

201024083A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成)

診断基準作成のための実態調査

(H22-難治-一般-027)

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 塚口裕康

平成23(2011)年4月

目次

I. 総括研究報告

Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成) 診断基準作成のための実態調査	1
関西医科大学・医療情報部 塚口 裕康 (資料) アンケートの調査用紙、仮診断基準案、推定診療患者数の算定	

II. 分担研究報告

1 「次世代シーケンサを用いた Galloway-Mowat 症候群 の疾患遺伝子同定の試み」	15
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 飯島一誠 (資料名) 次世代シーケンスのマッピング、エクソンキャプチャー効率	
2 「Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成) の患者由来iPS細胞作成」	23
熊本大学大学院生命科学研究部・小児科学分野 仲里仁史	
3 「末期腎不全を呈し腹膜透析(PD)を施行した Galloway-Mowat 症候群類縁疾患の2例-PD療法の留意点-」	27
東京女子医科大学・腎臓小児科 服部元史	
4 「Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成) の腎生検所見の考察」	32
国立成育医療研究センター 腎臓・リウマチ・膠原病科 伊藤秀一 (資料) Galloway-Mowat 症候群と類縁疾患の腎生検所見	
5 「症候学からみたGalloway-Mowat 症候群 (腎糸球体・脳異形成)- 臨床所見の特徴と鑑別」	37
国立成育医療研究センター 内科系専門診療部・遺伝診療科 小崎里華	

III. 成果に関連する刊行物の一覧	42
--------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	43
-----------------	----

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成)
診断基準作成のための実態調査

平成22年度 総括研究報告書

塚口裕康

関西医科大学医療情報部

平成23(2011)年4月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成)診断基準作成のための実態調査

研究代表者

塚口 裕康 関西医科大学・医療情報部

研究分担者

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

仲里 仁史 熊本大学大学院生命科学研究部・小児科学分野

服部 元史 東京女子医科大学・腎臓小児科

伊藤 秀一 国立成育医療研究センター・腎臓・リウマチ・膠原病科

小崎 里華 国立成育医療研究センター・内科系専門診療部・遺伝診療科

研究協力者

森貞 直哉 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

総括研究報告書

Galloway-Mowat 症候群（腎糸球体・脳異形成）診断基準作成のための実態調査

研究代表者 塚口裕康 関西医科大学・医療情報部

研究要旨 Galloway-Mowat 症候群は、腎糸球体硬化症(ネフローゼ)、小頭症(精神運動発達遅滞、てんかん)を2主徴とし、顔面四肢奇形を合併する原因不明の難治性遺伝疾患である。本症は多彩な臨床像と重症度を示すため診断未確定の例も多く、実態把握が困難で疾患対策が遅れていた。当研究班は本症において本邦初の全国実態アンケート調査(1560施設、回収率7割)を実施し、診断基準作成、治療開発や医療福祉向上に向けた情報、人材、研究資源の基盤整備を行った。実態調査の結果、①5年間の推定診療患者数190人(95%CI, 120-260)、②新たに得られた70名の患者情報から平均年齢は17歳(うち57人が生存)であることがわかった。今後2次調査に基づく新しい診断基準の策定と原因遺伝子の解明を推進し、早期診断と治療による早期発症型の生命予後の改善と、成人に達する軽症型の長期的養育支援の充実化を図ることが大切である。

分担研究者

飯島一誠 神戸大学大学院医学研究科
小児科学こども発育学・特命教授
仲里仁史 熊本大学生命科学研究部・小児科学
准教授
服部元史 東京女子医科大学・腎臓小児科学
教授
伊藤秀一 国立成育医療研究センター
腎臓リウマチ膠原病科・医長
小崎里華 国立成育医療研究センター
遺伝診療科・医長

A. 研究目的

疾患概要

Galloway-Mowat 症候群(以下、GM 症候群と略す、OMIM 251300、腎糸球体・脳異形成)は、腎糸球体硬化症(ネフローゼ)、小頭症(てんかん、精神運動発達遅滞)を2主徴とし、顔面・四肢奇形を合併する症候群である。

先行研究でわかっていること

- 1) **実態**：過去の文献から本邦患者数は10-50例と推定される。臨床所見と重症度が多彩であり、軽症例の見逃しがあると思われる。
- 2) **病態と原因**：家族集積例があり、劣性遺伝が疑われる。中枢神経と腎糸球体に器官形成不全が共存しており、2組織に共通する発達因子の異常が原因と推測される。疾患遺伝子探索は、国際的に活発に進められているが、まだ特定に

至っていない。2008年に欧州のGM症候群コホート(50例)で、疾患遺伝子座位 *GMS-1* が報告された。本研究班も先行研究で、疾患遺伝子座 *GMS-2* を同定している。

3) **疾患支援のニーズ**：患者は難治性てんかん・発達障害に加えて腎不全を合併し、専門医療(腎移植、透析)、療育、福祉の多面的な長期ケアが必要になる。

未解決の問題と研究の必要性

- 1) **実数把握**が遅れている。病早期からの医療・福祉ケアを実現するために、診断指針や施策提案の基礎になる疾患の実態把握が必要。
- 2) 実態に即した**診断基準と疾患情報源**がない。軽症成人例を含めた疾患概念の見直しと、本邦患者特性を反映した診断基準の作成が急務である。
- 3) **治療**は対症療法しかない。てんかんや腎移植に対する長期薬物療法を余儀なくされている。根治的な分子標的治療薬、遺伝子治療、細胞治療の開発が待たれる。
- 4) **社会的支援対策**が遅れがちである。患者・家族と医療・療育・社会支援スタッフが協働する包括的マネジメントの体制づくりと連携強化が必要である。

申請研究の目的

本年は1年間のフィージビリティスタディである。疾患対策の出発点となる診断基準作成のため

の、患者実態把握を主目的とする。並行して次年度以降のさらなる診断・治療法開発に必要な人的、情報、研究資源の基盤整備を推進する。

- 1) 全国専門施設にアンケート調査を行い、有病率の推計を行う。
- 2) 患者の臨床所見(脳 MRI、腎病理、形態特徴、自然歴、予後、遺伝子検査)の統合データベースを作成する。
- 3) 本邦の疾患実態を反映した疾患概念の見直しと診断基準の作成を行う。
- 4) 診断・治療法開発に必要な研究資源の収集とバンク化事業との連携を推進する。
- 5) 班研究の疾患情報を効率よく医療相談・養育指導・福祉支援施策に還元するために、成育医療研究センターを中核として、情報提供と連携を推進するコメディカル育成を行う。

ギャロウェイモワト(Galloway-Mowat、腎系球体脳異形成)症候群

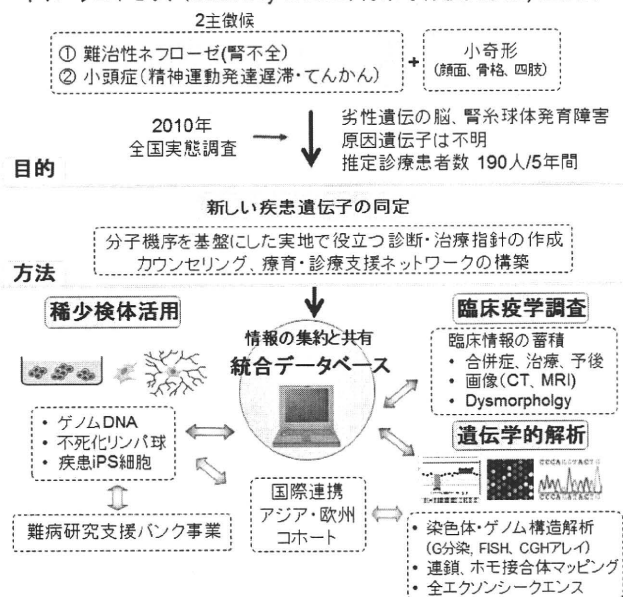


図1 研究計画の概略

B. 研究方法

《役割分担》 塚口と飯島は診断指針作成の総括・広報、国際連携によるサンプル収集とゲノム解析を担当した。服部、仲里は難病資源バンク事業に必要な検体採取と、腎代替療法(移植・血液浄化)に関する相談・支援・施策提言の基礎となる情報の収集を行った。伊藤、小崎は、疾患予後、遺伝診断に関するセカンドオピニオン、社会資源・情報提供の充実化に必要な疾患実態の調査を行った(図1)。

1) アンケート調査 日本臨床研究支援ユニットと連携して、小児腎臓病学会、小児神経学会、

てんかん学会の専門医の在籍する 200 床以上の病院・小児科、重症心身障害児施設から配布先(総計 1945 名)を選定した。調査票では、過去 5 年間に GM 症候群の 2 主徴を有する患者の有無と数を問うと共に、2 次調査を想定して施設名記入を依頼した。回答は Fax 返信で回収した。「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル第 2 版」に基づいて、5 年間の推計診療患者数を算定した。

2) 診断基準策定のための疾患データベース構築 全国アンケートと分担研究者の診療ネットワークから寄せられた患者情報に基づき、臨床所見のデータベースを構築した。新しい診断基準作成のためにこれまで調査不足であった表現型特徴(脳 MRI、腎生検所見、形態異常)の調査に重点をおいた。形態特徴(顔面、四肢)については LDDDB 等のデータベースを用いて、本症に特徴的な所見のリストを作成した(小崎)。

3) 診断、治療法開発に向けた研究資源の整備 患者サンプルは、ゲノム変異の病的意義の判定に必須となる両親と同胞の検体を含めて収集した。稀少疾患の研究資材の確保のため、EB ウイルス用いてリンパ芽球細胞の樹立も行った(伊藤)。検体収集が終了した 8 家系については、マイクロビーズ(Illumina CNV370)あるいはオリゴヌクレオチド(Agilent CNV アレイ, 400K)をプラットフォームとした、全ゲノム SNP 解析を実施した(飯島、Nakayama 2010, DNA チップ研究所との共同研究)。先行研究(政策創薬総合研究、飯島、塚口、仲里)で疾患遺伝子座(*GMS-2*)が判明している家系(Nakazato, 2002)について、次世代シーケンサ HiSeq2000 を用いて患者エクソーム解析を行った(飯島、仲里、理研ジェネシス)。病態モデリング、創薬探査、細胞治療開発の基盤構築を目的とし、熊本大学発生医学研究所・幹細胞誘導分野(江良拓実教授)と共同で、患者 iPS 細胞を作成した(仲里)。

4) 診療福祉支援の体制構築とスタッフの連携強化 成育医療研究センター(伊藤、小崎)が班研究の情報を基に、患者の診療セカンドオピニオンや遺伝相談を提供し、医療、養育、福祉支援施設との連携の強化を行った。心理・療育・福祉支援コメディカルと疾患情報の共有化を図り、利用可能な社会支援制度や施設の情報整理を行った。服部・仲里らは、腎不全に対する包括的ケア(移植、透析)に必要な患者ニーズを調査した。

(倫理面の配慮)

厚労省の倫理指針に準拠した医学研究倫理委員会承認済みのプロトコール(ヒトゲノム遺伝子解析、疫学研究、ヒト幹細胞、遺伝子組換え生物等)を用いて、研究を実施した。

C. 研究結果

1) アンケート調査

一次調査として、①ネフローゼ (or 蛋白尿) 0.5g/日)、② 精神運動発達遅滞、てんかんの2大徴候を有する患者数を問う調査票に、仮診断基準案を添付し、11月末に郵送で配布した。最終集計で999施設(1071名)から調査票返信があり(回収率67%)、47名(4.39%)から「症例あり」の回答を得た。5年間の推計診療患者数は190人(95%CI 120-260)と算定した。男女比は1.2:1.0(男36 女31、未回答3)、家族歴を7例に認めた。

2) 診断基準策定のための疾患データベース構築 腎所見と体表所見(顔面、頭部、四肢の異常)を詳細にレビューし、疾患に特異性の高い特徴を検討した(仲里、服部、伊藤、小崎)(図2)。GM症候群では小頭症を主徴とするが、大脳皮質形成異常の程度や、脳梁や小脳形成異常に関するMRI画像情報が不足していた。今回の調査で脳異形性は最重症型(滑脳症)から軽症型(小頭症が明確でないが皮質髄鞘低形成をしめす)例まで、幅広い変化を示しうることを確認した。また腎病理はこれまでポドサイト傷害に基づく巣状糸球体硬化(FSGS)やびまん性メサンギウム硬化DMSが特徴とされていたが、内皮障害所見も観察されることがわかった(伊藤、2009)。

3) 診断、治療法開発に向けた研究資材の整備 先行研究で疾患遺伝子座(GMS-2)が決定した家系の、候補領域内5-6Mbにあるエクソームについて、次世代シーケンサを用いて変異解析を行った。解析には疾患アレルのホモ接合体の患児1名と、保因者3名(両親、健常同胞)を用いた。全SNP 337,854のうち23%が新規のSNPであった(78,022)。さらに候補領域内にある有意な塩基変異(ミスセンス、スプライス、フレームシフト、ナンセンス、Indel)に限定すると、候補遺伝子は10個以内に絞られた。変異の病的意義を証明するには、複数の家系で疾患遺伝子変異が存在することを確認する必要がある。そこで検体収集が終了した7家系(図

2)についても、SNP およびオリゴヌクレオチドCGHアレイで、ゲノム微細構造異常の検索と連鎖解析による疾患遺伝子マッピングを行っている(DNAチップ研究所との共同研究)。

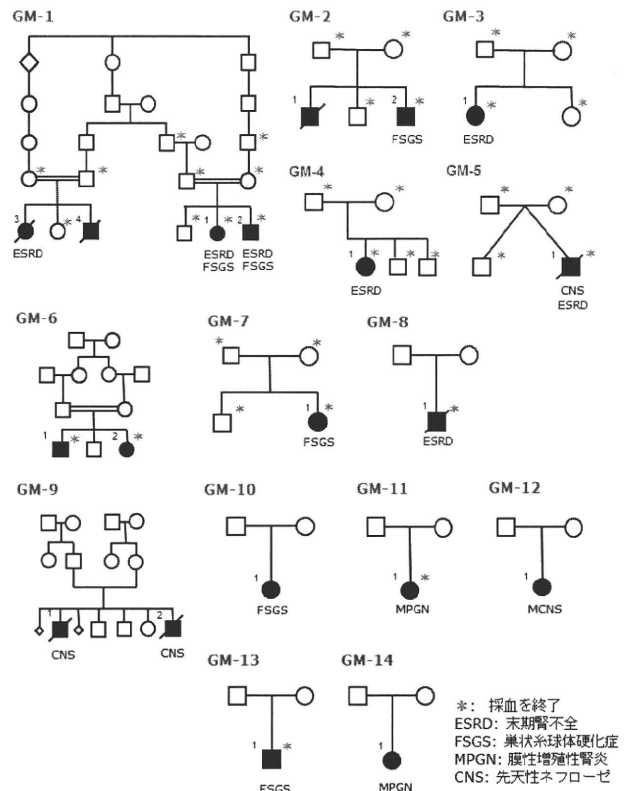


図2 サンプル収集したGM症候群の家系図 患者20名の男女比は1:1、症例の1-2割に家族集積があり劣性遺伝が疑われる。7名の患者は末期腎不全で透析か腎移植を受けている。

難治性稀少疾患の治療開発には、まず患者の検体資源を確保することが重要である。成育医療研究センターに通院中の患者については、リンパ芽球細胞株を樹立した。また熊本大学の1患者皮膚から、線維芽細胞株を作成した。この細胞に山中らの初期化4因子をSendai ウイルスエピゾーマルベクタを用いて導入し、ES様コロニーを選択しているところである(発生医学研究所)。樹立iPS細胞株の多能性を確認後に、難病研究資源バンクに供託する予定である。

4) 社会福祉支援の体制構築とスタッフの連携強化 患者と家族の支援サービス向上には、神経小児(てんかん、精神運動発育遅滞)、小児腎不全(移植、透析)、遺伝・療育相談、福祉支援など、多施設の医療・支援スタッフ間の情報共有が不可欠である。疾患情報(病因、自然歴、予後)に基づいて適切な支援を提供できるように、各種相談窓口、社会福祉制度・資源に関する情報と資料を収集し、スタッフマニュアルの原案を作成した。

D. 考察

1) 実態調査と診断基準の策定について

全国調査で、はじめて本邦の GM 症候群の患者数に関する実態が明らかになった。5年間の診療患者数は190人と推定した。ただし報告された患者が診断基準を満たしているか、2次調査での確認が必要である。また推計に用いた層の設定方法により、若干の誤差を生じる可能性がある。

全国アンケート調査の結果、専門医47名(4.39%)から「症例あり」の回答を得た。1986年英国小児科医 Galloway と Mowat が、初めて報告した原著の症例は、先天的ネフローゼと小頭症を合併し1-2歳までに死亡する重症例であった。今回の調査では、これらの古典的な重症例に比し、成人まで達する軽症例の頻度が高いことがわかった。70名の患者(生存57名、死亡13名)のうち、生存者の年齢は平均 17 ± 9.7 、median 16であった。一方死亡者の寿命は、平均 10 ± 9.5 、median 9であった。この結果から、①重症例は早期に死亡、あるいは重篤な病状ために対症治療が優先され、診断確定に至っていない可能性がある、②約半数の患児は成人期まで達している長期管理を要している、と考えた。今後診断基準を普及し、原因遺伝子を解明することにより、早期診断と治療を実現し早期発症型の生命予後を改善するとともに、成人に達する軽症型の長期的養育支援の充実化が大切である。

本症では疾患特異的な生化学的マーカーがなく、原因遺伝子が確定していないため、診断は臨床所見の総合的判断に依存している。したがって2次調査では臨床所見や自然歴に関する情報を集積し、本症に特異的で診断の決め手になる所見を明確化することが大切である。具体的に2次調査では、中枢神経症状の詳細、例

えば頭囲(出生時、経過)、てんかん(脳波)の種類、発達遅滞の程度(IQ/DQ)について調べる。また一部の患者で見られる四肢(クモ状指)や骨格(低身長、側彎)の頻度を確認する。

すでに診断基準の原案は作成済みである(別添資料)が、今後2次調査で得られる実態に即した情報を反映させ、疾患概念を再考の上、改訂案を提案したい。診断基準の改定のポイントは、①これまで診断未確定に終わっている成人軽症例を包括する、②診断根拠となるMRI画像、腎病理、形態所見(顔面、四肢)の具体的情報を盛り込む、の2点である。さらに同時並行で進めている疾患遺伝子探索で原因分子を同定できれば、分子診断に基づくよりクリアな疾患分類が可能になり、診断と治療は大きく前進するであろう。診断基準は、論文、ホームページ等で公開し、普及を図る予定である。診断基準の普及により、患者、支援スタッフ(診療、療育、福祉)、さらに行政を加えた3者での疾患情報の共有化を進め、疾患克服に向けた施策の具体化と政策提言に結びつけたい。

2) 病態解明と診断・治療開発基盤の整備 本症の病変主座である腎糸球体や脳は、細胞突起の綿密なネットワーク構造を基盤とし器官を構築している。本症はニューロンと糸球体上皮(ポドサイト)の2者に共通する形態・構築制御機構の異常が原因と推測される。しかしGM症候群に特徴的な染色体・ゲノム構造異常や、疾患遺伝子は未だ見つかっていない。家族例は症例の1-2割程度で家系構造も小さく、仲里らの報告した患児4名を有する大きな家系は例外的である。したがって従来連鎖解析法を単独で用いるアプローチでは疾患遺伝子の絞り込みが難しいのが現状である。弧発例の de novo ゲノム変異を検出するマイクロアレイ技術や、高速で塩基配列を決定する次世代シーケンサの役割が重要となる。

近年のゲノム解析技術の進歩により、GM症候群についても疾患遺伝子を探索する国際競争が加速している。とくにCGHマイクロアレイや高速シーケンサ技術の進歩は著しく、わずかな症例の稀少疾患であっても原因遺伝子の同定が可能になってきた。大脳皮質形成異常を来す疾患遺伝子の解明もここ1-2年で急速な進歩を遂げている。すでに本研究班では、GM症候群大家系のゲノムワイド連鎖解析で疾患

遺伝子座 *GMS-2* を同定していた。しかし疾患候補領域 5-6Mb 遺伝子は 30-40 以上存在しており、手作業でのシーケンスでは、膨大な時間・労力を要し壁に突き当たっていた（政策創薬研究 2007-2008）。そこで当研究班でも海外の研究情勢に鑑みて、高速シーケンス解析技術の導入が不可欠と考え、HiSeq2000 を用いた全エクソーム解析を導入した。疾患遺伝子は 10 個以内に絞り込まれた。今回の高速シーケンスのエクソン捕捉の効率は、平均 30-50 x depth かつカバー率 80-90% を確保したが、解析部位によっては、リードが不足し変異の見逃しを生じている可能性がある。そこで疑いのある遺伝子について、Sanger 法を用いて変異の確認作業を行っている。

次世代シーケンサの高速化、低コスト化、精度向上は目覚ましく、疾患遺伝子探索には必須のツールとなっている。そこで次年度以降も次世代シーケンス解析を継続するために、平成 23 年度・文部科学省・革新的細胞解析研究プログラム（セルイノベーション）の協力機関として登録、契約締結を行った。上記の技術革新に加えて遺伝子同定のために不可欠なもう一つの要素は、患者検体数の確保である。GM 症候群の原因遺伝子は複数存在することが予想され、原因を確定するには、できるだけ多くの検体があることが望ましい。したがって本邦に限らず国際協力によって症例数を増やす必要があり、現在アジア諸国と連携して、患者検体の収集を進めている。

患者の多能性幹細胞を用いた細胞治療や創薬スクリーニングも、次世代の新しい治療を開発するツールとして期待されている。今回は、臨床応用の際に問題となる、外来初期化遺伝子のゲノム内挿入に伴う癌化を回避するために、エピゾーマルベクタを使用した。幹細胞からの前駆細胞系譜への分化誘導については、外胚葉系（神経）の方が、中間中胚葉（腎）より研究が進んでいる。そこで、まず患者由来の iPS 細胞の神経系譜への誘導を試み、疾患特異的な細胞機能や生化学マーカーの探索を行う予定である。

3) 社会福祉支援の充実化

本症では、多臓器におよぶ症状（てんかん・発達遅滞、腎不全、四肢奇形）があるため、単一診療科受診では本症候群の診断がつかず、医療や福祉支援の受給が遅れる可能性がある。本研究で策定する診断基準や疾患情報の蓄積を

活用し、今後さらに成育医療研究センターを要とした包括的医療・福祉ケアを提供するチーム体制が充実するよう事業を進める。

患児は成長（療育）や合併症（発達遅滞、透析・腎移植）について、長期的ケアを必要とする。したがって発育段階に応じた養育相談と福祉資源を紹介し、継続的な支援を行うことが QOL 向上に重要である。班研究の疾患情報（自然歴・予後等）を基に、段階的に健康管理の目標を設定し、成長発達を支援できるように、多施設の連携強化が望まれる。そのためには社会適応に必要な支援制度や療育・福祉施設の情報を集約・整理して、各施設間の連携を仲介できるコーディネータを育成することが大切と考える。

E. 結論

研究班により、初めて GM 症候群の組織的実態調査が実現した。これまでの個人研究では困難であった、行政・医療への情報提供、社会的貢献までを包括する疾患克服事業が可能になった。班組織が一体となり検体収集、ゲノム解析、疾患支援までを体系的に実施することにより、研究成果を効果的に社会に還元する体制整備は大きく前進した。

本症患児のてんかんや腎障害は薬剤抵抗性でしばしば治療が難渋し、患者や家族は多大な負担を抱えている。根治的に結びつく治療開発を含めた疾患対策が、切望されている。GM 症候群の診断基準が定まり、疾患原因が解明されれば、長期の疾患管理を要する患者及び家族への診療・社会支援が向上し、大きな福音となる。さらに本研究の成果は、まれな疾患にとどまらず、患者数の多いてんかん（有病率 100 人に 0.5-1.0 人）や末期腎不全（500 人に 1 人）の診断や治療開発にもヒントを与え、広く国民健康に貢献する。

GM 症候群の新しい疾患遺伝子の同定は、ゲノム解析技術の進歩の恩恵を浴し、現実的に可能な段階に来ている。今後、得られた疾患情報や成果を効率良く臨床や行政へと橋渡しし、医療福祉支援の向上に貢献できるよう、事業の推進に努力したい。

付図 疾患スペクトラムを考慮した診断基準改訂のポイント



申請研究では、脳画像診断、腎生検、遺伝子異常等の情報を統合し、分子機序を考慮した新しい疾患概念と亜型分類の提唱を目標とする。

*1 軽症型(成人遅発型):古典的 GM 症候群の概念に合致する重症例(左列)に対し、軽症例(右列)は、単にてんかん・発達遅滞や CKD と診断され、診断確定に至らない例が多い。申請研究ではこのような成人に達する軽症例の実数と、自然歴・予後の実態を明らかにし、新しい診断指針を提案する。

*2 CKD chronic kidney disease (慢性腎臓病): 腎機能障害(eGFR<60ml/分)を呈する疾患群に対する包括的概念。腎不全の予備群として、進展阻止・予防対策が進められている。

*3 大脳皮質形成異常症: 本症では脳発達過程における神経細胞の分裂、遊走異常の程度により、さまざまな皮質形成異常を呈すると考えられる。近年 MRI による大脳皮質形成異常(例:滑脳症 lissencephaly や髄鞘形成遅延等)の診断技術は、目覚ましい進歩を遂げている。しかし患者 MRI 画像情報の蓄積が不足しており、発達障害の病態が正確に把握されていない(患者様ご家族の了承を得て、写真を掲載)。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 塚口 裕康 Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成) 日本臨床 別冊 腎臓症候群(上) 2012年1月 [刊行予定]
- 2) Grünfeld JP, Hwu W, Chien Y, Brown E, Schlöndorff J, Becker Dj, **Tsukaguchi H**, Uschinski A, Higgs H, Henderson J, Pollak M et al More on clinical renal genetics. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5(4): 563-567.
- 3) Zhang Y, Yoshida Y, Nameta M, Xu B, Taguchi I, Ikeda T, Fujinaka H, Mohamed SM, **Tsukaguchi H**, Harita Y, Yaoita E, Yamamoto T. Glomerular proteins related to slit diaphragm and matrix adhesion in the foot processes are highly tyrosine phosphorylated in the normal rat kidney. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25(6):1785-1795.
- 4) Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ, **Tsukaguchi H**, Uscinski AL, Higgs HN, Henderson JM, Pollak MR. Mutations in the formin gene INF2 cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet*. 2009; 42(1): 72-76
- 5) **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(10):2165-2170.
- 6) 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(6):1073-1079.
- 7) Kaito H, Kamei K, Kikuchi E, Ogura M, Matsuoka K, Nagata M, **Iijima K**, **Ito S**. Successful treatment of collagenous focal segmental glomerulosclerosis with a combination of rituximab, steroids and ciclosporin. *Pediatr Nephrol*. 2010; 25(5):957-959.
- 8) 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 syndromes owing to MYH9 R702 mutations develop progressive proteinuric renal disease. *Kidney Int*. 2010; 78(2):207-214.
- 9) Honda K, Horita S, Toki D, Taneda S, Nitta K, **Hattori M**, Tanabe K, Teraoka S, Oda H, Yamaguchi Y. De novo membranous nephropathy and antibody-mediated rejection in transplanted kidney. *Clin Transplant*. 2010 Mar 4. [Epub ahead of print]
- 10) Machida H, **Ito S**, Hirose T, Takeshita F, Oshiro H, Nakamura T, Mori M, Inayama Y, Yan K, Kobayashi N, Yokota S. Expression of Toll-like receptor 9 in renal podocytes in childhood-onset active and inactive lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2010; 25(8):2530-2537
- 11) Ohnuki Y, Torii C, **Kosaki R**, Yagihashi T, Sago H, Hayashi K, Yasukawa K, Takahashi T, Kosaki K. Cri-du-Chat Syndrome Cytogenetically Cryptic Recombination Aneusomy of Chromosome 5: Implications in Recurrence Risk Estimation. *Mol Syndromol*. 2010; 1(2):95-98.
- 12) Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, **Kosaki R**, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet*. 2010 Oct 28. [Epub ahead of print]
- 13) **Kosaki R**, Kikuchi S, Koinuma G, Higuchi M, Torii C, Kawasaki K, Kosaki K. Two patients with Rubinstein-Taybi syndrome and severe pulmonary interstitial involvement. *Am J Med Genet A*. 2010 ; 152A(7):1844-1846
- 14) Takahashi H, Hayashi S, Miura Y, Tsukamoto K, **Kosaki R**, Itoh Y, Sago H. Trisomy 9 mosaicism diagnosed in utero. *Obstet Gynecol Int*. 2010; 2010.
- 15) Fujita H, Yanagi T, **Kosaki R**, Torii C, Bamba M, Takahashi T, Kosaki K. Transverse limb defect in a patient with Jacobsen syndrome: concurrence of malformation and disruption. *Am J Med Genet A*. 2010 ; 152A(4):1033-1035.
- 16) 飯島 一誠、塚口裕康 ネフローゼ症候群と遺伝子異常 日本腎臓学会誌 2010; 52(7):914-923
- 17) 小崎里華【遺伝子診療学(第2版) 遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望】 遺伝子診断(Genetic Diagnosis) 遺伝子診療を理

解するための遺伝医学の基礎 発生遺伝学と先天異常(解説/特集) 日本臨床 2010; 68 巻増刊号 8 遺伝子診療学 Page 33-37.

- 18) 飯島一誠, 亀井宏一, 佐藤秀則, 鳥山紗由美, 塚口裕康, 仲里仁史 政策創薬基盤研究 平成 20 年度成果報告書 2009; KHA1001 p1-9.
- 19) 塚口裕康 【ネフローゼ症候群: 診断と治療の進歩】 ネフローゼ症候群と遺伝子異常 日本内科学会誌 2009; 98:1076-1083.
- 20) 佐々木成, 吉川徳茂, 秋葉隆, 岡田浩一, 木村健二郎, 古家大祐, 椿原美治, 柏原直樹, 守山敏樹, 旭浩一, 池住洋平, 石倉健司, 石川英二, 伊藤孝史, 伊藤秀一 他 エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2009 作成委員会 エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2009(解説) 日本腎臓学会誌 2009; 巻 8 号 Page 905-1066.
- 21) 服部元史, 倉山亮太【先天性腎疾患と腎不全】 小児末期慢性腎不全患者の原因疾患(解説/特集/抄録あり) 臨床透析 2009; 25 巻 4 号 Page 423-432

2. 学会発表

- 1) 後藤眞, 和田真一, 塚口裕康, 福田陽子, 坂爪実辻省次, 成田一衛 家族性 IgA 腎症の遺伝解析 日本腎臓学会誌 2010; 52 巻 3 号 Page338
- 2) 塚口裕康 ネフローゼ症候群研究の新たな展望 ネフローゼ症候群疾患遺伝子研究の最近の知見 ポドサイト遺伝子変異の重要性 日本腎臓学会誌 2009; 51 巻 3 号 Page220
- 3) 飯島一誠 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 日本小児科学会雑誌 2010; 114 巻 2 号 Page163
- 4) 服部元史, 三重野牧子, 相川厚, 大島伸一, 宍戸清一郎, 高橋公太, 長谷川昭, 吉村了勇 本邦における小児二次(多次)腎移植の状況(会議録), 日本小児腎移植臨床統計小委員会 日本小児腎不全学会雑誌 2010; 30 巻 Page54-55.
- 5) 古山政幸, 松永明, 早坂清, 近本裕子, 服部元史, 倉山亮太 父をドナーとする生体腎移植を施行した、重症心身障害の 1 慢性腎不全症例(会議録/症例報告) 日本小児科学会雑誌 2010; 114 巻 8 号 Page1244-1245
- 6) 柳原剛, 多田奈緒, 伊藤雄平, 高橋昌里, 服部元史, 松山健, 大友義之, 土屋正己 3 歳時検尿

アンケート調査 小児腎臓病学会評議員を対象に(会議録) 日本小児腎臓病学会雑誌 2010; 23 巻 1Suppl. Page140.

- 7) 服部元史 腎移植 診察ガイドラインの概説と最新情報 腎移植と小児慢性腎不全診療(会議録) 日本透析医学会雑誌 2010; 43 巻 Suppl.1 Page301.
- 8) 緒方志穂, 林和美, 宮本圭奈美, 村山由里子, 玉城久美子, 西海真理, 伊藤秀一, 伊藤龍子 血液透析を受ける子どもと家族への支援 乳幼児期の成長発達に合わせた環境への配慮(原著論文/抄録あり) 日本小児腎不全学会雑誌 2010; 30 巻 Page 237-238.
- 9) 星野英紀, 久保田雅也, 亀井宏一, 伊藤秀一 【水・電解質異常 最近の話題】バルプロ酸による Fanconi 症候群(解説/特集) 小児科 2009; 50 巻 10 号, 1575-1580.
- 10) 菊池絵梨子, 亀井宏一, 貝藤裕史, 小椋雅夫, 松岡健太郎, 伊藤秀一 精神運動発達遅滞に高度蛋白尿を合併した 5 症例の検討(会議録/症例報告) 日本小児腎臓病学会雑誌 2009; 22 巻 1Suppl. Page 132.
- 11) 宮崎澄夫, 佐々木愛子, 藤田秀樹, 小須賀基通, 小崎里華, 林聡, 左合治彦, 奥山虎之 母親に均衡型染色体構造異常を持つ胎児の出生前診断について(会議録)日本染色体遺伝子検査学会雑誌 2010; 28 巻 2 号 Page33.
- 12) 林深, 岡本伸彦, 水野誠司, 小野正恵, 小崎里華, 奥山虎之, 知念安紹, 蒔田芳男, 羽田明, 井本逸勢, 稲澤讓治 小頭症と小脳脳幹部低形成を伴う発達遅滞の原因遺伝子候補である CASK の解析(会議録) 脳と発達 2009; 41 巻 Suppl. PageS187.
- 13) 蒔田芳男, 齊藤伸治, 羽田明, 吉橋博史, 黒澤健司, 小崎里華, 小野正恵, 沼部博直, 水野誠司, 福嶋義光, 岡本伸彦, 三淵浩, 知念安紹 ゲノムアレイを用いた精神遅滞の診断プラットフォームの開発 日本小児科学会雑誌 2009; 113 巻 2 号 Page245.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他 該当なし

「Galloway-Mowat 症候群(腎系球体・脳異形成)」
の発症頻度調査にご協力をお願い

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業
「Galloway-Mowat 症候群(腎系球体・脳異形成) 診断基準作成のための実態調査研究」

主任研究者 塚口 裕康 (関西医科大学・医療情報部)
分担研究者 飯島 一誠 (神戸大学小児科・こども発育学)
服部 元史 (東京女子医科大学・腎臓小児科)
仲里 仁史 (熊本大学医学薬学研究部・小児科)
伊藤 秀一 (国立成育医療研究センター・腎臓・リウマチ・膠原病科)
小崎 里華 (国立成育医療研究センター・遺伝診療科)

拝啓

時下ますますご清祥の段、お慶び申し上げます。

Galloway-Mowat 症候群(腎系球体・脳異形成)は、小頭症(精神運動発達遅滞、てんかん)、ネフローゼ症候群を主徴とし、顔面・四肢の小奇形を合併する症候群です。本症候群の原因は不明ですが、中枢神経と糸球体の発育に関与する因子の異常が疑われています。

本症の発症頻度の実態把握は、より良い医療福祉施策、てんかんや腎不全の新しい治療開発のために必須ですが、患者数が少なく重症度にも幅があるため遅れてきました。

そこで本研究班では、難治性疾患克服研究事業の一環として、全国規模で Galloway-Mowat 症候群の患者数・発症頻度推定を目的としたアンケート調査を実施することになりました。

どうか本調査にご協力いただきますよう、宜しく願い申し上げます。

《ご回答の方法とお願い》

- ご多忙中恐縮ですが、別紙の FAX にて **12 月末までにご回答**頂ければ幸いです。
- 本調査は患者数や発症頻度をスクリーニングする一次調査ですので、対象患者さんがおられない場合でもご回答お願い申し上げます。

ご不明な点がございましたら、下記までお問い合わせください。

敬具

本調査の連絡先: NPO 法人 日本臨床研究支援ユニット 栗原雅明
〒113-0034 東京都文京区湯島 1-2-13
西山興業御茶ノ水ビル3F TEL: 03-5297-6258, FAX: 03-5297-6259
e-mail: kuri@crsu.org

「Galloway-Mowat 症候群(腎糸球体・脳異形成)の患者数全国調査」

Fax 回答用紙

Fax 03-5297-6259

NPO 法人 日本臨床研究支援ユニット(栗原)行き

質問 1 過去 5 年以内に、下記の条件 **1** と **2** を同時に満たす症例をご経験されていますか？

1. 蛋白尿を伴う腎障害： ネフローゼ、あるいは中等度蛋白尿

(試験紙法 > 2+, 定量 > 0.5g/日)

2. 中枢神経障害： 難治性てんかん、あるいは精神運動発達遅滞

いずれかに○をしてください。 ある ・ なし (なしの場合、これで終了です)

質問 2 上記で“ある”とお答え頂いた場合、症例数をお知らせください(死亡された方も含みます)。

(_____)人

質問 3 Galloway-Mowat 症候群(あるいは疑い)と診断された患者様がおられる場合、受診状況(死亡された場合は死亡時年齢)、性別、主症状、家族歴の有無、をご教示ください。

患者	直近の状況	性別	主な症状			家族歴
1	生存： () 歳 近受診： 年 月	<input type="checkbox"/> 男	小頭症 難治性てんかん 精神運動発達遅滞 他 ()	腎不全 ネフローゼ 蛋白尿 2+ or >0.5g/日	顔面奇形 四肢奇形 食道裂孔ヘルニア	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
	死亡： () 歳時 亡日： 年 月	<input type="checkbox"/> 女				
2	生存： () 歳 近受診： 年 月	<input type="checkbox"/> 男	小頭症 難治性てんかん 精神運動発達遅滞 他 ()	腎不全 ネフローゼ 蛋白尿 2+ or >0.5g/日	顔面奇形 四肢奇形 食道裂孔ヘルニア	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
	死亡： () 歳時 亡日： 年 月	<input type="checkbox"/> 女				
3	生存： () 歳 近受診： 年 月	<input type="checkbox"/> 男	小頭症 難治性てんかん 精神運動発達遅滞 他 ()	腎不全 ネフローゼ 蛋白尿 2+ or >0.5g/日	顔面奇形 四肢奇形 食道裂孔ヘルニア	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 無
	死亡： () 歳時 亡日： 年 月	<input type="checkbox"/> 女				

記載欄が不足の場合には、コピーしてください

ご所属 _____

ご芳名 _____

電話番号 _____

Galloway-Mowat 症候群（腎系球体・脳異形成）診断基準案

[背景] 1968年にGalloway-Mowatが小頭症とネフローゼを合併する姉弟例を報告し、新しい疾患単位“**Galloway-Mowat 症候群**(OMIM251300)”の存在を提唱しました。その後国内外において40症例を超えるGalloway-Mowat症候群の報告があります。その結果当初提唱された疾患概念よりも臨床症状は多彩で、重症度にも差があり、診断基準の幅を広げる必要があることがわかってきました。

[病因] 神経細胞とポドサイトに共通する発育因子の異常が、発症に関与する可能性が推測されていますが、実体が不明です。

[目的] 古典的なGalloway-Mowat症候群の病型より軽症で、診断に難渋する“Galloway Mowat 症候群類縁疾患”も多く存在しています。したがって、Galloway-Mowat 症候群とその類縁疾患の実数とその臨床像と自然歴・予後を把握し、診断基準を見直す必要があります。

[期待される結果] 新しい診断基準の確立は、病因を突き止めて根治的な治療法を開発したり、病態に即した治療を早期から導入して患者予後やQOLを改善することに役立ちます。病因の同定は、正常の脳や腎系球体の形成メカニズムの解明にもつながります。

[診断基準案] これまでの症例報告を参考に、診断基準案を作成しました。今後全国規模の実態調査を行い、その結果を基に原案を修正する予定です。

主症状 2項目を両方満たす場合、Galloway-Mowat 症候群と診断する。通常随伴症状を伴うが、症例ごとに罹患部位と重症度は様々である。常染色体劣性遺伝が疑われる。

主症状

① 中枢神経症状（難治性てんかん 精神運動発達遅滞、小頭症）

典型例では小頭症（頭囲が性別・年齢平均値に比し、 -2 SD 以上小さい）を伴う。

CT・MRIで、大脳（脳回異常を含む）や小脳低形成を認める。

② 腎障害（糸球体硬化症）

典型例では出生早期より、ネフローゼ症候群（尿蛋白 ≥ 0.1 /kg/day）を呈し、1-2歳で末期腎不全に至る。腎機能が成人期まで保たれ、尿蛋白が中等度（試験紙法 $>2+$ 、一日蛋白尿 0.5 g/gCr）にとどまる場合もある。腎生検では巣状糸球体硬化症を示すことが多い。

随伴症状

主症状に加えて下記の幾つかを、合併する。

1) 外表奇形

顔面形成異常（前額狭小化、大きくて柔らかい耳、耳介低位、小下顎、高口蓋、眼間解離）

四肢奇形（くも指、屈指など）

2) 筋症状

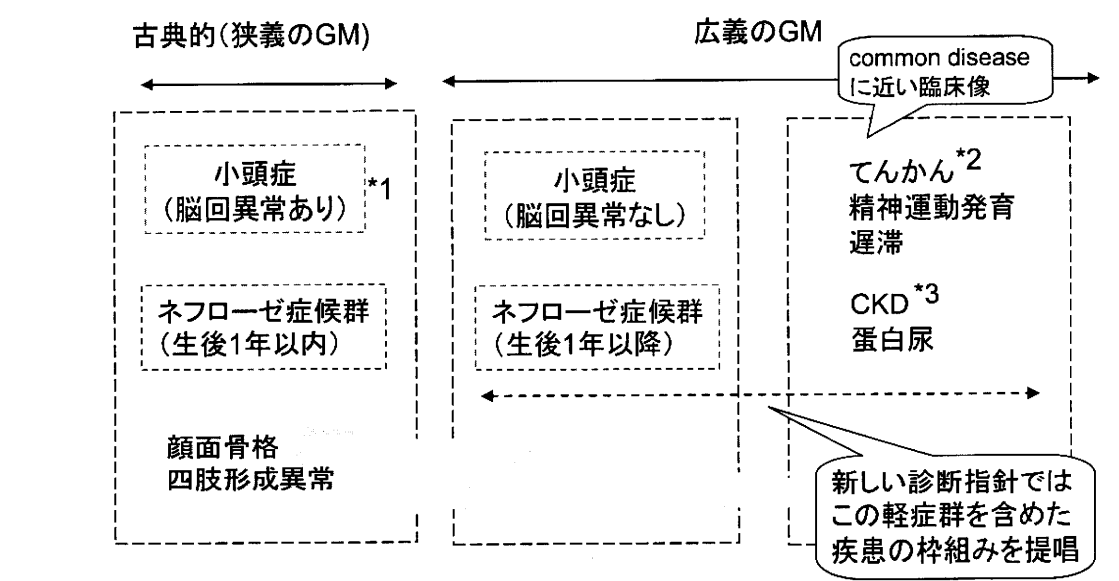
筋症状（四肢緊張低下、内斜視など）

3) 食道裂孔ヘルニア

(参考資料) Galloway-Mowat 症候群の概念の広がり と 診断基準改訂のポイント

付図 申請研究で診断基準改訂のポイントと古典的疾患概念との比較

重症度	重症型	中間型	軽症型
ネフローゼ 発症年齢	<1歳	1~10歳	~20歳
国内推定症例 (文献)	~10	~20	>50?



*1 脳の表面のしわ(脳回)が少ないあるいは欠如する病態を「滑脳症 lissencephaly」と言う。滑脳症は従来頻度がまれと考えられてきたが、近年のMRIの技術の発達により検出率が向上している。原因は脳発達段階における神経細胞の遊走異常と考えられ、形態や遺伝様式から6つの亜型に分類されている。これまでのGM症候群の文献報告ではMRI画像診断情報が乏しく、脳発達障害の病態が正確に把握されていない。申請研究では、脳画像診断、腎生検、糖鎖異常、遺伝子異常等の情報を統合して、分子機序を考慮した新しい疾患概念と亜型分類の作成を目標とする。

*2 小頭症や蛋白尿が軽症の症例は、GM症候群の概念が適用されず、単にてんかんや精神運動発育遅滞と診断され、(広義の)GM症候群の実数が過小評価されている。申請研究ではこのような成人に達する軽症例の実数を把握し、自然歴・予後の実態を明らかにする。

*3 CKD; chronic kidney disease: 慢性腎臓病 腎機能障害($eGFR < 60 \text{ ml/分/1.73m}^2$)と蛋白尿を来す病態・疾患群を包括する概念。全世界的に予防対策が進められている。

Galloway-Mowat 症候群の患者数全国調査 方法と結果

患者数推計の枠組み

推計する数＝定めた期間内に対象施設で診療を受けた患者数

期間＝5 年間

対象施設＝病床数が 200 床以上の全国の一般病院の小児科
および、特別施設(今回とくに調査対象とした施設)

推計の前提

1) 対象施設以外の患者数は0

対象施設全てから回収率 100%で患者数が報告されれば、その合計を真の患者数と見なす。

2) 調査実施施設は対象施設の中から無作為に選定

調査実施施設の平均患者数は、対象施設全体の平均患者数と同じと見なす。

3) 回答は調査実施施設の中から無作為に回収

回答ありの施設の平均患者数は、調査実施施設の平均患者数と同じと見なす。

推計の方法

調査実施施設の全国の対象施設数に対する抽出率と、調査実施施設における回収率とを用いて、施設の層ごとに患者数を推計。患者数別の回収施設数を用い、95%信頼区間は近似的に求めた。

施設の層: 病床数が 200 床以上の全国の一般病院の小児科／特別施設

*病床数が 200 床以上の全国の一般病院の小児科の全国の施設数は、2006 年医療施設調査から得た。

推計の結果

5 年間の患者数について、調査による報告数は 84 人であり、これが最小数である。

推計値は 210 人(95%信頼区間 130 - 290 人)である。

問題点

1) 報告されている患者が診断基準を満たしているかどうか検討が必要

2) 推計の層の設定方法について、適切かどうか検討が必要

参考文献

川村孝、永井正規、玉腰暁子、橋本修二、他: 難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル第2版(2006年3月厚生労働省難治性疾患克服研究事業特定疾患の疫学に関する研究班(主任研究者 永井正規))

推計の層別、対象施設数/調査実施施設数/回収施設数

	全国の 対象施設数	調査実施施設数	抽出率	回収施設数	回収率
病床数が200床以上の一般病院の小児科*	1269	614	48.4	431	70.2
特別施設	946	946	100	568	60
計	2215	1560		999	

*2006年医療施設調査による小児科を有する一般病院1391施設から特別施設に含まれる12施設を除く

推計の層別、報告患者数

	患者有り 施設数	総報告患者数	患者報告数別の報告施設数																
			患者数 施設数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
病床数が200床以上の一般病院の小児科	16	45																	
特別施設	32	39	0	1	2	2	3	2	1	2	1	2	2	3	1	2	1		
計	48	84	577	26	5	1													

5年間の推計診療患者数

	情報区間	
	推計診療患者数 下限	推計診療患者数 上限
病床数が200床以上の一般病院の小児科	130	200
特別施設	60	70
計	190	260

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

平成22年度 分担研究報告書

平成23(2011)年4月

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「次世代シーケンサを用いた Galloway-Mowat 症候群疾患遺伝子同定の試み」

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 森貞直哉

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

Galloway-Mowat 症候群の日本人近親婚家系で 4 名の患者を持つ家系 (Nakazato H 2002) を対象として、疾患遺伝子の同定を試みた。まず Affymetrix 100K SNP マッピングアレイを用いたゲノムワイド SNP タイピング及び高密度マイクロサテライトマーカーによるマッピングを行い、病因遺伝子候補領域を 5-6 Mb にまで絞込んだ。さらに次世代シーケンサ HiSeq 2000 を用いた全エクソーム解析を行い、候補領域内の疾患遺伝子変異を探索し、原因と疑われる遺伝子数は 10 個以内に絞られた。

A. 研究目的

ネフローゼ症候群患者の約 20% はステロイドや免疫抑制剤に反応しない難治性ネフローゼ症候群である。難治性ネフローゼ症候群は高頻度に腎不全に進行し、わが国の末期腎不全症例の 3-4 割を占める主因疾患である。しかし病因・病態の解明は進んでおらず、未だ根本的な治療法はない。近年、欧米の家族性ネフローゼ症例の家系解析研究でいくつかの病因遺伝子が判明しているが、民族間の遺伝的背景が異なるためか、わが国の症例ではほとんど変異はなく、本邦独自の症例解析による病因・病態解明が必要である。

一方、精神運動発達遅延や難治性てんかんなどの対応方策の確立も成育医療上の重要課題であるが、依然として大半の疾患の病因は不明であり対症療法がなされているに過ぎない。とくにてんかん患者の約 30% は薬剤不応性で、治療上の大きな問題となっている。その病因・病態の分子レベルでの理解と、分子を標的とした新規治療法の開発が急務である。

Galloway-Mowat 症候群は、腎系球体硬化

病変を示す小児期ネフローゼと、小頭症、難治性てんかんなどの中枢神経障害を主徴する先天奇形症候群である。ポドサイトと中枢神経細胞は、ともに終末分化細胞で再生せず、形態学的にも機能的にも共通の特徴を有している。本症はポドサイトと中枢神経細胞の 2 系統の細胞に共通する、生物経路異常が主因と推測されている。

Galloway-Mowat 症候群の大部分は孤発性であるが、一部に同胞発症例があり劣性遺伝様式の可能性も考えられる。これまでに本症における染色体異常や遺伝子変異は報告されておらず、疾患の原因は不明である。本研究は、Galloway-Mowat 症候群の疾患遺伝子の同定を目的とし、患者の遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

これまでに本症に特異的な染色体異常や遺伝子変異は、報告されていない。したがって疾患の原因を明らかにするには、まずゲノム構造(コピー数)異常について検索し、その異常がないものについて連鎖解析を併用した網羅的塩基変異のスクリーニングが必要と考えた。