

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
腎性尿崩症の実態把握と診断・治療指針作成
分担研究報告書

腎性尿崩症では，小児期成人期を問わずサイアザイド系利尿薬が有効である。

分担研究者	岡田晋一	鳥取大学医学部周産期・小児医学分野	講師
研究協力者	花田卓也	鳥取大学医学部周産期・小児医学分野	助教
	河場康郎	鳥取大学医学部周産期・小児医学分野	助教

研究要旨

アンケート調査により集積された腎性尿崩症患者について，その治療と有効性と検討した。サイアザイド系利尿薬が，小児期成人期を問わず多く使用されており高い有効性を示していた。塩分制限は小児期症例の約30%に施行されており有効であった。一方，抗利尿ホルモンであるデスモプレシンによる治療も行われており，特に成人期症例に有効であった。その他，非ステロイド性消炎鎮痛薬，プロスタグランディン合成阻害薬（インドメタシン），抗アルドステロン薬（スピロノラクトン）もそれぞれ使用されており，一定の効果を示していた。

A. はじめに

腎性尿崩症の治療は，多尿である疾患であるにもかかわらず，サイアザイド系利尿薬が有効とされ尿量が減少する。一方，抗利尿ホルモン(AVP)への腎での反応性の低下により発症するとされる本症では，合成AVPであるデスモプレシンは無効であると考えられてきた。

B. 研究目的

腎性尿崩症への治療指針を作成するために，アンケート調査により集積された腎性尿崩症患者へ施行された治療を検討し，本症への有効治療薬を示す。

C. 研究方法

小児内分泌専門医，内科内分泌専門医，腎臓病専門医に対して行ったアンケート調査票に記入されていた治療法とその有効性を検討した。統計解析はStatView 5.0Jにより χ^2 二乗検定を行い $P<0.05$ を有意とした。

D. 研究結果

146例報告された腎性尿崩症の治療の内訳は以下のようであった(重複有り)。

サイアザイド系利尿薬：105例，塩分制限：37例，デスモプレシン：33例，非ステロイド性消炎鎮痛薬（NSAIDs）：14例，プロスタグランディン合成阻害薬（インドメタシン）：12例，抗アルドステロン薬（スピロノラクトン）：11例にそれぞれの薬剤が使用されていた。無治療は11例で，記載なしは10例であった。

各々の治療の有効性は，治療反応性有りの症例がそれぞれ，サイアザイド系利尿薬：93例（93/105＝89%），塩分制限：25例（25/37＝68%），デスモプレシン：11例（11/33＝33%），非ステロイド性消炎鎮痛薬：9例（9/14＝64%），プロスタグランディン合成阻害薬（インドメタシン）：7例（7/12＝58%），抗アルドステロン薬（スピロノラクトン）：8例（8/11＝73%）であった（図）。診断年齢を，小児（20歳未満）と成人（20歳以上）とに分割し，それぞれの群における治療内容，治療効果を検討した（表）。

サイアザイド系利尿薬は小児患者によ

り多く使用されていた。その有効性は小児，成人患者間で差はみられなかった。同様に塩分制限は小児患者で多く施行されており有効であった。デスモプレシンは小児，成人患者とも使用されている例は少なかったが，その使用症例においては成人患者で有意に有効であった。

NSAIDs，インドメタシンは小児，成人患者間で使用例，有効例とも差は認められなかった。抗アルドステロン薬であるスピロノラクトンは少数の小児例において使用されていたが，その有効性は高かった。

E. 考察

腎性尿崩症は，腎集合尿細管細胞のAVPに対する感受性が減弱し，尿濃縮力障害が惹起されて多尿を呈する疾患であり，その病態は，集合尿細管（とりわけ主細胞）における自由水の再吸収調節障害である。視床下部からのAVPの産生が低下する中枢性尿崩症とは区別される。

腎性尿崩症の治療は，古くからサイアザイド系利尿薬が使用されてきた。サイアザイド系利尿薬は遠位尿細管において Na^+ ， Cl^- の再吸収を阻害し， Na^+ ，水， K^+ の排泄を促進する。腎性尿崩症では，サイアザイド系利尿薬投与により体液量が減少し近位尿細管における Na^+ ，水の再吸収が亢進し集合管への輸送が減少し，同時に尿量が減少する。今回の検討では小児期の患者にサイアザイド系利尿薬が

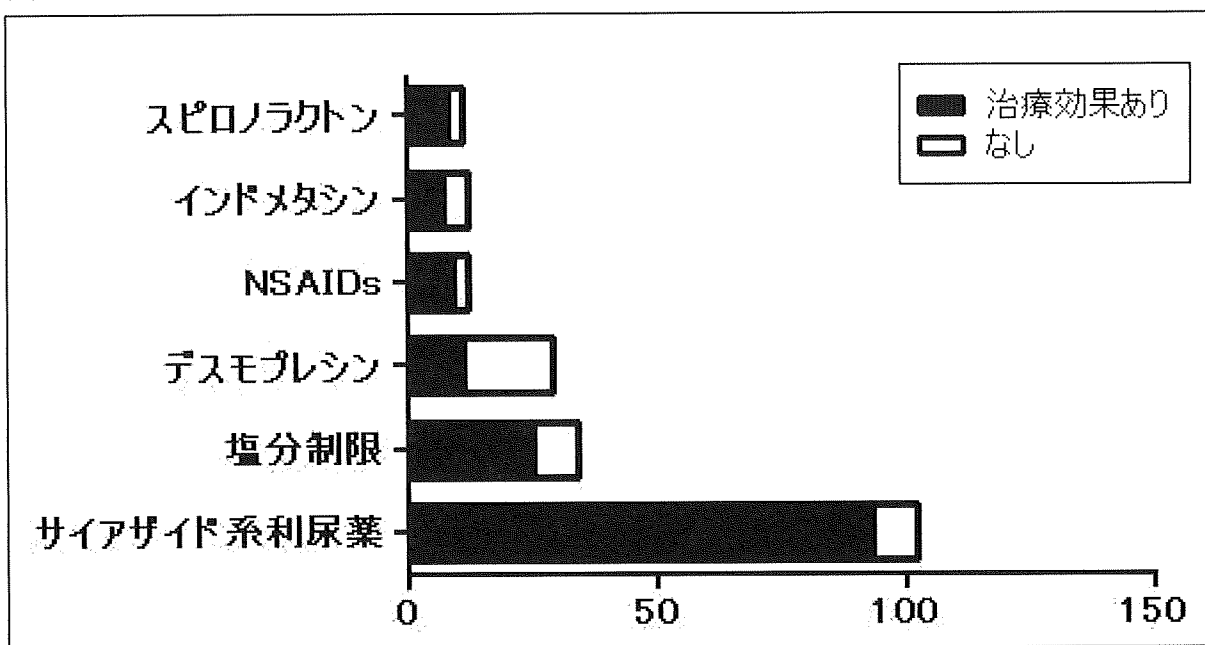
多く使用され，その多くが有効であった。成人期の患者では，小児期よりその使用が少なかったが，有効性は小児期と同等であった。成人期の患者は二次性腎性尿崩症の患者が多いため，サイアザイド系利尿薬の使用が少ないと考えられたが，使用例においては有効性が多いため，成人期の患者であってもサイアザイド系利尿薬の投与を試みる価値はあると考えられた。

デスモプレシンは，腎性尿崩症の成因から考えると，無効であると考えられてきたが，今回の検討では，小児期で4/14例（29%），成人例で6/10例（60%）で有効であった。腎性尿崩症でも腎集合尿細管細胞のAVPに対する感受性は全く消失しているわけではないと考えられ，デスモプレシンが有効である症例も存在する。通常量のデスモプレシンは無効であっても高容量では有効の症例もあり（他の報告書），デスモプレシンも試みる必要がある。

NSAIDs，インドメタシン，スピロノラクトンは使用症例が少数であったが，使用例においては有効であった。これらの薬剤も治療薬の選択となると考えられた。

結論として，腎性尿崩症にはサイアザイド系利尿薬が有効と考えられ小児期はもちろん二次性腎性尿崩症の可能性もある成人期患者においても一度は試みる必要がある。

図



表

	小児	成人
サイアザイド系利尿薬		
使用あり	83/98例 (85%)	18/39例 (46%) P<0.0001
有効	74/81例 (91%)	15/17例 (88%)
塩分制限		
施行あり	35/98例 (36%)	1/39例 (3%) P<0.0001
有効	23/32例 (72%)	1/ 1例 (100%)
デスモプレシン		
使用あり	20/98例 (20%)	12/39例 (31%)
有効	4/14例 (29%)	6/10例 (60%) P=0.045
NSAIDs		
使用あり	11/98例 (11%)	2/39例 (5%)
有効	8/10例 (80%)	1/ 1例 (100%)
インドメタシン		
使用あり	7/98例 (7%)	3/36例 (8%)
有効	5/ 7例 (71%)	1/ 3例 (33%)
スピロノラクトン		
使用あり	11/98例 (11%)	0/39例 (0%) P=0.029
有効	8/11例 (73%)	-

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
腎性尿崩症の実態把握と診断・治療指針作成
分担研究報告書

わが国の腎性尿崩症では抗利尿ホルモン V2 受容体遺伝子異常，アクアポリン 2 遺伝子異常がそのほとんどをしめる

分担研究者 難波栄二 鳥取大学生命機能研究支援センター 教授
研究協力者 藤本正伸 鳥取大学医学部周産期・小児医学 医員

研究要旨

アンケート調査により集積された腎性尿崩症患者 138 例のうち 63 例（45.7%）に遺伝子解析がなされた。抗利尿ホルモン V2 受容体（V2R）遺伝子の異常が 43 例（68.3%），水チャンネルであるアクアポリン 2（AQP2）遺伝子の異常が 6 例（9.5%）に見出された。その他の異常は 10 例（15.9%）であり，遺伝子異常なしは 4 例（6.3%）であった。日本人に特有の遺伝子異常の集積部位は認めなかった。

A. 研究目的

現在まで、わが国の腎性尿崩症について、合併症、治療とその効果、あるいは遺伝子変異について、包括的に検討した報告はない。本年度の研究として、私達は、腎性尿崩症を主に診察していると思われる日本小児内分泌学会、日本小児腎臓病学会、日本内分泌学会、日本腎臓学会会員を対象にアンケート調査を行い、わが国の腎性尿崩症の原因遺伝子と考えられている抗利尿ホルモン V2 受容体遺伝子およびアクアポリン 2 遺伝子の異常について検討した。

B. 研究方法

日本小児内分泌学会、日本小児腎臓病学会、日本内分泌学会、日本腎臓学会会員を対象にアンケート調査した。一次アンケートとして全会員に症例の有無を問うアンケート用紙（添付したアンケート用紙 1）を配布した。症例ありと回答した会員に詳細な質問事項を掲載した二次アンケート用紙（添付したアンケート用紙 2）を配布した。

二次アンケートに記載された遺伝子異常を抽出して解析を行った。

C. 研究結果

二次アンケート調査で確認された腎性尿崩症は 137 例であった。そのうち 62 例（45.3%）で遺伝子解析が行われていた。

抗利尿ホルモン V2 受容体（V2R）の異常が 43 例（69.4%）に見出され、水チャンネルであるアクアポリン 2（AQP2）の異常が 5 例（8.1%）に見出されていた。遺伝子検査をおこなうも異常なしと明記されているものが 4 例（6.5%）あった。10 例（16.1%）がその他と記載されており、ネフロン瘻の遺伝子異常やその他の遺伝子に起因すると記載されていた。今回の調査で見出された V2R および AQP2 遺伝子異常を図 1 および図 2 に示した。

V2R の異常 43 例のうち、複数の症例で認められた異常は、D85N が 4 例（9.3%）、R106C 2 例（4.7%）、R181C 2 例（4.7%：兄弟例）、R202C 2 例（4.7%）であった。AQP2R の異常 5 症例は、763-772del が 1 例、R254Q が 2 例（双胎）、AQP の異常とのみ判明しているものが 2 例であった。

D. 考察

腎性尿崩症の約 90%が X 連鎖性劣性遺伝の V2R の異常に起因すると報告されている。残りが常染色体劣性遺伝をしめす水チャンネルである AQP2 の異常である。今回の検討は、V2 受容体 (V2R) の異常が 43 例に見出され、一方、AQP2 の異常が 5 例に報告されていた。わが国では AQP2 異常の割合が少し多いように思われるが、これは男性の腎性尿崩症の場合、V2R の異常と考えて、遺伝子の解析を行わない例が多いというバイアスがかかった結果かもしれない。また、約半数にしか遺伝子解析が行われていないため、今後、残りの症例で遺伝子解析を行うと多少遺伝子変異の割合が異なるかもしれない。

膜 7 回貫通型受容体である V2R では、膜貫通部位に多く遺伝子異常が認められると報告されている。今回の検討では膜貫通部位にミスセンス変異 D85N が 4 例に認められた。日本人における変異集積部位の可能性も示唆されるが、今後の未検査の症例の結果も考慮する必要がある。今回の検討では細胞外ドメインに多くの変異が認められており、従来の報告と異なる印象があった。

今回集積したわが国の V2R 遺伝子異常は、ミスセンス変異が多く、機能解析はほとんどなされていない。症例によっては抗利尿ホルモンが有効な症例もあり、有効例では V2R の機能がある程度保たれているものと思われる。今後、変異と機能障害の程度の関連性の検討が必要と思われる。

わが国の AQP2 異常では、複合ヘテロ接合体異常の報告は認めず、全てがホモ接合体の異常に起因しているものと思われる。これは共通の祖先を有する保因者同士から生まれた症例と考えられ、AQP2 遺伝子異常の保因者はあまり多くないのではないかと推測できる。

E. 結論

アンケート調査で確認されたわが国の

腎性尿崩症は 138 例で、62 例 (45.3%) が遺伝子解析されていた。V2R 遺伝子の異常が 43 例 (68.3%) に見出され、水チャンネルである AQP2 遺伝子の異常が 5 例 (8.1%) に見出されていた。日本人に特有の遺伝子異常の集積部位は無いように思われる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Otomo T, Higaki K, Nanba E, Ozono K, Sakai N: Inhibition of autophagosome formation restores mitochondrial function in mucopolipidosis II and III skin fibroblasts. *Mol Genet Metab* 98:393-399, 2009

2) Otsuka S, Maegawa S, Takamura A, Kamitani H, Watanabe T, Oshimura M, Nanba E: Aberrant promoter methylation and expression of the imprinted PEG3 gene in glioma. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 85: 157-165, 2009

3) Sawada T, Tanaka A, Higaki K, Takamura A, Nanba E, Seto T, Maeda M, Yamaguchi E, Matsuda J, Yamano T.: Intracerebral cell transplantation therapy for murine GM1 gangliosidosis. *Brain Dev* 31: 717-724, 2009

H. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得

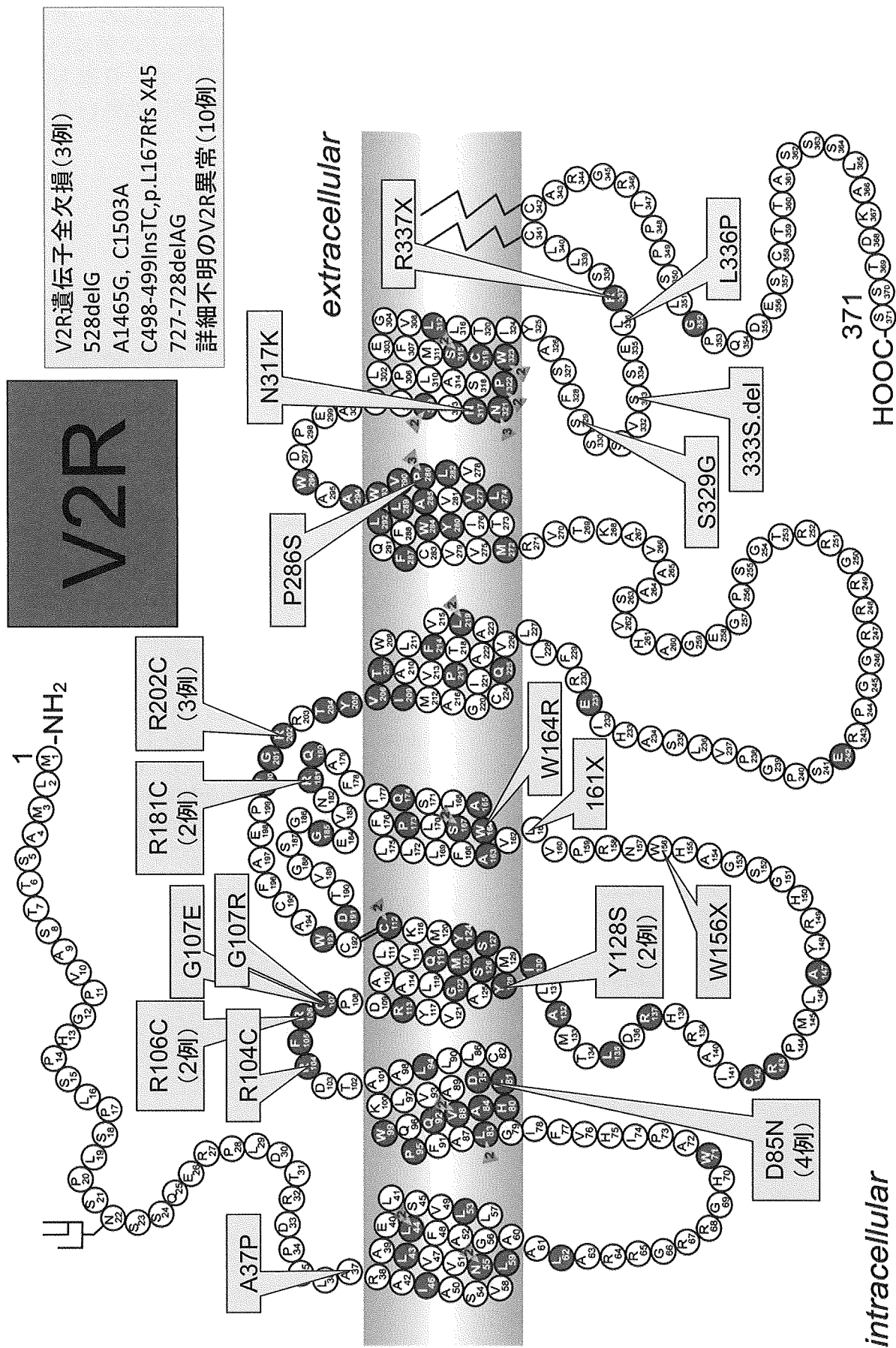
なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

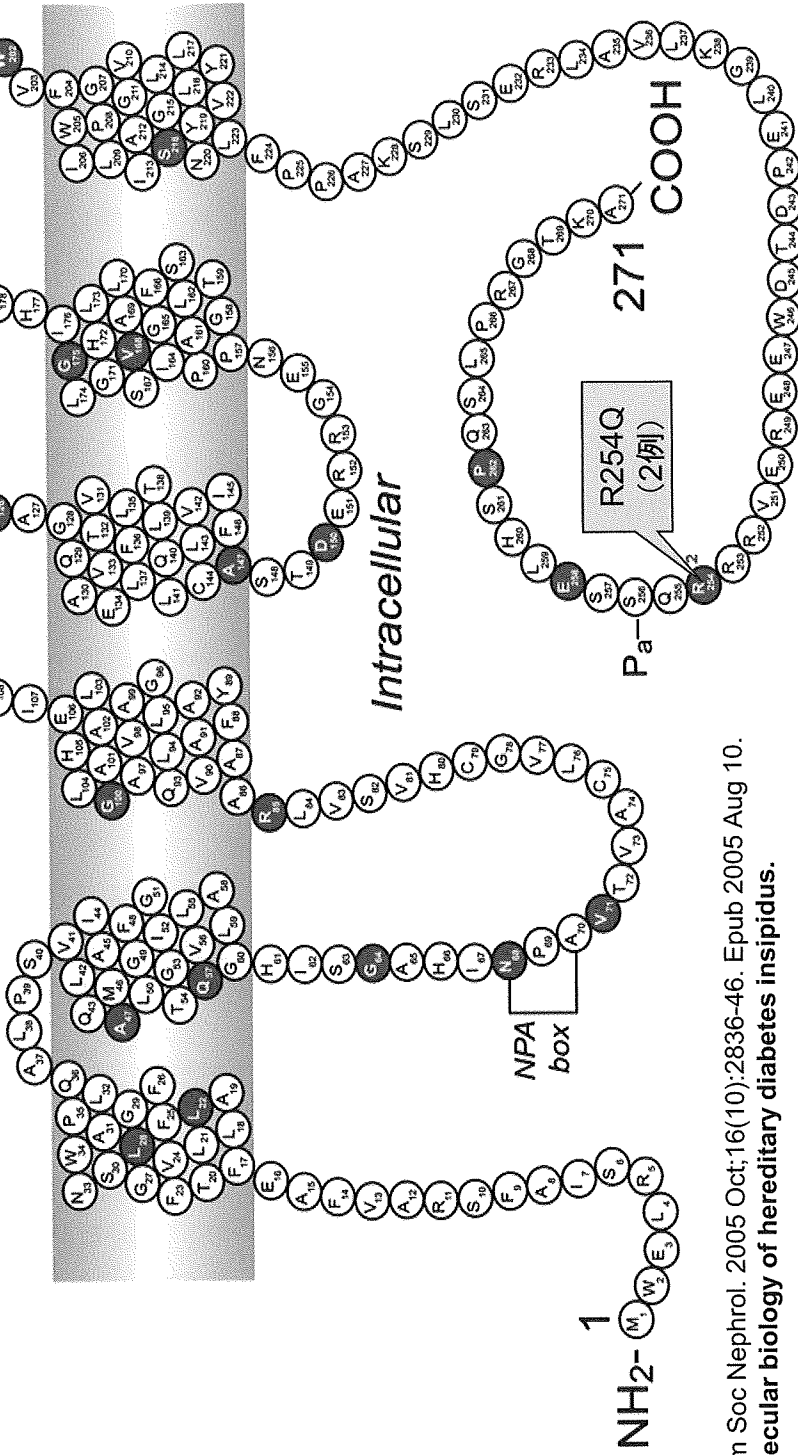
なし。



AQP2

763-772del (1例)
詳細不明のAQP2遺伝子変異 (2例)

Extracellular



厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
腎性尿崩症の実態把握と診断・治療指針作成
分担研究報告書

母体へのアンギオテンシン受容体拮抗薬投与は児の塩類喪失性腎性尿崩症を惹起する

分担研究者 五十嵐隆 東京大学医学部小児科教授
研究協力者 三浦健一郎 東京大学医学部小児科助教
高橋和浩 東京大学医学部小児科助教

研究要旨

妊婦にアンギオテンシン変換酵素阻害薬（ACEI）やアンギオテンシン受容体拮抗薬（ARB）を投与すると児に羊水過少、肺低形成、腎不全、四肢拘縮、低血圧といった ACEI/ARB fetopathy が生じ、多くの場合新生児期に死亡するか末期腎不全に至ることが報告されている。ただし、ARB fetopathy の長期の腎機能予後についてはこれまで報告がない。私たちは ARB fetopathy の 6 歳と 2 歳の男児例において、新生児期腎不全から回復した後の遠隔期の腎機能を詳細に検討しえたので報告する。2 症例とも(1)糸球体濾過率の軽度低下、(2)ほぼ正常な近位尿細管機能、(3)塩類喪失性の腎性尿崩症を認めた。バソプレッシン（ADH）分泌と尿中 cyclic AMP の上昇は認められた。以上のことから、胎児期に ARB に暴露されると、新生仔ラットへの ACEI/ARB 投与で確認されているように、おそらく腎乳頭萎縮が起こり、これによって髄質の高浸透圧環境が形成されず、尿濃縮能が高度に障害されることが推察された。ACEI/ARB の妊婦への投与は禁忌である。

A. はじめ

アンギオテンシン変換酵素阻害薬（ACEI）やアンギオテンシン受容体拮抗薬（ARB）を妊娠中期または後期に投与すると著明な羊水過少および出生後の呼吸不全、腎不全が生じる。ほとんどの児は新生児期に死亡するか末期腎不全に至る。胎児期の ACEI/ARB への暴露による腎機能障害

は ACEI/ARB fetopathy とよばれており、米国食品医薬品局（FDA）は 1992 年に妊娠中期および後期の妊婦への ACEI 投与を禁止する警告文を出している[5]。にも関わらず、2003 年に ACEI を投与された妊婦の数は 1986～1988 年の 3 倍にのぼった。

B. 研究目的

胎児期の ACEI/ARB 暴露により末期腎不全に至った症例報告は多数あるが、ACEI/ARB fetopathy の長期予後を解析した報告はきわめて少ない。そこで私どもは、新生児期腎不全から回復した ARB fetopathy の 2 症例について、その腎機能予後を詳細に検討した。

C. 研究方法

ARB fetopathy の 2 症例について血液・尿検査、画像検査負荷試験などを駆使して、腎機能を多方面から解析した。

D. 研究結果

症例 1

6 歳男児。母は 3 歳時にネフローゼ症候群と診断され、ステロイドで一旦寛解したが、15 歳時に腎機能が悪化し、血液透析が開始された。腎生検は施行していない。多飲多尿は認めなかった。2 回の生体腎移植を受け、妊娠の 1 年前にカンデサルタン (4mg/日) が開始され、全妊娠期間を通して継続された。移植腎機能は安定していた。喫煙や糖尿病の既往はなかった。

児は在胎 31 週、羊水過少、骨盤位、胎児仮死のため緊急帝王切開にて出生した。出生体重は 1384g であった。両側肺低形成のため HFO で管理された。また輸血やカテコラミン投与にも関わらず重篤な低血圧を呈した。生下時より乏尿を認め、日令 4 には血清クレアチニンが 3.8 mg/dL となり、著明な浮腫もあるため腹膜透析を導入、日

令 19 まで継続した。腹膜透析開始後、動脈管開存に対してインドメタシン投与を 8 回行った。四肢拘縮と頭蓋骨形成不全を認めた。これらは ARB fetopathy に典型的な所見であった。

急性呼吸不全と腎不全からの回復後、児は多飲多尿を呈し、血清クレアチニンは 0.4~0.5 mg/dL を推移していた。著明な低身長と軽度精神発達遅滞を認めた。トリクロルメチアジドと L-アスパラギン酸カリウムの処方により尿量の減少がみられた。6 歳時、セカンドオピニオン目的に当科受診し、腎機能の精査目的に入院した。検査に備えてすべての薬剤を中止した。入院時、身長 102.2cm (−3.1SD)、体重 15.6kg (−1.8SD)、血圧 95/60 mmHg で、足関節拘縮と構音障害を認めた。尿量は約 3000mL/日であった。腹部超音波で両側腎盂腎杯の軽度拡大と皮質のエコー輝度亢進を認めた。

症例 2

2 歳男児。母は妊娠高血圧症候群のため妊娠 33 週からカンデサルタン 2mg/日を投与され、分娩時まで継続された。喫煙や糖尿病の既往はなかった。

児は在胎 37 週、羊水過少と胎児仮死のため帝王切開にて出生した。出生体重は 2438g であった。呼吸不全のため人工呼吸管理となり、低血圧のためカテコラミン投与を要した。生下時より無尿が続き、日令 2 から 18 まで腹膜透析を要した。これらは ARB fetopathy に矛盾しない所見であった。急性腎不全からの回復後、児は多飲多

尿を呈した。血清クレアチニンは3ヶ月時に0.55 mg/dLとなり、以後安定した。トリクロルメチアジド内服により尿量の減少を認めた。2歳2ヶ月時、千葉県こども病院に紹介となり、精査入院のため内服を中止した。

入院時、身長80.4cm (−1.9SD)、体重9.26kg (−2.0kg)、血圧82/34 mmHgであった。理学所見で特記すべき異常なく、尿量は1500mL/日であった。軽度精神発達遅滞を認めた。腹部超音波では両側の軽度低形成腎を認めた。

腎機能検査

血液検査所見と尿所見を表1に示す。2症例ともイヌリシクリアランスまたはクレアチニシクリアランスの軽度低下を認めた。一方、明らかな塩類喪失性腎性尿崩症を認めた。尿量は1.5~3L/日で、FENaは1%以上であった。血漿レニン活性とアルドステロンはベースラインで亢進していた。水制限試験にて、最大尿浸透圧は症例1で135 mOsm/kg、症例2で378 mOsm/kgであり、バソプレッシン投与による尿浸透圧上昇はほとんど認められなかった。これより腎性尿崩症と診断した(表2)。血中ADH濃度と尿中cyclic AMP (cAMP)濃度は水制限により反応性に上昇を認めた。

遠位尿細管機能の高度の障害に対して、近位尿細管機能はほぼ保たれていた。すなわち、尿酸排泄分画(FEUA)や%TRPはほぼ正常範囲内であった(表1)。糖尿、蛋白尿、アミノ酸尿も認められなかった。

E. 考察

ラットにACEIあるいはARBを投与すると、腎乳頭萎縮、間質の線維化、尿細管の萎縮や拡張といった著明な腎組織障害が認められ、尿濃縮能が低下する[7,8]。また糸球体数の減少や皮質小動脈の壁肥厚によると思われる糸球体濾過率(GFR)の低下も認められる[9]。Lasatieneらはロサルタンを投与したラットの実験で、ヘンレの太い上行脚においてNa-K-2Cl共輸送体の発現が低下することを示した[10]。これらの形態学および機能的変化により、ヘンレの太い上行脚におけるNaおよびClの再吸収が障害され、このため髄質の浸透圧勾配の形成がなされず、尿濃縮能の低下に結びつくと考えられる。

ヒトにおけるACEI/ARB fetopathyの報告は多数あるが、腎機能の長期予後に関する報告は少ない。Guronらは母体妊娠後期の短期間のみエナラプリルに暴露された既往のある14歳女児(すなわちACEI fetopathy)の腎機能を精査し、その主な所見は尿濃縮能の著明な低下とGFRの中等度低下、1型尿細管性アシドーシス、および蛋白尿であると報告した。またLaubeらはACEI fetopathyの3症例の遠隔期腎予後を報告し、GFRの低下を2名に、著明な高血圧と蛋白尿を1名に認めた。

検索しえた限りでは、本報告の2症例がARB fetopathyによる急性腎不全から回復後の遠隔期の腎機能を詳細に解析した初めての報告である。2症

例の主な所見は GFR の低下と塩類喪失性の腎性尿崩症であり、近位尿細管機能はほぼ保たれていた。水制限試験では尿中 cAMP は反応性に上昇しており、集合管における V2 受容体は正常に機能していることが示唆された。動物実験の結果と総合して考えると、ヘンレの太い上行脚から髓質内層集合管にかけての遠位尿細管の解剖学のおよび機能的変化が ARB fetopathy における塩類喪失性腎性尿崩症の原因であると推察される。実際、症例 1 においては、軽度脱水時に血清 Na が 129 mEq/L に低下し、そのときの FENa は 1.1%と比較的高値であった。また症例 2 においてもベースの血清 Na 濃度はやや低値 (133 mEq/L) であった。さらに、両者とも日常生活において塩分を好んで摂取していた。表 2 に示すように、2 症例とも水制限によって血漿浸透圧が 290~300 mOsm/kg 以上には上昇しなかった。これらの所見は本病態のプライマリーな障害が Na の再吸収障害であることを示唆していると思われる。そしてこのことは、V2 受容体遺伝子または aquaporin-2 遺伝子異常によって起こる先天性腎性尿崩症では自由水の再吸収のみが障害され、Na の再吸収は障害されないことと対照的である。

結論として、妊婦に ARB を投与すると児にバソプレッシン不応の塩類喪失性の尿濃縮能低下と GFR の低下が生じる。新生児期の腎不全から回復したとしても、塩類喪失性の腎性尿崩症を呈し、成長障害をきたす。妊婦へ

の ACEI/ARB 投与の危険性をあらためて強調する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saito T, Fukumoto S, Ito N, Suzuki H, Igarashi T, Fujita T: A novel mutation in the GAT3 gene of a Japanese patient with PTH-deficient hypoparathyroidism. J Bone Miner Metab 27: 386-389, 2009
- 2) Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Tezuka T, Sekine T, Igarashi T, Hattori S: Phosphorylation of nephrin triggers Ca^{2+} signaling by recruitment and activation of phospholipase C- γ 1. J Biol Chem 284: 8951-8962, 2009
- 3) Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Tkeuchi K, Miwa A, Cehn Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamaoto K, Tobinai K, Nakagawa H, Nakahra T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S: Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphoma. Nature 459: 712-716, 2009

2. 学会発表

- 1) 五十嵐隆：生命を守る医と食の安心、安全を構築するために：小児科医の立場から、日本学術会議第二部 冬の公開シンポジウム「生命を守る医と食の安心、安全のために」、平成 21 年 2 月 5 日、東京
- 2) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの検討、日本薬学会、平成 21 年 3 月 27 日、東京
- 3) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの検討、平成 21 年度香川県小児科医会

春期学術集会・総会、平成21年4月11日、東京

4) 五十嵐隆：子どもの尿からわかること
日本小児科医会セミナー、平成21年6月13日、東京

5) 五十嵐隆：わが国の社会と小児医療・小児医学の課題、第19回日本外来小児科学会
年次集会、平成21年8月29日、埼玉

6) Takashi Igarashi : Molecular pathogenesis of
primary renal tubular acidosis、The 44th
European Society of Pediatric Nephrology, 平成21年9月5日、バーミンガム（連合王国）

7) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点
からの見直し、調布市小児科医会講演会、
平成21年9月16日、東京

8) Takashi Igarashi : Molecular pathogenesis of
primary renal tubular acidosis、Korean Society
of Pediatric Nephrology, 平成21年9月19日、ソウル（大韓民国）

9) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点
からの見直し、広島成長・発育研究会、平成21年10月9日、広島

10) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点
からの見直し、つくば小児救急医療研究会、平成21年10月14日、茨城県

表 1 血液/尿検査所見

症例	1	2	症例	1	2
<血液検査>			<静脈血ガス>		
WBC (/ μ L)	3600	8700	pH	7.421	7.407
Hb (g/dl)	14.4	12.7	pCO ₂ (mmHg)	49.3	30.0
Plt ($\times 10^4$ / μ L)	36.7	27.1	HCO ₃ ⁻ (mEq/L)	31.3	18.6
T.P (g/dL)	6.8	6.8	BE (mEq/L)	+5.7	-5.2
Alb (g/dL)	3.8	4.5	<尿検査>		
AST (IU/L)	27	37	U-Pro	(-)	(-)
ALT (IU/L)	24	25	U-Glu	(-)	(-)
Ca (mg/dL)	9.0	10.4	U-OB	(-)	(-)
iP (mg/dL)	5.3	5.4	U-Ket	(-)	(-)
BUN (mg/dL)	12.3	22.3	U- α 1MG (mg/L)	3.4	N.D.
Cr (mg/dL)	0.53	0.56	U- β 2MG (μ g/L)	N.D.	1950
Na (mEq/L)	139	133	U-NAG (IU/L)	1.5	2.3
K (mEq/L)	3.9	3.8	<糸球体機能>		
Cl (mEq/L)	104	99	Ccr (ml/min/1.73m ²)	68	58
UA (mg/dL)	3.0	10.0	Cin (ml/min/1.73m ²)	62	N.D.
Mg (mg/dL)	1.8	1.7	<尿細管機能>		
シタチン C (mg/L)	1.08	1.75	FENa (%)	1.59	1.05
血漿浸透圧	283	272	FEK (%)	33.3	15.5
(mOsm/kg)			%TRP (%)	84.4	84.7
β 2MG (mg/L)	3.8	N.D.	FEUA (%)	22.8	4.27
血漿レニン活性	39.0	3.1	TTKG	10.0	5.84
(ng/ml/h)					
アルドステロン (pg/ml)	518	435	Ca/Cr	0.42	N.D.

N.D.: not done, Ccr: creatinine clearance, Cin: inulin clearance, FE: fractional excretion, %TRP: transtubular reabsorption rate of phosphate, TTKG: transtubular potassium concentration gradient

表 2 水制限試験とバソプレッシン負荷試験

症例 1					症例 2				
時間 (h)	s-Osm (mOsm/kg)	u-Osm (mOsm/kg)	u-cAMP (μ mol/l)	s-ADH (pg/ml)	時間 (h)	s-Osm (mOsm/kg)	u-Osm (mOsm/kg)	u-cAMP (μ mol/l)	s-ADH (pg/ml)
水制限試験									
0	270	101	390	9.15	0		98	870	3.6
1		112			5		282		19.8
2		128			6		350		
3	286	135	680	14.5	7		376		
					7.5		378	2800	
バソプレッシン負荷*									
3.5		154	980		8		380		
4.5		168	1300		9.5		385	2900	

最大尿浸透圧は症例 1 で 135 mOsm/kg, 症例 2 で 378 mOsm/kg であった。またバソプレッシン負荷による尿浸透圧上昇はほとんど認められず、腎性尿崩症と診断した。一方、尿中 cAMP 濃度は水制限にともなって上昇した。

u-Osm: 尿浸透圧, u-cAMP: 尿 cyclic AMP, s-ADH: 血漿 ADH

*症例 1 では、水制限開始から 3 時間後、尿浸透圧がプラトーに達したところで 1-deamino-8-D-arginine vasopressin の鼻腔内投与を行った。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
腎性尿崩症の実態把握と診断・治療指針作成
分担研究報告書

心因性多飲・多尿と臨床診断されていた部分尿崩症患者 2 症例における V2 受容体変異とその機能解析

分担研究者	五十嵐隆	東京大学医学部小児科教授
研究協力者	三浦健一郎	東京大学医学部小児科助教
	高橋和浩	東京大学医学部小児科助教
	槇田紀子	千葉県こども病院腎臓科医員
	久野正貴	千葉県こども病院腎臓科医長
	飯田厚子	東京女子医科大学東医療センター小児科助教
	秋岡祐子	東京女子医科大学腎臓小児科講師
	間中勝則	東京大学腎臓・内分泌内科助教
	飯利太郎	東京大学腎臓・内分泌内科助教

研究要旨

心因性多飲・多尿と診断されていた症例の中に V2 受容体機能低下変異に起因する尿崩症患者が含まれていることを私どもは水制限試験・ピトレスシン試験によって明らかにした。この成果は V2 受容体の ligand 結合後のシグナル伝達メカニズムの解明において、きわめて重要な生物学的情報を与える。今回同定された 2 つの V2 受容体のミスセンス変異あるいはアミノ酸が 1 つ脱落することが予想される 3 塩基脱落による機能低下は腎性尿崩症患者としては程度が比較的軽く、その発症メカニズムの解析を行った。変異 V2 受容体の機能解析から、完全型腎性尿崩症とは異なり AVP は変異 V2 受容体の partial agonist であることが示されており、部分型尿崩症の原因は V2 受容体の膜移行や AVP との親和性の低下ではなく、V2 受容体と G 蛋白との共役異常である可能性を示唆していた。今後、正常および変異 V2 発現受容体発現細胞の細胞質膜分画の V2 発現を解析し、変異 V2 受容体が正常と変わらない膜移行を示すか否かを明らかにする。

A. はじめに

先天性の腎性尿崩症（ND I）は、約 40 万人に 1 人の割合で発症するまれな疾患である。ND I の約 90% はバソプレッシン 2（V2）受容体の遺伝子変異により発症し、X連鎖遺伝形式をとり、ほぼ全例で完全型 ND I の表現型を示す。残り約 10% の患者は水チャネル 2（aquaporine-2：AQP-2）遺伝子の変異により常染色体優性および劣性遺伝形式をとる。

V2 受容体分子の異常については完全型尿崩症で多くの症例解析がなされ、多様な変異が報告されている。しかし、AVP 投与あるいは水制限試験により部分的に尿浸透圧が上がる「部分尿崩症」で V2 遺

伝子を解析したものは国内外を通じてほとんど報告がなく、部分尿崩症は心因性多飲・多尿、あるいは、他の要因による多尿と考えられてきた。

B. 研究目的

水制限試験等によって心因性多尿と診断され、長期間観察されていた部分尿崩症の小児 2 例のゲノム解析を行い、2 例に異なる変異を同定し、2 例が心因性多尿ではないことが明らかになった。これらの症例で変異 V2 受容体の機能解析を行ったので報告する。

C. 研究方法

1) 対象

症例1（7歳7か月男児）

家族歴：母親および母方の叔母に多飲多尿の傾向がある。2人の多飲多尿傾向は若年時に顕著だったが、成人後症状は軽減した。同胞は姉が1人いるが多飲多尿はない。

既往歴：妊娠中特記すべき異常なし。在胎41週2日、出生体重3,252gで頭位経膈自然分娩で出生。

現病歴

日齢5に発熱を主訴に他院を受診し、高ナトリウム血症（血清Na 153 mEq/L）と体重減少を指摘され、高張性脱水の診断で入院した。入院時の血漿浸透圧は323mOsm/kgと著明に上昇していたが、尿浸透圧は134 mOsm/kgと尿の濃縮を認めなかった。血漿抗利尿ホルモン（ADH）濃度は25.7pg/mL（正常値0.3～3.5pg/mL）と分泌亢進を認めた。多尿も伴っていたことから腎性尿崩症と診断し、サイアザイド系利尿薬による治療が行われた。

5か月時に行われた2時間の水制限試験では尿浸透圧が血漿浸透圧を上回ることにはなかった。ピトレシン負荷試験では尿浸透圧は120 mOsm/kgから301 mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の289 mOsm/kgを上回るとともに、尿中cyclic AMP (cAMP)値も0.8 μ mol/Lから2.1 μ mol/Lへ上昇し、ピトレシンへの反応性が確認された。以上から腎性部分尿崩症または多飲に伴う尿濃縮障害が最も考えられ、サイアザイド系利尿剤による治療を継続した。

8か月時に行われた6時間の水制限試験で尿浸透圧は285 mOsm/kgから381mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の284mOsm/kgを上回ったため、診断は変更なく、薬物治療が継続された。

1歳8か月時の水制限試験では、早朝尿は尿浸透圧が596 mOsm/kgと血漿浸透圧の289 mOsm/kgを上回っており、続いて行った水分制限試験で尿浸透圧は663 mOsm/kgまで濃縮された。下垂体MRIでは形態異常なく、心因性多飲と診断された。サイアザイド剤を中止し、飲水制限を行ったが、毎夜飲水のために3～4回覚醒す

る、入浴時に風呂桶内の水を飲む、水分を取っている人をみかけると必ず自分もほしがり大泣きするなどの異常な飲水行動が続いた。

7歳7か月時に水制限試験を行い、尿浸透圧は制限開始前の100 mOsm/kgから6時間の飲水制限で539 mOsm/kgまで濃縮し、ピトレシン負荷試験でも尿浸透圧は118 mOsm/kgから446mOsm/kgへ有意に上昇した。以上より腎性尿崩症は否定的で、心因性多飲が最も考えられた。自由飲水時での血漿ADH濃度は、5か月時 10.2 pg/mL、8か月時36.5pg/mL、1歳8か月時 13.9pg/mL、7歳7か月時 9.0 pg/mLと全経過を通じて高値であった。

その後も患児は夜間も口渇を訴え、毎晩3～4回飲水・排尿目的で覚醒するために安眠できず、過度な飲水のため、食事の摂取量が減少した。このため、睡眠前にデスモプレシン（DDAVP）点鼻を試みたところ、治療開始直後より夜間の安眠が保てるようになり、その後身長体重も改善傾向を認めた。

症例2（3歳11か月男児）

家族歴：母の同胞・母方祖母に多飲・多尿の家族歴がある

既往歴：妊娠中特記すべき異常なし。39週に吸引分娩により出生。出生時体重は2680g。その後、原疾患以外に特記すべきことなし

現病歴：8か月から離乳食を導入したところ、その頃1日に麦茶を2-3L摂取し、夜間だけで1Lほど飲むようになった。また母乳も1日に5-8回摂取していた。同時に多尿（1日10回）もみられ、乳児健診や保健所の育児相談でも多飲多尿を指摘されていた。体重増加不良も認められたが、食事の摂取量が少ないためとされ、経過観察されていた。

1歳11か月時に急性上気道炎で他院を受診した際に多飲・多尿を指摘され、2歳1か月に検査・生活習慣改善目的で同院へ入院した。入院前外来検査で血清浸透圧274mOsm/kgに対し、血漿ADH濃度は8.4pg/mLと高値のため中枢性尿崩症は否

定的とされ、その後は1日1Lの飲水制限で尿量が減少したことから、腎性尿崩症も否定的であったため、心因性尿崩症と診断された。検査入院中の尿比重は1.005前後で推移した。

その後1年以上経過しても多飲多尿が継続し、身長、体重とも-2SDで経過していたため、紹介。精査のため入院し、検査を行った。

2) 研究方法

a) 水制限試験

症例1・2

試験開始までの飲水は自由とし、試験開始後は絶食とした。試験開始時に排尿させ、試験開始前と開始後6時間まで1時間おきの体重、尿量、尿比重、尿浸透圧、血清浸透圧、血漿ADH濃度を測定した。

b) ピトレシン試験

症例1

水制限試験を行った翌日に、水溶性ピトレシン5単位/m²を皮下注射し、ピトレシン投与前、投与後30分・1時間・2時間後の血清浸透圧、尿量、尿比重、尿浸透圧、尿中cAMP濃度を測定した。

症例2

水制限試験に引き続き水溶性ピトレシン5単位/m²を皮下注射し、ピトレシン投与前、投与後30分・1時間・2時間後の血清浸透圧、尿量、尿比重、尿浸透圧、尿中cAMP濃度を測定した。

c) 遺伝子解析

患児の末梢血白血球よりDNAを抽出し、V2受容体遺伝子全領域をPCR法で増幅した。ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、GeneBankに登録されているV2受容体遺伝子配列(U04357)と比較検討した。遺伝子解析は当院での倫理委員会で承認されており、2例とも保護者からのインフォームドコンセントを得て実施した。

d) 変異V2受容体の機能解析

症例1および症例2で同定されたV2受

容体の変異を site-directed mutagenesis の手法⁶⁾を用いて、正常V2受容体遺伝子(発現 vector pcDNA3.1)に導入した。正常V2受容体および変異V2受容体を組み込んだpcDNA3.1をlipofectamineを用いてCOS-7細胞に導入し、一過性発現系を構築した。

正常および変異V2受容体導入COS-7細胞を様々な濃度のAVPを投与後30分培養し、その後、細胞内cAMP濃度を測定した。cAMPの測定法はBourneらの方法⁷⁾に従い、標識されたATPを添加後、細胞を可溶化し、カラムでcAMP分画を分離測定した。

D. 研究結果

血液・尿検査では、希釈尿以外両症例とも特記すべき所見なし(表1・2)。腎エコーでは腎サイズを含め、特記すべき所見は認められなかった。

a) 水制限試験

b) ピトレシン試験

症例1(表3)

水制限試験で尿浸透圧は100 mOsm/kgから539 mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の286 mOsm/kgを上回った。ピトレシン負荷試験では尿浸透圧は118 mOsm/kgから446 mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の285 mOsm/kgを上回るとともに、1時間あたりの尿量も著明に減少し、ピトレシンへの反応性が確認された。

症例2(表4)

水制限試験で尿浸透圧は66 mOsm/kgから401 mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の279 mOsm/kgを上回った。ピトレシン負荷試験では尿浸透圧は425 mOsm/kgから583 mOsm/kgへ上昇し、血漿浸透圧の285 mOsm/kgを上回るとともに、尿中cAMPも1.2→3.9 μmol/Lへと上昇した。

c) 症例1・2におけるV2受容体遺伝子の変異とV2受容体における部位

図1に2症例で同定されたV2受容体遺伝子の変異部位を示す。症例1ではバソプレッシンV2受容体遺伝子Exon2内の815A→C、アミノ酸128のY(Tyr)→S(Ser)

への点変異、症例2ではExon 3内の997-999 (TCC) del、アミノ酸333のS(Ser)の欠失が認められ、本症例はV2受容体の異常による腎性尿崩症と診断した。

図2に2症例で同定されたV2受容体の変異部位⁸⁾を示す。Y128S変異は第3膜貫通部位および第2細胞質内ループの近傍のミスセンス変異であり、S333 delは7回膜貫通型受容体のC末端の細胞内領域のアミノ酸の欠損である。

d) 変異 V2 受容体の機能解析

図3に正常および変異V2受容体細胞におけるAVP添加時のcAMP用量-反応曲線を示す。

正常V2受容体を発現したCOS-7細胞では解離定数薬0.9nM程度の親和性を有するバソプレッシン結合によるcAMP産生が認められた。一方、S333delおよびY128S変異V2受容体では、バソプレッシン添加に対して明らかに反応はみとめられるものの、そのcAMP最大反応は1/5~1/10程度に低下していた。一方両変異体ともバソプレッシンに対しての解離定数は正常V2受容体と大きな変化はなく、以上から変異V2RのAVPに対しての親和性に著しい低下は認めないが、最大反応性は明かに低下していた。

以上から、両変異体はバソプレッシンに対しての親和性を変えず、最大反応が低下する partial response を示すと考えられた。

E. 考察

V2受容体遺伝子異常は先天性NDIの主な原因である。現在、V2受容体遺伝子異常によるNDIでは、同定された異常部位は150か所以上にのぼる。しかし、これまでV2受容体遺伝子解析がなされ報告されているほとんどの症例は完全型NDIであり、V2受容体の変異と尿崩症発症メカニズムについて詳しく解析された報告は極めて少ない。

私どもは、心因性多飲・多尿と診断されていた患児2名にV2受容体の変異を同定するとともに、機能解析により部分型

NDIがV2受容体変異で発症することを国内で初めてみいだした。

先天性NDIの臨床像は多彩であり、新生児期に高張性脱水を契機に診断される症例が多い一方、成人になり初めて診断される症例や、成長に伴って軽症化する例もある。また、同一の遺伝子異常を持つ症例においても臨床像は必ずしも類似しないとの意見もある。これは特に、ヘテロ接合V2型受容体遺伝子変異のある女性保因者では臨床的表現型がX染色体の不活化に影響をうける可能性を示唆している。

症例1の発症は新生児期で、高張性脱水による発熱で発見された重症と考えられる症例である。しかし、成長に伴って尿濃縮能は徐々に改善して検査データのみでは心因性多飲の範疇に属するようになった。しかし、異常飲水行動は検査データの改善がみられても軽快せず、臨床症状と検査データとの解離がみられた。また、遺伝子診断では先天性NDIであったが、DDAVPへの反応がみられるなど、NDIと確定診断された症例においても成長に伴い尿濃縮能およびピトレスシンへの反応性は変化するため再評価を行うことの重要性が示唆された。

症例2の発症は乳児期であり、発症時には症例1のような高張性脱水もなく、症状はより軽症であり、心因性多尿との区別が困難な症例であった。しかし、水制限試験では尿の著明な濃縮が見られる一方で、試験中には7.9%の体重減少と経口水分摂取によりすみやかに改善した38.2℃台の発熱をきたすなど、この症例も臨床症状と検査データとの解離がみられた。

これまでV2受容体分子の異常については完全型NDIで多くの症例解析がなされ、多様な変異が報告されている。しかし、AVP投与あるいは水制限試験により部分的に尿浸透圧が上がる「部分NDI」でV2遺伝子を解析したものは国内外を通じてほとんど報告がなく、部分尿崩症は心因性多飲・多尿、あるいは、他の要因によ

る多尿と考えられてきた。

NDI の診断では水分制限試験と AVP 負荷試験がゴールドスタンダードである。しかし今回の結果は、これらの試験による診断は不完全であり、最終的には遺伝子解析が必要であることを示す。

部分 NDI の患者の多くは水分制限試験と AVP 負荷試験により心因性多飲・多尿と診断されており、「多尿であるのは本人が多飲をするため」と説明されてきた。今回の結果から、心因性多飲と診断されている患者の中には、遺伝子異常に伴う NDI の患者が隠れている可能性を示している。こうした患者では心因性多尿と診断されていることは患者に大きな心理的な負荷であり、治療の目的で飲水制限をされていれば、極端な場合は高度の脱水に陥る可能性がある。

患者の年齢が低ければ低いほど、水制限試験は脱水の可能性のために、施行しにくい。また、今回の経験から水分制限試験と AVP 負荷試験よりも、遺伝子解析と異常受容体の機能解析の方が、感受性・特異性が高く、安全であると考えられる。

その一方で症例 1 のように、新生児期で発症後尿濃縮能は興味ある経時的経過をとった。遺伝子診断は V2 受容体の異常に伴う腎性尿崩症であったものの、その後の DDAVP 治療が患者の QOL の改善に非常に有効だった。乳児期に NDI と診断された症例や、遺伝子検査で腎性尿崩症と診断された症例においても成長に伴い尿濃縮能およびピトレスシンへの反応性が変化する可能性があると思われ、腎集合管機能の再評価も必要と考えられた。

これまで報告された完全型 NDI における V2 受容体変異では、その機能喪失メカニズムとして表のような 5 つの可能性が示唆されている（表 5）。

今回の 2 症例は機能解析から、完全型 NDI とは異なり AVP は変異 V2 受容体の partial agonist であることが示されており、部分 NDI の原因は V2 受容体の膜移行や AVP との親和性の低下ではなく、V2 受容体と G 蛋白との共役異常である可能性を示唆していると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saito T, Fukumoto S, Ito N, Suzuki H, Igarashi T, Fujita T: A novel mutation in the GAT3 gene of a Japanese patient with PTH-deficient hypoparathyroidism. J Bone Miner Metab 27: 386-389, 2009
- 2) Harita Y, Kurihara H, Kosako H, Tezuka T, Sekine T, Igarashi T, Hattori S: Phosphorylation of nephrin triggers Ca^{2+} signaling by recruitment and activation of phospholipase C- γ 1. J Biol Chem 284: 8951-8962, 2009
- 3) Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Tkeuchi K, Miwa A, Cehn Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagawa H, Nakahra T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S: Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphoma. Nature 459: 712-716, 2009

2. 学会発表

- 1) 五十嵐隆：生命を守る医と食の安心、安全を構築するために：小児科医の立場から、日本学術会議第二部 冬の公開シンポジウム「生命を守る医と食の安心、安全のために」、平成 21 年 2 月 5 日、東京
- 2) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの検討、日本薬学会、平成 21 年 3 月 27 日、東京
- 3) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの検討、平成 21 年度香川県小児科医会春期学術集会・総会、平成 21 年 4 月 11 日、東京
- 4) 五十嵐隆：子どもの尿からわかること日本小児科医会セミナー、平成 21 年 6 月 13 日、東京
- 5) 五十嵐隆：わが国の社会と小児医療・小児医学の課題、第 19 回日本外来小児科学会年次集会、平成 21 年 8 月 29 日、埼玉
- 6) Takashi Igarashi : Molecular pathogenesis of primary renal tubular acidosis、The 44th European Society of Pediatric Nephrology、平成 21 年 9 月 5 日、バーミンガム（連合王国）
- 7) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの見直し、調布市小児科医会講演会、平成 21 年 9 月 16 日、東京
- 8) Takashi Igarashi : Molecular pathogenesis of

primary renal tubular acidosis、Korean Society of Pediatric Nephrology, 平成21年9月19日、ソウル（大韓民国）

9) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの見直し、広島成長・発育研究会、平成21年10月9日、広島

10) 五十嵐隆：小児の輸液療法：新たな視点からの見直し、つくば小児救急医療研究会、平成21年10月14日、茨城県