

201231056B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

腎性低尿酸血症の全国の実態把握

平成 23 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 四ノ宮 成祥

平成 25 (2013) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

腎性低尿酸血症の全国的実態把握

平成 23 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 四ノ宮 成祥

平成 25 (2013) 年 5 月

目次

構成員名簿

総合研究報告

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行物・別刷

構成員名簿（平成 23～24 年度） 腎性低尿酸血症の全国の実態把握研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研 究 代 表 者	四ノ宮成祥	防衛医科大学校 分子生体制御学講座	教 授
研 究 分 担 者	松尾洋孝	防衛医科大学校 分子生体制御学講座	講 師
	池脇克則	防衛医科大学校 内科学講座	教 授
	高田龍平	東京大学医学部附属病院 薬剤部	講 師
	市田公美	東京薬科大学 病態生理学講座	教 授
	檀上稲穂	理化学研究所バイオリソースセンター	研究員
	中村好宏	防衛医科大学校 数学研究室	准教授
研 究 協 力 者	細谷龍男	東京慈恵会医科大学 腎臓・高血圧内科学講座	教 授
	山本 健	九州大学 生体防御医学研究所	准教授
	浜島信之	名古屋大学大学院医学系研究科 医療行政学	教 授
	角谷 寛	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	准教授
	金井好克	大阪大学 医学系研究科	教 授
	鈴木洋史	東京大学医学部附属病院 薬剤部	教 授
	野々山恵章	防衛医科大学校 小児科学講座	教 授
	野出孝一	佐賀大学 循環器内科学	教 授

平成 23 年度～平成 24 年度総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

腎性低尿酸血症の全国的実態把握

研究代表者 四ノ宮 成祥（防衛医科大学校・分子生体制御学講座・教授）

研究要旨

腎性低尿酸血症は、近位尿細管における尿酸の再吸収不全に起因する尿酸輸送体病である。本疾患は、尿路結石のほか重篤な運動後急性腎不全を引き起こすにも関わらず、病名の認知度が低いことから正確な実態は把握されておらず、現状では多くの症例で合併症を含めて適切に診断、治療がなされていない。そのため、本疾患の分子病態を明らかにして、合併症の予防法や治療法を確立するとともに、本疾患に関する医学的知識の普及を図る必要がある。

我々は、これまでに腎性低尿酸血症の原因となる2つの病因遺伝子の同定に成功している。これらの報告に基づき、腎性低尿酸血症は、尿酸トランスポーターであるUrate transporter 1 (*URAT1/SLC22A12*) 遺伝子の異常による1型と、Glucose transporter 9 (*GLUT9/SLC2A9*) 遺伝子の異常による2型に分類されるようになった。2型の遺伝子変異は、尿酸輸送能に大きな影響を与えて、1型の遺伝子変異と同様に血清尿酸値を著しく低下させることが分かったが、その頻度は稀であることも判明した。さらに、我々の研究により、1型・2型以外の病因遺伝子の存在、すなわち3型（現在、分類不能型とされるもの）の存在が明らかとなった。我々は、本疾患に関して国内外でも最大規模の症例数を有するのみならず、本疾患の遺伝子解析における十分な経験、知識及び技術を有しており、独創的な研究を展開してきた。

本研究では、これまで十分に検討されてこなかった本疾患について、重篤な合併症を含む臨床データの解析を行い、1型、2型、3型の鑑別法の検討や病態解析の飛躍的な進展を目指した。また、複数の大規模健康診断のサンプルセットを利用し、多数例の健診受検者のデータ解析を実施した。これらにより、低尿酸血症の頻度を明らかにするとともに、全国から可能な限り多くの低尿酸血症の症例を収集して実態解析に供することができた。関連学会員へのアンケート調査を行った結果、血清尿酸値2.0 mg/dl以下の腎性低尿酸血症は179例あり、そのうち運動後急性腎不全の合併は6.1%（11例）、尿路結石の合併は6.1%（11例）であった。また、日本人の健康診断受検者5,019人における低尿酸血症の頻度調査では、血清尿酸値2.0 mg/dl以下は9例（0.18%）あり、3.0 mg/dl以下の軽度低下例は126例（2.51%）認められた。腎性低尿酸血症50名を対象とした遺伝子変異解析により、*GLUT9*のR380W変異を認める新規症例（既報の1家系以外で初めての症例）を同定した。さらに、腎性低尿酸血症の症例を対象に、腎性低尿酸血症1型（*GLUT9/SLC2A9*）と2型（*URAT1/SLC22A12*）の遺伝子関与の度合いについての解析を実施し、新規及び既知の遺伝子変異について同定し報告した。これらの解析を通じて、腎

性低尿酸血症1型あるいは2型以外の症例、すなわち分類不能型（3型）の希少な症例を相当数収集する体制を整備した。さらに、アレイCGH解析や次世代シーケンサー等を活用することで、それらの遺伝子同定のための研究基盤を構築し、複数の候補遺伝子を同定することができた。本研究事業の成果として、近い将来に於いて新たな原因遺伝子が明らかになる可能性が高まったとともに、それによる分子病態の理解の促進、さらには診断基準の改定のための知見が得られることが期待できる。

研究分担者

松尾洋孝 防衛医科大学校 講師
池脇克則 防衛医科大学校 教授
高田龍平 東京大学 講師
市田公美 東京薬科大学 教授
（東京慈恵会医科大学 講師）
檀上稲穂 理化学研究所 研究員
中村好宏 防衛医科大学校 准教授

研究協力者

細谷龍男 東京慈恵会医科大学 教授
山本 健 九州大学 准教授
浜島信之 名古屋大学 教授
角谷 寛 京都大学 准教授
金井好克 大阪大学 教授
鈴木洋史 東京大学 教授
野々山恵章 防衛医科大学校 教授
野出孝一 佐賀大学 教授

A. 研究目的

尿酸輸送体病である腎性低尿酸血症は、その合併症である重篤な運動後急性腎不全や尿路結石を発症してから初めて発見されることが多い。全国的に疾患の認知度も低いことから、正確な実態は把握されておらず、多くの例で合併症に対する対応を含めて適切な診断、治療が成されていないのが現状である。本研究では、全国からの腎性低尿酸血症症例収集及び複数の大規模健康診断データの活用により、本疾患に

る情報を集積し、診断方法を確立することを目的とした。その上で、低尿酸血症の実態を把握し、病名の認知度を上げ、合併症の効果的な対応策や予防法等を開発することを目指した。

我々は、腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子が、それぞれ *URATI* (Enomoto et al., *Nature*, 2002)及び *GLUT9* (Matsuo et al., *Am J Hum Genet*, 2008)であることをこれまでに報告してきた。後者の報告においては、2万人以上の自衛隊員を対象とした大規模健康データベースを活用して低尿酸血症の症例スクリーニングを行い、希少疾患の原因遺伝子の解明と分子病態の解明に結びつけることができた。また、我々の解析によって、腎性低尿酸血症は、1型及び2型いずれにも属さない分類不能型(3型)も存在することが明らかとなり、それぞれ異なる遺伝子異常における疾患の分子機構の解明とそれに基づく予防法の開発が必要とされている。

これまでに我々は、腎性低尿酸血症1型および2型の病因遺伝子診断法を世界に先駆けて開発し、総計100例以上に及ぶ腎性低尿酸血症の症例の解析を積み重ねてきた。我々はさらに、多施設間研究を展開することで、最近、*ABCG2*が尿酸排泄輸送体として重要な機能を担っていることが見出され、これにより新たな尿酸排泄・再吸収機構を提唱している。このような、国内外でも類を見な

い規模での多施設にわたる独創的解析が、疾患診断基準の確立に向けた効率的研究の実施を可能にしている。さらに、複数の大規模健康診断の検体の収集も済ませており、詳細な保因者数の検討および無症候性低尿酸血症の実態把握を実施する体制が整っている。このような研究活動に加えて、遺伝学的解析による本症のサブタイプの解明や分子病態の理解に基づく効果的な合併症の予防の確立のための基盤となる研究の実施も目的とした。

B. 研究方法

これまでの我々の研究から、大規模な健康診断データベースの解析が、腎性低尿酸血症を含む尿酸関連疾患の症例の集積に有効であることが分かっている。したがって本研究では、長年の研究で得られたノウハウを活用して、下記の1)～3)の項目を実施した。これにより、腎性低尿酸血症1型、2型における全国的な実態を把握し、疾患情報の十分な集積を行うとともに、診断基準の確立に向けた調査研究を行った。

研究方法の具体的な内容については、以下のとおりである。

1) 全国からの症例収集について

無症候性低尿酸血症症例の収集については、名古屋大学医学部予防医学教室・浜島信之教授との共同研究として、これまでに、静岡県と北海道での健康診断受検者を中心に約5,600例の遺伝子解析を実施した。そのうち、5,019例についての *URATI* および *GLUT9* の遺伝子変異の解析結果に関しては、浜島教授(共同研究者)を中心とした解析内容として論文発表を実施した。なお、尿

酸排泄に関わるトランスポーターである *ABCG2* 遺伝子等についての遺伝子変異頻度解析で興味深い知見が得られたことから、現在論文を投稿準備中である。

関連学会へのアンケート調査を実施した他、主に静岡県と愛知県(研究協力者; 名大・浜島教授)において、合計10,000人以上を目標にサンプル解析の基盤を構築した。また、自衛隊員の健康診断を中心に約20,000人の健診データを解析して、低尿酸血症の頻度や症例の抽出を行った(担当; 防衛医大・四ノ宮、松尾)。症候性低尿酸血症症例の収集については、防衛医大病院、慈恵医大病院及び全国の自衛隊病院などを受診した症例からの収集を進めた(担当; 防衛医大・松尾、慈恵医大・市田)。また、研究班のホームページを通じて、遺伝子解析に関する情報提供を行うことにより、全国からの遺伝子解析の依頼についても対応した。なお、承諾を得た上で、可能な限り症例患者の血縁関係者にも調査への協力を求めることとした。これらの結果として、できるだけ多くの低尿酸血症の症例収集を進めるとともに、それらの症例を対象に腎性低尿酸血症1型 (*GLUT9/SLC2A9*) と2型 (*URATI/SLC22A12*) の遺伝子関与の度合いについての解析を実施した。これにより、腎性低尿酸血症1型あるは2型以外の症例、すなわち分類不能型(3型)の症例を可能な限り多く収集し、3型の原因遺伝子同定のための研究基盤の構築を図った。

2) 臨床遺伝疫学的解析について

前項で集積された症例に対し、同意を得た後に、(i)有病率、(ii)各症例の検体データ(血液、尿検体など)や病歴などの臨床的特

徴について情報を収集した(担当;防衛医大・松尾、慈恵医大・市田)。さらに、(iii)原因遺伝子と考えられる尿酸輸送体について遺伝子解析を行い、解析結果を集計した(担当;防衛医大・松尾、慈恵医大・市田)。

特に、ゲノム解析においては、直接シーケンシングのみでなく、ハイスループットな多型タイピングの方法についても解析法を開発し、迅速かつ低コストでの診断を可能とするための解析系を確立することとした(担当;防衛医大・四ノ宮、松尾)。これまでの解析により、腎性低尿酸血症1型または2型として説明できない希少な症例(分類不能型、3型の候補症例)を約20例抽出することができた。まず、3型の候補遺伝子と考えられる30遺伝子に注目し、次世代シーケンサーでの解析を実施した。次世代シーケンサーの解析結果から特に3型の可能性の高い症例を選び出し、エクソーム解析も併せて実施した。また、3型の候補症例については、アレイCGH解析を併せて実施して、病因となるcopy number variant (CNV)の同定を目指した(担当;理研・檀上)。さらに研究の進展に伴い、上記以外の遺伝学的解析法も併用して解析を継続中である。これらの解析により、1型、2型に引き続き、3型の候補となる遺伝子同定が成される可能性が極めて高まっており、本研究事業により、そのための研究の基盤が確立された。引き続き行われる研究に於いて、新たな候補遺伝子の病因変異が同定された場合には、変異体の輸送機能を解析することによりトランスポーターとしての役割を検証する予定である(担当;東大・高田)。

3) 分子病態の解明及び診断基準の確立について

前項までの検体データや遺伝子情報に基づき、低尿酸血症の分子病態の解明及び診断基準の確立を目指す。これまでの1型と2型の鑑別方法では、患者にとって負担の大きい薬物負荷試験のみが有効であるとされていたことから、我々の研究では、これ以外の鑑別法として遺伝子解析による直接的な病型の鑑別法について検討した(担当;防衛医大・四ノ宮、松尾、慈恵医大・市田、東大・高田)。

現在、臨床の場における低尿酸血症の診断は、血清尿酸値が2.0 mg/dl以下として行われることが多い。しかし、この基準には明確な根拠がないため、今回の集計をもとに、合併症の頻度を勘案し、新たな低尿酸血症の診断基準の作成を検討している。これにより、不要な管理を防ぎ、指導及び治療を行うべき対象を明確にすることができる。

我々は、世界に先駆けて腎性低尿酸血症1型および2型の病因遺伝子の同定に成功するなど、本領域における研究実績を重ねてきた。また、症例数やその解析技術においても、国内外の研究グループの追従を許さないレベルにある。腎性低尿酸血症3型(あるいはそれ以降のタイプに相当するような)病因遺伝子同定においても、研究事業においてその同定のための研究基盤の確立をめざした。さらに、新たな原因遺伝子候補を絞り込み、その分子病態の理解を進めることにより、診断基準の策定のための知見の蓄積を行うこととした。

本研究には、尿酸代謝などを専門とする臨床グループや疫学および統計学の専門家が含まれており、トランスレーショナル研究

の体制が整備を進めた上での研究実施を
目途とした。本研究グループによる最近の尿
酸輸送関連の研究成果として、高尿酸血
症・痛風の主要病因遺伝子の同定(尿酸ト
ランスporter 遺伝子: Matsuo et al. *Sci
Transl Med*, 2009, 1, 5ra11)のほか、高尿酸
血症の主要メカニズムにおいて尿酸ト
ランスporter 遺伝子の腎外尿酸排泄の低下が
重要であることを見出し(Ichida et al. *Nat
Commun*, 2012, 3, 764)、これまでの定説を
覆す日本発の成果とし発信されている。本
研究グループによる、これらの尿酸関連研
究に加え、本研究により全国からの情報を
収集することで、腎性低尿酸血症に関する
分子病態の解明や診断基準の確立を含め
て、画期的な研究成果を発信するための環
境づくりを行った。

(倫理面への配慮)

1) ヘルシンキ宣言及び倫理指針の遵守

本研究は、ヘルシンキ宣言(2000年 英国
エジンバラ改訂版)に基づく倫理的原則、本
試験実施計画書および「ヒトゲノム・遺伝子解
析に関する倫理指針平成16年文部科学
省・厚生労働省・経済産業省告示第1号」
を遵守して実施した。また、処方情報解析研
究は、文科省及び厚労省が策定した「疫学
研究に関する倫理指針(平成19年文部科学
省・厚生労働省告示第1号)」を遵守して実
施した。この臨床研究の背景となる、低尿酸
血症症例における臨床遺伝学的解析や臨
床データの解析については、既に関連する
全ての研究実施機関における倫理委員会の
承認を得ており、国内外でも最大規模の症
例においてインフォームドコンセントを得てい

る状況である。さらに、健康診断データベ
ースを用いた疫学的研究についても、各研究
実施機関における倫理委員会の承認を得て
おり、研究の進展に応じて、順次、必要な追
加・変更申請を実施しながら、期間内におけ
る研究を完結できる体制にある。このように、
本研究は、倫理面への配慮においてスムー
ズに実施できる体制を構築しつつ行っ
てきている。

2) 試験倫理審査委員会による審査・承認

本研究は予め関連する実施計画書の内
容、試験責任医師および研究分担者の適
格性等について倫理審査委員会により審査
を受け、承認を得てから実施している。研究
の実施時においては、対象者(若しくは患
者)に同意説明文書を用いてインフォームド
コンセントを行い、文書にて同意が得られた
人に研究に参加して頂くことにしている。取
得したサンプルは、個人識別情報の匿名化
を行い、解析結果および患者医療情報はス
タンドアローンのコンピューターに保存して
いる。また、遺伝子カウンセリングを希望す
る人には、対応できる体制を整えている。疫学
研究に関しては、臨床研究の的確性につい
て倫理委員会の承認を得てから実施した。

C. 結果

1) 全国からの症例収集

無症候性低尿酸血症症例の収集と頻度
解析のために、自衛隊員の健康診断 21,060
例のデータ収集及び解析を行った。また、
民間の健康診断についても、静岡県浜松地
区の健診サンプル 5,019 例について、健診
データの収集とゲノム解析を実施した。北海
道八雲地区での 570 例については、詳細な
健診データとゲノムサンプルのほか、追加解

析に備えて、血清と尿サンプルを収集した。症候性低尿酸血症症例の収集については、国内外の症例の臨床データとゲノムサンプルの収集に努めた。また、関連学会員への1次アンケート調査(図1)を行った結果、回答率は38.5%(330件中127件)であった。現時点での集計解析結果は次の通りである。すなわち、血清尿酸値2.0 mg/dl以下の腎性低尿酸血症は179例あり、そのうち運動後急性腎不全の合併は6.1%(11例)、尿路結石の合併は6.1%(11例)であった(業績50)。本調査においても、臨床医による腎性低尿酸血症の認知度が低いことが再認識され、本疾患の全国調査においては、関連学会員へのアンケート調査のみでなく、健康診断サンプルによる無症候性低尿酸血症を含めた実態調査を併用する必要性が示唆された。また、腎性低尿酸血症の症例報告を実施している研究グループなどと協力態勢をとりつ

つ、さらなる症例の集積に努めることが望ましいと考えられた。さらに、2次アンケート調査(資料1, 2)を実施して、来年度の集計解析の報告を目指して、該当する医療機関の医師と調整中であり、より詳細な実態把握ができることが期待される。

なお、血清尿酸値2.0~3.0 mg/dlの症例についても、研究班員の症例の検討を含めて、現在、継続的に調査を実施している。

2) 臨床遺伝疫学的解析

まず、健診サンプル5,019例について低尿酸血症の頻度解析の結果を示す(表1)。血清尿酸値1.0 mg/dl以下の症例が0.12%に認められた。尿酸値2.0 mg/dl以下の症例は0.18%、3.0 mg/dl以下の症例は2.51%であった。

この5,019例の健診サンプルを用いて、尿酸値の調節に関わる尿酸トランスポーター遺伝子(*URATI*, *GLUT9*, *ABCG2*など)について、遺伝子変異(SNP)解析を実施し、複数の論文発表及び学会発表を実施した。また、国内外での医療施設との共同研究として腎性低尿酸血症の遺伝子解析をさらに進めている。これらの解析により見いだした新規の遺伝子変異については、現在、分子機能解析を含めた検証を実施中である。また、*GLUT9/SLC2A9*の新規ホモ変異を同定し

腎性低尿酸血症(血清尿酸値 ≤ 2.0 mg/dL)
の患者の有無について、○をつけてください。

あり(例) ・ なし

上記「あり」のうち、

- ・運動後急性腎不全の合併(例)
- ・尿路結石の合併 (例)

上記の他、血清尿酸値2.1~3.0 mg/dlの症例で、上記の合併症を認めた患者の有無

あり(例) ・ なし

肥後医ご氏名 _____
貴施設及び
診療科名 _____
貴施設ご住所 〒 _____

お電話番号 _____

E-MAILアドレス _____

ご協力ありがとうございました。

図1 関連学会員への
1次アンケート調査

尿酸値 (mg/dl)	人数	累積人数	相対 頻度(%)	累積相対 頻度(%)
0.0-1.0	6	6	0.12	0.12
1.1-2.0	3	9	0.06	0.18
2.1-3.0	117	126	2.33	2.51
3.1-	4893	5019	97.49	100.00

表1 日本人の健診受検者5,019人における低尿酸血症の頻度

論文報告した。

これまでに我々は、腎性低尿酸血症の1型もしくは2型として説明できない希少な症例(分類不能型、3型の候補)として20例を抽出することに成功している。まず、3型の候補遺伝子となる30遺伝子に注目して次世代シーケンサーでの解析を実施し、病因候補となる遺伝子変異が順次検出されている。それらの候補遺伝子変異を対象に、現在、従来型のキャピラリーシーケンサーを用いて更なる遺伝子解析を進めている。さらに、次世代シーケンサーの解析では、特に3型の可能性の高い症例を対象に、エクソーム解析も併せて実施中である。国内外でも希少な候補症例のゲノムを対象とし、かつ臨床遺伝学的な解析において独自の工夫を加えることで、原因遺伝子を同定できる可能性が高い状況にある。研究の進展に伴い、上記のエクソーム解析以外の遺伝学的解析も併用して解析中である。これらの解析により、1型、2型に引き続き、3型以降についても遺伝子同定される可能性が極めて高く、そのための研究の基盤が確立された。本研究事業の成果として、腎性低尿酸血症3型(研究の進展によっては4型以降のタイプについても可能性あり)が同定された場合、本症のサブタイプや分子病態の解明の促進のみならず、遺伝子解析の視点からの診断基準の確立においても大きく貢献できることが期待できる。

なお、健診サンプルの中から、血清尿酸値3.0 mg/dl以下の症例50名を抽出して遺伝子解析を実施したところ、*GLUT9*遺伝子においてR380Wの変異を認める症例(35才男性、血清尿酸値2.6 mg/dl)が新たに同定された(図2)。これまで、R380W変異を認める腎性低尿酸血症2型の症例は、我々が報告した1家系のみであり(Matsuo et al., *Am J Hum Genet*, 2008)、図2の症例は既報の家系以外で初めて発見された希少な2症例目の同定であることがわかった。そのため、腎性低尿酸血症2型の病態解明と診断指針の作成においても、極めて貴重な症例であり、現在、論文投稿準備中である。

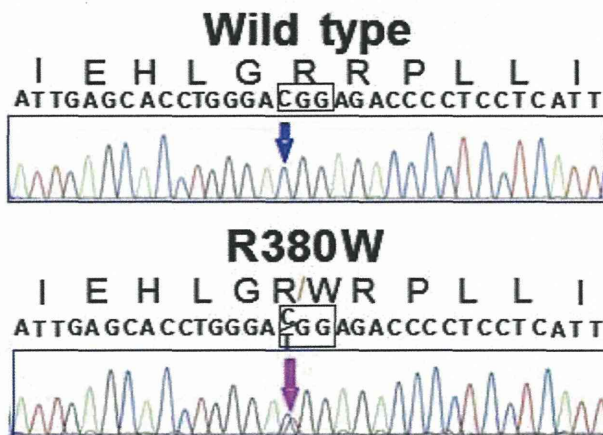


図2 低尿酸血症症例における *GLUT9* 遺伝子の変異

腎性低尿酸血症 50 名の追加解析により、*GLUT9* の R380W 変異を認める新規症例 (35 歳男性、血清尿酸値 2.6 mg/dl) を同定した。R380W 変異による腎性低尿酸血症 2 型の症例は、既報の 1 家系以外で初めて見出された希少な 2 症例目の同定である。(現在、論文投稿準備中)

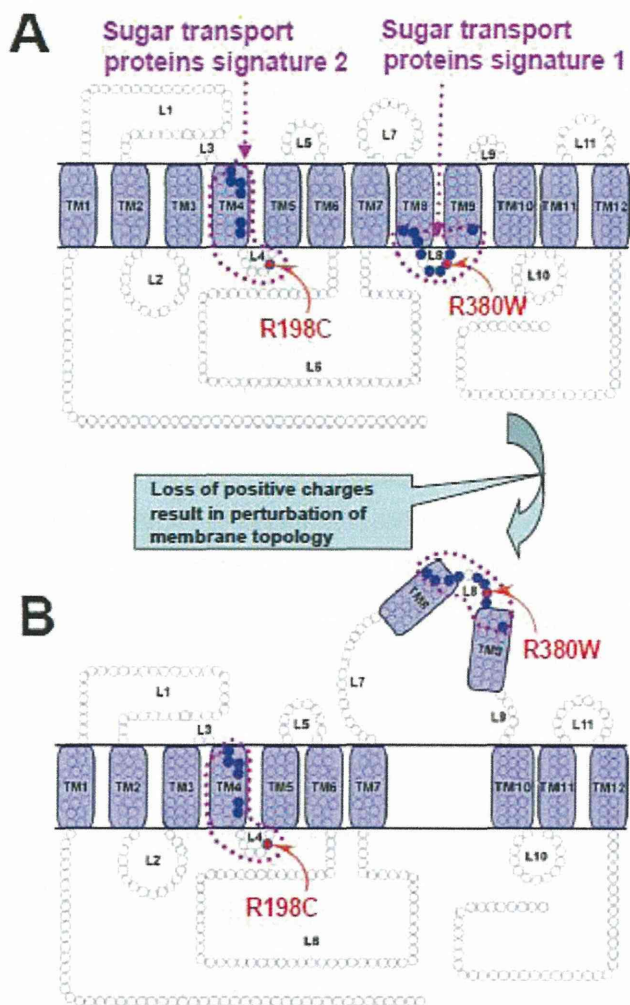


図3 GLUT9 病変変異による細胞質内アンカー機能不全

膜貫通部位を TM1~TM12 で，細胞内外のループを L1~L11 で示す。

A : GLUT9 の病変変異 (R198C と R380W) とそれに相同な GLUT1 の病変変異は，ともに種を越えて保存される sugar transport proteins signature の中の，膜貫通部位近傍の細胞内ループに位置している。両者ともに，塩基性アミノ酸から中性アミノ酸への置換により正電荷の消失を伴うミスセンス変異である。

B : GLUT1 では，変異に伴うアミノ酸の正電荷の消失により図に示すようなトポロジーの変化をきたすことが知られている。そのため，同部位のア르기ニン残基は，膜トポロジーの維持に不可欠な細胞質内アンカーであると考えられており，GLUT9 における尿酸輸送能の消失も細胞質内アンカー機能不全による可能性が示唆された。業績 87 より引用。

表2 腎性低尿酸血症と遺伝子変異

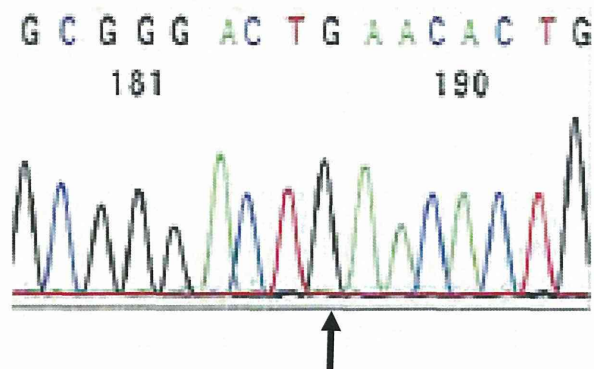
Case	Sex	Age (yrs)	UA ($\mu\text{mol/L}$)	FEUA (%)	ARF	Uro-lithiasis	Mutation
1.	F	73	124	52.4	+	-	g. 82948302del
2.	F	39	58	53.4	+	-	g. 82948302del/g.9184C/T
3.	F	53	78	60.3	-	-	g. 82948302del/g.9184C/T
4.	M	35	63	43.0	-	-	g. 8145G/Cg.9214G/A
5.	F	15	35	55.2	-	-	g. 8294-8302del g.9184C/T
6.	M	5	95	52.6	-	+	1242-1250delGCTGGCAGG
7.	F	18	11	240.0	-	-	g. 43412_43413insC
8.	M	23	10	220.0	-	-	g. 43412_43413insC

UA—serum uric acid; FEUA—fractional excretion of uric acid; ARF—exercise-induced acute renal failure.

症例 1~6 は *URAT1* 遺伝子変異を認め、症例 7, 8 は *GLUT9* 遺伝子変異を認めた。症例 1, 2 は運動後急性腎不全 (ARF) を合併し、症例 6 は尿路結石を認めた。Sebesta I, et al. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 30: 1112-1116, 2011. (業績 113) より引用。

R380W変異は、*GLUT9*遺伝子にコードされる尿酸トランスポーターの輸送能を完全に消失させる変異であることが分かっており、同遺伝子変異の病態における役割を検討する上でも貴重な症例である。また、同変異により、塩基性アミノ酸のアルギニン残基(R)が中性アミノ酸のトリプトファン(W)に置換することにより、*GLUT9*トランスポーターの膜トポロジーの維持ができなくなることが、輸送機能の消失や、腎性低尿酸血症の発症に関わることを報告した(図3)。さらに、腎性低尿酸血症の遺伝子解析により、*URAT1*遺伝子や*GLUT9*遺伝子の既知及び未知の遺伝子変異の同定に成功しており(表2)、合併症の有無に関する症例数の蓄積を含めて継続的に解析を実施している。

この他、研究班のホームページを通じて、遺伝子解析に関する情報提供を行うことにより、全国からの遺伝子解析の依頼についても対応した。これらの事例については、遺伝子解析の結果の通知及び運動後急性腎不全を含む重篤な合併症の予防対策に関する啓発活動を継続して行っている。一例として、図4に運動後急性腎不全を来たした腎性低尿酸血症に認められた*URAT1*遺伝子のホモ変異症例を示す。腎性低尿酸血症に関する啓発活動の一環として、現在、検査依頼元の医療機関と共同で論文を投稿中である。



Exon4 ; c774 A>G→W258X homo

図4 運動後急性腎不全をきたした腎性低尿酸血症症例における *URAT1* 遺伝子変異

腎性低尿酸血症の3型候補症例については、次世代シーケンサー等による塩基配列の解析のほか、アレイCGH解析を実施しており、複数のCNVを見出すことができた(図5)。病因となるCNVの解明のためには、低尿酸血症以外のサンプルにおける解析も増やしていくなどの追加解析が必要である。CNVが腎性低尿酸血症の直接の病因となるかどうかについては現時点では不明であるが、病因となるCNVの有無についての解明が進むよう、症例を積み重ねて解析を継続している。次世代シーケンサーを用いた解析でも、原因遺伝子同定のための研究基盤を構築し、現在、複数の候補遺伝子を同定することに成功している。

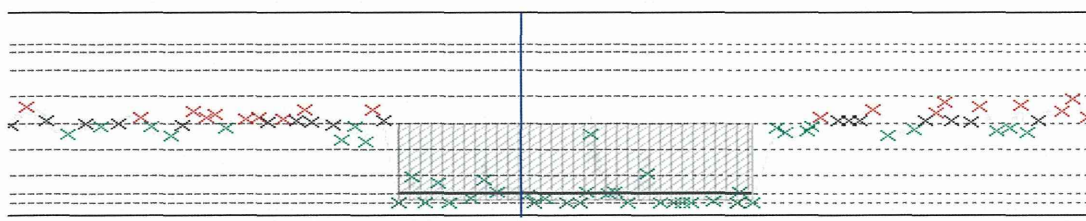


図5 腎性低尿酸血症症例に認められた copy number variant (CNV)の1例

3) 分子病態解明及び診断基準の確立

国内外の低尿酸血症の症例解析から新規病因変異の候補が同定されてきており、変異体の作成を進めて分子機能解析を実施中である。このような病因解析に有望な候補遺伝子変異部位について、随時、分子機能の検証を行い、腎性低尿酸血症の病態と関連する変異の同定を実施中である。また、血清尿酸値の変動を対象としたゲノムワイド関連解析の報告が多くなされてきており、これらの遺伝子の日本人の血清尿酸値への影響についても併せて評価して論文発表などを実施した(業績 97-99)。

これまでの医療現場では、腎性低尿酸血症1型と2型の鑑別は患者にとって負担となる薬物負荷試験のみが有効な方法であったことから、我々は簡易的な遺伝子解析法を含めた他の鑑別法の開発が必要と考えている。具体的には、遺伝子解析による直接的な病型の鑑別法について、現在検討を進めている。

腎性低尿酸血症の診断基準については、血清尿酸値による重度、中等度、軽度の3つに分類することを基本として検討している。さらに、合併症の既往歴の有無や遺伝子解析の結果を参考に組み入れる基準を検討している。これらの情報を充実することにより、腎性低尿酸血症3型の病因遺伝子の同定を含めて、本疾患の病態の全容を明らかにして、より有用な診断基準の提唱を目指している。

D. 考察

腎性低尿酸血症は、その合併症である重篤な運動後急性腎不全や尿路結石を発症してから初めて診断されることが多い。また、

病名の認知度も低いことから、患者数や保因者を含めた実態は未だ解明されていない疾患である。そのため、本疾患の啓発につながるためにも更なる研究の進展が期待されている。これまで腎性低尿酸血症の診断は基準値を2.0 mg/dl以下とする例も多いが、報告により一定しない。尿酸値が2.1-3.0 mg/dlを示す症例であっても、合併症である急性腎不全の報告がみられることから、本研究では見かけ上軽度の腎性低尿酸血症に対しても、遺伝子解析や臨床データの収集を行い、本疾患の基礎的データのファイリングを実施している。

我々は、世界に先駆けて腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子の同定に成功するなどの実績を重ねてきた(*Nature*, 2002; *Am J Hum Genet*, 2008)。同疾患においては、症例数やその解析技術においても、研究基盤の整備が進展している。さらに、我々の研究グループには尿酸代謝を専門とする臨床グループや、疫学及び統計学の専門家が含まれており、理想的なトランスレーショナル研究の体制が確立している。国内外の他の研究者との連携をはかりながら、更なる研究体制の充実を目指していく予定である。本研究グループによる最近の尿酸輸送体関連の研究成果としては、高尿酸血症・痛風の主要病因遺伝子の同定に成功した日本発の報告がある(Matsuo et al. *Sci Transl Med*, 2009)。さらに、高尿酸血症・痛風の定説を覆す発見として、腸管からの尿酸排泄低下(腎外排泄低下)が高尿酸血症の主要な発症メカニズムであることも最近見いだした(Ichida et al. *Nat Commun*, 2012)。このような基礎的事項の解明が腎性低尿酸血症の機序解明にも深く関与している。我々のこれま

での研究に加え、本研究で全国からの情報を収集することにより、理想的な共同研究体制のもと、腎性低尿酸血症に関する分子病態の解明や診断基準の確立を含む画期的な研究成果が今後さらに期待できるものと考えられる。また、本研究の実施により、日本発の腎性低尿酸血症1型および2型の病因遺伝子の同定に引き続き、腎性低尿酸血症3型についても、日本の症例解析により発見されることが大いに期待できる。腎性低尿酸血症の病因遺伝子の解析により、高尿酸血症や痛風の有望な治療標的分子の病態生理学的意義も明らかとなり、それらの診断や治療に資する成果も得られてきている。

本研究では図6に示すように、腎性低尿酸血症の全国的な実態把握に基づき、診断方法の確立をめざし、認知度の低い本疾患

の啓発につなげるための研究を継続している。さらに、重篤な合併症である運動後急性腎不全の病態解明を行うことにより、その早期発見と予防法の開発に資する成果も併せて期待できる。

E. 結論

本研究を通して、腎性低尿酸血症の全国的実態把握のための基盤が構築され、多数の健診サンプル及び症例の臨床データ収集や遺伝子解析結果の集積がなされた。特に、CNV解析を含む遺伝子解析の他、関連学会員へのアンケート調査等による全国的実態把握のための解析が進展した。

我々は本疾患の診断基準の確立に向けた我が国での基本的データの整備の他、患者の負担が大きい現行の薬物負荷試験に

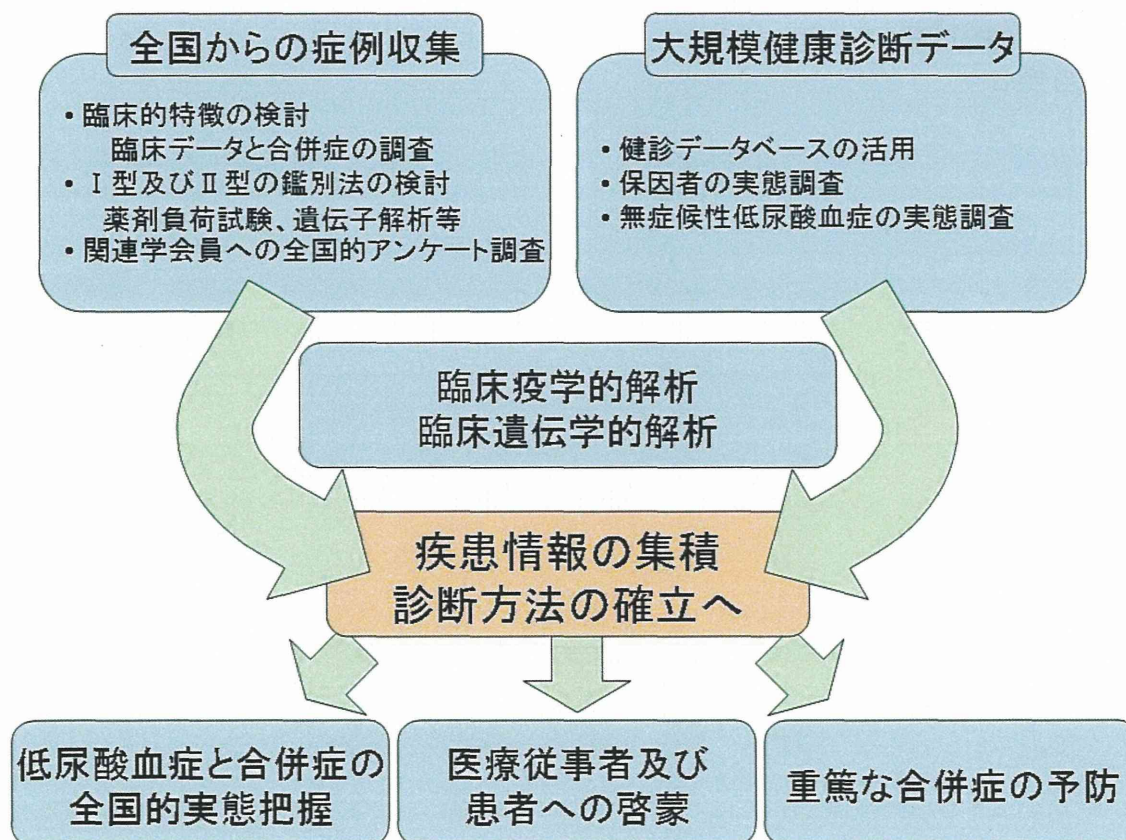


図6 腎性低尿酸血症を対象とする本研究の流れ図

代わる効率的で安価なサブタイプ鑑別法の開発を継続中である。

今後、未だに同定されていない腎性低尿酸血症3型の病因遺伝子の発見とともに、本疾患及びその合併症の分子機構の解明が期待されるところである。

希少な腎性低尿酸血症の分子機構の解明や診断方法の確立は、医療従事者及び患者への適切な啓発につながり、ひいては重篤な合併症に対する効果的な予防対策法の確立が期待できる。また、本疾患の病態の解明は、生理学的な血清尿酸値の調節の分子機構の解明につながるため、生活習慣病である高尿酸血症や痛風における新規治療法や予防法の開発に資することが期待できる。

F. 健康危険情報

該当無し

資料1 腎性低尿酸血症に関する2次アンケート調査（合併症のある症例用）

「合併症のある症例」 腎性低尿酸血症（RHUC、血清尿酸値 2.0 mg/dl 以下）についてお答え下さい。
 (*欄（研究班記入欄）は記載不要です。）
 運動後急性腎不全及び尿路結石の合併症のある症例用です。
 (血清尿酸値 2.1~3.0 mg/dL 用も別に用意しています。)

生年月：(M・T・**S**・H) 47年 9月 (**男**・女) *追跡ID：RH101 (〇〇病院)
 RHUC 初診時年齢 (25歳) 運動後急性腎不全の初発年齢 (27歳) 尿路結石の初発年齢 (22歳)
 記入例は青字で示してあります。 あらかじめ追跡用IDを記載しています。後日、お問い合わせさせていただくことがある場合に使用いたします。

質問事項	発作回数	発作時年齢、 時期 (何月頃)	透析の 有無	運動の種類、内容 (例：サッカー)	運動強度 (軽度、中等度、重度)	運動時間 (5分以下、6-30分、 31-60分、61分以上)
運動後急性腎不全 (発作回数が4回以上の 場合、裏面または別紙に 記載願います)	1回目	27歳 (8月)	有 ・無	400m 走	軽・中 重	5分以下・6-30分 31-60分・61分以上
	2回目	31歳 (2月頃)	有・ 無	軽いジョギング	軽 中 ・重	5分以下 6-30分 31-60分・61分以上
	3回目	38歳 (4月)	有・ 無	野球	軽・ 中 ・重	5分以下・6-30分 31-60分 61分以上
尿路結石 (発作回数が4回以上の 場合、裏面または別紙に 記載願います)	1回目	22歳 (6月頃)	/	/	/	/
	2回目	24歳頃 (8月)	/	/	/	/
	3回目	34歳 (10月)	/	/	/	/

質問事項	回答欄		*研究班 記入欄
発作当時に内服をしていましたか。 内服薬 (ルル (市販薬)))	はい	いいえ	
造影 CT 検査を行いましたか。(「あり」の場合は読影結果を同封願います。)	はい	いいえ	
運動後急性腎不全や尿路結石以外の合併症はありましたか。 発症年齢 () 歳、病名または症状 () 治療及び予後 ()	はい	いいえ	
家族歴はありますか。 家族歴 (祖母：糖尿病、父：尿路結石))	はい	いいえ	
RHUC の原因遺伝子検査を行いましたか。 実施施設 ()	はい	いいえ	
RHUC の治療内容及び予後を記載して下さい。 治療内容及び予後 (急性腎不全初発作時は一時的に人工透析を導入 (1週間で離脱) した。健診結果から RHUC と診断し、飲水指導を行い経過観察中。)	/	/	/
症例報告を行いましたか。 文献等 (四ノ宮成祥ら、第45回痛風核酸代謝学会、2012.2.16))	はい	いいえ	
症例についてご意見等ありましたら、ご記入下さい。 ご意見等 ()	/	/	/

血液・尿検査 (血中・尿中尿酸値、血中・尿中クレアチニン値を含む) 及び画像検査の結果を同封願います。

ご協力ありがとうございました。

資料2 腎性低尿酸血症に関する2次アンケート調査（合併症のない症例用）

「合併症（運動後急性腎不全及び尿路結石）のない症例」 腎性低尿酸血症（RHUC, 血清尿酸値 2.0 mg/dl 以下）についてお答え下さい。（*欄（研究班記入欄）は記載不要です）

運動後急性腎不全及び尿路結石の合併症のない症例用です。

生年月：(M・T・**S**・H) 56年 2月 **男** (女) *追跡ID：RC101

RHUC 初診時年齢（ 28歳）

あらかじめ追跡用IDを記載しています。後日、お問い合わせさせていただくことがある場合に使用いたします。

質問事項	回答欄		班記入欄
運動後急性腎不全や尿路結石以外の合併症はありましたか。 発症年齢（ ）歳、病名または症状（ ） 治療及び予後（ ）	はい	<input checked="" type="radio"/> いいえ	
家族歴はありますか。 家族歴（ ）	はい	<input checked="" type="radio"/> いいえ	
RHUCの原因遺伝子検査を行いましたか。 実施施設（防衛医大分子生体制御学（松尾講師））	<input checked="" type="radio"/> はい	いいえ	
RHUCの治療内容及び予後を記載して下さい。 治療内容及び予後（ ）	/	/	
症例報告を行いましたか。 文献等（Kawamura, Y, et al. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 30: 1105-1111,2011.）	<input checked="" type="radio"/> はい	いいえ	
症例についてご意見等ありましたら、ご記入下さい。 ご意見等(なし)	/	/	

血液・尿検査結果（血中・尿中尿酸値、血中・尿中クレアチニン値を含む）を同封願います。

ご協力ありがとうございました。

G. 研究発表

<平成 24 年度業績>

【原著論文】

1. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, Yamanashi Y, Kasuga H, Nakashima H, Nakamura T, Takada Y, Kawamura Y, Inoue H, Okada C, Utsumi Y, Ikebuchi Y, Ito K, Nakamura M, Shinohara Y, Hosoyamada M, Sakurai Y, Shinomiya N, Hosoya, T, Suzuki, H. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nat Commun.* 3: 764, 2012.
2. Nakashima M, Kinoshita M, Nakashima H, Habu Y, Miyazaki H, Shono S, Hiroi S, Shinomiya N, Nakanishi K, Seki S. Pivotal Advance: Characterization of mouse liver phagocytic B cells in innate immunity. *J Leukoc Biol.* 91(4): 537-546, 2012.
3. Miyazaki K, Morimoto Y, Nishiyama N, Maekawa Y, Hu WZ, Nakatate KI, Kaneda K, Shinomiya N, Kataoka K. A novel homogeneous irradiation fiber probe for whole bladder wall photodynamic therapy. *Lasers Surg Med* 44(5):413-20, 2012.
4. Takeuchi S, Nawashiro H, Wada K, Nomura N, Toyooka T, Otani N, Osada H, Matsuo H, Shinomiya N. L:-Leucine induces growth arrest and persistent ERK activation in glioma cells. *Amino Acids.* 43(2):717-24, 2012.
5. Nakamura M, Yuichiro Y, Sass JO, Matsumura T, Schwab KO, Nishino T, Hosoya T, Ichida K. Identification of a xanthinuria type I case with mutations of xanthine dehydrogenase in an Afghan child. *Clin Chim Acta.* 414:158-60, 2012
6. Fujiwara Y, Kawakami Y, Shinohara Y, Ichida K. A case of hereditary xanthinuria type 1 accompanied by bilateral renal calculi. *Intern Med.* 51:1879-84, 2012
7. Kikuchi K, Hamano S, Mochizuki H, Ichida K, Ida H. Molybdenum cofactor deficiency mimics cerebral palsy: differentiating factors for diagnosis. *Pediatr Neurol.* 47:147-9, 2012
8. Stiburkova B, Sebesta I, Ichida K, Nakamura M, Hulkova H, Kryov V, Kryspinova L, Jahnova H. Novel allelic variants and evidence for a prevalent mutation in URAT1 causing renal hypouricemia: biochemical, genetics and functional analysis. *Eur J Hum Genet.* (in press)
9. Hosoya T, Kuriyama S, Ohno I, Kawamura T, Ogura M, Ikeda M, Ishikawa M, Hayashi F, Kanai T, Tomonari H, Soejima M, Akaba K, Tokudome G, Endo S, Fukui A, Gomi H, Hamaguchi A, Hanaoka K, Hara Y, Hara Y, Hasegawa T, Hayakawa H, Hikida M, Hirano K, Horiguchi M, Hosoya M, Ichida K, Imai T, Ishii T, Ishikawa H, Kameda C, Kasai T, Kobayashi A, Kobayashi H, Kurashige M, Kusama Y, Maezawa H, Maezawa Y, Maruyama Y, Matsuda H, Matsuo N, Matsuo T, Miura Y, Miyajima M, Miyakawa M, Miyazaki Y,