

チャンネル活性を抑制する新規なポリペプチドに関する)

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morita T, Ashida A, Fujieda A, Hayashi A, Meda A, Ohta K, Shimizu M, Sekine T, Igarashi T, Tamai H, Wakiguchi H: Four cases of postrenal renal failure induced by renal stone associated with rotavirus infection. Clin Nephrol 73: 398-402, 2010
- 2) Mizuno Y, Tsuchida S, Kakiuchi S, Ishiguro A, Goishi K, Kamei Y, Kanamori Y, Yamazaki Y, Sekine T, Igarashi T: Case report: Prenatal intervention for severe anterior urethral valve. Pediatr Inter 52: e92-e95, 2010
- 3) Sekine T, Konno M, Sasaki S, Moritani S, Miura T, Wong WS, Nishio H, Nishiguchi T, Ohuchi MY, Tsuchiya S, Matsuyama T, Kanegane H, Ida K, Miura K, Harita Y, Hattori M, Horita S, Igarashi T, Saito H, Kunishima S: Patients with Epstein-Fechtner syndrome owing to MYH9 R702 mutations develop progressive proteinuric renal disease. Kidney Int 78: 207-214, 2010
- 4) Igarashi T: Fanconi syndrome, pp1039-1068, Pediatric Nephrology six edition, vol 1, Edited by Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yoshikawa N, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2009
- 5) 五十嵐隆: ACEI/ARB fetopathy、腎と透析 68: 1043-1045, 2010
- 6) 五十嵐隆: Hospital acquired hyponatremia、腎と透析 69:11-12, 2010
- 7) 五十嵐隆: 腎疾患と電解質異常をきたす疾患の遺伝子学、最新医学 65:2069-2080,

2010

- 8) 五十嵐隆: 尿細管機能評価法、腎臓 33:91-97, 2010
 - 9) 五十嵐隆: 小児腎疾患の臨床、診断と治療社、改訂第4版、東京、2010
 - 10) 五十嵐隆: Dent 病患者の初めての記載者、pp46-47、第53回日本腎臓病学会学術総会記念誌「腎臓学の歴史を気づいた人々」、榎野博史編著、日本腎臓学会、東京、2010
- ### 2. 学会発表
- 1) 五十嵐隆: 小児の輸液療法: 新たな視点からの見直し、第10回和歌山小児腎臓病研究会、2010年2月4日、和歌山県
 - 2) 五十嵐隆: 小児の輸液療法: 新たな視点からの見直し、神戸小児腎臓病研究会、2010年2月20日、兵庫県
 - 3) 五十嵐隆: 小児の輸液療法: 新たな視点からの見直し、台東小児科医会、2010年2月23日、東京都
 - 4) 五十嵐隆: 検尿のすすめ: 子どもの尿からわかること、岡山小児科医会、2010年9月26日、岡山県
 - 5) 五十嵐隆: 小児の輸液療法: 新たな視点からの見直し、札幌市小児科医会、2010年11月20日、北海道
 - 6) Yutaka Harita, Shoichiro Kanda, Takashi Sekine, Takafumi Inoue, Seisuke Hattori, Takashi Igarashi: Phosphorylation-mediated signaling in glomerular podocyte and its implication in the pathogenesis of proteinuria. Pediatric Academic Societies Annual Meeting, 2010年5月2日、バンクーバー(カナダ)
 - 7) 張田豊、松長敦子、神田祥一朗、鶴見晴子、関根孝司、五十嵐隆、服部成介、栗原秀剛: 新規スリット膜構成分子SIRP-alphaは

Nephrin と結合し、そのリン酸化を負に制御する、日本腎臓学会、2010年6月17日、兵庫県

8) Yutaka Harita, Matsunaga Atsuko, Haruko Tsurumi, Shoichiro Kanda, Takashi Sekine, Takashi Igarashi, Hidetake Kurihara: Role of a novel slit diaphragm component, SIRPa, as a Nephrin-interacting protein. International Pediatric Nephrology Association, 2010年9月1日、ニューヨーク(米国)

9) Shoichiro Kanda, Yutaka Harita, Takashi Sekine, Yoshio Shibagaki, Takashi Igarashi, Takafumi Inoue, Seisuke Hattori: Phosphorylation-dependent membrane insertion and activation of TRPC6 is regulated by a balance between Nephrin and PLC-g1.、6th Asian Society for Pediatric Research, 2010年4月17日、台北(台湾)

10) Shoichiro Kanda, Yutaka Harita, Takashi Sekine, Yoshio Shibagaki, Takashi Igarashi, Takafumi Inoue, Seisuke Hattori: The regulatory mechanism of TRPC6 activation by FSGS-causing mutations, Korea-Japan The 8th Pediatric Nephrology Seminar 2010, 2010年5月28日、慶州(中国)

11) Shoichiro Kanda, Yutaka Harita, Takashi Sekine, Yoshio Shibagaki, Takashi Igarashi, Takafumi Inoue, Seisuke Hattori: The role of the tyrosine phosphorylation of TRPC6 in proteinuric kidney diseases, The 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, 2010年9月1日、ニューヨーク(米国)

12) 神田祥一郎、張田豊、関根孝司、柴垣芳夫、五十嵐隆、服部成介: ネフローゼ症候群発症における TRPC6 活性化メカニズムの解析、第53回日本腎臓学会学術総会、2010年6

月16日、兵庫県

13) 神田祥一郎、張田豊、関根孝司、柴垣芳夫、五十嵐隆、服部成介: ネフローゼ症候群発症における TRPC6 活性化メカニズム、第45回日本小児腎臓病学会学術集会、2010年7月2日、大阪府

14) 神田祥一郎、張田豊、関根孝司、柴垣芳夫、五十嵐隆、服部成介: ネフローゼ発症における TRPC6 活性化メカニズムの解析、第1回分子腎臓フォーラム、2010年9月4日 2010年、東京都

15) 三浦健一郎、高橋和浩、関根孝司、柳澤敦広、生井良幸、橋村裕也、岡政史、野津寛大、飯島一誠、内藤一郎、五十嵐隆: 常染色体劣性 Alport 症候群女児例における IV 型コラーゲン $\alpha 1 \sim \alpha 6$ 鎖染色の検討、第113回日本小児科学会、2010年4月25日、岩手県

16) Miura K, Sekine T, Ida K, Terashima H, Takamizawa M, Furuya A, Takita J, Koh K, Igarashi T: Early onset of nephrotic syndrome after cord blood stem cell transplantation. 8th Korea-Japan Pediatric Nephrology Seminar, May 29, 2010, Gyeongju, Korea.

17) 三浦健一郎、関根孝司、堀田茂、近本裕子、服部元史、國島伸治、栗原秀剛、佐々木聡、五十嵐隆: 免疫組織染色による MYH9 と蛋白尿発症との関連性についての検討、第53回日本腎臓学会、2010年6月16日、兵庫県

18) 三浦健一郎、高橋和浩、滝田順子、五十嵐隆: 常染色体劣性遠位尿管性アシドーシス患者における ATP6V1B1 および ATP6V0A4 の新規遺伝子変異、第45回日本小児腎臓病学会、2010年7月2日、大阪府

19) 三浦健一郎、関根孝司、堀田茂、近本

裕子、服部元史、國島伸治、栗原秀剛、佐々木聡、五十嵐隆：特発性 FSGS におけるポドサイト NMMHC-IIA (MYH9)発現の解析、第 45 回日本小児腎臓病学会、2010 年 7 月 3 日、大阪府

20) Miura K, Sekine T, Nishimura R, Kanamori Y, Yanagisawa A, Sakai K, Nagata M, Igarashi T. Morphologic and functional analyses of two infants with obstructive renal dysplasia. 15th Congress of International Pediatric Nephrology Association, September 1, 2010, New York, USA.

21) 三浦健一郎、藤乗嗣泰、小川智也、本島みずき、御手洗哲也、橋村裕也、岡政史、飯島一誠、五十嵐隆：COL4A3 および COL4A4 に変異を認めた常染色体優性 Alport 症候群の 1 家系、第 40 回日本腎臓学会東部学術大会、2010 年 9 月 24 日、栃木県

22) Miura K, Kurihara H, Horita S, Chikamoto H, Hattori M, Sasaki S, Igarashi T, Kunishima S, Sekine T. Nonmuscle myosin heavy chain IIA encoded by MYH9 is localized in the primary process of podocytes and its expression significantly decreases in idiopathic FSGS. 43rd American Society of Nephrology Renal Week, November 19, 2010, Denver, USA.

学会発表

1. Kanda S, Harita Y, Sekine T, Igarashi T, Hattori S: Phosphorylation-dependent surface expression of TRPC6 by PLC γ is negatively regulated by Nephtrin. ASN(American Society of Nephrology)Renal Week 2009, 2009 年 9 月、サンディエゴ(米国)

2. Harita Y, Matsunaga A, Tsurumi H, Kanda S, Sekine T, Igarashi T, Hattori S, Kurihara H: SIRP α Co-Localizes with Nephtrin at Podocyte Slit Diaphragm, and Modulates Nephtrin Tyrosine Phosphorylation. ASN(American Society of Nephrology)Renal Week 2009, 2009 年 9 月、サンディエゴ(米国)

3. Igarashi T: Molecular pathogenesis of primary renal tubular acidosis, The 44th European Society of Pediatric Nephrology, 2009 年 9 月、パーミンガム (連合王国)

4. Igarashi T: Molecular pathogenesis of primary renal tubular acidosis, Korean Society of Pediatric Nephrology, 2009 年 9 月、ソウル (大韓民国)

Figure 1

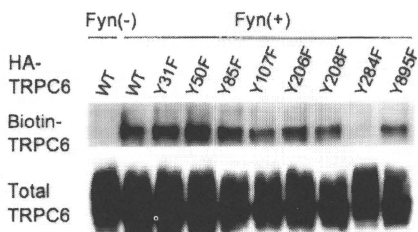


Figure 2

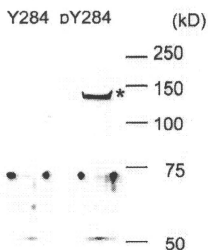


Figure 3

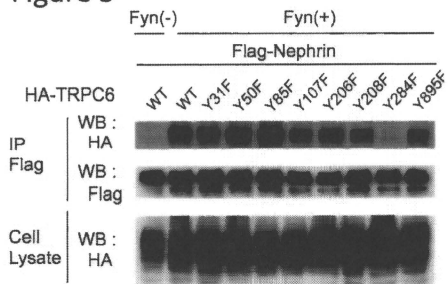


Figure 4

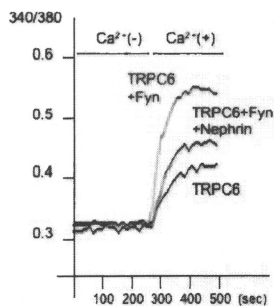


Figure 5

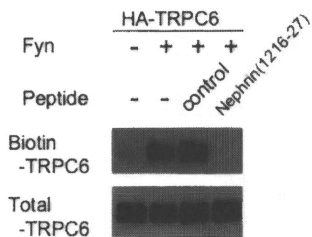


Figure 6

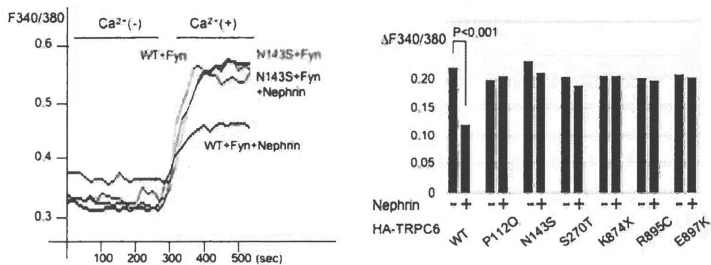
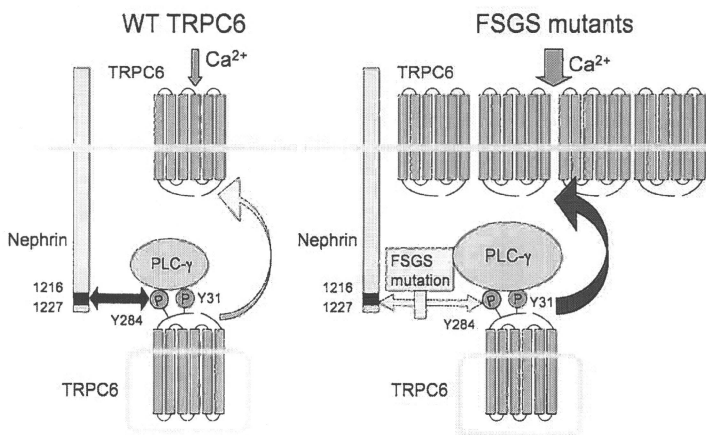


Figure 7



小児全身性エリテマトーデスにおけるステロイドとミゾリビンの併用療法の有効性と安全性の検討：多施設共同ランダム化比較試験

研究分担者 本田雅敬 東京都立小児総合医療センター

研究要旨

小児全身性エリテマトーデス(SLE)の初期治療におけるミゾリビン(MZB)とステロイドの併用効果と安全性について、多施設共同ランダム化比較試験を行った。ステロイド単独群(S群)とMZB併用群(S+M群)に群別し、初回再燃までの期間を検討した。ステロイドの使用方法は統一し、寛解導入にはメチルプレドニン大量療法(MPT)を2クール行い、40mg/dayのプレドニゾン連日投与後漸減した。S+M群には、4-5mg/kg 分2で投与した。MZBとステロイドの併用療法は、初回再燃までの期間において、ステロイド単独治療に比べ再燃を抑えている可能性があったが統計的有意差はなかった($p=0.09$)。両群で安全性には問題がなかった。

共同研究者

田中百合子（獨協大学越谷病院小児科）

A. 研究目的

小児全身性エリテマトーデス(SLE)の初期治療において標準化されたものはないが、ステロイド治療が第一選択薬となっているのが現状である。小児期発症のSLEは、成人発症に比べ、罹病期間も長く活動性も高いため、ステロイドの副作用もより深刻である。活動性を抑え、且つステロイドの副作用を極力避けるため、免疫抑制剤が併用される。近年小児に対してもcyclophosphamide、rituximab、mycophenolate mofetil等の免疫抑制剤が、SLE難治例やループス腎症に対し使われているが、副作用などの点から初期治療から全例に併用する薬剤とは言い難い。Mizoribine (MZB)はinosine monophosphate dehydrogenaseとguanosine monophosphate synthetaseを選択的に不活化し、他の免疫抑制剤と比し副作用が少ない。小児SLE初期治療におけるMZBとステロイドとの併用効果と安全性について多施設共同研究で検討した。

B. 研究方法

1995-2004年の検討期間内に以下の基準を満たす初発の小児SLE患者58症例が登録され、57例で評価

した。選択基準は1)旧厚生省の小児SLE診断基準を満たす者、2)2から18歳、3)インフォームドコンセントが本人あるいはその法的保護者からとれた者とし、除外基準は1)関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎、皮膚筋炎と診断された者、2)免疫抑制剤が使用された既往がある者、3)ステロイドが登録前に4週間以上使用された者、4)医師により適切でないと判断された者とした。

登録後、無作為にステロイド単独治療群(S群)とステロイドとMZBの併用療法群(S+M群)に振り分け、一年間、経過観察した。

ステロイドの使用方法は統一した。初回導入にはメチルプレドニン大量療法(MPT)を2クール行い、40mg/dayのプレドニゾン連日投与4週後、20mg/dayまでは2週間に10mgずつ減量した。さらに10mg/day連日までは4週間に5mgずつ減量したのち、20mg/回で隔日投与とし、以後隔日投与で減量、維持とした。S+M群にはMZBを4-5mg/kg 分2で投与した。再燃は、1)臨床症状の再燃、2)C3が50mg/dl以下、3)抗DNA抗体が50mg/dl以上のいずれかが見られた時と定義し、再燃時のステロイドの使用方法はMPT1クールとし、プレドニゾンの減量方法は両群で統一した。寛解の定義は、1)臨床症状の改善、2)C3が50mg/dl以上、且つ、抗DNA抗体が50mg/dl以下に

なった時と定義した。主要評価項目は初回再燃までの無再燃期間とした。副次評価項目は、寛解から初回再燃までの期間、再燃率、蛋白尿、腎機能、ステロイド使用量について検討した。

統計的検討は intention-to-treat (ITT) の原則に基づき行われた。再燃までの期間は Kaplan-Meier 法で生存曲線を描出し、log-rank 法で両群の比較をした。再燃率はポアソン回帰分析で hazard ratio を検討した。腎機能、蛋白尿、ステロイド使用量は、治療開始時と最終経過観察時で、Student-t 検定で比較した。統計処理は、SAS (Windows 版 SAS, 8.2 以上、SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を使用した。

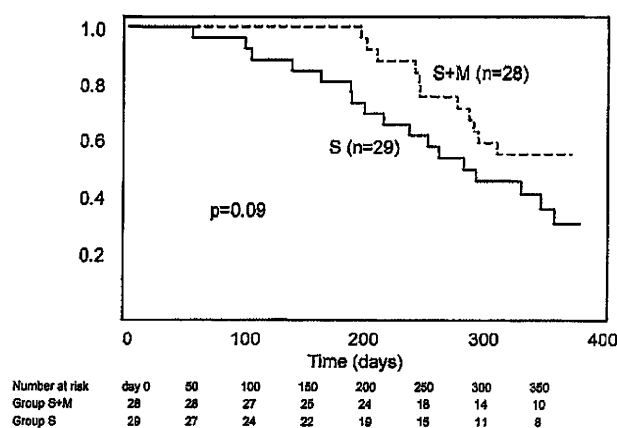
(倫理面への配慮)

この臨床試験はヘルシンキ宣言に基づき行われた。インフォームドコンセントを行い、本人あるいはその法的保護者から承諾を得られた症例に限り登録した。

C. 研究結果

S+M 群 28 例、S 群 27 例で解析した。経過観察期間は S+M 群で 323.4 日、S 群で 300.2 日であった。1 年の試験治療を全うできなかったのは、S+M 群では 5 人で、プロトコル違反で脱落した。S 群では 9 人が転院やプロトコル違反で脱落したが、再燃のため、あるいは治療抵抗性のために脱落したのが 4 例であった。腎生検は 50 例に行われた。登録時の年齢、性別、尿蛋白、腎機能、腎生検所見に両群で差はなかった。主要評価項目である初回再燃までの期間は有意差が出なかった ($p=0.09$)。しかし、ステロイド連日投与中である第 24 週の時点で検討すると有意差をもって S 群の方が再燃が早かった ($p=0.02$)。

初回再燃までの生存曲線



副次評価項目である寛解から再燃の期間にも両群で差がなく ($p=0.10$)、治療開始から寛解の期間にも差がなかった (S+M 群 49.3 日, v.s. S 群 46.6 日; $p=0.62$)。初回再燃までの期間を用いた再燃の危険率は S+M 群で 0.507/年、S 群で 0.893/年であった (95% CI 0.30-1.07, $p=0.08$)。

ステロイド使用量は 6 ヶ月以上経過が追えた 49 例で検討したが、両群に有意差はなかった ($p=0.65$)。S+M 群において、ステロイド連日投与中では 3 例のみが再燃したのに対し (再燃時ステロイド内服量中央値: 10.8 mg/day)、S 群での連日投与中の再燃は 10 例であった (再燃時ステロイド内服量中央値: 17.0 mg/day)。

蛋白尿、腎機能は両群で改善がみられ、有意差はなかった。有害事象は、痙攣、高血圧、徐脈、頭痛、肥満、眼圧上昇、白内障、消化性潰瘍、低カリウム血症、高尿酸血症、脂肪肝、脱毛、皮膚線状、顔面紅潮等がみられたが、有害事象による治療の中断は両群でなかった。

D. 考察

試験治療を脱落した症例は S 群で多く、再燃や治療抵抗性のため等、疾患のコントロールに関する脱落例は S 群にしかいなかった。MZB を併用していない事が脱落要因となっている可能性があった。初回再燃までの期間については両群で差がなかった。しかしステロイド連日投与中である 24 週の時点では、有意差をもって S 群の方が治療開始から初回再燃までの期間が短かった。ステロイド連日中の再燃は MZB 併用群より単独群で多く、再燃時のステロイド量も単独群で多かつ

た。以上のことより、MZB (4-5 mg/kg) はステロイドの連日投与中の併用には再燃抑制効果があるが、隔日投与に減量している時期の併用効果については薄いと思われた。ステロイド量で有意差が出なかった背景には、再燃が多い傾向のある S 群での脱落例が多かったことが影響している可能性があった。蛋白尿や腎機能障害は両群で軽快していた。有害事象については S 群で高血圧性の痙攣が、治療開始間もなくにみられたが、降圧剤投与などで試験治療継続可能であった。その他両群で重篤な有害事象はなく、安全な初期治療方法といえた。MZB の副作用と思われるものは、1 例に軽度高尿酸血症がみられるのみであった。

E. 結論

小児全身性エリテマトーデスの初期治療における MZB とステロイドの併用療法は、ステロイド単独群と比べ、初回再燃までの期間において統計的有意差はなかった。安全性は両群で問題がなかった。MZB は要量依存性で効果を示すため、今後投与方法、投与量を再考した検討が必要である。

F. 健康危険情報

本文中に有害事象の記述あり

G. 研究発表

1. 論文発表

Tanaka Y, Yoshikawa N, Hattori S, Sasaki S, Ando T, Ikeda M, Honda M; for Japanese Study Group for Renal Disease in Children: Combination therapy with steroids and mizoribine in juvenile SLE: a randomized controlled trial. *Pediatric nephrology* 25:877-882, 2010

2. 学会発表

田中百合子、吉川茂徳、佐々木聡、服部新三郎、石倉健司、本田雅敬:小児 SLE に対するステロイドとミゾリビンの併用療法の有効性と安全性に対する他施設共同ランダム化比較試験 小児難治性腎疾患治療研究会

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

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おける適応外使用免疫抑制薬の有効性・安全性の検証
と治療法の確立を目指した多施設共同臨床研究
分担研究報告書
（研究代表者 吉川徳茂 和歌山県立医科大学小児科教授）

「ネフローゼ症候群の発症と T 細胞機能異常」

分担研究者 飯島一誠
神戸大学大学院医学研究科小児科学分野こども発育学部門特命教授
研究協力者 貝藤裕史
神戸大学大学院医学研究科小児科学分野こども発育学部門特命助教
研究協力者 橋村裕也
神戸大学大学院医学研究科小児科学分野こども急性疾患学部門特命助教

研究要旨

微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) は T 細胞によって産生された糸球体毛細血管透過性亢進作用を持つ液性因子が原因と考えられている。しかし MCNS の発症と T 細胞の関連を直接証明し得た報告は現在のところ認められず、液性因子の存在も何ら明らかではない。我々は、MCNS の加療中に難治性腸炎、敗血症、溶血性貧血を合併した 5 歳男児を経験した。患児にはこれらの他にも I 型糖尿病とアトピー性皮膚炎の既往があった。そのため制御性 T 細胞機能異常を疑い精査したところ、FOXP3 遺伝子変異と CD4+CD25+FOXP3+制御性 T 細胞の減少を認め、IPEX 症候群と確定診断した。本症例は、制御性 T 細胞異常を証明し得た病態に MCNS を合併したはじめての報告であり、MCNS の発症に T 細胞機能異常が関与することを強く示唆するものである。

A. 研究目的

微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) は T 細胞によって産生された糸球体毛細血管透過性亢進作用を持つ液性因子が原因と考えられている。これは、MCNS が細胞性免疫に影響を与える麻疹の罹患によって寛解すること、副腎皮質ホルモンやサイクロフォス

ファミド治療に反応すること、T 細胞の活性化を選択的に抑制する薬剤であるシクロスポリンが MCNS の治療に有効であること、またホジキン病の治療に伴いネフローゼ症候群が寛解し、その再発とともにネフローゼ症候群も再発することなど、すべて実地臨床から得られた知見に基づいている。

しかし MCNS の発症と T 細胞の関連を直接証明し得た報告は現在のところ認められず、液性因子の存在も何ら明らかではない。

IPEX 症候群は臨床症状として免疫調節障害、多発内分泌障害、腸炎を呈する伴性劣性遺伝形式の症候群であり、FOXP3 (Forkhead Box P3) 遺伝子変異に起因する。FOXP3 遺伝子は X 染色体上にある制御性 T 細胞の発生や分化を司る遺伝子であり、自己反応性 T 細胞を制御して自己免疫寛容を正常に保つ役割を果たす。さらに、FOXP3 遺伝子は他の T 細胞のサイトカイン産生と増殖を抑制して自己免疫疾患や炎症性疾患の発症を抑制する。そのため、IPEX 症候群では様々な自己免疫疾患が発症するとされる。

我々は、MCNS の加療中に難治性腸炎、敗血症、溶血性貧血を合併した 5 歳男児を経験した。患児にはこれらの他にも I 型糖尿病とアトピー性皮膚炎の既往があった。そのため制御性 T 細胞機能異常を疑い精査したところ、FOXP3 遺伝子変異と CD4+CD25+FOXP3+ 制御性 T 細胞の減少を認め、IPEX 症候群と確定診断した。

本稿では、本症例の解析から得られた知見をもとに、MCNS の発症と T 細胞機能異常に関して考察する。

B. 研究方法

症例

症例は 5 歳男児である。家族歴として、2 人の母方叔父がともに幼少時に感染症で死亡しているが、詳細は不明

であった。出生後より高 IgE 血症を伴ったアトピー性皮膚炎を発症し、生後 4 か月時に I 型糖尿病を発症した。1 歳時にネフローゼ症候群を発症し、その後頻回に再発したためシクロスポリンによる加療が行われた。腎臓の組織型は MCNS であった。5 歳時、水痘に罹患し、その際に難治性の嘔吐が出現したために、抗ウイルス薬の投与とともに、シクロスポリンを中止した。その後、水痘は軽快したが嘔吐は改善せず、同時に敗血症を発症したため、当院に紹介入院となった。当院入院時、body-mass index は 12 とやせを認め、自己免疫性溶血性貧血を呈していた。敗血症は薬物治療により軽快したが嘔吐は改善せず、さらに栄養状態が悪化した。

方法

家族歴とこれまでの病態から、われわれは本児の病態が IPEX 症候群に起因するものではないかと考え、本人および保護者に同意を得て、家系内の FOXP3 遺伝子解析およびフローサイトメトリー解析を行った。

末梢血リンパ球よりゲノム DNA を抽出し、FOXP3 遺伝子を PCR で増幅後、直接シーケンス法により解析を行った。また、末梢血より単核球を分離し、FOXP3 モノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー法で FOXP3 の発現について解析を行った。

C. 結果

FOXP3 遺伝子のエクソン 7 に AAG の 3 塩基の欠失 (c.748-750delAAG,

p.250K.del)を認めた。この変異は IPEX 症候群を発症させる病的遺伝子変異として、過去に報告されているものと一致していた。また、その変異部位は FOXP3 遺伝子のロイシンジッパー領域にあり、FOXP3 蛋白の 2 量体化と DNA 結合に関与するドメインであった。また同時に家系内の検索を行ったところ、患児の祖母、母、姉はともに保因者であることが判明した。

フローサイトメトリー法による解析では、CD4+CD25+FOXP3+の T リンパ球サブセットである制御性 T 細胞が、患児では 0.86%と正常と比べて明らかに減少していた。

これらの検査結果より本児の病態は、FOXP3 遺伝子異常によって制御性 T 細胞機能異常が生じた結果引き起こされる、IPEX 症候群に起因していると確定診断した。

D. 考察

MCNS の発症には T 細胞の機能異常が関与すると考えられているが、直接証明されたものはこれまでない。一方、IPEX 症候群は FOXP3 遺伝子異常に起因する制御性 T 細胞の機能異常症である。われわれは、MCNS を合併した IPEX 症候群の患児における T 細胞の機能異常を、遺伝子レベルと発現レベルの両方から証明することに成功した。IPEX 症候群のような T 細胞の機能異常が直接関与する病態に MCNS が合併した症例は、われわれの報告がはじめてである。

これまでの動物実験から、各種自己

免疫疾患の臨床像や重症度は制御性 T 細胞の機能抑制の程度やその期間と相関することが分かっている。本症例において、IPEX 症候群の主要症状ではない MCNS が合併した原因にも、制御性 T 細胞の機能抑制の程度が関与していた可能性がある。

Rubio-Cabezas らは、FOXP3 遺伝子変異 (V408M) を有した 6 歳の男児がステロイド依存性ネフローゼ症候群を発症したと報告している。この患者には腎生検が行われておらず、組織型は不明である。しかしながら小児期に発症するステロイド依存性ネフローゼ症候群の大半は MCNS を呈することが知られており、この症例における腎組織型も MCNS である可能性が高い。よって、Rubio-Cabezas らの報告は、IPEX 症候群に MCNS が合併するという我々の結論を強く裏付けるものと言える。

IPEX 症候群患児のほとんどは敗血症で 2 年以内に死に至るのに対し、われわれが経験した症例は長期に生存している。これにはネフローゼ症候群の治療のために投与していたステロイドやシクロスポリンが寄与していた可能性が高い。両薬剤はともにサイトカインの産生を阻害し、T 細胞の増殖や機能を抑制する働きをもつ。すなわちステロイドやシクロスポリンの投与そのものが FOXP3 遺伝子異常によって生じる T 細胞機能異常を阻害し、その結果 IPEX 症候群の主症状である免疫調節障害が抑制され、長期生存が可能になったと考えられた。

以上より、本症例が MCNS を合併したのは、IPEX 症候群の病態である制御性 T 細胞異常が原因であると考えられた。われわれの報告は、T 細胞の機能異常が MCNS の発症に関与するというこれまでの説をさらに強く裏付けるものであり、ネフローゼ症候群の病態生理を解明する上で非常に重要な知見である。

E. 結論

本症例は、調節性 T 細胞異常を証明し得た病態に MCNS を合併したはじめての報告であり、MCNS の発症に T 細胞機能異常が関与することを強く示唆するものである。

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. Ninchoji T, Kaito H, Nozu K, Hashimura Y, Kanda K, Kamioka I, Shima Y, Hamahira K, Nakanishi K, Tanaka R, Yoshikawa N, Iijima K, Matsuo M. Treatment Strategies for Henoch-Schönlein Purpura Nephritis by Histological and Clinical Severity. *Pediatr. Nephrol.* in press.
2. Togawa H, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Shima Y, Sako M, Miyajima M, Nozu K, Nishii K,

Nagao S, Takahashi H, Iijima K, Yoshikawa N. Epithelial-to-mesenchymal transition in cyst-lining epithelial cells in an orthologous PCK rat model of autosomal-recessive polycystic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Nov 17. [Epub ahead of print].

3. Lo YF, Nozu K, Iijima K, Morishita T, Huang CC, Yang SS, Sytwu HK, Fang YW, Tseng MH, Lin SH. Recurrent Deep Intronic Mutations in the SLC12A3 Gene Responsible for Gitelman's Syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Nov 4. [Epub ahead of print].
4. Kanda K, Nozu K, Kaito H, Iijima K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Ninchoji T, Hashimura Y, Matsuo M, Moritz ML. The relationship between arginine vasopressin levels and hyponatremia following a percutaneous renal biopsy in children receiving hypotonic or isotonic intravenous fluids. *Pediatr Nephrol.* 2011;26:99-104.
5. Nozu K, Iijima K, Kanda K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Satomura K, Kaito H, Hashimura Y, Ninchoji T, Komatsu H, Kamei K, Miyashita R, Kugo M, Ohashi H, Yamazaki H, Mabe H, Otsubo A,

- Igarashi T, Matsuo M. The Pharmacological Characteristics of Molecular-Based Inherited Salt-Losing Tubulopathies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Sep 1. [Epub ahead of print]
6. Shima Y, Nakanishi K, Kamei K, Togawa H, Nozu K, Tanaka R, Sasaki S, Iijima K, Yoshikawa N. Disappearance of glomerular IgA deposits in childhood IgA nephropathy showing diffuse mesangial proliferation after 2 years of combination/prednisolone therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 Jul 2. [Epub ahead of print]
 7. Iijima K, Nozu K, Kamei K, Nakayama M, Ito S, Matsuoka K, Ogata T, Kaito H, Nakanishi K, Matsuo M. Severe Alport syndrome in a young woman caused by a t(X;1)(q22.3;p36.32) balanced translocation. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:2165-2170.
 8. Nakayama M, Nozu K, Goto Y, Kamei K, Ito S, Sato H, Emi M, Nakanishi K, Tsuchiya S, Iijima K. HNF1B alterations associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:1073-1079.
 9. Morisada N, Rendtorff ND, Nozu K, Morishita T, Miyakawa T, Matsumoto T, Hisano S, Iijima K, Tranebjaerg L, Shirahata A, Matsuo M, Kusahara K. Branchio-oto-renal syndrome caused by partial EYA1 deletion due to LINE-1 insertion. *Pediatr Nephrol.* 2010 Jul;25(7):1343-1348.
 10. Kaneko K, Tanaka S, Hasui M, Nozu K, Krol RP, Iijima K, Sugimoto K, Takemura T. A family with X-linked benign familial hematuria. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:545-548.
2. 学会発表
 1. 飯島一誠. シンポジウム「ネフローゼ症候群 Up-to-Date」難治性ネフローゼ症候群に対する新規治療法開発の現状. 第113回日本小児科学会学術集会, 2010
 2. 飯島一誠. シンポジウム「腎炎・ネフローゼ症候群の免疫抑制療法 up date 2010」小児難治性ネフローゼ症候群に対するリツキシマブ医師主導治験. 第53回日本腎臓学会学術総会, 2010
 3. 飯島一誠. シンポジウム「小児ネフローゼ症候群治療のセイフティネット」新たな治療への展望-難治例に対するリツキシマブ-. 第45回日本小児腎臓病学会学術集会, 2010
 4. Ninchoji T, Hashimura Y, Kaito H, Nozu K, Kanda K, Kamioka I, Shima

- Y, Hamahira K, Nakanishi K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N, Matsuo M. Treatment strategy and outcome for Henoch-Schonlein purpura nephritis. The 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, 2010
5. Teraoka Y, Shimooka T, Hisamatsu E, Takagi S, Sugita Y, Kamei K, Iijima K, Tanaka R. Encrusted cystitis caused by MRSA in a pediatric renal transplant recipient. The 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, 2010
 6. Ito S, Kamei K, Ogura M, Udagawa T, Fujinaga S, Iijima K. National survey of rituximab treatment for childhood idiopathic nephrotic syndrome. The 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, 2010
 7. Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Natural remission rate and prognostic factors in childhood IgA nephropathy with minor glomerular abnormality or focal mesangial proliferation. The 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association, 2010
 8. Moritz , Nozu , Iijima K. The Relationship between Arginine Vasopressin Levels and Hyponatremia in Children Receiving Hypotonic or Isotonic Intravenous Fluids Following a Percutaneous Renal Biopsy. American Society of Nephrology 2010 Annual Meeting, 2010
 9. Hamasaki Y, Yoshikawa N, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Ito S, Matsuyama T, Ishikura K, Kaneko T, Honda M. Dependency on Immunosuppressants in Children with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome after Cyclosporine and Steroid Therapy. American Society of Nephrology 2010 Annual Meeting, 2010
 10. Ishikura K, Yoshikawa N, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Ito S, Matsuyama T, Yata N, Ando T, Honda M. Long-Term Morbidity in Children with Frequently Relapsing Nephrotic Syndrome after a Randomized Controlled Trial with Cyclosporine. American Society of Nephrology 2010 Annual Meeting, 2010
 11. Togawa H, Nakanishi K, Mukaiyama H, Hama T, Shima Y, Miyajima M, Nozu K, Takahashi H, Nagao S, Iijima K, Yoshikawa N. Epithelial-to-Mesenchymal Transition (EMT) in cpk Mouse, a Model of ARPKD. American Society of Nephrology 2010 Annual

Meeting, 2010

12. Shima Y, Nakanishi K, Togawa H, Mukaiyama H, Hama T, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Prognostic Factors in Childhood IgA Nephropathy with Focal Mesangial Proliferation Treated with Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors. American Society of Nephrology 2010 Annual Meeting, 2010
13. Iijima K, Oka M, Hashimura Y, Ohtsuka Y, Kaito H, Sado Y, Yan K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Nagasako H, Nozu K, Matsuo M. Clinical and Immunohistochemical Analyses of Japanese Families with Genetically-Defined Autosomal-Recessive Alport Syndrome. American Society of Nephrology 2010 Annual Meeting, 2010

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おける適応外使用免疫抑制薬の有効性・安全性の検証と治療法の確立を目指した多施設共同臨床研究（H22-臨研推-一般-005）
分担研究報告書

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

研究分担者 中村 秀文 国立成育医療センター治験管理室長

研究要旨

小児ネフローゼ症候群における適応外使用免疫抑制薬の有効性・安全性の検証と治療法の確立を目指した多施設共同臨床研究において、薬剤の用量と安全性の検討をおこない、臨床試験体制整備に対する各種のアドバイスを行った。ミゾリビンについては、適応外であるうえに、小児の用量が添付文書上に設定されていない。今回は、臨床的な経験からより高用量での試験を立案したが、そのために安全性には十分留意することとし、最大用量は成人の用量を超えないこととした。また、腎排泄される薬であることから、腎機能にも留意した。薬物動態評価にはポピュレーション解析を行うこととした。タクロリムスについては小児ですでに安全性が確立している用量であると判断した。2件の臨床試験共に、これまでの経験を踏まえて、品質管理・品質保証を行い、安全性情報のハンドリングと必要な対応についても十分注意した。今後とも、薬剤の安全性に十分注意し、またモニタリング報告等に基づく進捗管理・安全性情報への対応等についてのアドバイスを行っていく予定である。

A. 研究目的

小児ネフローゼ症候群における適応外使用免疫抑制薬の有効性・安全性の検証と治療法の確立を目指した多施設共同臨床研究において、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を行う。

量の検討については試験薬の用量・薬物動態等に関わる既存データを踏まえて、用量・安全性・さらに薬物動態検討の方法等について検討を行った。さらに、国際的な試験に耐えうるだけの臨床試験体制整備と海外との連携・ノウハウの共有のために海外専門家との情報交換・意見交換を実施した。

（研究の倫理面への配慮）

B. 研究方法

研究分担者の佐古らに協力し、研究デザイン検討とプロトコル作成について、小児薬理学の観点から、また試験実施・支援体制整備の観点からアドバイスを行った。薬用

臨床試験プロトコルの内容の検討に際し、「臨床研究に関する倫理指針」に従った。施設における臨床試験開始に先立って、倫理委員会などによる審査を受け、上記指針

に従って臨床試験を実施している。有害事象報告などにも十分に配慮し、被験者保護に努めた。

C. 結果

＜用量と安全性：初発寛解後早期に再発する小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群患者を対象とした標準治療（再発時プレドニゾロン治療）と標準治療＋高用量ミゾリビン併用治療の多施設共同オープンランダム化比較試験（JSKDC05 試験）＞

ミゾリビンの承認用量（成人）は一日量として1－3 mg/kgであるが、小児の頻回再発型を対象としたプラセボ対照ランダム化比較試験により、4 mg/kg/日で、全年齢層では再発抑制効果が認められなかったものの、10歳以下では再発回数の減少がみられ、また高い安全性が認められた。

小児では成人と比較して、分布容積が大きいこと、ミゾリビンの腸管吸収率が低い可能性があることから、成人と同等の用量では、最高血中濃度が低くなると考えられており、これまでの検討により成人と同等の最高血中濃度を得るには成人の約2倍量を要すると考えられている。近年、高用量ミゾリビン投与が報告され始めているが、その平均投与量は10 mg/kg/日の1日一回投与で、それによるミゾリビンによる重篤な薬物有害反応は報告されていない。このことより、今回のミゾリビンの用量での小児における安全性についてある程度の情報があるものと判断した。しかし、適応外使用かつ承認用量より高用量であることからその安全性には十分に留意し、安全性情報等には迅速に対応する体制を敷いた。また、最大用量は成人の用量を超えないこととし

た。また、腎排泄される薬であることから、腎機能の正常であることを選択基準に入れ、試験中に腎機能が低下した場合の減量規定も設定することとした。

血中濃度測定については、旭化成ファーマ社及び国立成育医療センター内の専門家とも相談し、以下のように行うこととした。高用量ミゾリビン併用治療群では、登録後1カ月の時点で、投与直前及び内服後3時間の採血を、また腎機能障害発生時、重篤な有害事象発生時にはトラフ値の測定を行うこととした。また登録後9カ月の時点では薬物動態検討を行うが、これについては小児における採血量を最小限にするために、ポピュレーション解析を行うこととし、登録時に採血する3時点を4パターン（パターン①：内服後1，3，5時間、パターン②：内服後2，4，6時間、パターン③：内服後1，3，6時間、パターン④：内服後2，4，8時間）の中から指定し、トラフ値と合わせて4点の採血を行うこととした。

＜用量と安全性：頻回再発型小児ネフローゼ症候群を対象としたタクロリムス治療とシクロスポリン治療の多施設共同非盲検ランダム化比較試験（JSKDC06 試験）＞

タクロリムスとシクロスポリンについては小児用製剤もあり、また小児用量が設定されている。シクロスポリンについては、ネフローゼ症候群（頻回再発型あるいはステロイドに抵抗性を示す場合）の適応もある。今回の用量範囲は概ね適応範囲内であり、小児における安全性プロファイルは十分に確立されていることが確認された。一方、タクロリムスについては、ネフローゼ症候群の適応がない。小児に対する用量は

適応によって異なるが、本試験での開始用量 0.10 mg/kg/日はその範囲内であった。血中トラフ濃度に基づいた用量調整が行われるが目標とする血中濃度も、移植と比べて低めに設定されており、十分に小児における使用経験がある範囲内であることを確認した。

＜臨床試験体制整備＞

本研究は、小児腎臓病臨床研究グループ（JSKDC）におけるこれまでの多施設臨床試験体制を活用して行われるものである。すでに実施されている JSKDC04 試験においては、小児腎臓専門医に加えて一般小児科医も参加する拡大臨床試験ネットワークにおいて実施されており、その症例集積のスピードは予定されていた通りであった。

本試験は適応外使用薬を用いる試験であるため、その安全性の確保には十分に留意する必要がある。有害事象発生時の検査・処置・報告等については十分に留意し、迅速に行われるようアドバイスを行い、プロトコルに反映された。また試験の進行を適正に管理し、逸脱等に対する対応を迅速に行うために、セントラルモニタリング及び監査を行うこととした。

研究実施計画書の逸脱に対する対応については、まずデータセンターから研究代表者に報告され、研究代表者及びプロトコル委員会による検討が行われ、遵守の確保のために迅速な対応を行うこととなっている。

＜海外における情報収集・意見交換＞

デンマークにおける国際薬理学会（IUPHAR）学術集会に参加し、小児医薬品開発・臨床試験に関する2日間の会議に参加し、最新情報を収集し、また世界から

集まる専門家と適切な医薬品開発及び臨床試験の在り方について情報交換、意見交換を行った。今回の研究ではまだ行っていないが、Simulation や Modeling を用いた用量設定等の試みも海外では行われていることなど、新しい知見・情報が収集された。また、イタリアにおける Global Research in Paediatrics 会議に参加し、小児医薬品評価法の開発・共有、教育システムの開発、安全性情報のより効率的な収集、剤形の検討等について、今後共同で取り組んでいく枠組みについての話し合いを行った。

D. 考察

＜用量と安全性：初発寛解後早期に再発する小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群患者を対象とした標準治療（再発時プレドニゾロン治療）と標準治療＋高用量ミゾリビン併用治療の多施設共同オープンランダム化比較試験（JSKDC05 試験）＞

ミゾリビンは、「小児等に対する安全性は確立していない（使用経験が少ない）」とされている薬で、今回は小児用量が設定されておらず、かつ承認適応でもない対象疾患に対して臨床試験を行うこととなった。そのため安全性には十分に留意した。

さらに剤形は錠剤しかない点も特に年少小児に対しては問題となり得る。本試験では錠剤が服用できない児に対しては、市販の錠剤粉砕器を用いて粉砕して投与するとされているが、薬剤部での粉砕・分包の可能性、その際の均一性・安定性などについても、今後検討しておく必要がある。

＜用量と安全性：頻回再発型小児ネフローゼ症候群を対象としたタクロリムス治療とシクロスポリン治療の多施設共同非盲検ラ

ンダム化比較試験（JSKDC06試験）＞

本試験では、試験薬の用量については問題もなく、また小児用剤形もすでにある。しかしながら適応外使用であることから、やはり安全性に十分に留意して、試験を進めるよう体制に配慮した。

＜臨床試験体制整備＞

JSKDCのこれまでの経験から、研究代表者、研究分担者も十分に必要な体制については理解されている。今回の体制では、新しく国立成育医療研究センターの佐古医師が研究分担者として参加しており、協力して体制整備を進めていくこととなった。定期的なモニタリング報告の確認等、十分に留意して行っていきたい。

＜海外における情報収集・意見交換＞

我が国における小児科領域では腎臓領域の臨床試験体制整備は進んでいるものと考えられるが、海外には小児リュウマチ、新生児等の領域別ネットワークや、英国の Medicines for Children Research Network 等国レベルのネットワークがある。EUでは臨床試験ネットワークの登録を始めており、これに対する登録等も今後検討していくべきであろう。引き続き情報収集と海外専門家との意見交換を進めていきたい。

E. 結論

小児ネフローゼ症候群における適応外使用免疫抑制薬の有効性・安全性の検証と治療法の確立を目指した多施設共同臨床研究において、薬剤の用量と安全性の検討をおこない、臨床試験体制整備に対する各種のアドバイスをを行った。その結果を踏まえて試験が開始された。今後はモニタリング報告等に留意した進捗管理についてのアドバ

イス等を行っていく予定である。

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. 論文発表等

- ・ H. Nakamura : Current situation and critical points for paediatric research in Japan. Innovative Medicine: The Science and the Regulatory Framework. Pharmaceuticals Policy and Law Volume 12, pp 117-124. 2010
- ・ 米子真記, 栗山猛, 八代智子, 土田尚, 中村秀文, 小嶋純: 小児医療現場で起きている危険 錠剤の粉碎. 薬局 61 巻 7 号 2729-2735 (2010.06)
- ・ 米子真記, 上田明子, 土田尚, 中村秀文, 小嶋純, 宮坂勝之: 小児医療現場で起きている危険 本当は子どもに使用できない薬の話. 薬局 61 巻 8 号 2895-2901 (2010.07)
- ・ 黒川美佐男, 中村和希, 細井一弘, 水間秀行, 上出良一, 小野寺博志, 吉田武美, 下村和裕, 中村秀文, 笛木修, 木村敬, 成松鎮雄, 永山隆, 大野泰雄, 景山明彦, Charles Humfrey, 本間正充, 岸本康弘, 三分一所 厚司, 庄司龍雲, 津田雅之, 原田寧, 前田昭夫, 望月正隆, 西嶋正弘: 第5回医薬品評価フォーラム—国際的に未解決な毒性試験の諸問題—. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス (財団法人 日本公定書協会) Vol.41, No.11

878-890,2010

2. 学会発表等

- ・ H. Nakamura : Ethical and Social Challenges Facing Pharmacogenomic Research and Implementation of Personalized Medicine in Children: A Japanese Perspective. 2010 Pediatric Pharmacogenomics and Personalized Medicine Conference. April 29, 2010. Kansas city
- ・ 中村秀文 : 小児の薬物動態、用量設定とTDM.札幌 TDM 講演 第 27 回 日本 TDM 学会・学術大会.2010 年 6 月 26 日. 札幌
- ・ H. Nakamura : Pediatric TDM and clinical pharmacology in Japan. First IATDMCT Regional Meeting 2010 in China. September 24, 2010. Beijing
- ・ H. Nakamura : Current status of pediatric clinical trials and drug development in Japan: activities of regulatory authorities, academia and industries. KFDC (The Korea Society of Food, Drug and Cosmetics Regulatory Sciences). October 14, 2010. Seoul
- ・ 中村秀文 : 小児・妊婦等における医薬品の適正使用上の課題. 日本製薬団体連合会安全性委員会情報提供検討部会平成 22 年度ネットワーク会議. 2010 年 11 月 19 日. 東京
- ・ 中村秀文 : 国内外の小児科領域の現状と提言. 第 88 回薬事エキスパート研修会ーオーファンドラッグ開発促進に向けた国際的潮流をさぐる-欧米の現状と日本の課題ー. 2010 年 12 月 9 日. 東京
- ・ 中村秀文 : 小児・授乳中・妊娠中の薬物投与と腎. 第 2 回愛媛腎と薬剤研究会. 2010 年 12 月 11 日. 愛媛
- ・ 中村秀文 : 小児薬物治療の基本と医薬品開発. 北里医学会学術講演会. 2011 年 1 月 14 日. 東京