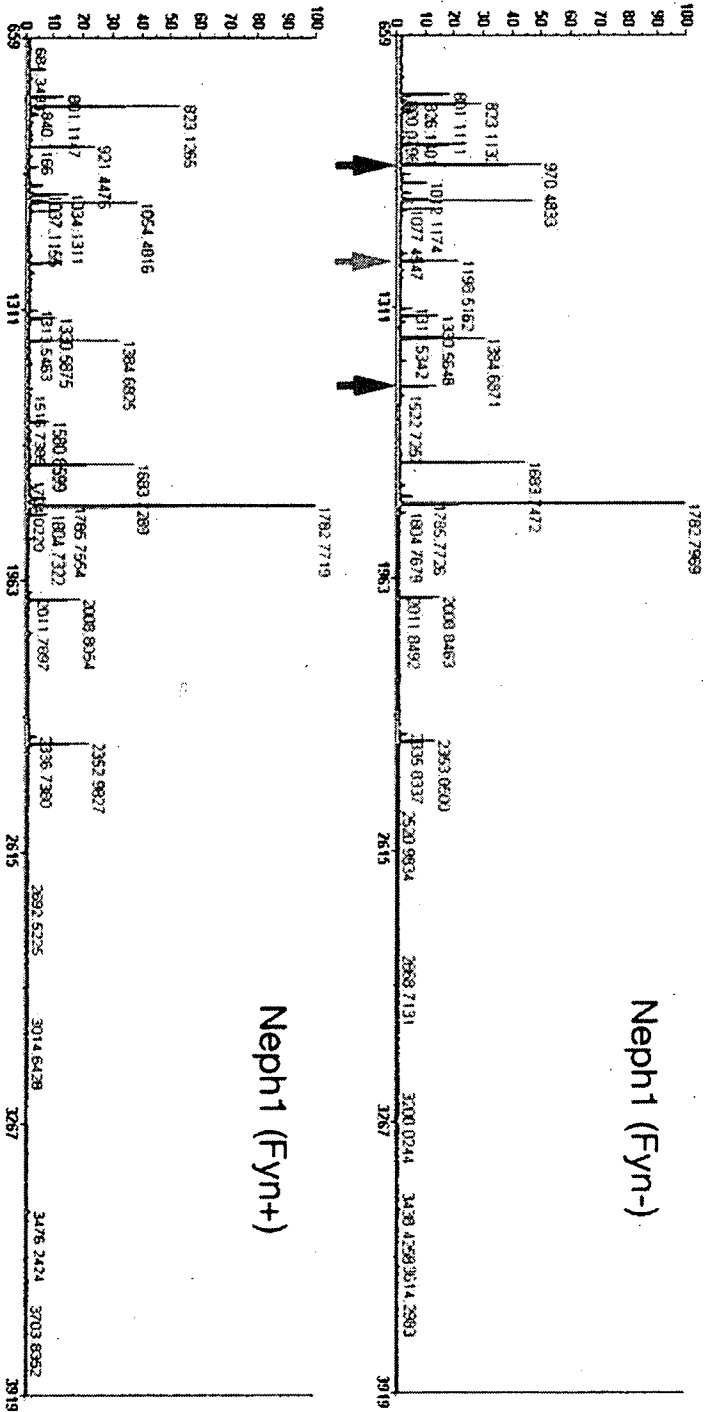
- 1 五十嵐隆 小児腎臓病学の最近の進歩とわが国の腎臓病学校検診 第22回学校保健検診懇談会、2007年1月14日 愛知県
- 2 五十嵐隆 小児の輸液療法：新たな視点からの見直し 神奈川県立こども医療センター医師会、2007年1月31日 神奈川県
- 3 五十嵐隆 小児の救急医療 平成18年度日本医師会生涯教育講座、島根県医師会、2007年2月18日 島根県
- 4 五十嵐隆 低Na血症 平成19年学術講演会、鹿児島大学小児科、2007年3月30日 鹿児島県
- 5 五十嵐隆 Let's design a good pediatric research plan. 台湾小児科学会、台湾、2007年4月29日 中華民國台北市
- 6 五十嵐隆 小児の尿細管機能異常症：異常から正常を知る、第一回香川小児腎疾患研究会、2007年5月18日、香川県
- 7 五十嵐隆 小児の尿細管機能異常症：異常から正常を知る、第三回京阪こどもカンファランス、2007年5月19日、大阪府
- 8 Igarashi T: Dent disease. The 14th Congress of International Pediatric Nephrology、2007年9月1日、ブダペスト
- 9 五十嵐隆：わが国の小児医療と小児科医、第60回南大阪小児科医会、2007年10月13日、大阪府
- 10 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの見直し、第42回日本小児外科学会関東甲信越地方会ランチョンセミナー、10月27日、東京都

1

A



B



C

