

FAX: 03-5297-6259

FAX 回答用紙 「尿細管性アシドーシスの全国疫学調査」

- ① 尿細管性アシドーシス（別紙の対象基準に該当するもの）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 患者さんの診断名、他施設への紹介の有無について記載してください。

患者	家系	診断名	他施設への紹介
1	A	<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし
2		<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし
3		<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし
4		<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし
5		<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし
6		<input type="checkbox"/> 遠位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> 近位尿細管性アシドーシス <input type="checkbox"/> Ⅲ型 RTA <input type="checkbox"/> 他（                      ）	<input type="checkbox"/> あり  (施設名：                      )  <input type="checkbox"/> なし

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。

ご所属

お名前

電話番号

FAX 番号

## 本調査の対象疾患

### ●遠位尿細管性アシドーシス（Ⅰ型 RTA）

アニオンギャップ正常の代謝性アシドーシスで、酸負荷試験の実施の有無に関わらず、明らかなアシドーシス存在下の尿 pH が 6.0～6.5 以上である。腎結石/石灰化や感音性難聴の合併頻度が高い。

### ●近位尿細管性アシドーシス（Ⅱ型 RTA）

アニオンギャップ正常の代謝性アシドーシスで、アシドーシスを十分に補正した後の尿中重炭酸排泄分画\*が 15%以上である。典型的には、白内障、緑内障、帯状角膜変性などの眼症状を呈する。

### ●Ⅲ型 RTA

アニオンギャップ正常の代謝性アシドーシスで、Ⅰ型とⅡ型の両方の要素をもつ。Carbonic anhydrase II の異常（大理石骨病の一部）では脳内石灰化や精神発達遅滞を伴う。

### 本調査の対象外の疾患（病態）

- ・ Fanconi 症候群、Lowe 症候群、偽性低アルドステロン症の部分症状であるもの
- ・ 二次性の RTA（シェーグレン症候群、腎移植後など）
- ・ 下痢
- ・ アセタゾラミドの使用

\*尿中重炭酸排泄分画＝（血清クレアチニン[mg/dL]×尿中重炭酸[mmol/L]）×（尿中クレアチニン[mg/dL]×血清重炭酸[mmol/L]）×100（%）

## 尿細管性アシドーシスの全国疫学調査 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(腎臓科、泌尿器科、内分泌科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(小児病院、小児腎臓病学会評議委員の所属する施設など、本疾患での受診が予想される科を持つ医療機関を抽出)

### 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 88 人であり、これが最小数である。

推計値は 189 人(95%信頼区間 150 - 230 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	1028	79.1	634	61.7
特別施設 1	1247	1247	100	416	33.4
特別施設 2	40	40	100	33	82.5
計	2587	2315		1083	

\*2010 年医療施設（動態）調査による小児科を有する一般病院 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		
	37	47
特別施設 1		
	21	25
特別施設 2		
	10	16
計	68	88

3 年間の推定診療患者数	95%信頼区間		
	推計患者数	下限	上限
病床数が 200 床以上の一般病院の小児科	100	70	130
特別施設 1	70	40	100
特別施設 2	19	14	24
計	189	150	230

厚生労働科学研究費補助金（平成 24 年度厚生労働科学研究難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

難治性尿細管疾患（ネフロン癆）に関する研究  
分担研究者 竹村 司 近畿大学小児科 教授

（研究要旨）

ネフロン癆は、小児末期腎不全による透析原因として、約 4~5% を占める疾患である。これまでに全国から、「髓質中心の嚢胞があり拡張した尿細管と間質障害、硬化糸球体の出現」という組織学的特徴と「尿所見が軽微にもかかわらず腎機能が、比較的若年で進行する」といった臨床的特徴とを兼ね持ったネフロン癆疑いの患者 21 名（2 歳~24 歳）の遺伝子解析を実施した。方法は、Salomon らのアルゴリズムを一部改編したプロトコールで実施し、*NPHP1* に *NPHP4* を加え、また思春期ネフロン癆の原因遺伝子である *NPHP3*、乳児ネフロン癆の遺伝子である *NPHP2* についても解析した。その結果 *NPHP1* に異常を有するものが 6 例（large deletion 4 例、partial deletion 1 例、E677Q 1 例）で、全体の 28.5% を占めた。この頻度は、欧米での報告（30~40%）と比べてほぼ同程度であったが、日本人の *NPHP1* の異常は、large deletion によるものが多かった。もう一つの若年型の遺伝子である *NPHP4* では、2 例が IVS-20T>A、1 例が D886G の変異であり、全体の 14.2% であった。*NPHP5* は、兄弟例で 2 名の partial deletion を認めた（10.5%）。一方、これまで乳児型の責任遺伝子として認識されてきた *NPHP2* の異常が、24 歳の男性で、5'-UTR の promoter 領域に変異があることを突き止めた。また、興味あることに、*NPHP1* の exon 16: G547\* と exon 1: S80L をそれぞれ 1 つずつ有する compound heterozygote（16 歳、男児）と *NPHP3*（A150V: exon2）と *NPHP4*（D1089G: exon23）の compound heterozygote の存在も明らかになった。現在のところ、これら *NPHP* に異常を認めたものは、計 13 名であり、全体の 61.9% であり、約 40% 症例では、臨床組織学的にネフロン癆が疑われても、解析した *NPHP* に異常を認めないものであり、未知の遺伝子である可能性、また異なった疾患を解析している可能性が示唆された。最近になり、乳児型の遺伝子である *NPHP2* が思春期ネフロン癆患者に compound heterozygote として認められる報告や、異種の *NPHP* 遺伝子異常を 1 つずつ有する compound heterozygote が存在することも報告され、日本人のネフロン癆患者でも同様なパターンが存在することを突き止めた。

## A. 研究目的

ネフロン癆は、腎髄質に嚢胞形成を認める疾患の代表であり、組織学的には進行性の硬化、硝子化糸球体を伴う尿細管間質性腎炎像を呈する。*NPHP1* は若年性ネフロン癆の主責任遺伝子であり、nephrocystin 分子をコードする。Nephrocystin は、腎では尿細管上皮細胞の primary cilia の transition zone に存在し、focal adhesion kinase 2、tensin、p130Cas、filamin などと連携する docking protein として細胞対細胞、細胞対細胞外マトリックスのシグナル伝達にかかわるとともに、actin-cytoskeleton の制御により、腎尿細管上皮細胞の細胞極性に関する役割も併せ持つ。したがって、nephrocystin 分子に異常を生じると、細胞と細胞外マトリックスとのシグナル伝達、細胞間接着、細胞骨格、細胞極性や cilia の機能、細胞内情報の核内への移行に障害が生じ、腎尿細管上皮の構造的・機能的障害を引き起こすことが推察される。欧米諸国での報告では、若年性ネフロン癆患者の約 60～70% の症例で *NPHP1* の欠失や遺伝子変異などの異常が発見される。また欧米では、本症が疑われた場合は、まず *NPHP1* と *NPHP4* の遺伝子解析が行われ、異常が認められた場合には通常確認のための腎生検は行われない。一方、我が国では、遺伝子診断が浸透しておらず、確定診断のために腎生検が実施されることが多い。しかも、腎生検が実施される時期は、本症の進展期～末期であるため、診断はついても、進行を遅らせる処置すら実施できない。その上、小児期末期腎不全者における本邦における本症の占める頻度さえ、いまだ詳細が不明である。この研究では、(1) 日本全国規模における若年

性ネフロン癆の患者実態の把握、(2) 小児期末期腎不全者における本症の占有率の推定、(3) 日本人若年性ネフロン癆患者における責任遺伝子の調査と解明、(4) 早期遺伝子学的診断法の導入と腎生検の回避、を目的として立案した。

## B. 研究方法

1. 文書でのインフォームドコンセント、院内倫理委員会での承認を得て、患者より DNA サンプリングを行った（倫理面への配慮）。
2. 患者より、末梢血を採取し、フィコールパークにて白血球を分離した後、ゲノム DNA を得る。方法は、Salomon らのアルゴリズム (Pediatr Nephrol 2009) を一部改編したプロトコールで実施し、*NPHP1* に加えて *NPHP4* を加え、また思春期ネフロン癆の原因遺伝子である *NPHP3*、乳児ネフロン癆の遺伝子である *NPHP2* についても解析した。
3. 得られた PCR 産物は、ダイレクトシーケンシング法で配列と遺伝子変異を検討する。
4. 患者実態調査の整理を行う。初期症状、発見（診断時）年齢、末期腎不全に至る期間、全小児期末期腎不全に占める本症の割合について検討する。
5. 得られた解析データを基に、日本人若年性ネフロン癆患者の責任遺伝子の実態の解明、欧米諸国との遺伝子学的相違、また、症状や末期腎不全移行時期の差などを明らかにする。

## C. 研究結果

*NPHP1* に異常を有するものが 6 例 (large deletion: 4 例、partial deletion: 1 例、E677Q: 1 例) で、全体の 28.5% を占

めた。この頻度は、欧米での報告 (30~40%) と比べてほぼ同程度であったが、日本人の *NPHP1* の異常は、large deletion によるものが多かった。もう一つの若年型の遺伝子である *NPHP4* では、2 例が IVS-20T>A、1 例が D886G の変異であり、全体の 14.2% であった。*NPHP5* は、兄弟例で 2 名の partial deletion を認めた (10.5%)。一方、これまで乳児型の責任遺伝子として認識されてきた *NPHP2* の異常が、24 歳の男性で、5'-UTR の promoter 領域に変異があることを突き止めた。また、興味あることに、*NPHP1* の exon 16: G547\* と exon 1: S80L をそれぞれ 1 つずつ有する compound heterozygote (16 歳、男児) と *NPHP3* (A150V: exon2) と *NPHP4* (D1089G: exon23) の compound heterozygote の存在も明らかになった。

#### D. 考察

現在のところ、これら *NPHP* に異常を認めたものは、計 13 名であり、全体の 61.9% であり、約 40% 症例では、臨床組織学的にネフロン癆が疑われても、解析した範囲内の *NPHP* に異常を認めないものであり、未知の遺伝子である可能性、また異なった疾患を解析している可能性が示唆された。最近になり、乳児型の遺伝子である *NPHP2* が思春期ネフロン癆患者に compound heterozygote として認められる報告や、異種の *NPHP* 異常を 1 つずつ有する compound heterozygote が存在することも報告され、日本人のネフロン癆患者でも同様なパターンが存在することが示唆された。ネフロン癆の主責任遺伝子である *NPHP1* の異常は、欧米に比べて点変異が少なく、むしろ large deletion、partial

deletion が多かった。腎外症状としての眼病変は、同じ deletion を示す症例でも、存在するもの、しないものと一定の傾向がなく、その理由についてはいまだ不明である。また、*NPHP4* は、家族間の関連のない 2 例で IVS-20T>A を認めたことから、日本人における hot spot である可能性もある。

#### E. 結論

全国から、「髓質中心の嚢胞があり拡張した尿細管と間質障害、硬化糸球体の出現」という組織学的特徴と「尿所見が軽微にもかかわらず腎機能が、比較的若年で進行する」といった臨床的特徴とを兼ね持ったネフロン癆疑いの患者 21 名 (2 歳~24 歳) の遺伝子解析を実施した。その結果、わが国でも欧米と同じく、*NPHP1* に異常を有するものが全体の 28.5% を占めた。また、同一 *NPHP* 遺伝子間、異なる *NPHP* 遺伝子をまたがる compound heterozygote が欧米での報告と同様に、わが国にも存在することが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

なし (総括研究報告書を参照)。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 竹村 司:「ネフロン癆・腎髓質嚢胞」 小児腎臓病学 日本小児腎臓病学会編集 診断治療社 東京 P. 245~248
- 竹村 司:「ネフロン癆」 腎疾患治療マニュアル 2012-2013 酒井 紀 編集 東京医学社 東京 P. 433~436
- 竹村 司:「学校検尿の限界」 日本小児科医会会報、第 44 号 日本小児科医会編

集 P.123～125

## 2. 学会発表

- 第 34 回日本小児腎不全学会（平成 24 年 9 月 13～14 日）神戸

シンポジウム 小児嚢胞性腎疾患の病因・病態の解明と診断・治療の進歩「ネフロン癆（NPH）の末期腎不全への進行と腎尿細管基底膜の異常」 杉本 圭相・竹村 司

- 第 29 回中国四国小児腎臓病研究会（平成 24 年 11 月 18 日）米子

特別講演「ネフロン癆の末期腎不全への進行と腎尿細管基底膜の異常」 竹村 司

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



### 腎性低尿酸血症の全国の実態把握

研究分担者 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性がある。

申請者らは、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、申請者らの研究により、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。申請者らは、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いる。

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の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の解析を実施した。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するとともに、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た。本研究事業の成果として、今後近い将来に於いて新たな原因遺伝子が明らかになるとともに、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。

## 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、本疾患に関する情報を集積し、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す。

申請者らは、腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子が、それぞれ *URAT1* (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、申請者らの解析によって、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、申請者らは、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数の解析を積み重ねてきた。申請者らはさらに、多施設間研究を展開することにより、最近、ABCG2が尿酸排泄輸送体として重要な機能を握っていることが見出しており、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

これまでの申請者らの研究から、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。

本研究は下記の研究協力者他、多くの先生方との共同研究として実施した。

市田公美 東京薬科大学 教授  
久留一郎 鳥取大学 教授  
浜島信之 名古屋大学 教授  
檀上稲穂 理化学研究所 研究員  
松尾洋孝 防衛医科大学校 講師  
高田龍平 東京大学病院 講師

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 *URAT1* 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、申請者らを中心として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 ( *URAT1/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、直接シーケンス法のみでなく、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、申請者らの研究では、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、申請者らは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。

申請者らは、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(尿酸トランスポーター遺伝子: 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ポーター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。申請者らの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・遺伝子解析研究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

## 図1 関連学会員への 1次アンケート調査

**腎性低尿酸血症**(血清尿酸値 $\leq 2.0$  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  $2.1 \sim 3.0$  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**

配属医ご氏名

施設及び

診療科名

施設ご住所 〒

お電話番号

Eメール

ご協力ありがとうございました。

石の合併は 6.1% (11 例)であった(業績105)。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  $2.0 \sim 3.0$  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(*URAT1*, *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論文報告した。

これまでに申請者らは、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

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

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、申請者らが報告した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。

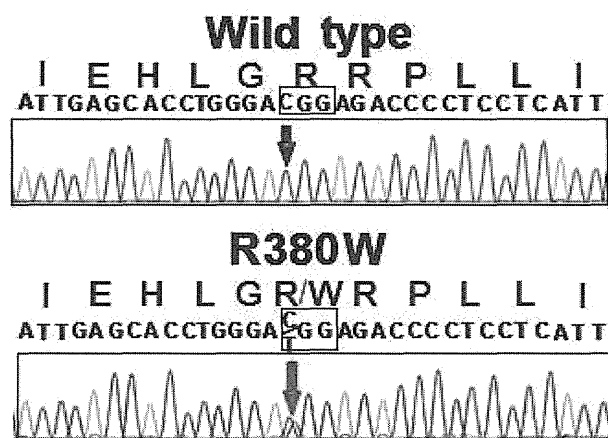


図2 低尿酸血症症例における *GLUT9* 遺伝子の変異

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)

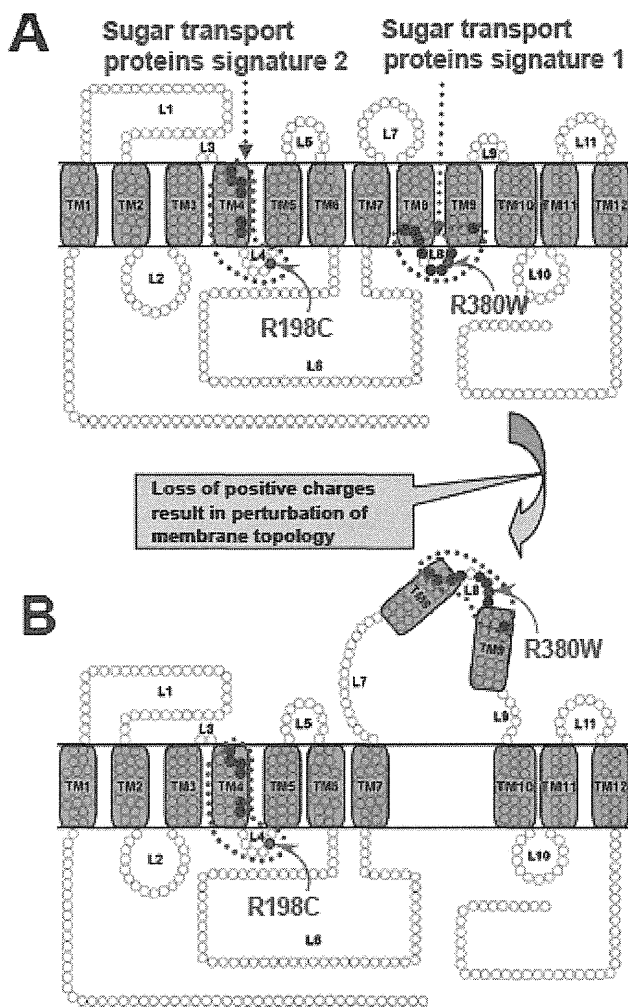


図 3 GLUT9 病変変異による細胞質内アンカー機能不全

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、同部位のアルギニン残基は、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 2 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 22) 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

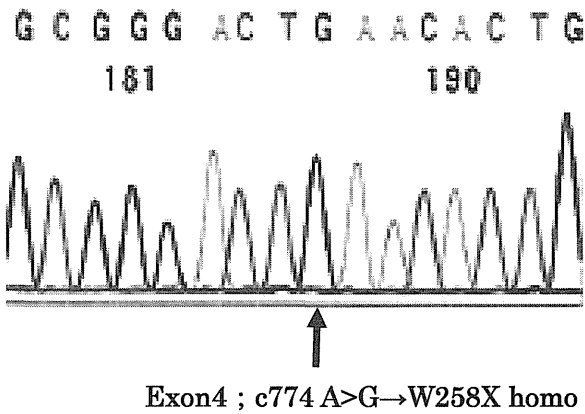


図4 運動後急性腎不全をきたした腎性低尿酸血症症例における *URAT1* 遺伝子変異

である。  
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。

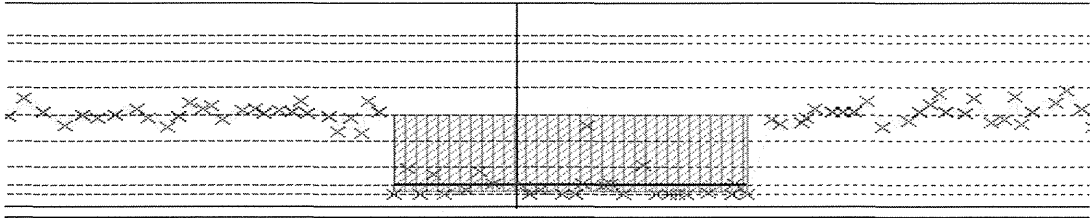


図5 腎性低尿酸血症症例に認められた copy number variant (CNV) の1例

### 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 14-16)。

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げ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える。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の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の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

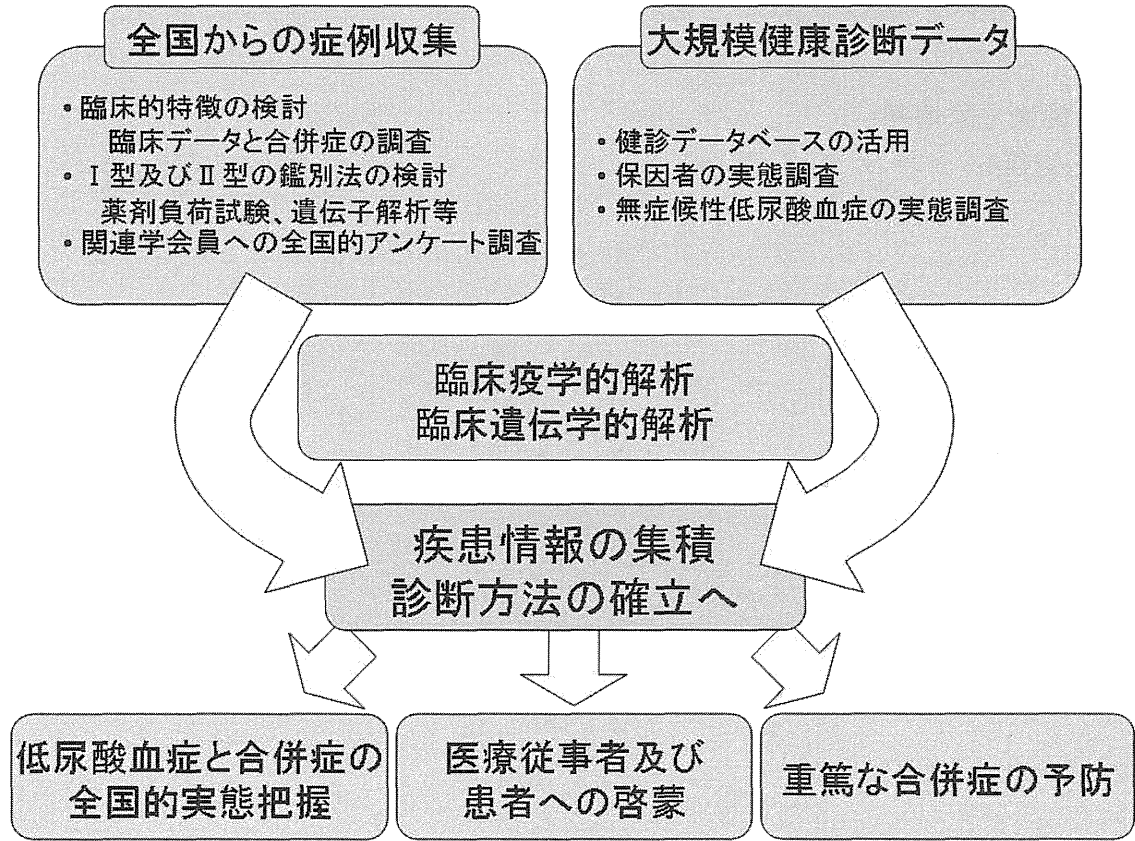


図6 腎性低尿酸血症を対象とする本研究の流れ図

の負担が大きい現行の薬物負荷試験に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方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