

本症の初期症状としては、多飲、多尿、尿最大濃縮能の低下、また2次性の遺尿や成長発育障害などがある。これらの症状は、4-6歳頃より出現する。主要な病態は、尿細管や集合管からのNaの喪失である。そのため、低Na血症、高K血症が認められるが、著明な浮腫や血尿、タンパク尿などの腎症状は通常初期には認められず、血圧も正常である。腎機能障害が進行した段階で、初めて尿量の減少とともに、Naの貯留や高血圧、貧血を呈する。したがって、低身長などの身体発育障害にて受診する小児については、本症をも念頭に置いた検査やフォローが必要である。また、原因不明の貧血を診た場合にも、本症も念頭に置き精査する。また、本症には、腎外症状を有する例もある。特に、網膜色素変性症(Senior-Loken症候群)、眼球運動の失調(Cogan症候群)、小脳失調症、肝線維症、骨格や顔貌の異常なども発見のためのポイントとなる<sup>9)</sup>。

## 5. 治療と予後

現時点では特別有効な治療法はなく、低Na血症や高K血症あるいは代謝性アシドーシスに対して、食事療法、イオン吸着樹脂と重炭酸塩

の投与を行う。また、腎機能の低下が進行する場合には、ESRDに準じた治療が行われる。また、本症の出生前診断は、現在のところ不可能であるため、家族に対する遺伝相談も重要である。本症の最大の問題点は、初期にはタンパク尿が陰性で、かなり病態が進展してからでないとタンパク尿が検出されない点である。タンパク尿の主体は、 $\beta 2$ -microglobulin(MG)や $\alpha 1$ -MGなどの低分子タンパク尿であるため、アルブミンを中心に検出する通常の試験紙法では検出されにくい。このような理由から、学校検尿をはじめとするマススクリーニング検査でも見逃される例が多い。すなわち、タンパク尿を検出したときには、既にESRD状態ということも珍しくない。また、 $\beta 2$ -MGなどの低分子タンパク尿の検出も全例ではなく、しかもある程度病期が進展した状態になってから初めて検出されるということもある。すなわち、早期発見のための明らかな手がかりが少ないのが現状である。しかし、この疾患の概念を知っているか知っていないかで、発見時期に差が生じる可能性がある。予後は、各病型ともに時期は異なるが、ESRDに至ることは避けられない。適切な身体管理の下、生体腎移植を目指す。



## 参考文献

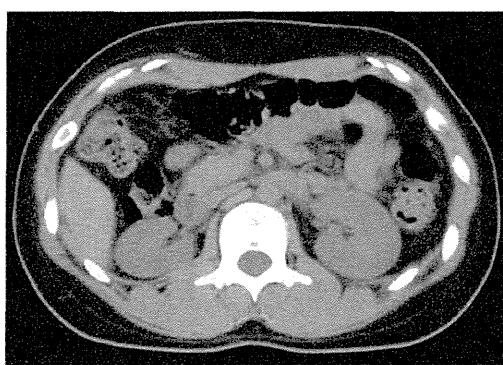
- 1) Hildebrandt F, Otto E: Molecular genetics of the nephronophthisis-medullary cystic disease complex. *J Am Soc Nephrol* 11: 1753-1761, 2000.
- 2) Otto EA, et al: Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat Genet* 34: 413-420, 2003.
- 3) Donaldson JC, et al: Nephrocystin-converted domains involved in targeting to epithelial cell-cell functions, interaction with filaments, and establishing cell polarity. *J Biol Chem* 277: 29028-29035, 2002.
- 4) Omran H, et al: Identification of a new gene locus for adolescent nephronophthisis, on chromosome 3q22 in a large Venezuelan pedigree. *Am J Hum Genet* 66: 118-127, 2000.
- 5) Salomon R, et al: Nephronophthisis. *Pediatr Nephrol* 24: 2333-2344, 2009.

## Right hypoplastic kidney

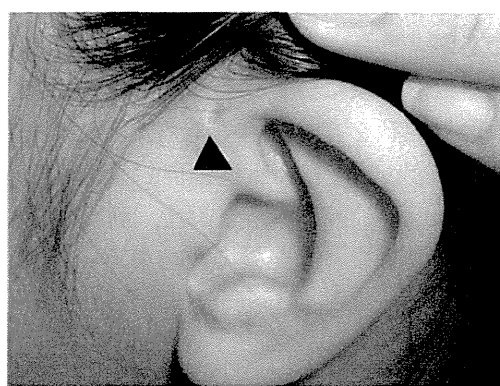
Ayu Ogawa<sup>1</sup>, Shinji Kitamura<sup>1</sup>, Kazunori Nakayama<sup>1</sup>, Hitoshi Sugiyama<sup>2</sup>, Naoya Morisada<sup>3</sup>, Kazumoto Iijima<sup>3</sup> and Hirofumi Makino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan; <sup>2</sup>Department of Chronic Kidney Disease and Peritoneal Dialysis, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan and <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe, Japan

**Correspondence:** Shinji Kitamura, Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, 2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700-8558, Japan. E-mail: s-kita@md.okayama-u.ac.jp



**Figure 1** | Computed tomography showing right renal hypoplasia.



**Figure 2** | A preauricular pit (left ear, arrowhead).

A 21-year-old woman was referred to our hospital because of proteinuria and mild renal dysfunction. Her serum creatinine concentration was 1.10 mg/dl and estimated glomerular filtration rate was 53.9 ml/min per 1.73 m<sup>2</sup>. The urinary analysis revealed 2+ protein. Abdominal computerized tomography (CT) showed right renal hypoplasia (Figure 1). In addition, she had mixed hearing disturbance and a history of surgeries for correction of left cervical branchial fistulae and bilateral preauricular pits (Figure 2, left ear). Her temporal bone CT presented bilateral inner ear malformation. On the basis of these findings, she was suspected to have branchio-oto-renal (BOR) syndrome, although she has no family history on renal dysfunction and hearing disturbance. The BOR syndrome is an autosomal dominant disorder, which is characterized by the association of branchial

anomalies (preauricular pits and branchial fistulae or cysts), otic anomalies affecting the outer, middle, and/or inner ear, which frequently lead to hearing disturbance (sensorineural, conductive, or mixed), and a wide spectrum of renal anomalies ranging from mild hypoplasia to lethal bilateral renal aplasia. The prevalence is approximately 1 in 40,000. The BOR syndrome is associated with several genetic mutations in *EYA1*, *SIX1*, *SALL1*, and *SIX5*. Because of disagreement towards conducting gene analysis from the patient's family, we performed gene analysis of only the patient with informed consent. DNA sequencing analysis revealed a heterozygous mutation, c.880 C>T, p.R294X, in exon 10 of the *EYA1* gene. The BOR syndrome should be taken into consideration on the differential diagnosis in young adult patients with renal dysfunction and hearing disturbance.

# PEDIATRICS®

OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS

## **Focal Segmental Glomerulosclerosis in Patients With Complete Deletion of One *WT1* Allele**

Kazumoto Iijima, Tomonosuke Someya, Shuichi Ito, Kandai Nozu, Koichi Nakanishi, Kentaro Matsuoka, Hirofumi Ohashi, Michio Nagata, Koichi Kamei and Satoshi Sasaki

*Pediatrics*; originally published online May 14, 2012;  
DOI: 10.1542/peds.2011-1323

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2012/05/09/peds.2011-1323>

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



# Focal Segmental Glomerulosclerosis in Patients With Complete Deletion of One *WT1* Allele

**AUTHORS:** Kazumoto Iijima, MD, PhD,<sup>a</sup> Tomonosuke Someya, MD, PhD,<sup>b</sup> Shuichi Ito, MD, PhD,<sup>c</sup> Kandai Nozu, MD, PhD,<sup>a</sup> Koichi Nakanishi, MD, PhD,<sup>d</sup> Kentaro Matsuoka, MD, PhD,<sup>e</sup> Hirofumi Ohashi, MD, PhD,<sup>f</sup> Michio Nagata, MD, PhD,<sup>g</sup> Koichi Kamei, MD, PhD,<sup>g</sup> and Satoshi Sasaki, MD, PhD<sup>h</sup>

<sup>a</sup>Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe, Japan; <sup>b</sup>Department of Pediatrics, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan; <sup>c</sup>Departments of Nephrology and Rheumatology, and <sup>e</sup>Pathology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan; <sup>d</sup>Department of Pediatrics, Wakayama Medical University, Wakayama, Japan; <sup>f</sup>Division of Medical Genetics, Saitama Children's Medical Center, Saitama, Japan; <sup>g</sup>Department of Pathology, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan; and <sup>h</sup>Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

## KEY WORDS

deletion, focal segmental glomerulosclerosis, WAGR syndrome, *WT1*

## ABBREVIATIONS

ACEI—angiotensin-converting enzyme inhibitor  
 BUN—blood urea nitrogen  
 CrCl—creatinine clearance  
 DDS—Denys-Drash syndrome  
 DMS—diffuse mesangial sclerosis  
 FSGS—focal segmental glomerulosclerosis  
 WAGR—Wilms' tumor, aniridia, genitourinary anomalies, and mental retardation

Each author contributed to the study as follows: Dr Iijima, patient management and manuscript writing; Dr Someya, patient management; Dr Ito, patient management; Dr Nozu, genetic analysis; Dr Nakanishi, genetic analysis; Dr Matsuoka, pathological analysis; Dr Ohashi, genetic analysis; Dr Nagata, pathological analysis; Dr Kamei, patient management; and Dr Sasaki, patient management.

[www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2011-1323](http://www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2011-1323)

doi:10.1542/peds.2011-1323

Accepted for publication Jan 11, 2012

Address correspondence to Kazumoto Iijima, MD, PhD, Department of Pediatrics, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-2 Kusunoki-Cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan. E-mail: [ijijima@med.kobe-u.ac.jp](mailto:ijijima@med.kobe-u.ac.jp)

PEDIATRICS (ISSN Numbers: Print, 0031-4005; Online, 1098-4275).

Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics

**FINANCIAL DISCLOSURE:** The authors have indicated they have no financial relationships relevant to this article to disclose.

**FUNDING:** This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research (B) (to Dr Iijima, 20390240) from the Japan Society for the Promotion of Science.

## abstract

The renal prognosis of patients with Wilms' tumor, aniridia, genitourinary anomalies, and mental retardation syndrome (WAGR) is poor. However, the renal histology and its mechanisms are not well understood. We performed renal biopsies in 3 patients with WAGR syndrome who had heavy proteinuria. The complete deletion of one *WT1* allele was detected in each patient by constitutional chromosomal deletion at 11p13 using G-banding, high-resolution G-banding, and fluorescence in situ hybridization. The patients exhibited proteinuria at the ages of 6, 10, and 6 years and were diagnosed as having focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) at the ages of 7, 16 and 19 years, respectively. They exhibited normal or mildly declined renal function at the time of biopsy. Re-examination of a nephrectomized kidney from 1 patient revealed that some glomeruli showed segmental sclerosis, although he did not have proteinuria at the time of nephrectomy. The other 2 patients did not develop Wilms' tumor and thus did not undergo nephrectomy, chemotherapy, or radiotherapy, thereby eliminating any effect of these therapies on the renal histology. In conclusion, complete deletion of one *WT1* allele may induce the development of FSGS. Our findings suggest that haploinsufficiency of the *WT1* could be responsible for the development of FSGS. *Pediatrics* 2012;129:e1621–e1625

Miller et al<sup>1</sup> first described WAGR syndrome (Wilms' tumor, aniridia, genitourinary anomalies, and mental retardation). Children with WAGR syndrome invariably have a constitutional chromosomal deletion at 11p13, the region where the *WT1* gene is located. Patients with Denys-Drash syndrome (DDS) usually have a germline missense mutation, which is predicted to result in an amino acid substitution in the eighth or ninth exon of *WT1*. Little et al<sup>2</sup> suggested that the severe nephropathy associated with DDS, which frequently leads to early renal failure, might result from the dominant-negative action of altered *WT1*. By contrast, because of the less severe genital anomalies and apparent lack of nephropathy associated with WAGR, a reduced *WT1* dosage during embryogenesis is thought to have a less pronounced effect on development, especially on renal system development.<sup>3</sup> Breslow et al<sup>4</sup> reviewed nearly 6000 patients enrolled in 4 clinical trials administered by the US National Wilms Tumor Study Group between 1969 and 1995. Of 22 patients with DDS, 13 (59%) developed renal failure; of 46 patients with WAGR, 10 (22%) developed renal failure. The cumulative risks of renal failure at 20 years were 62% and 38%, respectively. These findings suggest that nephropathy is not uniquely associated with missense mutations in *WT1* and that patients with the WAGR syndrome should be followed up closely throughout life for signs of nephropathy.

The renal prognosis of patients with WAGR is poor. However, the renal histology and its mechanisms are not well understood. We therefore performed renal biopsies to reveal the renal pathology in 3 patients with WAGR syndrome who had heavy proteinuria.

## CASE REPORTS

### Patient 1

Patient 1 was a male diagnosed with bilateral microphthalmos at 1 month of

age. Wilms' tumor developed bilaterally at 3 years of age. He also had undescended testes and mental retardation. Previous analysis of G-banded metaphase chromosomes revealed a deletion of chromosome 11p13-15.1 in one allele<sup>5</sup>; the diagnosis of atypical WAGR syndrome was therefore made.<sup>6</sup> Because of a large tumor in the right kidney after the first chemotherapy treatment, the right kidney was nephrectomized. A diagnosis of nephroblastoma (nephroblastic type) was made. At the same time, the contralateral left kidney was biopsied, but no tumor was detected. The nephrectomized kidney revealed that there were no immature glomeruli, and a few glomeruli showed segmental sclerosis (Fig 1 A and B). The patient did not have proteinuria at the time of nephrectomy although microalbuminuria could have been detected.

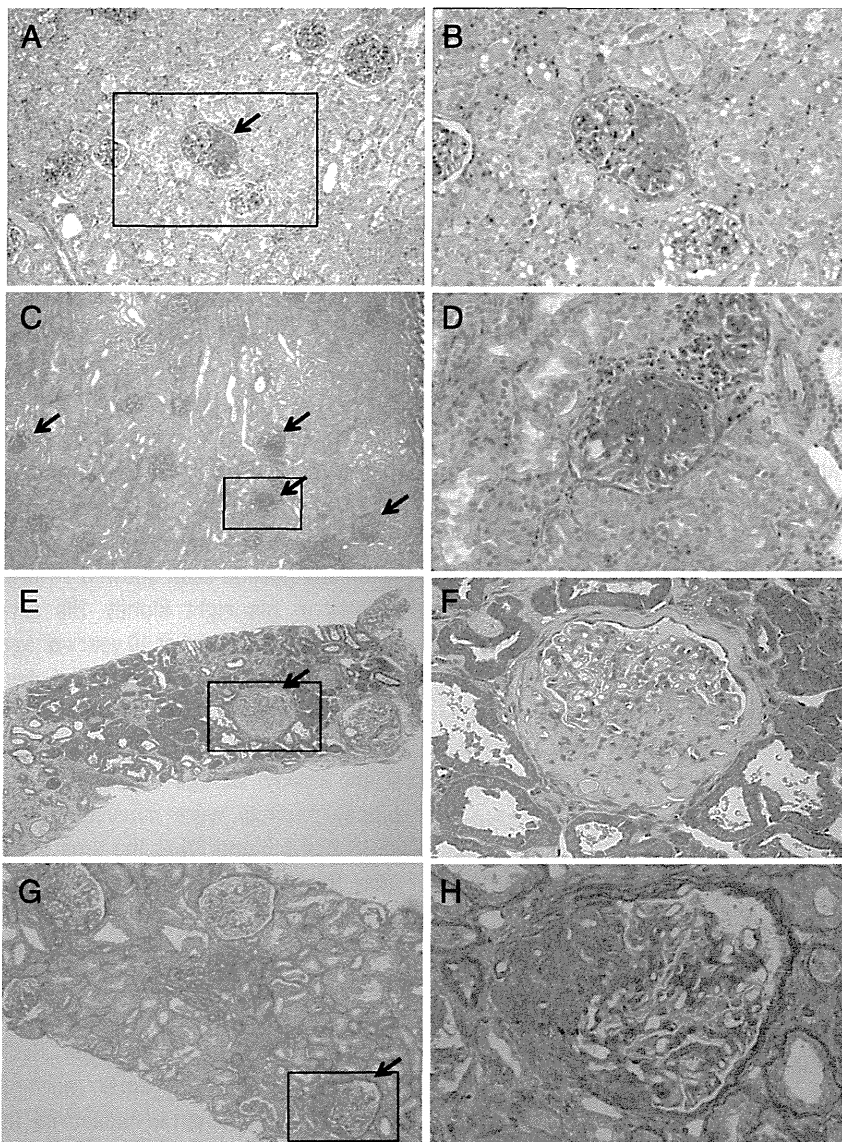
The patient then underwent a second session of chemotherapy and radiotherapy treatment with left kidney protection. He developed heavy proteinuria at 6 years of age. The left kidney was biopsied (open biopsy) at age 7 years. Renal biopsy findings were consistent with focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) (Fig 1 C and D). At the time of biopsy, the patient's height was 107.3 cm (−2.9 SD), weight was 21.7 kg (−0.7 SD), and blood pressure was 120/80 mm Hg. Biochemical data were as follows: total protein, 6.5 g/dL; albumin, 3.3 g/dL; blood urea nitrogen (BUN), 12.9 mg/dL; creatinine, 0.43 mg/dL; 24-hour creatinine clearance (CrCl), 72.2 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; early morning urinary protein, 3+ (as measured by using a dipstick test); urinary protein to urinary creatinine ratio, 3.6 (milligram/milligram); and urinary  $\beta$ -2 microglobulin, 0.44 mg/dL (normal range: <0.23 mg/dL). His renal function gradually deteriorated despite angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) treatment. At 14 years of age, he underwent a preemptive living-related renal transplantation from his father.

### Patient 2

Patient 2 was a male with aniridia, bilateral undescended testes, hypospadias, grade III to IV bilateral vesicoureteral reflux, and mental retardation. High-resolution G-banding revealed deletion of chromosome 11p13-p14.2 in one allele (Fig 2A), and fluorescence in situ hybridization showed heterozygous deletions of *PAX6*, *D11S2163*, *PER*, and *WT1* (Fig 2B), indicating WAGR syndrome. He had a single febrile urinary tract infection at 2 years of age and underwent an antireflux operation at 4 years of age, which resolved his vesicoureteral reflux. A dimercaptosuccinic acid radionuclide scan showed several defects in his right kidney. His proteinuria was detected at 10 years of age by the school urinary screening program. His proteinuria gradually increased, and he underwent renal biopsy (right kidney) at age 16 years. Renal biopsy findings were consistent with FSGS (Fig 1 E and F). At the time of biopsy, the patient's height was 169.2 cm, weight was 67.4 kg, and blood pressure was 128/78 mm Hg. Biochemical data were as follows: total protein, 6.8 g/dL; albumin, 4.3 g/dL; BUN, 25.0 mg/dL; creatinine, 1.20 mg/dL; 24-hour CrCl, 91.0 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; early morning urinary protein, 3+ (as measured by using a dipstick test); urinary protein to urinary creatinine ratio, 2.7 (milligram/milligram); daily urinary protein, 3.1 g; and urinary  $\beta$ -2 microglobulin, 0.064 mg/dL. At the latest follow-up (24 years of age), his renal function was stable (BUN: 25.0 mg/dL; creatinine: 1.20 mg/dL) with ACEI treatment, and he had not developed Wilms' tumor.

### Patient 3

Patient 3 was a female with aniridia and mental retardation. G-banding revealed deletion of chromosome 11p13-p14 in one allele (Fig 2C), and she was therefore diagnosed with WAGR syndrome. The patient developed proteinuria at



**FIGURE 1**

Renal histology. A, C, E, and G, Low magnification. B, D, F, and H, High magnification. Arrows show glomeruli with segmental glomerulosclerosis. A and B, Nephrectomized right kidney from patient 1. Patient 1 had no proteinuria at the time of nephrectomy. However, a few glomeruli exhibited segmental glomerulosclerosis although there were no immature glomeruli. C and D, Renal biopsy of left kidney from patient 1. Twenty-eight of 50 glomeruli showed segmental glomerulosclerosis. There were no tubulointerstitial lesions. E and F, Renal biopsy from patient 2. Two of eight glomeruli showed segmental glomerulosclerosis with interstitial fibrosis. G and H, Renal biopsy from patient 3. Ten of 30 glomeruli showed segmental glomerulosclerosis with interstitial fibrosis. All 3 patients exhibited FSGS (not otherwise specified).

the age of 6 years and nephrotic syndrome with normal renal function at age 15 years (urinary protein to urinary creatinine ratio, 10.6 [milligram/milligram]; total protein, 5.6 g/dL; albumin, 2.3 g/dL; BUN, 15.0 mg/dL; creatinine, 0.65 mg/dL; estimated glomerular filtration rate, 100.7 mL/min/

1.73 m<sup>2</sup>). We were unable to obtain her parents' consent for renal biopsy, and they chose to start drug treatment. However, treatment with prednisolone and ACEI was not effective, and her renal function gradually deteriorated. Therefore, she underwent renal biopsy at age 19 years. At the time of

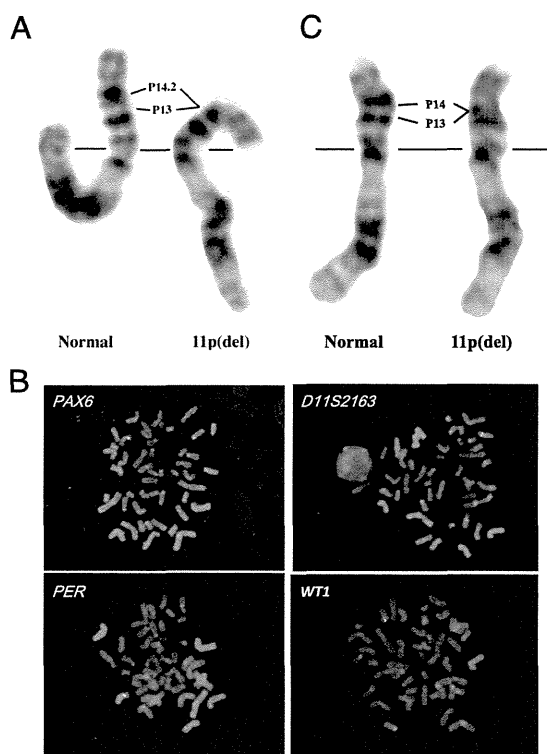
biopsy, her height was 144.5 cm, weight was 72.5 kg, and blood pressure was 130/83 mm Hg. Biochemical data were as follows: total protein, 5.5 g/dL; albumin, 2.5 g/dL; BUN, 30.0 mg/dL; creatinine, 1.40 mg/dL; 24-hour CrCl, 44.65 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; early morning urinary protein, 3+ (as measured by using a dipstick test); daily urinary protein, 5.89 g; and urinary  $\beta$ -2 microglobulin, 0.495 mg/dL. Renal biopsy findings were consistent with FSGS (Fig 1 G and H). To date, she has not developed Wilms' tumor.

### DISCUSSION

The current study demonstrated that 3 patients with atypical WAGR syndrome developed heavy proteinuria with FSGS, suggesting that the nephropathy seen in this syndrome is responsible for the FSGS lesion.

Patient 1 had possible bilateral Wilms' tumor and underwent unilateral nephrectomy, chemotherapy, and radiotherapy. Therefore, it is possible that the treatment of the remaining kidney for bilateral tumor or nephrogenic rest might account for the development of FSGS. However, the kidney nephrectomized after the first chemotherapy session but before radiotherapy treatment already showed segmental sclerosis in a few glomeruli, suggesting that radiotherapy was not the main cause of FSGS. Chemotherapeutic drugs such as adriamycin may induce FSGS as well as tubulointerstitial inflammation and fibrosis.<sup>7</sup> However, there were no tubulointerstitial lesions, suggesting that chemotherapy might not have been the main cause of FSGS. Nevertheless, it is possible that surgical renal ablation caused FSGS in patient 1.

Patients 2 and 3 did not develop Wilms' tumor during the course of clinical observation, and thus they did not undergo nephrectomy, chemotherapy, or radiotherapy, thereby eliminating any effect of these therapies on renal



**FIGURE 2**

High-resolution G-banding of chromosome 11 and fluorescence in situ hybridization (FISH) in patient 2 and G-banding of chromosome 11 in patient 3. A, Patient 2 had deletion of chromosome 11p13-p14.2 in one allele. B, FISH using P1-derived artificial chromosome clones (1083G3 for *PAX6*, 65P5 for *D11S2163*, 685F3 for *PER*, and 104M13 for *WT1*) as probes was performed for patient 2, as previously reported.<sup>6</sup> Each FISH signal for *PAX6*, *D11S2163*, *PER*, and *WT1* was observed in only one chromosome 11 homolog, indicating heterozygous deletion of the WAGR region of 11p. C, Patient 3 had deletion of chromosome 11p13-p14 in one allele.

histology. The possibility of reflux nephropathy, however, could not be ruled out in patient 2. The perihilar variant with glomerular hypertrophy is particularly common in the secondary FSGS such as reduced renal mass-induced FSGS.<sup>8</sup> However, all 3 patients exhibited FSGS (not otherwise specified) without glomerular hypertrophy, suggesting that surgical renal ablation (patient 1) and reflux nephropathy (patient 2) may not have been the main cause of FSGS in these 2 patients. These findings suggest that the complete deletion of one *WT1* allele might have a pathogenetic role in the development of nephropathy.

The spectrum of glomerular diseases associated with *WT1* mutations has been reviewed.<sup>9</sup> *WT1* mutations can cause syndromic and nonsyndromic glomerular disease. The syndromic forms include DDS (early-onset nephrotic syndrome with diffuse mesangial sclerosis [DMS]); 46,XY disorders of sex development and Wilms' tumor; and Frasier syndrome (disorders of sex development, FSGS, and gonadoblastoma), which is caused by a mutation in the intron 9 splice site of *WT1* leading to the loss of the +KTS isoform of the protein. Mutations associated with both syndromic and nonsyndromic glomerular

disease tend to cluster in exons 8 and 9 of *WT1*, which encode zinc fingers 2 and 3.<sup>9,10</sup> Orloff et al<sup>11</sup> reported that single-nucleotide polymorphisms in *WT1* may modulate the development of FSGS by altering *WT1* function. The current study suggests that complete deletion of one *WT1* allele may also induce the development of nephropathy.

Reduced expression levels of *Wt1*-induced glomerulopathies (crescentic glomerulonephritis or DMS) depending on gene dosage derived by combining *Wt1*-knockout mice and an inducible *Wt1* yeast artificial chromosome transgenic mouse model.<sup>12</sup> Eleven percent of mice heterozygous for the *Wt1* mutation showed severe proteinuria and DMS with tubular cysts, protein casts, and severe interstitial inflammation, although nephrogenesis was not delayed.<sup>12</sup> These findings indicate that the expression level of *WT1* plays an important role, not only during nephrogenesis but also in the homeostasis of normal kidney function. These findings also support our conclusion that complete deletion of one *WT1* allele in atypical WAGR syndrome could induce glomerulopathy without delayed nephrogenesis, although the reason for the discrepancy in histologic findings between man (FSGS) and mouse (DMS) is unclear.

## CONCLUSIONS

Besides dominant-negative missense mutations in the eighth or ninth exon of *WT1* and mutations at the donor splice site of intron 9, complete deletion of one *WT1* allele may induce the development of FSGS. The findings in this study also suggest that haploinsufficiency of *WT1* could be responsible for the development of FSGS.

## REFERENCES

1. Miller RW, Fraumeni JF Jr, Manning MD. Association of Wilms' tumor with aniridia, hemihypertrophy and other congenital malformations. *N Engl J Med*. 1964;270:922-927
2. Little MH, Williamson KA, Mannens M, et al. Evidence that *WT1* mutations in Denys-

- Drash syndrome patients may act in a dominant-negative fashion. *Hum Mol Genet.* 1993;2(3):259–264
3. Huff V. Genotype/phenotype correlations in Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol.* 1996;27(5):408–414
  4. Breslow NE, Takashima JR, Ritchey ML, Strong LC, Green DM. Renal failure in the Denys-Drash and Wilms' tumor-aniridia syndromes. *Cancer Res.* 2000;60(15):4030–4032
  5. Kawase E, Tanaka K, Honna T, Azuma N. A case of atypical WAGR syndrome with anterior segment anomaly and microphthalmos. *Arch Ophthalmol.* 2001;119(12):1855–1856
  6. Muto R, Yamamori S, Ohashi H, Osawa M. Prediction by FISH analysis of the occurrence of Wilms tumor in aniridia patients. *Am J Med Genet.* 2002;108(4):285–289
  7. Lee VW, Harris DC. Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology (Carlton).* 2011;16(1):30–38
  8. D'Agati VD. The spectrum of focal segmental glomerulosclerosis: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008;17(3):271–281
  9. Niaudet P, Gubler MC. WT1 and glomerular diseases. *Pediatr Nephrol.* 2006;21(11):1653–1660
  10. Mucha B, Ozaltin F, Hinkes BG, et al; Members of the APN Study Group. Mutations in the Wilms' tumor 1 gene cause isolated steroid resistant nephrotic syndrome and occur in exons 8 and 9. *Pediatr Res.* 2006;59(2):325–331
  11. Orloff MS, Iyengar SK, Winkler CA, et al. Variants in the Wilms' tumor gene are associated with focal segmental glomerulosclerosis in the African American population. *Physiol Genomics.* 2005;21(2):212–221
  12. Guo JK, Menke AL, Gubler MC, et al. WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum Mol Genet.* 2002;11(6):651–659



**Focal Segmental Glomerulosclerosis in Patients With Complete Deletion of One  
*WT1* Allele**

Kazumoto Iijima, Tomonosuke Someya, Shuichi Ito, Kandai Nozu, Koichi Nakanishi,  
Kentaro Matsuoka, Hirofumi Ohashi, Michio Nagata, Koichi Kamei and Satoshi  
Sasaki

*Pediatrics*; originally published online May 14, 2012;  
DOI: 10.1542/peds.2011-1323

<b>Updated Information &amp; Services</b>	including high resolution figures, can be found at: <a href="http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2012/05/09/peds.2011-1323">http://pediatrics.aappublications.org/content/early/2012/05/09/peds.2011-1323</a>
<b>Permissions &amp; Licensing</b>	Information about reproducing this article in parts (figures, tables) or in its entirety can be found online at: <a href="http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/Permissions.xhtml">http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/Permissions.xhtml</a>
<b>Reprints</b>	Information about ordering reprints can be found online: <a href="http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/reprints.xhtml">http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/reprints.xhtml</a>

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2012 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



## Alport-like glomerular basement membrane changes with renal-coloboma syndrome

Hiromi Ohtsubo · Naoya Morisada · Hiroshi Kaito · Koji Nagatani · Koichi Nakanishi · Kazumoto Iijima

Received: 26 October 2011 / Revised: 20 January 2012 / Accepted: 23 January 2012 / Published online: 21 February 2012  
© IPNA 2012

### Abstract

**Background** Autosomal dominant mutations in paired box gene 2 (*PAX2*), on chromosome 10q24, are responsible for renal coloboma syndrome (RCS). The role of *PAX2* in glomerular basement membrane (GBM) formation and maintenance remains unknown.

**Case-diagnosis** We report a case of a 13-year-old Japanese girl who had both optic disk coloboma and renal insufficiency. Her father and sister also had both coloboma and renal dysfunction. Renal pathological findings revealed a basket-weave pattern of the GBM, which was compatible with Alport syndrome, but type IV collagen  $\alpha 5$  staining was normal. The patient's findings of coloboma and renal dysfunction suggested that she had RCS, and genetic analysis

revealed a *PAX2* heterozygous mutation in exon 2 (c.76dup, p.Val26Glyfsx27) without any mutations of *COL4A3*, *COL4A4*, and *COL4A5*, which are responsible for autosomal and X-linked Alport syndrome.

**Conclusions** *PAX2* mutations may result in abnormal GBM structure.

**Keywords** Renal-colombia syndrome · *PAX2* · Glomerular basement membrane · Type IV collagen · Podocyte

### Introduction

Renal-coloboma syndrome (RCS, OMIM 120330) is a rare autosomal dominant disorder associated with paired box gene 2 (*PAX2*, 10q24) heterozygous mutations [1]. *PAX2* is a nuclear transcriptional factor and is highly conserved among species [2]. In the fetal period, *PAX2* is expressed in the otic and optic vesicles, spinal cord, hindbrain, mesonephros, and metanephros in the embryonic kidney. *PAX2* is one of the central regulators for early-stage kidney development, but the precise mechanisms of *PAX2* for kidney development have not been fully clarified. RCS is characterized by ocular and renal abnormalities. Renal malformations include hypoplasia, dysplasia, vesicoureteral reflux (VUR), multicystic dysplastic kidney, and horseshoe kidney [3]. Renal histopathological findings in RCS have been reported, including oligomeganephronia that is induced by a reduction in nephron number in the RCS kidney. However, there are no previous reports of obvious glomerular basement membrane (GBM) changes as evaluated by electron microscopy. We report here for the first time remarkable GBM changes with RCS due to *PAX2* mutation, which are similar to those found in Alport syndrome.

H. Ohtsubo · N. Morisada (✉) · H. Kaito · K. Iijima  
Department of Pediatrics,  
Kobe University Graduate School of Medicine,  
7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku,  
Kobe 650-0017, Japan  
e-mail: morisada@med.kobe-u.ac.jp

H. Ohtsubo  
e-mail: tsubo@med.kobe-u.ac.jp

H. Kaito  
e-mail: hkaitoh@med.kobe-u.ac.jp

K. Iijima  
e-mail: iijima@med.kobe-u.ac.jp

K. Nagatani  
Department of Pediatrics, Uwajima City Hospital,  
Uwajima, Japan  
e-mail: npnsr835@yahoo.co.jp

K. Nakanishi  
Department of Pediatrics, Wakayama Medical University,  
Wakayama, Japan  
e-mail: knakanis@wakayama-med.ac.jp

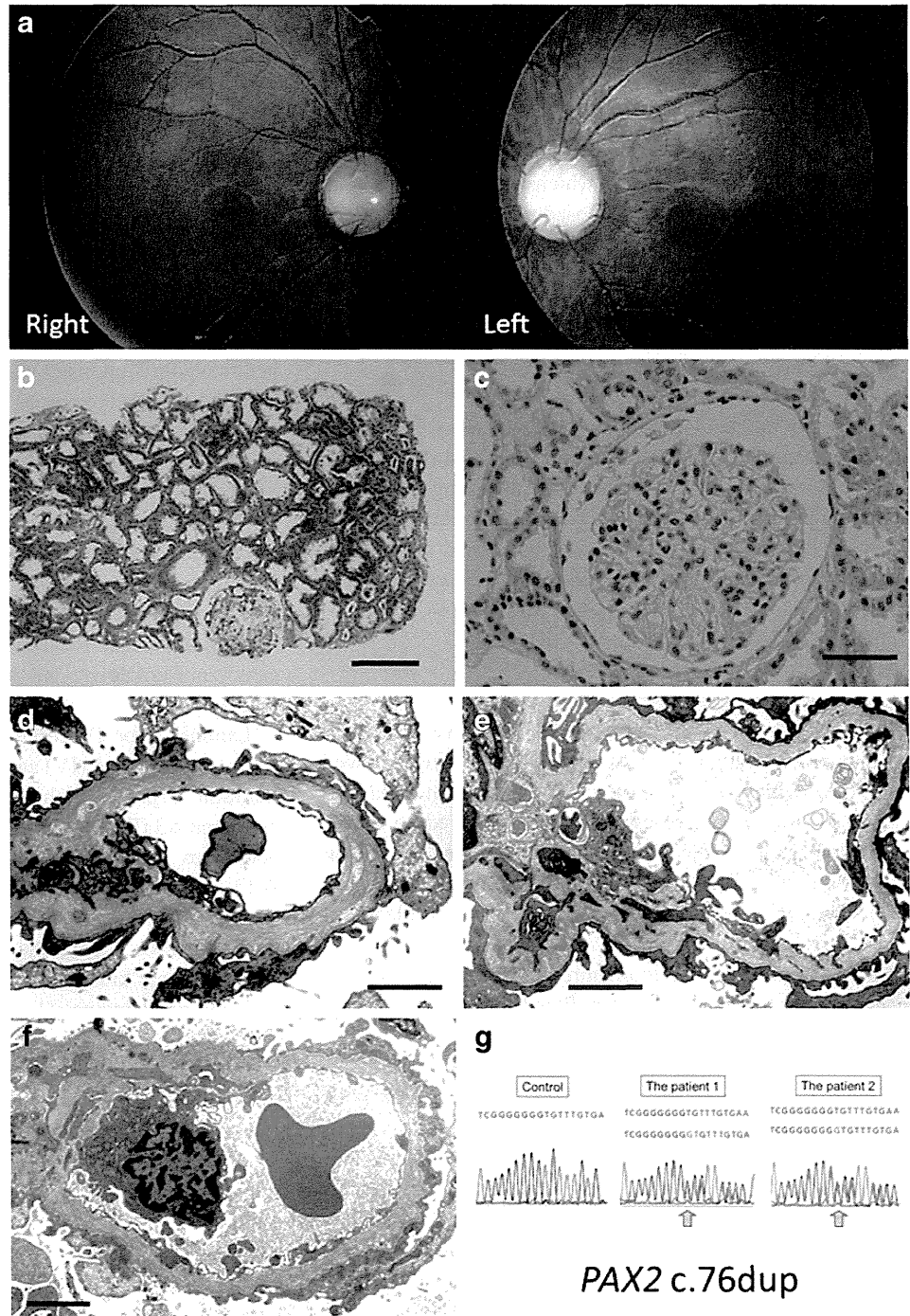
**Case report**

**Patient 1**

A 6-year-old Japanese girl visited our hospital because of mild proteinuria. We found that she also had bilateral optic disk coloboma (Fig. 1a). At the age of 13 years, laboratory findings showed that her blood urea nitrogen (BUN) level

was 26 mg/dl, serum creatinine (SCr) level was 0.97 mg/dl, and creatinine clearance (CrCl) was decreased to 59.1 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Urinary protein was slightly increased (0.3 g/day), especially urinary  $\beta$ 2 microglobulin (1,000  $\mu$ g/l, normal range <230  $\mu$ g/l), but she had no hematuria. Ultrasonography revealed left renal atrophy (kidney size 64 × 35 mm), but the right kidney size was normal (81 × 37 mm). Her eye and renal abnormalities were compatible

**Fig. 1** Fundus photographs from patient 1 (a): bilateral optic discs are enlarged. Renal pathological findings in patient 1 (b–c): Light microscopy shows that the number of glomeruli is small (b), periodic acid-methenamine-silver (PAM) staining, original magnification ×100, scale bar=100  $\mu$ m), but hypertrophy or proliferative lesions cannot be seen in the glomeruli (c), periodic acid-Schiff (PAS) staining, original magnification ×400, scale bar=30  $\mu$ m). Electron microscopy shows thickening, which is compatible with a basket-weave appearance in the glomerular basement membrane (GBM) in patient 1 (d) and patient 2 (e). GBM findings are similar to a genetically confirmed case of Alport syndrome by *COL4A3* homozygous mutation (f) (original magnification ×5,000, scale bar=2  $\mu$ m). Genetic analysis (g) shows that both patients have a *PAX2* mutation (c.76dup)



with RCS, but the precise cause of her renal insufficiency was unknown.

#### Patient 2

Patient 2 is patient 1's elder sister, and she had left renal atrophy detected soon after birth. At the age of 4 months, eye abnormalities including optic disk coloboma and macular hypoplasia were found. At the age of 10 months, mild proteinuria (0.4 g/day) and VUR were detected, and at the age of 5 years, she received a surgery for VUR. However, her proteinuria did not disappear and her renal function deteriorated. She had a renal biopsy performed at the age of 6 years, and electron microscopy showed that the glomeruli had diffuse thickening accompanied by a basket-weave formation of the GBM, which was compatible with Alport syndrome. She was diagnosed with Alport syndrome on the basis of renal histological findings; however, hematuria never appeared during her course, and genetic analysis was not performed at that time.

#### Family history

The patients' father also had coloboma and renal failure, but his fundoscopic findings and cause of his renal dysfunction were unknown because he died after receiving four renal transplantations. The paternal grandfather had left renal atrophy, but his renal function was preserved and he did not have coloboma. Others in the family showed no renal disorder. None of their relatives had hearing loss.

#### Renal histology and genetic analysis

To confirm the cause of renal insufficiency, we performed renal biopsy in patient 1. Light microscopy findings showed that the kidney was oligonephronic but not enlarged (Fig. 1b, c). Immunofluorescent staining showed no significant abnormalities. Electron microscopy showed thickening and thinning of the GBM (Fig. 1d), similar to patient 2 (Fig. 1e). The patients' GBM findings are similar to a genetically confirmed case of Alport syndrome (Fig. 1f). The eye abnormality, oligonephronic kidney, and family history indicated that patient 1 suffered from RCS. To confirm this diagnosis, we performed genetic analysis of *PAX2* for both patients and their paternal grandfather after obtaining informed consent. We detected a c.76dup heterozygous mutation in exon 2 of *PAX2* (Fig. 1g) in the siblings but not the grandfather. This frameshift mutation induces an amino acid change from valine to glycine and introduces a premature stop codon (p.Val26Glyfsx27). To exclude the possibility of complicating Alport syndrome, we performed type IV collagen staining of glomeruli for patient 1 and observed that the  $\alpha 5$  chain [ $\alpha 5$  (IV)] staining pattern was normal.

Furthermore, we sequenced the genes *COL4A4* (2q35-q37), *COL4A3* (2q36-q37), and *COL4A5* (Xq22), which are responsible for autosomal recessive, dominant, and X-linked Alport syndrome. No mutations or significant variants were detected in either patient. Based on the presence of a heterozygous *PAX2* mutation in both patients with normal immunohistochemistry for  $\alpha 5$  (IV) and the absence of significant sequence variation in any of the genes encoding type IV collagen proteins found in the GBM, we concluded that the GBM changes resulted from *PAX2* haploinsufficiency in our patients.

#### Discussion

We identified that our patients had a *PAX2* heterozygous mutation in exon 2 (c.76dup, p.Val26Gly fsx27). Although there is no genotype–phenotype correlation in RCS, this is the most frequent mutation of *PAX2* [4]. This frameshift mutation leads to haploinsufficiency of the *PAX2* protein. The *Pax2*<sup>1Neu +/-</sup> mutant mouse is a model of RCS that has a heterozygote 1-bp insertion in *PAX2* [5], [6], and it has been reported that heterozygous mutations of *PAX2* induce apoptotic cells in the fetal kidney and reduce branching of the ureteric bud. As a result, *PAX2* heterozygous mutations induce renal hypoplasia [7]. Oligomeganephronia is induced by renal hypoplasia and *PAX2* mutation [8], and there are few reports regarding the association with oligomeganephronia and GBM changes [9]. Although the number of glomeruli in patient 1 was decreased, glomerular enlargement was not observed. The causes of our patients' renal insufficiency are unknown, but reducing renal mass may induce this condition.

Laminin, type IV collagen  $\alpha 3$  ( $\alpha 3$  [IV]) chain,  $\alpha 4$  ( $\alpha 4$  [IV]) chain, and  $\alpha 5$  (IV) are major components of the GBM. Laminin is produced by both podocytes and endothelial cells, and  $\alpha 3$  (IV),  $\alpha 4$  (IV), and  $\alpha 5$  (IV) originate only from podocytes [10]. A host of transcription factors, especially WT1 and *PAX2*, play a significant role in modulating podocyte maturation. Although *PAX2* is essential for embryonic renal formation, a decrease in *PAX2* and increase in WT1 in the embryonic kidney are also necessary for further differentiation of podocytes [11]. Therefore, *PAX2* mutation may result in abnormal GBM production in podocytes, but further investigations are required to clarify this issue.

In conclusion, this is the first report of Alport-like GBM changes in RCS due to *PAX2* mutation. It is unknown whether *PAX2* haploinsufficiency leads to GBM changes, as observed in the siblings in this study. Our observations may lead to an improved understanding of the pathogenesis of RCS.

**Disclosure** The authors declare that they have no competing financial interests and no funding sources to disclose.

## References

1. Sanyanusin P, Schimmenti LA, McNoe LA, Ward TA, Pierpont ME, Sullivan MJ, Dobyns WB, Eccles MR (1995) Mutation of the *PAX2* gene in a family with optic nerve colobomas, renal anomalies and vesicoureteral reflux. *Nat Genet* 9:358–364
2. Martinovic-Bouriel J, Benachi A, Bonnière M, Brahimi N, Esculpavit C, Morichon N, Vekemans M, Antignac C, Salomon R, Encha-Razavi F, Attié-Bitach T, Gubler M-C (2010) *PAX2* mutations in fetal renal hypodysplasia. *Am J Med Genet A* 152:830–835
3. Schimmenti LA (2011) Renal coloboma syndrome. *Eur J Hum Genet* 19:1207–1212
4. Cheong HI, Cho HY, Kim JH, Yu YS, Ha IS, Choi Y (2007) A clinico-genetic study of renal coloboma syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 22:1283–1289
5. Favor J, Sandulache R, Neuhäuser-Klaus A, Pretsch W, Chatterjee B, Senft E, Wurst W, Blanquet V, Grimes P, Spörle R, Schughart K (1996) The mouse *Pax2*<sup>1<sup>Neu</sup></sup> mutation is identical to a human *PAX2* mutation in a family with renal-coloboma syndrome and results in developmental defects of the brain, ear, eye, and kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:13870–13875
6. Porteous S, Torban E, Cho NP, Cunliffe H, Chua L, McNoe L, Ward T, Souza C, Gus P, Giugliani R, Sato T, Yun K, Favor J, Sicotte M, Goodyer P, Eccles M (2000) Primary renal hypoplasia in humans and mice with *PAX2* mutations: evidence of increased apoptosis in fetal kidneys of *Pax2*<sup>1<sup>Neu</sup></sup> +/- mutant mice. *Hum Mol Genet* 9:1–11
7. Nishimoto K, Iijima K, Shirakawa T, Kitagawa K, Satomura K, Nakamura H, Yoshikawa N (2001) *PAX2* gene mutation in a family with isolated renal hypoplasia. *J Am Soc Nephrol* 12:1769–1772
8. Salomon R, Tellier AL, Attie-Bitach T, Amiel J, Vekemans M, Lyonnet S, Dureau P, Niaudet P, Gubler MC, Broyer M (2001) *PAX2* mutations in oligomeganephronia. *Kidney Int* 59:457–462
9. Morita T, Wenzl J, McCoy J, Porch J, Kimmelstiel P (1973) Bilateral renal hypoplasia with oligomeganephronia: quantitative and electron microscopic study. *Am J Clin Pathol* 59:104–112
10. Abrahamson DR, Hudson BG, Stroganova L, Borza DB, St John PL (2009) Cellular origins of type IV collagen networks in developing glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 20:1471–1479
11. Pavenstädt H, Kriz W, Kretzler M (2002) Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 83:253–307

## 学校検尿の限界



近畿大学医学部小児科学教室 竹村 司

### 抄 録

わが国では、世界各国に先がけて学校健診や乳幼児健診に尿検査が取り入れられ、その恩恵により様々な腎疾患の早期発見が可能となっている。小児期での早期の管理により、病状の進展予防が行えること、また早い時期での治療が実現されている。一般的に行われる尿検査のマスクリーニングには、尿試験紙法（dip stick 法と呼ばれる方法）が用いられている。試験紙法はアルブミンのような分子量の大きな蛋白の検出には優れているが、分子量の小さな  $\beta$ 2-microglobulin や Bence-Johns 蛋白などの低分子蛋白尿の検出には不向きな方法である。腎における低分子蛋白は、主として尿細管に存在し、その器質的、機能的障害により尿中へ放出される。尿細管障害を来す疾患として、小児期では先天性のものが占める割合が高く、特に、先天性尿路奇形症候群、逆流性腎症、ネフロン癆、デント病などが重要である。これらの疾患は、現行の試験紙法により見逃されてしまう危険性がある。いくつかの自治体では、乳幼児や学童健診に、腹部エコー検査を取り入れたり、低分子蛋白尿の測定が行われているが、全国的な浸透度はまだ低い。しかし、特に低年齢からの管理が必要な腎尿路奇形の早期発見のため、今後の検尿システムの改善が望まれる。

キーワード：低分子蛋白尿、マスキリング、腎尿路奇形、発生

### はじめに

わが国では、慢性維持透析を受けている患者数は毎年増加し、現在25万人を超えている。その中で小児の透析患者は、学校検尿施行開始10年日以降、新しく透析に導入されるのは年間60~70人とほぼ一定である。この数には日米間に大きな差があり、日米間の人口の違いを考慮しても、学校検尿の行われていない米国では日本の約4倍の頻度になる。小児の腎臓病の約半数は慢性に経過する腎臓病であり、最近の生活指導法や治療法の進歩によって、早くに見つけて早くから適切な生活管理と治療をすると、かなりのこども達において、その悪化を阻止することができるうえに、その一部は全治させることもできることが判ってきた。そういった理由で、その早期発見のための検尿が全国的に普及した。慢性糸球体腎炎は、血尿、蛋白尿とも陽性例から約60%、蛋白尿のみ陽性例から約1%、血尿単

独陽性例から、約2%の割合で発見されている。

### 試験紙法の長所と短所

一般的に行われる尿検査のマスキリングは、結果の即効性、コストパフォーマンスなどが考慮され、尿試験紙法（dip stick法）が用いられる。ズルフォサリチル酸法が併用されることもあるが、偽陽性率が比較的高い。試験紙法は、ネフローゼ症候群や慢性糸球体腎炎でみられるアルブミン尿のような分子量の大きな蛋白（70,000~100,000kDa）の検出には優れているが、分子量の小さな、 $\beta$ 2-microglobulin (MG) や多発性骨髄腫でみられるようなBence-Johns蛋白といった低分子蛋白尿の検出には不向きな方法と言える。腎における低分子蛋白は主として尿細管に存在し、その器質的、機能的障害により尿中へ放出される。尿細管障害を来す疾患には、先天性、後天性のいくつかの疾患があるが、小児期では、後天性の原因である薬剤性腎障害や一部の膠原病に続発する腎症を除き、先天性のものが占める割合が高い。

Tsukasa Takemura (近畿大学医学部小児科学教室)  
〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東377-2

## どのような疾患があるのか

低分子蛋白尿を主体とし、学校検尿にて異常が発見されない可能性のある疾患は、全身的症状が乏しく、腎のみに病変が限局する、先天性尿路奇形症候群、逆流性腎症、ネフロン癆、デント病などである。

### 1. 先天性尿路奇形症候群

低分子蛋白尿を主体とする小児期の重要な疾患には、先天性尿路奇形症候群 (Development of congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT) とよばれる病態がある。すなわち、腎異形成、腎低形成、膀胱尿管逆流症など、遺伝子学的異常を含むさまざまな理由から、発生段階で正常な腎泌尿器系の発育が阻害されたもの、またネフロン癆という尿細管に存在するネフロシスチンという蛋白が、遺伝子異常により正常に作られないもの、デント病のような、尿細管のCa輸送にかかわるチャネルの異常があるものなどがあげられる。一方で、同じく低分子蛋白尿を主体とするFanconi症候群という病気があるが、これは近位尿細管再吸収における複数の欠陥により、糖尿、リン酸尿、汎アミノ酸尿、重炭酸の喪失を引き起こす。小児期から、発育不全、成長遅滞が認められること、また、白内障などの眼病変、骨のケル病様変化、あるいは痙攣などの腎臓以外の徴候により、小児期の比較的早期に診断される。

### 2. 逆流性腎症

逆流性腎症とは、主にグレードの高い膀胱尿管逆流症があり、尿路感染症と腎臓内への尿の逆流を繰り返すうちに、次第に尿細管や間質に障害が起こり、最終的には糸球体障害を来し、腎機能が廃絶してゆく疾患である。膀胱尿管逆流現象は、母胎内での腎尿路の発生段階において、尿管と膀胱の連結がスムーズに起こらず、逆流はすでに胎生期から生じていると思われ、それが高度な場合、出生時に腎臓が十分に発育しておらず、低形成腎や萎縮腎としてとらえられる。やっかいなことは、幼少期に膀胱尿管逆流症と診断され、腎臓の形態的な変化も少なく、適切な逆流防止術が行われていても、数年～数十年後に何の体調の変化もないまま腎機能が低下してゆくケースである。すなわち、障害を免れ、生き残った糸球体に過剰な血液の濾過や負荷が生じることにより、年月をかけて糸球体機能が徐々に低下し、硬化してゆくことが原因と考えられる。学童期には尿異常もなく、学校検尿でも異常が指摘されないことも多々ある。

### 3. Oligomeganephronia

一方、膀胱尿管逆流症が原因ではない腎の形成異常

もあり、これらにはさまざまな腎尿路系の発生にかかわる遺伝子の異常が報告されている。また、腎の形成単位であるネフロンの数が少ない、Oligomeganephroniaという病態もある。この病気の本質である糸球体数の少なさは、その発生に、ある特定の遺伝子群の異常が存在するもの以外に、最近では、未熟児や低出生体重児にも認められることから、出生時における腎の未熟さが原因と考えられるケースも報告されている。逆流性腎症や腎異形成と同様に、糸球体に過剰な血液の濾過による負荷が生じることにより、年月をかけて糸球体の硬化が進み、腎機能が徐々に低下してゆくことが原因と考えられている。腎臓には予備能力があるため、その機能がある一定のレベルにまで低下するまでは、むくみやだるさといった全身症状の出現やマスキングによる尿異常の検出がなされない場合も多々ある。

### 4. ネフロン癆

ネフロン癆は、腎臓の髄質を中心とした嚢胞形成を認める疾患の代表である。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。その病型には、3～5歳頃までに末期腎不全 (CRF) となる乳児ネフロン癆、幼少期から学童期までの比較的若年期に発症し、平均年齢13～14歳でCRFに移行する若年性ネフロン癆、平均年齢19歳頃にCRF至る思春期ネフロン癆がある。それぞれのタイプで責任遺伝子が解明されているが、中でも最も頻度が高いものが、若年性ネフロン癆である。この疾患は、遺伝形式は主として常染色体劣性遺伝を示すが、突然変異と思われる孤発例も存在する。

この疾患の最大の問題点は、病状がかなり進行してからでないと蛋白尿が検出されない点である。蛋白尿の主体は、 $\beta$ 2-MGなどの低分子蛋白尿であるため、学校検尿などのマスキングで用いられる試験紙法では検出されにくく、見逃されることも多い。蛋白尿が検出された時には、すでに糸球体障害が進行しており、CRF状態ということも珍しくない。また、低分子蛋白尿の検出も全例で認められる訳ではなく、しかもある程度病期が進展した状態になってから初めて検出されるということもある。以上のことから、早期発見のための明らかな手がかりが少ないという難点がある。しかしこの疾患の概念を知っているかどうかで発見時期に差が生じる可能性もある。早期に発見できれば、適切な生活指導や腎機能の低下を遅らせる措置をとることができ、スムーズにその後の腎移植に向けた管理が可能となる。それは、本症は腎臓以外の症状から発見される例もあるということである。特に、

網膜色素変性症、眼球運動の失調、四肢の失調による粗雑な動き、すなわち、体操が苦手といったことから発見された例もある。その他には、肝繊維症、骨格や顔貌の異常 (mid-facial dysplasia) など早期発見のための観察点となる。

### 5. 日本型デント病

この疾患は、過去に特発性尿細管性蛋白尿症として報告され、その後東京大学小児科の五十嵐教授らにより、その原因の60~70%はクロライドチャンネル5遺伝子 (CLCN5) の異常であることが明らかにされた。蛋白尿の主体は、およそ10,000以上ともなる尿の $\beta$ 2-MGで、3歳児健診での尿検査、学校検尿で蛋白尿を指摘されることがある一方で、その低分子蛋白尿の程度により、小児期には見逃され、大人になってから発見される例もある。すなわち、小児期には腎機能低下は示さず、無症状で経過することが大部分である。日本型デント病は予後が良好で、CRFに進展することはまずないと考えられていた時期があったが、最近になり、欧米でのデント病と同様に、日本型でも、50歳頃からCRFに至る症例があることが明らかにされている。その他、アミノ酸尿、糖尿、尿濃縮力低下などの近位尿細管機能障害を合併するものもあり、年齢とともに頻度は増加する。遺伝形式は、大部分がX連鎖型であるが、孤発例の報告もある。患者の多くは男児であるが、女児での報告も見られる。男性患者の母親 (すなわち保因者) は、男児より程度の軽い低分子蛋白尿症を示すことが多いが、高齢になり糸球体機能低下や低P血症を呈するものも報告されている。

### 管理と治療

以上の疾患に共通して注意をしておかねばならない

徴候には、尿濃縮力の低下による多飲、多尿、また、夜尿や尿失禁などの2次性の遺尿、身長伸びが悪いといった成長発育障害などがある。若年性ネフロン癆では、これらの症状は、4~6歳頃より出現する。また、尿細管や集合管からのNaが喪失されるため、低Na血症、高K血症が認められるが、明らかななむくみや血尿、蛋白尿などの尿異常は、通常初期には認められず、血圧も正常である。腎機能障害が進行した段階で、初めて尿量の減少とともに、Naの貯留や高血圧、貧血を呈してくる。したがって、低身長や原因がよく分からない貧血などを呈する小児では、これらの病気を念頭においた検査や観察が必要となる。

これらの疾患に対し、現時点では特別有効な治療法はなく、電解質異常あるいは代謝性アシドーシスについて、食事療法、イオン吸着樹脂、重炭酸塩の投与が行われる。また、腎機能の低下が進行する場合には、CRFに準じた治療が行われる。また若年性ネフロン癆では、家族に対する遺伝相談、両親の保因者診断なども必要となる。

### さいごに

乳幼児、あるいは学童児に対して行われる尿スクリーニング検査は、早期発見といった多大な恩恵をもたらした。しかしシステム上、どうしても見逃されてしまう限界疾患もある。それを踏まえて、まだ全国規模での取り組みではないが、ある地方自治体では、乳幼児、学童健診に、腹部エコー検査を取り入れたり、低分子蛋白尿の測定が行われつつある。しかし、その手間やコストパフォーマンスの問題から、その浸透率は高くない。



# 1 ネフロン癆・髄質嚢胞腎

## A ネフロン癆

### 1 定義・概念

ネフロン癆(nephronophthisis: NPH)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。遺伝形式は主として常染色体劣性遺伝を示すが、孤発例もある<sup>1)</sup>。一方、髄質嚢胞腎(medullary cystic kidney disease: MCKD)は、発症年齢が10歳以降～50歳代と比較的高く、遺伝形式は常染色体優性遺伝をとる。本疾患の原因の一つ(MCKD2)はuromodulin(Tamm-Horsfall)蛋白遺伝子(UMOD)の異常である。しかし両疾患は、発症年齢と遺伝形式の相違を除いて、臨床学的にはともに末期腎不全(ESRD)へ進行し、また、病理組織学的にも極めて相同性を示すため、juvenile nephronophthisis-medullary cystic kidney complexともよばれる<sup>1)</sup>。その他のタイプである髄質海綿腎(medullary sponge kidney)は遺伝性に乏しく、ESRDに至ることが少ない比較的前後良好な疾患である。

### 2 病型分類

NPHの頻度は、小児の血液透析例の約4～5%を

表1 ネフロン癆の分類と責任遺伝子

	若年性ネフロン癆 (NPH1)	乳児ネフロン癆 (NPH2)	思春期ネフロン癆 (NPH3)
遺伝子	<i>NPHP1</i> , 4, 5, 6, 8	<i>NPHP2</i>	<i>NPHP3</i>
遺伝子産物	nephrocystin-1	inversin (INVS)	nephrocystin-3
遺伝子座	2q12-13 (NPHP1)	9q22-31	3q21-22
ESRD への進行	平均 13～14 歳	3～5 歳頃まで	平均 19 歳頃
腎外症状	網膜色素変性症 Joubert 症候群 骨異常など	内臓逆転位 心奇形 高血圧など	肝線維症などの 報告あり

占める。病型分類には、3～5歳頃までにESRDとなる乳児ネフロン癆(NPH2)、幼少期～学童期までの比較的若年期に発症し、平均年齢13～14歳でESRDに移行する若年性ネフロン癆(NPH1)、平均年齢19歳頃にESRDに至る思春期ネフロン癆(NPH3)がある(表1)。なかでも最も頻度が高いものが若年性ネフロン癆である。

現在では、遺伝学的に上記の3型に加えて、若年性ネフロン癆のsecond formとして、NPH4～6が新たに加えられている。遺伝形式は主として常染色体劣性遺伝を示すが、孤発例もある。*NPHP4*は、1p36上に存在し、nephrocystin-4(nephroretinin)分子をコードする。nephrocystin-4は、nephrocystin-1と協調して、尿細管上皮細胞におけるシグナル伝達を連係する。nephrocystin-5は、一部の網膜色素変性症を呈するネフロン癆の患者(Senior-Loken症候群)から同定された新しい蛋白であり、その責任遺伝子は*IQCB1*(*NPHP5*)である。nephrocystin-5は、腎尿細管細胞のprimary ciliaと網膜の光受容体のconnecting cilia上に存在する。この機能異常が、眼障害の原因である。

しかし最近では、乳児ネフロン癆においても、思春期ネフロン癆の責任遺伝子である*NPHP3*のcompound heterogeneityが発見されるなど、発症にかかわる遺伝子の複雑化が報告されている<sup>2)</sup>。

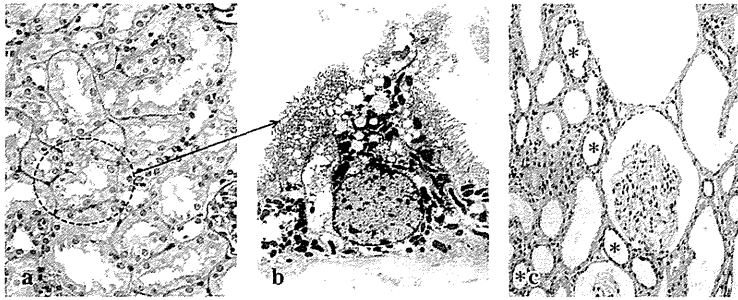


図1 nephrocystin-1の局在  
nephrocystin-1は、尿管上皮細胞の primary cilia に存在する(→)。免疫染色により、その発現が認められる(\*)  
(口絵カラー7, p.v 参照)

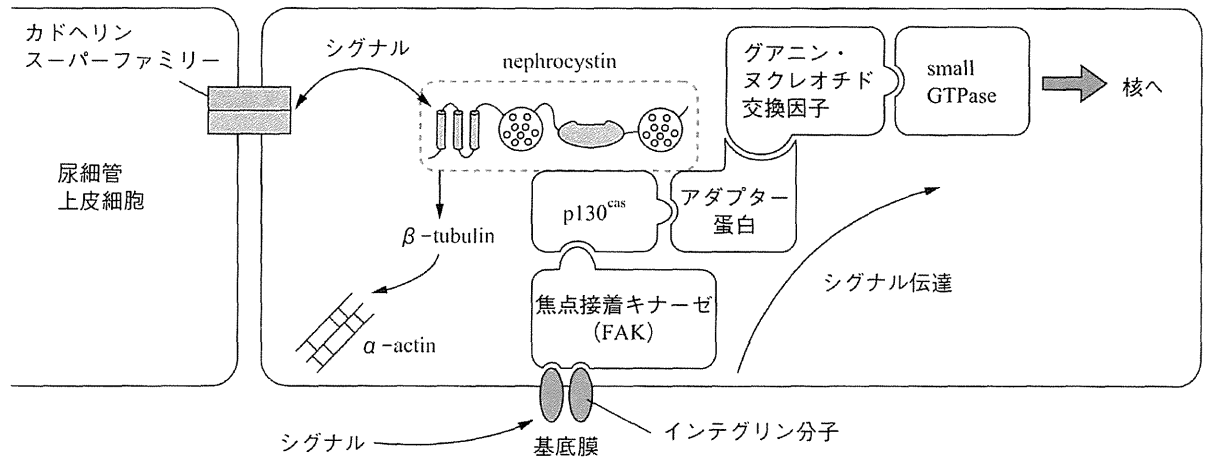


図2 nephrocystinの機能

### 3 病因・病態

*NPHP1* は若年性ネフロン癆の責任遺伝子であり、約 11 kb の長さで、染色体 2q12-13 上に存在し、nephrocystin-1 分子をコードする<sup>3)</sup>。nephrocystin-1 は、677 個のアミノ酸からなる蛋白で、3 個の coiled domain、2 個の highly acidic negatively charged glutamic acid-rich domain と Src-homology 3 domain から構成されている。分子量は 83 kD である。nephrocystin-1 は、腎では尿管上皮細胞の primary cilia の transition zone に存在する(図 1)。

尿管上皮細胞はインテグリン分子を架橋として基底膜と連結しており、細胞外から細胞内へ伝達されるシグナルは、これを介して核内に伝達される(図 2)。nephrocystin は、結合蛋白として、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重要な役割を有し、また N-cadherin, catenin,  $\beta$ -catenin と協調して細胞接着にも関与する<sup>4)</sup>。また、 $\beta$ -tubulin とともに、actin cytoskeleton 構造に影響を与え、細胞骨格の維持や細胞極性の変化にも寄与している。細胞内シグナル伝達の役割については、nephrocystin は Crk-associated substrate (CAS) と複合体を形成し、さらに Pyk2 のリン酸化を促進させ、Pyk2 依存性経路を介して細胞内情報を核内まで伝達する。また最近

の研究では、primary cilia 上で、 $\alpha$ -tubulin とその機能維持に寄与するとともに、細胞内小器官におけるシグナル伝達、すなわち cilia-sensory にかかわる役割も明らかにされている。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。

*NPHP1* mRNA の各組織での発現を検討した成績では、*NPHP1* mRNA は非常に広範囲な組織での発現が観察されるが、腎以外では、脳下垂体、脊椎、精巣、リンパ節や甲状腺などでの発現量が高い。脳・神経系での *NPHP1* mRNA の発現量は高く、その部位と一致した腎外合併症として小脳失調症がある一方で、肝線維症のように、mRNA 発現レベルが必ずしも高くない臓器にも症状が出現することがあるため、腎外徴候の発現における nephrocystin の役割については、いまだ解明されていない部分が多い。

乳児ネフロン癆の責任遺伝子(*NPHP2*)は、9q22-31 上に存在する。*NPHP2* は *INVS* 遺伝子、すなわち *inversin* とよばれる分子をコードする遺伝子を含み、*INVS* の異常は、ネフロン癆に類似した嚢胞形成を伴う腫大した腎とともに、内臓逆転位、脾臓にお

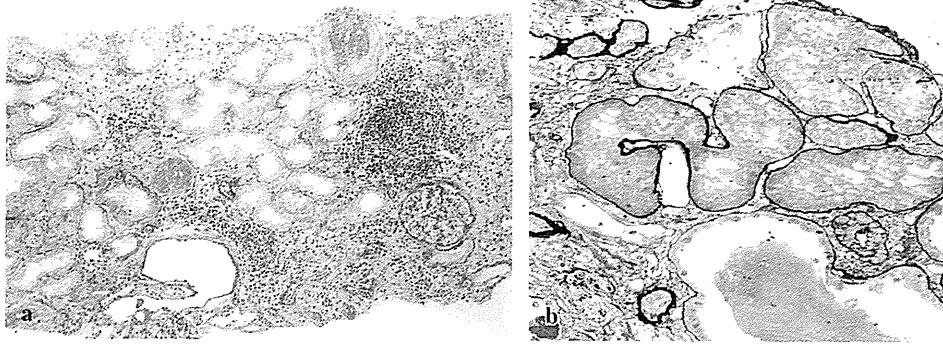


図3 若年性ネフロン癆の腎病理所見

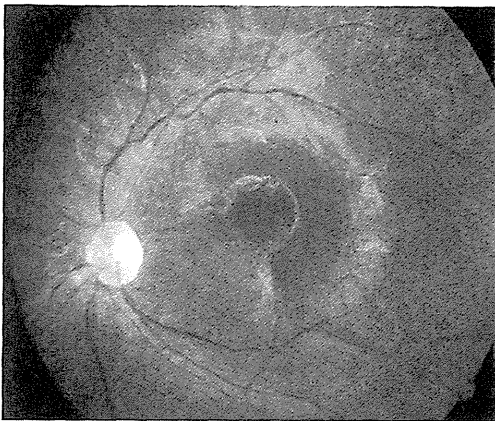


図4 腎外徴候である網膜色素変性症

る *ilet cell* の異形成、心血管の欠損や形態異常、肝・胆管系障害など、様々な異常をきたし、乳児期に ESRD に至る<sup>5)</sup>。

思春期ネフロン癆(NPH3)の責任遺伝子(*NPHP3*)は、3q21-22上に位置する<sup>6)</sup>。この遺伝子がコードする蛋白の機能についてはまだ十分には解明されていないが、*diacylglycerol kinase-zeta* や *receptor-like tyrosin kinase* などの尿管上皮細胞上におけるシグナル伝達に参与する分子をコードすることが推察されており、その異常は、ほかのタイプと同様に尿管の機能的・構造的崩壊をきたす。

#### 4 臨床組織学的所見

ネフロン癆の尿管基底膜における病理学的特徴は、特に皮髄境界部に主として遠位尿管を起源とする直径数mmから十数mm程度の小嚢胞が多数認められ、進行すると尿管の萎縮、尿管基底膜の肥厚や萎縮などがみられる(図3a)。さらに末期に至ると、腎間質や糸球体周囲の線維化、硬化糸球体が出現し、腎萎縮の状態に至る。また、本症では

尿管基底膜の不均一化もみられる(図3b)。

本症の初期症状としては、多飲、多尿、尿最大濃縮能の低下、また二次性の遺尿や成長発育障害などがある。これらの症状は、4~6歳頃より出現する。主要な病態は、尿管や集合管からのNaの喪失である。そのため、低ナトリウム血症、高カリウム血症が認められるが、著明な浮腫や血尿、蛋白尿などの腎症状は通常初期には認められず、血圧も正常である。腎機能障害が進行した段階で、はじめて尿量の減少とともに、Naの貯留や高血圧、貧血を呈する。したがって、低身長などの身体発育障害で受診する小児については、本症も念頭においた検査やフォローが必要である。また、原因不明の貧血の場合にも、本症を念頭におき精査する。また、本症には腎外症状を有する例もある。特に網膜色素変性症(図4)(Senior-Loken症候群)、眼球運動の失調(Cogan症候群)、小脳失調症、肝線維症、骨格や顔貌の異常なども発見のためのポイントとなる。

#### 5 診断と検査法

欧米では、本症が疑われる場合には、まず遺伝子診断が実施されるケースが多い。Salomonらによる診断のアルゴリズムを示す(図5)<sup>7)</sup>。まず、ESRDに至った年齢により、*NPHP1*もしくは*NPHP2*の診断から開始する。さらに、*NPHP1*に異常が認められない場合には、腎外徴候である網膜色素変性症や小脳失調症などの所見をもとに診断が進められる。しかしわが国では、ネフロン癆に対する遺伝子診断は欧米のように浸透しておらず、統計学的データの大部分は臨床組織学的診断によりなされたものであると思われ、ネフロン癆の疑いの域を出ない症例が大部分を占めているのが現状である。

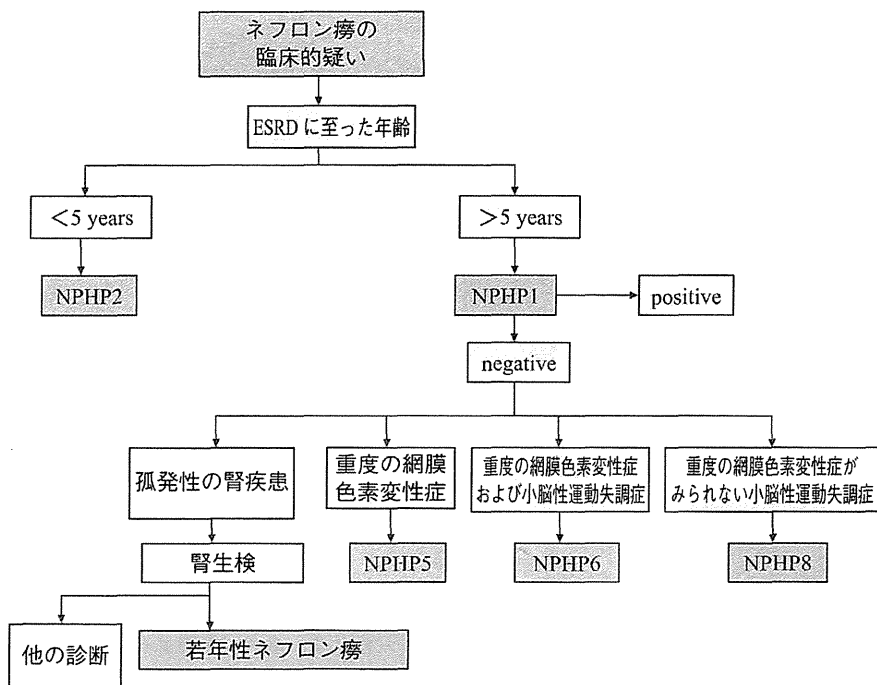


図5 ネフロン癆遺伝子診断のアルゴリズム  
(Salomon R, et al. : *Pediatr Nephrol* 24 : 2333-2344, 2009 より)

## 6 治療法

現時点では特別有効な治療法はなく、低ナトリウム血症や高カリウム血症あるいは代謝性アシドーシスに対する食事療法、イオン吸着樹脂、重炭酸塩の投与を行う。腎機能の低下が進行する場合には、ESRDに準じた治療が行われる。また、本症の出生前診断は現在のところ不可能であるため、家族に対する遺伝相談も重要である。本症の最大の問題点は、初期には蛋白尿が陰性で、かなり病態が進展してからでないと蛋白尿が検出されない点である。蛋白尿の主体は、 $\beta_2$ -ミクログロブリン(MG)や $\alpha_1$ -ミクログロブリン(MG)などの低分子蛋白尿であるため、アルブミンを中心に検出する通常の試験紙法では検出されにくい。このような理由から、学校検尿をはじめとするマスキング検査でも見逃される例が多い。すなわち、蛋白尿を検出したときには、すでにESRD状態ということも珍しくない。また、 $\beta_2$ -MGなどの低分子蛋白尿の検出も全例ではなく、しかもある程度病期が進展した状態になってからはじめて検出されるということもある。すなわち、早期発見のための明らかな手がかりが少ないのが現状である。しかし、この疾患の概念を知っているか否かで発見時期に差が生じる可能性がある。

## B 髓質嚢胞腎

MCKDは、皮質髓質移行部の嚢胞形成を示し、尿細管の萎縮、尿細管基底膜の肥厚や萎縮、腎間質や糸球体周囲の線維化などの出現がみられる点では、ネフロン癆と差はない。*UMOD*の異常が原因であるMCKD2では、平均30歳頃にESRDに至る。一方、MCKD1の発症にかかわる責任遺伝子はまだ同定されていないが、染色体1q21上にあることが推察されている。MCKD1では、60歳前後にEDRDに移行する。ESRDへの移行がゆるやかな経過を示すため、痛風以外の臨床症状をみることは少ないが、ネフロン癆と同様に、多飲、多尿、尿最大濃縮能の低下を示すこともある。

### 文献

- 1) Hildebrandt F, et al. : *J Am Soc Nephrol* 11 : 1753-1761, 2000
- 2) Tory K, et al. : *Kidney Int* 75 : 839-847, 2009
- 3) Otto EA, et al. : *J Am Soc Nephrol* 11 : 270-282, 2000
- 4) Donaldson JC, et al. : *J Biol Chem* 277 : 29028-29035, 2002
- 5) Otto EA, et al. : *Nature Genetics* 34 : 413-420, 2003
- 6) Omran H, et al. : *Am J Hum Genet* 66 : 118-127, 2000
- 7) Salomon R, et al. : *Pediatr Nephrol* 24 : 2333-2344, 2009

(竹村 司)