

注 1) IV 型コラーゲン遺伝子変異：COL4A3 または COL4A4 のホモ接合体またはヘテロ接合体変異、または COL4A5 遺伝子のヘミ接合体（男性）またはヘテロ接合体（女性）変異をさす。

注 2) IV 型コラーゲン免疫組織化学的異常：IV 型コラーゲン α 5 鎖は糸球体基底膜だけでなく皮膚基底膜にも存在する。抗 α 5 鎖抗体を用いて免疫染色をすると、正常の糸球体、皮膚基底膜は線状に連続して染色される。しかし、X連鎖型アルポート症候群の男性患者の糸球体、ボーマン嚢、皮膚基底膜は全く染色されず、女性患者の糸球体、ボーマン嚢、皮膚基底膜は一部が染色される。常染色体劣性アルポート症候群では α 3、4、5 鎖が糸球体基底膜では全く染色されず、一方、ボーマン嚢と皮膚では α 5 鎖が染色される。注意点は、上述は典型的パターンであり非典型的パターンも存在する。また、全く正常でも本症候群は否定できない。

注 3) 糸球体基底膜の特異的電顕所見：糸球体基底膜の広範な不規則な肥厚と緻密層の網目状変化により診断可能である。良性家族性血尿においてしばしばみられる糸球体基底膜の広範な菲薄化も本症候群においてみられ、糸球体基底膜の唯一の所見の場合があり注意を要する。この場合、難聴、眼所見、腎不全の家族歴があればアルポート症候群の可能性が高い。また、IV 型コラーゲン所見があれば確定診断できる。

注 4) 特異的眼所見：前円錐水晶体（anterior lenticonus）、後嚢下白内障（posterior subcapsular cataract）、後部多形性角膜変性症（posterior polymorphous dystrophy）、斑点網膜（retinal flecks）など。

[アルポート症候群の発症頻度等の全国調査]

上述の診断基準に基づき全国のアルポート症候群患者を対象とするアンケート調査を、全国の 200 床以上の病院ならびに必要と考えられる施設（以降対象施設）に勤務する小児科医、内科医に

対して実施した。NPO 法人日本臨床研究支援ユニット（J-CRSU）よりアンケート用紙を依頼文書と共に対象となる小児科医、内科医に郵送し、FAX にて回答を得た。アンケート内容は、アルポート症候群の診療の有無、患者数とその生年月、遺伝形式、性別、主な症状、家族歴、最終受診年月等である。得られたデータは、J-CRSU で収集された後、和歌山県立医科大学小児科にて解析した。

平成 25 年 2 月 15 日現在、調査実施施設数 2295 のうち 1082 施設（47.1%）から回答を得た。患者有りの回答を得た施設数は 155 施設で、報告患者数合計は 515 例（その内確定診断例 392 例）であった。これらの数字から本邦のアルポート症候群患者数は、3 年間の受療者数として疑い例を含め 1182 例（95%信頼区間 980-1380）、確定診断例 897 例（95%信頼区間 740-1060）と推計された。

D. 考察

今回のアルポート症候群患者数調査では、国際的に認められた既存の診断基準を改良し、診断精度の向上と診断の簡便さをめざした。具体的には、アルポート症候群を IV 型コラーゲン異常と捉え、明らかに異質の疾患を含む古典的疾患概念からの離脱を図り、より実臨床に近い形で診断作業を進める方法の促進を目指した。既存の診断項目を IV 型コラーゲン異常に応じた項目のみとし、さらに、それぞれの項目に重み付けをすることにより、より実臨床に即した診断基準とした。実際の診断精度の向上については今後の検証が必要であるが、このような診断基準はこれまで作製されておらず、今後広く普及することを目指す。

今回の調査は、対象施設数が 2000 を上回り、本邦初の大規模な患者数調査である。対象疾患の診療に携わると考えられる診療科を網羅的に調査することにより、より実数に近い推測を目指した。本調査の推計の前提は、1) 対象施設以外の

患者数は 0、すなわち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、すなわち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。(特別施設層では対象施設数=調査実施施設数)、3) 回答は調査実施施設の中から無作為に回収、すなわち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、である。実際に得られた数字については、上記の前提の検討を踏まえ今後の検討が必要である。さらに、その後国際比較や既存のデータとの比較が必要である。

E. 結論

既存の診断基準を改変してより精度のたかい診断基準を作製し、その診断基準により本邦初のアルポート症候群の患者数調査を実施した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakanishi K, Iijima K, Ishikura K, Hataya H, Nakazato H, Sasaki S, Honda M, Yoshikawa N, for Japanese Study Group of Renal Disease in Children. Two-year outcome of the ISKDC regimen and frequent-relapsing risk in children with idiopathic nephrotic syndrome. Clin J Am Soc Nephrol doi: 10.2215/CJN.09010912
- 2) Ishikura K, Uemura O, Ito S, Wada N, Hattori M, Ohashi Y, Hamasaki Y, Tanaka R, Nakanishi K, Kaneko T, Honda M; on behalf of The Pediatric CKD Study Group in Japan in conjunction with the Committee of Measures for Pediatric CKD of the Japanese Society of Pediatric Nephrology:

Pre-dialysis chronic kidney disease in children: results of a nationwide survey in Japan. Nephrol Dial Transplant (in press)

- 3) Hama T, Nakanishi K, Mukaiyama H, Shima Y, Togawa H, Sako M, Nozu K, Iijima K, Yoshikawa N. Endoplasmic reticulum stress with low-dose cyclosporine in frequently relapsing nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol. 2013 Jan 15. [Epub ahead of print]
- 4) Hamasaki Y, Yoshikawa N, Nakazato H, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ishikura K, Ito S, Kaneko T, Honda M; for Japanese Study Group of Renal Disease in Children. Prospective 5-year follow-up of cyclosporine treatment in children with steroid-resistant nephrosis. Pediatr Nephrol. 2013 Jan 13. [Epub ahead of print]
- 5) Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Sako M, Kaito H, Nozu K, Tanaka R, Iijima K, Yoshikawa N. Spontaneous remission in children with IgA nephropathy. Pediatr Nephrol. 2012;28:71-76
- 6) Ishikura K, Yoshikawa N, Nakazato H, Sasaki S, Iijima K, Nakanishi K, Matsuyama T, Ito S, Yata N, Ando T, Honda M; for the Japanese Study Group of Renal Disease in Children. Two-Year Follow-Up of a Prospective Clinical Trial of Cyclosporine for Frequently Relapsing Nephrotic Syndrome in Children. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7:1576-1583
- 7) Iijima K, Someya T, Ito S, Nozu K, Nakanishi K, Matsuoka K, Ohashi H, Nagata

- M, Kamei K, Sasaki S. Focal Segmental Glomerulosclerosis in Patients With Complete Deletion of One WT1 Allele. *Pediatrics*. 2012;129:e1621-5
- 8) Konno K, Nakanishi K, Hishikawa S, Tanaka H, Yoshikawa N, Yasuda Y, Kobayashi E, Lefor A. Cryo-preserved porcine kidneys are feasible for teaching and training renal biopsy: “the bento kidney” Transplantation Research 2012;1:5. doi:10.1186/2047-1440-1-5 Published online: 2 May 2012.
- 9) Hashimura Y, Kaito H, Nozu K, Shima Y, Nakanishi K, Iijima K, Yoshikawa N. Two cases of atypical membranoproliferative glomerulonephritis showing opposite clinical course. *CEN Case Rep* 2012;1:34-38 DOI 10.1007/s13730-012-0009-2 Published online: 10 April 2012.
- 10) Ohtsubo H, Morisada N, Kaito H, Nagatani K, Nakanishi K, Iijima K. Alport-like glomerular basement membrane changes with renal-coloboma syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:1189-92
- 11) Hama T, Nakanishi K, Shima Y, Mukaiyama H, Togawa H, Tanaka R, Hamahira K, Kaito H, Iijima K, Yoshikawa N. Renal biopsy criterion in children with asymptomatic constant isolated proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:3186-90
- 12) Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Hashimura Y, Kaito H, Sako M, Iijima K, Yoshikawa N. Validity of the Oxford classification of IgA nephropathy in children. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:783-92
- 13) 中西浩一, 吉川徳茂: 繊毛病 (Ciliopathy). *日本小児腎臓病学会雑誌* 2012;25(2):127-131
- 14) 中西浩一, 吉川徳茂. 遺伝性腎炎 (Alport 症候群). *小児疾患の診断治療基準 第4版 小児内科* 2012;44 増刊号:630-631
- 15) 中西浩一, 吉川徳茂 慢性糸球体腎炎 18章 腎・泌尿器・生殖器疾患 総編集 遠藤文夫 「小児科診断・治療ガイド」 中山書店 2012;673-679
- 16) 中西浩一, 吉川徳茂 多発性嚢胞腎 (小児) 編集 「腎と透析」編集委員会 「腎疾患治療マニュアル 2012-2013」 東京医学社 2012;445-449
- 17) 中西浩一, 吉川徳茂: ARPKD の基礎と臨床-最新の知見 特集: 多発性嚢胞腎-最新の知見と今後の課題. *日本腎臓学会誌* 2012;54(4):534-537
- 18) 戸川寛子, 中西浩一, 吉川徳茂: 髄質嚢胞腎 腎臓症候群 (第2版) - その他の腎臓疾患を含めて- 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 17:600-602, 2012.
- 19) 島友子, 中西浩一, 吉川徳茂 【小児の診療手技100】腎生検 小児科診療 (0386-9806) 75巻増刊 Page286-290 (2012. 04)
- 20) 中西浩一, 吉川徳茂, 服部元史: 常染色体劣性多発性嚢胞腎-疫学と臨床. 特集: 多発性嚢胞腎, 腎臓 2012;34(3):194-200
- 21) 中西浩一, 吉川徳茂 遺伝子診断の臨床応用-ネフローゼ症候群 小児内科 クローズアップ腎泌尿器 44(2):210-215, 2012
- 22) 中西浩一 遺伝性糸球体疾患 編集 日本小児腎臓病学会 小児腎臓病学 診断と治療社 2012;210-214
2. 学会発表
- 1) Ishimori S, Kaito H, Ohtsubo H, Hashimoto F, Ninchoji T, Kamioka I, Shima Y, Hamahira K, Nakanishi K, Tanaka R, Yoshikawa N, Iijima K: Clinicopathological characteristics and kidney outcome of childhood-onset lupus nephritis with acute kidney injury: from the multicenter study in Japan. The 45th ESPN Annual Meeting, September 6th - 8th

- 2012, Krakow, Poland
- 2) Yuko Shima, Koichi Nakanishi, Taketsugu Hama, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Shingo Ishimori, Hiroshi Kaito, Ryojiro Tanaka, Kazumoto Iijima, Norishige Yoshikawa. Histological Predictors of Treatment Efficacy in Severe Childhood IgA Nephropathy (IgAN): Validation of the Oxford Classification of IgAN (Ox C). 45th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.1-Nov.4, 2012 in San Diego, USA. JASN 23:193A
 - 3) Taketsugu Hama, Koichi Nakanishi, Hironobu Mukaiyama, Hiroko Togawa, Yuko Shima, Masayasu Miyajima, Hisahide Takahashi, Shizuko Nagao, Kazumoto Iijima, Norishige Yoshikawa. Possible Contribution of Fibrocytes to Renal Fibrosis in Cpk Mouse, a Model of ARPKD. 45th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.1-Nov.4, 2012 in San Diego, USA. JASN 23:596A
 - 4) Kenji Ishikura, Osamu Uemura, Shuichi Ito, Naohiro Wada, Motoshi Hattori, Yasuo Ohashi, Yuko Hamasaki, Ryojiro Tanaka, Koichi Nakanishi, Tetsuji Kaneko, Masataka Honda: The Pediatric-CKD Study Group in Japan. Progression to End-Stage Kidney Disease in Children with CKD: A Nation-Wide Cohort Study in Japan. 45th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.1-Nov.4, 2012 in San Diego, USA. JASN 23:684A
 - 5) Yuya Hashimura, Kandai Nozu, Hiroshi Kaito, Hiromi Ohtsubo, Fusako Hashimoto, Shingo Ishimori, Takeshi Ninchoji, Naoya Morisada, Koichi Nakanishi, Norishige Yoshikawa, Kazumoto Iijima. Genetical and Clinical Aspects of X-Linked Alport Syndrome in Males with Positive Staining of the alpha5(IV) Chain. 45th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.1-Nov.4, 2012 in San Diego, USA. JASN 23:33A
 - 6) Takeshi Ninchoji, Hiroshi Kaito, Kandai Nozu, Koichi Nakanishi, Norishige Yoshikawa, Kazumoto Iijima. Clinical Characteristics and Mutational Pattern of Genetically-Proven Gitelman's Syndrome. 45th Annual Meeting of the American Society of Nephrology, Nov.1-Nov.4, 2012 in San Diego, USA. JASN 23:437A
 - 7) <特別講演>中西浩一:エビデンスに基づく小児腎臓病治療を目指して～JSKDCの歩み～第5回宮城小児腎・泌尿器研究会 2012年5月25日 仙台
 - 8) <特別講演>中西浩一:エビデンスに基づく小児腎臓病治療を目指して 第52回新潟腎臓懇話会 2012年6月14日 新潟
 - 9) <教育講演>中西浩一:織毛病 プロフェッショナル5 第47回日本小児腎臓病学会学術集会 2012年6月29～30日 東京
 - 10) <講演>中西浩一:日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」について 学会主導企画2 第47回日本小児腎臓病学会学術集会 2012年6月29～30日 東京
 - 11) 中西浩一:ARPKDの病態・遺伝子診断 シンポジウム2 小児嚢胞性腎疾患の病因・病態の解明と診断・治療の進歩 座長兼任 第34回日本小児腎不全学会学術集会 2012年9月13～14日 洲本(兵庫県・淡路島)
 - 12) <特別講演>中西浩一:エビデンスに基づく小児腎臓病治療 Chiba Pediatric

Nephrology Forum 2012年10月18日 千葉

- 13) <特別講演> 中西浩一: 遺伝性ネフローゼ症候群と多発性嚢胞腎 第22回北海道小児腎臓病研究会 2012年10月20日 札幌
- 14) <特別講演> 中西浩一: アルポート症候群と多発性嚢胞腎 第11回弘前小児腎疾患フォー

ラム 2012年10月26日 弘前

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1. 特許取得
該当無し。
- 2. 実用新案登録
該当無し。
- 3. その他
該当無し。

患者さまおよび保護者のみなさまへ

本研究班では、「アルポート症候群の発症頻度等の全国調査」を実施しています。

医療の向上のためにあなた、あるいはあなたのお子様の診療録（カルテ）情報を使用させていただくことがあります。ご同意いただけない方は主治医までお申し出ください。

同意されないことをお申し出になられた場合でも、そのために治療を変更するなど、治療上の不利益を受けることは一切ありませんのでご安心ください。また、ご同意いただけない旨の申し出はいつでもできますので、主治医までお申し出ください。

アルポート症候群の発症頻度等の全国調査とは

アルポート症候群は進行性遺伝性腎炎で感音性難聴と特徴的眼病変を合併することがあり、若年末期腎不全の主な原因です。アルポート症候群の欧米での頻度は5000人に1人とされていますが、わが国での発症頻度は不明です。

そこで、本研究班では、わが国におけるアルポート症候群の患者数・発症頻度を把握するための全国調査を平成24年度厚生労働科学研究難治性疾患等克服研究事業の調査研究として実施する運びとなりました。なお、本研究は、和歌山県立医科大学倫理委員会の承認を得て行うものであります。

この調査の結果は最終的には厚生労働省へ報告され、基礎的疫学資料として使用されます。また、その結果が学会で発表されたり、論文として発表されたりすることがあります。

本調査では、全国の病院に勤務する小児科医、内科医に対するアンケート調査を実施します。NPO法人日本臨床研究支援ユニット（J-CRSU）よりアンケート用紙を対象となる小児科医、内科医に郵送し、FAXにて回答を得ます。アンケート内容は、アルポート症候群の診療の有無、患者数とその生年月、遺伝形式、性別、主な症状、家族歴、最終受診年月等です。得られたデータは、J-CRSUで収集された後、和歌山県立医科大学小児科にて解析します。

個人情報保護について

患者さまの個人情報を守ることは「個人情報の保護に関する法律」に定められています。従って、患者さまの診療録（カルテ）情報を使用させていただく際も、お名前などの個人を識別できる情報が第三者にわからないよう、法律を順守しながら十分な注意を払うことをお約束いたします。患者さんのプライバシーに関することは一切秘密とされ、外部に漏れることはありませんので、ご安心ください。

調査実施責任者： 和歌山県立医科大学小児科 中西浩一

ご意見、ご質問などがある場合は下記までお問い合わせください。

電話 073-447-2300 和歌山県立医科大学小児科



FAX 回答用紙 「アルポート症候群の発症頻度等の全国調査」

- ① アルポート症候群患者（別紙：診断基準参照）の診療の有無（過去3年間）をお答えください。
 あり (②の設問へ)
 なし (これで終了です)
- ② アルポート症候群患者さんの遺伝形式、生年月、性別、主な症状、家族歴の有無、おおよその最終受診日について記載してください。

No	家系	遺伝形式	生年月(西暦)	性別	主な症状	その他所見、コメント等
1	A	<input type="checkbox"/> XL	年 月	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 持続的血尿	<input type="checkbox"/> 腎炎・腎不全の家族歴
		<input type="checkbox"/> AR		<input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン遺伝子変異	
		<input type="checkbox"/> AD	最終受診月	家族歴	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン免疫組織化学的異常	<input type="checkbox"/> 特異的眼所見
		<input type="checkbox"/> 不明	年 月	<input type="checkbox"/> 有	<input type="checkbox"/> 糸球体基底膜特異的電顕所見	<input type="checkbox"/> びまん性平滑筋腫症
2		<input type="checkbox"/> XL	年 月	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 持続的血尿	<input type="checkbox"/> 腎炎・腎不全の家族歴
		<input type="checkbox"/> AR		<input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン遺伝子変異	
		<input type="checkbox"/> AD	最終受診月	家族歴	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン免疫組織化学的異常	<input type="checkbox"/> 特異的眼所見
		<input type="checkbox"/> 不明	年 月	<input type="checkbox"/> 有	<input type="checkbox"/> 肉眼的血尿歴	<input type="checkbox"/> 蛋白尿
3		<input type="checkbox"/> XL	年 月	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 持続的血尿	<input type="checkbox"/> 腎炎・腎不全の家族歴
		<input type="checkbox"/> AR		<input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン遺伝子変異	
		<input type="checkbox"/> AD	最終受診月	家族歴	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン免疫組織化学的異常	<input type="checkbox"/> 特異的眼所見
		<input type="checkbox"/> 不明	年 月	<input type="checkbox"/> 有	<input type="checkbox"/> 糸球体基底膜特異的電顕所見	<input type="checkbox"/> びまん性平滑筋腫症
4		<input type="checkbox"/> XL	年 月	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 持続的血尿	<input type="checkbox"/> 腎炎・腎不全の家族歴
		<input type="checkbox"/> AR		<input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン遺伝子変異	
		<input type="checkbox"/> AD	最終受診月	家族歴	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン免疫組織化学的異常	<input type="checkbox"/> 特異的眼所見
		<input type="checkbox"/> 不明	年 月	<input type="checkbox"/> 有	<input type="checkbox"/> 肉眼的血尿歴	<input type="checkbox"/> 蛋白尿
5		<input type="checkbox"/> XL	年 月	<input type="checkbox"/> 男	<input type="checkbox"/> 持続的血尿	<input type="checkbox"/> 腎炎・腎不全の家族歴
		<input type="checkbox"/> AR		<input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン遺伝子変異	
		<input type="checkbox"/> AD	最終受診月	家族歴	<input type="checkbox"/> IV型コラーゲン免疫組織化学的異常	<input type="checkbox"/> 特異的眼所見
		<input type="checkbox"/> 不明	年 月	<input type="checkbox"/> 有	<input type="checkbox"/> 糸球体基底膜特異的電顕所見	<input type="checkbox"/> びまん性平滑筋腫症

同一家系がわかるようにA、B、C・・・を記入ください。記載欄が不足の場合には、コピーしてください。下記の診断基準による「疑い例」も記入ください。X連鎖型女性キャリアの10%は無症候性です。万一ありましたら調査用紙に併せて記入ください。

ご所属

お名前

電話番号

FAX 番号

アルポート症候群診断基準

- 必須項目に加えて副項目の1項目以上を満たすもの。参考所見があればさらに診断が確実になる。
- 必須項目のみで副項目がない場合、参考項目が2つ以上あれば本症候群と診断する。
- 必須項目のみで家族が本症候群と診断されている場合は「疑い例」とする。
- 無症候性キャリアは副項目のIV型コラーゲン所見（II-1かII-2）1項目のみで診断可能である。

- I 必須項目： I-1 持続的血尿
- II 副項目： II-1 IV型コラーゲン遺伝子変異^{注1)}
II-2 IV型コラーゲン免疫組織化学的異常^{注2)}
II-3 糸球体基底膜特異的電顕所見^{注3)}
- III 参考項目： III-1 腎炎・腎不全の家族歴
III-2 両側感音性難聴
III-3 特異的眼所見^{注4)}
III-4 びまん性平滑筋腫症

注1) IV型コラーゲン遺伝子変異: *COL4A3*または*COL4A4*のホモ接合体またはヘテロ接合体変異, または*COL4A5*遺伝子のヘミ接合体(男性)またはヘテロ接合体(女性)変異をさす。

注2) IV型コラーゲン免疫組織化学的異常: IV型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖は糸球体基底膜だけでなく皮膚基底膜にも存在する。抗 $\alpha 5$ 鎖抗体を用いて免疫染色をすると, 正常の糸球体, 皮膚基底膜は線状に連続して染色される。しかし, X連鎖型アルポート症候群の男性患者の糸球体, ボーマン嚢, 皮膚基底膜は全く染色されず, 女性患者の糸球体, ボーマン嚢, 皮膚基底膜は一部が染色される。常染色体劣性アルポート症候群では $\alpha 3, 4, 5$ 鎖が糸球体基底膜では全く染色されず, 一方, ボーマン嚢と皮膚では $\alpha 5$ 鎖が染色される。注意点は, 上述は典型的パターンであり非典型的パターンも存在する。また, 全く正常でも本症候群は否定できない。

注3) 糸球体基底膜の特異的電顕所見: 糸球体基底膜の広範な不規則な肥厚と緻密層の網目状変化により診断可能である。良性家族性血尿においてしばしばみられる糸球体基底膜の広範な菲薄化も本症候群においてみられ, 糸球体基底膜の唯一の所見の場合があり注意を要する。この場合, 難聴, 眼所見, 腎不全の家族歴があればアルポート症候群の可能性が高い。また, IV型コラーゲン所見があれば確定診断できる。

注4) 特異的眼所見: 前円錐水晶体 (anterior lenticonus), 後嚢下白内障 (posterior subcapsular cataract), 後部多形性角膜変性症 (posterior polymorphous dystrophy), 斑点網膜 (retinal flecks) など。

アルポート症候群の発症頻度等の全国調査 方法と結果 (確定診断例)

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＝3年間(2010年～2012年)

対象施設＝以下の3層に分けて対象施設を設定

- ・ 病床数が200床以上の全国の一般病院の小児科
- ・ 特別施設1(腎臓、泌尿器、内分泌などの本疾患での受診が予想される科を持つ医療機関を抽出)
- ・ 特別施設2(小児腎臓病学会評議委員の所属する施設のうち、他の対象施設抽出基準に重複する施設を除いたもの)

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。

(特別施設層では対象施設数＝調査実施施設数)

- 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を用いて、対象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1/特別施設2
*病床数が200床以上の全国の一般病院の小児科の施設数は、2010年厚生労働省医療施設調査から得た。

推計の結果

3年間の患者数について、調査による報告数は392人であり、これが最小数である。

推計値は897人(95%信頼区間 740 - 1060人)である。

問題点

- 1) 推計の層の設定方法について、適切かどうか検討が必要
- 2) 重複症例について検討が必要

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*	1300	1039	79.9	602	57.9
特別施設 1	1250	1250	100	475	38
特別施設 2	6	6	100	5	83.3
計	2556	2295		1082	

*2010年医療施設(動態)調査による小児科を有する200床以上の一般病院1300施設

推計の層別、診療患者数	患者有り 施設数	総患者数
病床数が200床以上の一般病院の小児科	75	277
特別施設 1	56	109
特別施設 2	3	6
計	134	392

3年間の推定診療患者数	推計患者数	95%信頼区間	
		下限	上限
病床数が200床以上の一般病院の小児科	600	450	750
特別施設 1	290	220	360
特別施設 2	7	4	10
計	897	740	1060

アルポート症候群の発症頻度等の全国調査 患者数推計の方法と結果 (疑い例も含めた報告例全件)

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＝3年間(2010年～2012年)

対象施設＝以下の3層に分けて対象施設を設定

- ・ 病床数が200床以上の全国の一般病院の小児科
- ・ 特別施設 1(腎臓、泌尿器、内分泌などの本疾患での受診が予想される科を持つ医療機関を抽出)
- ・ 特別施設 2(小児腎臓病学会評議委員の所属する施設のうち、他の対象施設抽出基準に重複する施設を除いたもの)

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。

(特別施設層では対象施設数＝調査実施施設数)

- 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を用いて、対象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1/特別施設2
*病床数が200床以上の全国の一般病院の小児科の施設数は、2010年厚生労働省医療施設調査から得た。

推計の結果

3年間の患者数について、調査による報告数は515人であり、これが最小数である。

推計値は1182人(95%信頼区間 980 - 1380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
- 3) 重複症例について検討が必要

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 *	1300	1039	79.9	602	57.9
特別施設 1	1250	1250	100	475	38
特別施設 2	6	6	100	5	83.3
計	2556	2295		1082	

*2010年医療施設(動態)調査による小児科を有する200床以上の一般病院1300施設

推計の層別、診療患者数	患者有り 施設数	総患者数
病床数が200床以上の一般病院の小児科	83	343
特別施設 1	68	162
特別施設 2	4	10
計	155	515

3年間の推定診療患者数	推計患者数	95%信頼区間	
		下限	上限
病床数が200床以上の一般病院の小児科	740	570	910
特別施設 1	430	330	530
特別施設 2	12	9	15
計	1182	980	1380

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
（分担） 研究報告書

腎・泌尿器系の希少難治性疾患群に関する研究：Epstein症候群
研究分担者 関根孝司 東邦大学大橋病院小児科教授

【研究要旨】平成23年度4月より開始した「Epstein症候群の本邦での実態調査」を継続し、本年度、新規の9症例のMYH9異常症の解析をおこなった。同時にEpstein症候群の責任分子であるmyosin IIAの局在、腎障害機序について解析をおこなった。本年度の研究により、腎の希少難治性疾患であるEpstein症候群の「標準的診断・治療法」の道筋をつけると同時に、ネフローゼ症候群発症メカニズムの解明にもつながるものである。

A. 本研究の目的

1. Epstein症候群（MYH9異常症）の実態調査 および疾患概要の医療関係者への周知

Epstein症候群は、1) 巨大血小板性血小板減少症、2) 進行性腎機能障害、3) 感音性難聴を3主徴とする遺伝性難治性疾患である。

本研究の第一の目的は、Epstein症候群の本邦の罹患患者の実態、およびその遺伝子型について詳細に調査することである。

本症候群に関しては、本邦はもとより世界的にも疫学的な調査はされておらず、その頻度などは全く不明である。本小症候群は無治療では、思春期前に末期腎不全に至る可能性があり、正確な疫学を知ることが急務である。一方、Epstein症候群の実際の診療を担当する小児科医師、腎臓内科医、また血液専門医は、その実態（臨床、遺伝学）について知識に乏しく、多くの患者が適切な診断、治療がなされていない可能性がある。現在のこうした状況を打破し、この疾患についての臨床、疫学情報を収集、周知することが第一の目的である。

2. Epstein症候群の正確な予後予測と治療法の開発

本研究の第2の目的はEpstein症候群の正確な診断法の確立（血液塗抹標本の免疫染色、遺伝子解析）および治療法の開発である。

本症候群はgenotype-phenotype連関が極めて厳格であることが証明されつつあり、遺伝学的解析からその予後を正確に予測できる。特に腎機能障害の進行が早いことが予測されている遺伝子型（MYH9: R702変異、S96変異）をもつ患者に対して、研究代表者の関根はアンギオテンシン受容体拮抗薬（ARB）が著効することを示しており（Sekine et al. *Kidney Inter* 2010）、今後症例数を増やすことで、これまで治療法がないとされてきたEpstein症候群に対して、腎症の治療法の開発を目指す。

3. MyosinIIA異常による腎障害発生機序解明

Epstein症候群の責任分子はmyosinIIAであり、この分子異常により、糸球体上皮細胞障害が生じることを関根らはすでに実証している。Epstein症候群の病態の理解および、治療法の開発に向け、myosin IIA異常によりどのような機序で腎障害が発症するのかを解明する。

【厚生労働行政の課題との関連性および本研究の波及効果】

Epstein症候群は、急速に進行する腎機能障害を特徴とする難治性腎疾患であり、これまで検討し得た特に予後不良の遺伝子異常をもつ患者では、10代後半には腎不全に至る。今後、Epstein症候群の疾患概念が普及し、早期の治療介入を行えば、こうした患者の予後を大幅に改善できると考えている本症候群のような希少難治疾患の診断と治療法の確立は厚生労働事業の重要な役割の一つと考える。

さらに本研究は、慢性腎不全医療に対しての新たな可能性を有している。Epstein症候群の腎病態が巣状糸球体硬化症（FSGS）であることを研究代表者の関根らはすでに報告しており（*Kidney Inter* 2010）、さらにEpstein症候群の責任遺伝子であるMYH9は特発性巣状糸球体硬化症（以下FSGS）との関連が示唆されている唯一の遺伝子である。FSGSは最も難治な腎疾患の一つであり、透析導入に至る慢性腎炎（糖尿病性腎症、高血圧性腎症を除く）の最大の原因の一つである。現在の腎不全医療（特に慢性血液透析医療）にかかる費用は莫大で厚生労働行政の課題の一つともなっており、厚生労働行政においてFSGSの治療法の確立は焦眉の急である。本研究により、Epstein症候群の病態について分子レベルで明らかになれば、特発性FSGSの有効な治療法の開発につながる可能性がある。

B. 研究方法

1. 患者調査の継続

昨年度実施した大規模調査研究により、すでにEpstein症候群（*MYH9*異常症）データベースが構築されつつある。さらに本年度9症例の新規の*MYH9*異常症の解析を行った。

2. Epstein症候群の病態解明

本症候群は*MYH9*遺伝子がコードするmyosinIIAの異常によるが、myosinIIAの異常によりFSGSが発症するメカニズムは不明である。本年度は、ヒトおよびげっ歯類でmyosinIIA分子の役割、病態生理学的意義の解析をおこなった。

（倫理面への配慮）

＜個人情報、診療面の配慮＞

Epstein症候群を含む*MYH9*異常症が疑われる患者の遺伝子解析、末梢血解析などについては、すでに國島が名古屋医療センターにて倫理委員会の承認を受けている。特にEpstein症候群の発症が予測される遺伝子変異については、進行性腎機能障害また難聴の進行について患者の心理的側面に配慮した診療をおこなっていただけるように主治医に連絡をとっている。過去2年は、希望する患者さんについては、研究代表者の関根が病態や治療の可能性について詳しく説明している。

＜実験動物に対する配慮＞

Epstein症候群の病因・病態の解明には、動物実験は欠かせないが、動物の扱いについては動物取り扱いに精通した実験協力者が動物愛護について十分に配慮した上で研究を遂行する。

C. 研究結果

1. 患者調査の結果

本年度（2012年4月-2013年2月）には9症例の新たな*MYH9*異常症を解析し、臨床病態と分子異常の解析を行なった。

*MYH9*遺伝子尾部変異では難聴と腎炎の合併頻度は低いことが知られているが、比較的大きな一家系では10人の罹患者の内、7人に腎炎／腎不全を合併することが判り、腎炎発症におけるE1841K変異の一義的関連性が示唆された。*MYH9*異常症では血小板減少による軽度の出血傾向を呈するが、血栓傾向についての報告は成人例において2報ある。小児における脳血栓と思われる不全片麻痺を経験した。これらの事実は、*MYH9*異常症においては（恐らく大型血小板による物理的易塞栓傾向による）血栓傾向に対する注意も必要であることを示唆する。

2. myosin IIAの腎臓で局在および、ヒト・げっ歯類での病態解析

*MYH9*がコードするmyosinIIAについて

- 1) ヒト腎臓での発現部位の同定
- 2) ラットネフローゼモデル解析
- 3) ヒト蛋白尿患者での発現解析をおこなった。

以下、その結果である

1) myosinIIA分子が糸球体上皮細胞（podocyte）の細胞体および一次突起に分布し、二次突起に発現しないことを免疫電顕法、免疫抗体法を用いて証明した。

2) げっ歯類でのネフローゼモデルであるPAN腎症を用いて、myosinIIAの免疫性の評価をおこなった。

PAN投与後のラットでは、蛋白尿発症時期に一致してmyosinIIAの発現が低下し、myosinIIAをリン酸化するリン酸化MLCK発現も著しく限弱していた。

3) ヒトで蛋白尿を呈する病態のうち、FSGSおよびMCDの一部でmyosinIIAの発現が低下することを証明した。これらの結果は現在、英文誌に投稿中である。

D. 考察

本研究により、極めて稀とされていたEpstein症候群の疫学が明らかになり、これまで「巨大血小板減少症（May-Hegglin異常症）と診断されていた患者の相当数に腎機能障害を発症する患者（すなわちEpstein症候群）が存在することが明らかになりつつある。本年度の研究により、思春期頃に末期腎不全に至るR702変異やS96L変異の他、E1841K変異のようにこれまで予後が比較的良好と考えられていた変異でも中年期に腎不全を発症することが明らかになった。

本症の治療にはその病態生理の理解が必須であるが、Epstein症候群、FSGS、また動物ネフローゼモデルでもmyosinIIAの発現低下が生じていることが明らかになり、この事実はEpstein症候群の解析がFSGSの病態解明につながることを示唆する。

E. 結論

本年度の患者調査により、これまで比較的前後良好とされてきたE1841K変異によっても腎不全が進行することが示された。

さらにmyosinIIA異常の発現がEpstein症候群、ヒト特発性FSGS、PAN腎症でも同様の事象がおきていることが証明された。

これらの研究はEpstein症候群、さらにFSGSという最も難治なネフローゼ症候群の病態解明にも重要な意義を有する。

G. 研究発表

関根孝司：網羅的ゲノム解析、古典的生理学、単一
遺伝子疾患の統合的理解による腎疾患の病態解明
第96回 慈恵医大小児医学研究会 2012年7月21日

1. 論文発表

投稿中論文1件

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服事業）
分担研究報告書

Galloway-Mowat 症候群(腎系球体・脳異形成)の暫定診断基準策定と
新規治療開発に関する研究

研究分担者 塚口裕康 関西医科大学・第2内科

研究要旨 Galloway-Mowat 症候群は、腎系球体硬化症(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。平成22年のフィージビリティスタディで全国調査を行い、診療患者数は190例と推定されている。本研究ではこの実態調査の結果を踏まえて、暫定診断基準案を作成して班研究ホームページ(小児腎臓病学会ホームページにリンク)で公開した。本症ではまだ疾患遺伝子が見つかっておらず、より明確な診断基準や亜型分類を作成するために、ゲノム解析拠点と連携して次世代シーケンサによる疾患遺伝子の探索を行っている。さらに新しい治療の開発に向けて、患者特異的 iPS 細胞を樹立し病態モデルの作成や治療候補薬剤の探索に必要な研究基盤の整備を推進した。

研究協力者

- 松本直通 横浜市立大学・人類遺伝学・教授
- 加藤光広 山形大学・小児科学・講師
- 伊藤秀一 国立成育医療研究センター
腎リウマチ膠原病 医長
- 米田香織 熊本大学・生命科学研究部・小児科

未解決の問題と研究の必要性

- 1) **実態把握**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) 統一された**診断基準**がない。軽症成人例を含めた疾患概念の見直しと、疾患分子を基軸とした診断基準と亜型群の分類枠組みの作定が望まれる。
- 3) **根治的治療**がない。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。iPS 細胞をはじめ先端技術を活用した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。

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、腎系球体・脳異形成)は、腎系球体硬化症(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。

これまでの研究でわかっていること

- 1) **実態**：平成22年のフィージビリティスタディ(H22-一般-症例 027)で全国調査を行い、わが国の診療患者数は190例と推定されている。臨床所見と重症度が多彩であり、軽症例の見逃しや診断未確定が潜在する可能性も予想される。
- 2) **病態と原因**：全国調査では1-2割に家族集積があり、劣性遺伝が疑われる。本症では中枢神経と腎系球体に器官形成不全が共存し、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。

ギャロウェイモワト(Galloway-Mowat、腎系球体脳異形成)症候群

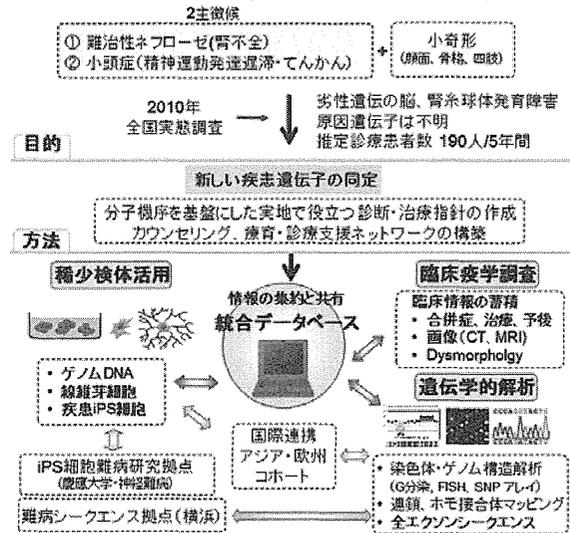


図1 研究の概略図 iPS 分化誘導と次世代シーケンサは共同研究拠点と連携して実施する。

A. 申請研究の目的 (図 1)

- 1) 診断基準策定: 平成 22 年度全国疾患実態調査を反映した暫定診断基準案作成し、研究班や学会のホームページに公開し、コンセンサスがえられるように意見交換を行う。
- 2) データベース構築: 班研究で得られた患者情報の臨床所見(脳 MRI、腎病理、形態特徴、自然歴、予後)の統合データベースを作成する。
- 3) 疾患遺伝子同定: ゲノム解析拠点と連携して、診断の確定根拠となりえる疾患遺伝子変異を同定する。
- 4) 新規治療法の開発: iPS 細胞研究拠点と連携して、疾患 iPS 細胞を作成し、創薬探査、細胞治療に役立つ研究基盤を構築する。
- 5) 疾患相談・福祉支援の充実化: 班研究の疾患情報を効率よく医療相談・養育指導・福祉支援に還元するために、カウンセリウング体制を構築し、連携を推進するコメディカル育成を行う。

B. 研究方法

- 1) 診断基準策定: 平成 22 年度のフィージビリティスタディで行った全国疾患実態調査(1560 施設、回収率 64%)の結果を基に、本疾患の診断に有用な症状・検査所見を抽出整理し、過去の文献情報も加味して暫定診断基準を作成した。
- 2) データベース構築: 全国調査で「患者あり」の情報の得られた 47 施設・患者数 70 名の中から症例を抽出し(図 2)、2 次調査票を送付した。臨床所見の詳細(自然歴、予後など)を調査するとともに、脳画像診断(CT, MRI)、腎生検組織について、研究協力者(加藤、伊藤)と所見の見直しを行った。また一次調査で把握できていない症状: 頭囲(出生時、経過)、てんかん脳波の鑑別、発達遅滞の程度(IQ/DQ)、四肢(クモ状指)や骨格(低身長、側彎)等、の頻度を確認した。
- 3) 疾患遺伝子同定: ゲノム解析拠点(横浜市立大学・松本)と連携して、検体収集の終了した 10 症例について、次世代シーケンサ HiSeq2000 による全エクソーム解析(paired-end, 75 bp, 断片長 200bp, 解読量 6Gb)を行った。また必要に応じて染色体分染色法(G-band)や細胞遺伝学マイクロアレイ(CytoSNP-12)による構造異常の解析を行った。
- 4) 新規治療法の開発に向けた疾患 iPS 細胞樹立: 研究分担・協力者(仲里、米田)とともに患者線維芽細胞を採取後、Fusaki らの方法を基に初期化 4 因子を Sendai Virus (SeV) vector に組み込みトランスフェクションした。継代 7 でウイルス除去処理として 38°C 培養をした後、継代 9 で PCR 法を用いて SeV 陰性化を確認した。最終的に継代 12 の 3 コロニーを凍結保存した(熊本大学発生医学研究所)。
- 5) 疾患相談・福祉支援の充実化: 研究班に寄せられた疾患情報(疫学、病態、予後など)を効率よく医療相談・養育指導・福祉支援に還元するための総説、ホームページを作成した。またカウンセリウング実施に

必要な基礎資料を収集、整理を行った。

(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. 結果

1) 暫定診断基準策定

診断に必須である臨床症状主項目 2 つ(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)と、副項目 1 つ以上を満たす場合に本症と診断する案をまとめ、班研究ホームページに公開した(<http://www.med.kobe-u.ac.jp/sgridk/>)。さらに日本小児腎臓病学会のホームページ(<http://www.jspn.jp/>)にもリンクすることにより、より多くの診療医と情報交換ができるようにした(別添資料 1)。

2) 疾患データベースの構築

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)に重点を絞り比較検討した。脳 MRI あるいは CT 画像の得られた 10 例について検討したところ、髄鞘化遅延あるいはびまん性の低形成(simplified gyral pattern)を示す例が多く、脳回形態に明かな変化を来す皮質形成異常を示す症例は 2 例のみであった。なお大脳だけでなく小脳の低形成も約 1/3 の症例にみられた。難聴は 2 例にみられたが、眼症状(白内障、網膜)はなかった。形態特徴(顔面、四肢)について syndrome finder 等のデータベースを用いて、他の症候群との鑑別リストを作成した。ほぼ全例に小頭症に伴う耳介低位、高口蓋、小下顎を認めしたが、疾患特異的な所見はなかった。また手指については、一般にクモ指、偏位などの小奇形がほとんどで、約 1/4 程度の症例に認めた。

腎生検実施例の組織所見の多くが巣状分節性糸球体硬化を示し、本症では係蹄構造の破綻、特にポドサイト傷害が腎障害の基本病変である考えられる。また一部の症例では mesangiolysis 所見がみられ、内皮傷害も病態形成に関与するものと推測される。

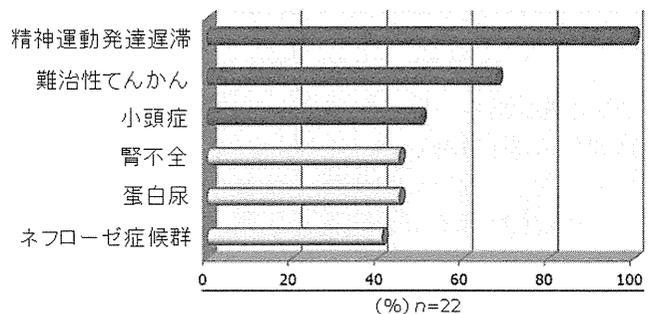


図 2 本症における主要臨床症状の出現頻度
平成 22 年全国調査で一次調査票に回答を得た 22 症例の臨床症状の頻度を示した。現在この情報を基に 2 次調査を行っている。

3) 疾患遺伝子同定

G-band や細胞遺伝学マイクロアレイ(CytoSNP-12)解析では、疾患特徴的な構造異常は認めなかった。2症例はホモ接合体マッピングが可能で候補領域を推定できた。うち1家系(Nakazato, 2002)には、10 Mb に渡る長いホモ接合体の候補領域を確認したが、欧米で報告されている疾患領域とは異なっていた。他の症例は孤発性あるいは家系構造があっても小さく(罹患者2名)、連鎖解析を用いた疾患遺伝子の位置決めが難しかった。

そこで8家系(図3)について全エクソーム解析を行い、少なくとも患者2名以上に共通する原因変異がないかを検索した。疾患遺伝子座(*GMS-2*)が判明している家系について、候補領域内5-6 Mbにある候補遺伝子の変異解析を行った。現在疾患の原因のなりえる遺伝子の変異について、病的意義を検討中である。

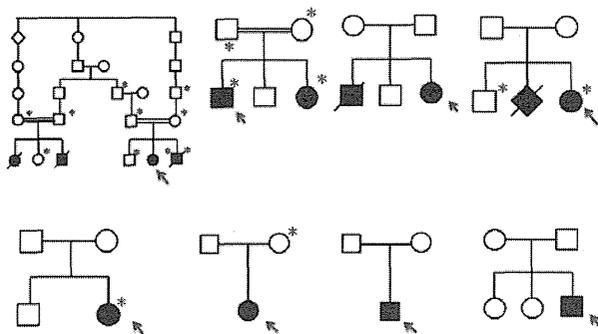


図3 全エクソーム解析を行った8家系
上段劣性遺伝、下段は孤発性である。

4) iPS細胞樹立と治療開発基盤の整備

まずGMS患者1名(12歳女児)の皮膚線維芽細胞iPS細胞の樹立を行った。単離したクローンについてリプログラミングの効率を、未分化マーカーの発現を免疫染色(*Nanog*, *OCT3/4*, *SSEA4*, *TRAI-60*)及びRT-PCR法(*GDF3*, *REX1*, *Sal4f*,等)で確認した。患者線維芽細胞とiPS細胞3クローンを凍結保存した。患者iPS細胞から疾患モデルを作成し創薬、細胞治療開発へと展開を図るには、幹細胞から疾患主座となっている系譜、すなわち大脳皮質ニューロンや腎前駆細胞への分化誘導が必要である。そこで研究代表者(飯島)および分担者(塚口、仲里、米田)が共同で、平成24年度再生医療の実現化プロジェクト・疾患特異的iPS細胞を活用した難病研究・「疾患特異的iPS細胞技術を用いた神経難病研究」(代表者：慶應義塾大学医学部 生理学教室教授 岡野栄之教授)の中の分担課題「Galloway-Mowat症候群の患者iPS細胞を用いた新しい診断・治療開発」を提案し採択された。次年度から上記共同研究拠点と連携し、神経系への分化誘導を開始するため

の打ち合わせを行った。

5) 疾患相談・福祉支援の充実化

研究班ホームページ開設とともに、疾患問い合わせも増えており、分担者(塚口)自身も臨床遺伝専門医を取得し、適切なカウンセリングが提供できるように準備を進めた。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、多分野の医療・支援スタッフ間の情報共有が不可欠である。相談に応じ、福祉サービスと連携を図るには、コメディカルでも理解できる基礎資料が必要になる。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。その一部はホームページに掲載したが、班研究で得られた情報を基に、随時疾患情報、病因、予後、治療法などを更新し充実化していく予定である。

D. 考察

1) 診断基準の策定について 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する重症例であった。本研究班の予備調査では、1-2歳で死亡する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。また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単状糸球体硬化(FSGS)が特徴とされていたが、それ以外にも内皮障害によるメサンギウム増殖関与しうる可能性があり、今後症例の蓄積が望まれる。

そこで暫定診断基準策定のポイント(別添資料2)。として、① 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。今回暫定診断基準を、班研究ホームページを学会ホームページとリンクして公開した。今後より実用性の高い基準となるように意見交換を進めて行く。並行して進めている疾患ゲノム解析で原因が判明すれば、原因分子を基軸にした亜型分類が可能になり、診断基準をより明確化できると思われる。今後診断基準の普及により診療、療育、福祉支援スタッフ間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) 疾患遺伝子の探索

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らない。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。症例の1-2割に家族集積があるが、両親は健常であり劣性遺伝が疑われる。また発症に民族差が少なく、新生変異で発症する可能性も考えられる。すでに本研究班でも次世代シーケンサを用いたHiSeq2000を用いた患者エクソーム解析を開始し原因遺伝子の同定を目標に解析を進めている。うち1家系(Nakazato, 2002)では候補領域は10 Mb以下に絞られている。しかし初回のエクソーム解析の条件(SureSelect version 3, 50Mb, 75 bp paired-end, 解読量6Gb)では、他の家系にも共通する疾患変異は認めなかった。

原因としては、①疾患遺伝子が2次構造などをとりCaptureされにくい、②次世代シーケンサがショートリードであるため検出が困難(exon欠失、重複、Indels等)、③疾患遺伝子に多様性がある、④エピゲネティックな機序の関与、などが考えられる。現在、①家系サンプルの追加(両親、同胞)、②国際共同研究で家系を増やす、③全ゲノムシーケンスを行う、④候補領域の遺伝子について断片長を長くとり、かつdepthも上げて解読できるMiSeqシーケンサを用いて解析しなおす、等の対策を考えている。

3) iPS細胞を用いた治療開発基盤の整備

本症は脳神経と腎糸球体の2カ所に発達障害が起こることが特徴であり、新たな診断・治療法の開発にはこの2組織に共通する疾患機序の解明が必要である。しかしながらこれまでの既存のアプローチでは、病因の解明に至っていない。今回作成したiPS細胞を用いて疾患モデリングを行い、解明の突破口としたい。具体的にはまず分化誘導技術が進んでいる神経系について、分化誘導拠点と連携して患者iPS細胞をニューロン・グリアへと誘導し、病因に関わる生物経路の探索を計画している(図4)。

臨床的にGMSで見られる脳皮質形成異常は、神経前駆細胞のびまん性分裂・遊走障害に基づくと考えられる。画像診断では小頭症(単純化脳回)、あるいは白質髄鞘化遅延を呈する例が多い。障害される部位やニューロンの種類は特定できず、疾患のマーカーになる沈着物もない。したがってまず、患者細胞の機能、形態、トランスクリプトームの特徴を把握することが、疾患機序を知るために大切と考える。

腎は構成細胞の数が多く、複雑な構造を取るため他の臓器に比して研究は遅れている。まず神経細胞で得られる情報を参考に、可能であればネフロン前駆組織(comma, S shape body等)までを試験管内で誘導する系を確立し、患者で見られる糸球体

発達異常の分子機序を明らかにする一助にしたい。

4) 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。本研究の疾患情報(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思われる。

E. 結論

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。当研究班により初めてGM症候群の組織的な疾患研究が実現した。これまでの個人研究では困難であった、検体収集、ゲノム解析、疾患支援までを班組織が一体となり体系的に実施することが可能となり、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きている。特に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、本研究班でも解析拠点と連携して解析を開始した。今後、得られた疾患情報や成果を効率良く臨床へと橋渡しし、医療福祉支援の施策向上に貢献できるよう、事業の推進に努力したい。

F. 研究発表

- 論文発表
- Kimata T, Tsuji S, Yoshimura K, **Tsukaguchi H**, Kaneko K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-related glomerulonephritis in a child. *Pediatr Nephrol.* 27(11):2149-2152, 2012
- 塚口裕康** Galloway-Mowat 症候群(脳・腎糸球体異形成) 別冊 日本臨床 腎臓症候群(上): page 411-419, 2012
- 塚口裕康** ゲノムからみた慢性腎臓病の発症分子機序解明へのアプローチ 細胞 44(5):20-26, 2012 査読無
- 塚口裕康**, 飯島一誠、仲里仁史、服部元史、伊藤秀一、小崎里華 難治性疾患克服事業(奨励研究)「Galloway-Mowat 症候群診断基準作成

のための実態調査(H22 -難治-一般-027)」平成22年度成果報告書 厚生労働科学研究成果データベース

<http://mhlw-grants.niph.go.jp/index.html> ; 201024083A). 研究班ホームページ

http://www.cis-trans.org/kobe_ku/research.html

2. 学会発表

- 1) 塚口裕康、金子一成、木全貴久、佐藤秀典 発達遅滞と無眼球症を主徴としたモザイク型16番染色体長腕トリソミーの一例 2012年10月27日 第57回日本人類遺伝学会、京王プラザホテル
- 2) **Hiroyasu Tsukaguchi** 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research. "Molecular Genetics of Proteinuric Disorders", Seoul, Korea, May 16-18, 2012
- 3) 塚口裕康 日本小児科学会 シンポジウム招待講演 「遺伝性・症候性ネフローゼ症候群の遺伝子解析」 2012年4月20日 福岡国際会議場
- 4) 塚口裕康 日本小児腎臓病学会 招待教育講演 「ネフローゼの原因遺伝子探索」 2012年6月30日 都市センターホテル
- 5) 後藤眞, 成田一衛, 塚口裕康, 井ノ上逸朗, 成田一衛 次世代シーケンサーを用いた腎臓病研究 2012年6月1日、第55回 日本腎臓学会 学術総会 パシフィコ横浜
- 6) Goto S, Hosomichi I, **Tsukaguchi H**, Inoue I, Narita I. Exome sequencing identifies a novel *EEA1* variant in Japanese familial IgA nephropathy (Abstr). ASN Renal Week 2012, November 1st, San Diego, USA 査読有

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

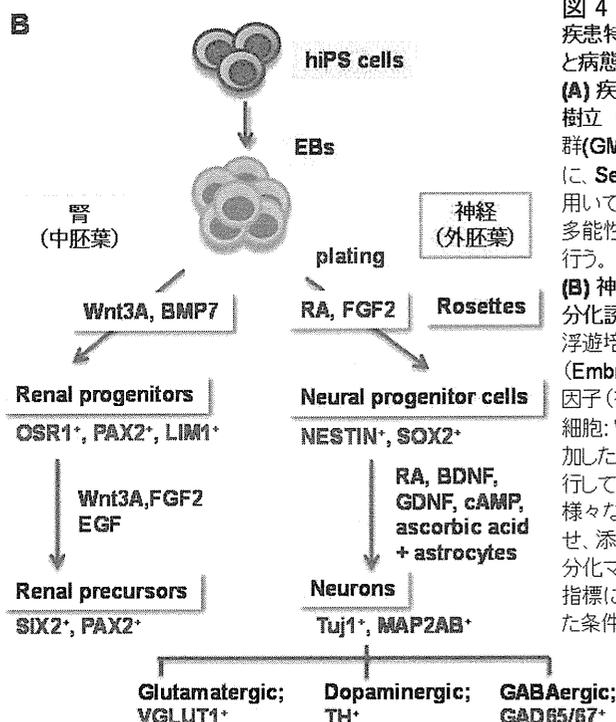
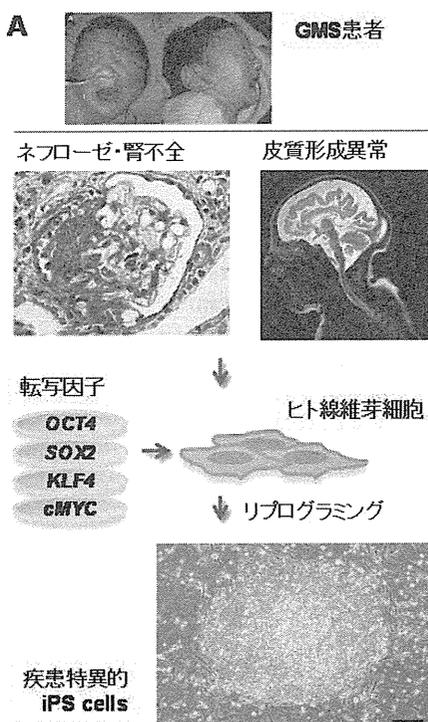


図4 疾患特異的iPS細胞の樹立と病態モデリング (A) 疾患特異的 iPS細胞の樹立 Galloway-Mowat症候群(GMS)患者の線維芽細胞に、Sendai Virus Vectorを用いて山中4因子を導入し、多能性幹細胞への初期化を行う。(B) 神経と腎前駆細胞への分化誘導戦略 浮遊培養で形成されるEBs (Embryoid Bodies)に誘導因子(神経系: RA、腎前駆細胞: Wnt3A, BMP7)を添加した後、付着培養へと移行して分化誘導を行う。様々な誘導因子の組み合わせ、添加濃度、期間を用い、分化マーカー発現(赤字)を指標に分化誘導に最も適した条件を設定する。