

## 文 献

いるが、これは W258X 変異によるものではなく R406C 変異によるものであった<sup>8)</sup>。次いで同定された腎性低尿酸血症 2 型の原因遺伝子は *GLUT9* である<sup>9)</sup>。*GLUT9* 解析において見出された R380W 変異〔380 番目のアミノ酸が、アルギニン (R) からトリプトファン (W) に置換〕および R198C 変異〔198 番目のアミノ酸がアルギニン (R) からシスチン (C) に置換〕では、両者ともほぼ完全に尿酸の再吸収能が消失していた。いずれの変異も、尿酸トランスポーター分子の膜貫通部位の近傍で、塩基性のアミノ酸が中性のアミノ酸に置換され電荷の消失が起きている。これにより、膜貫通部位の構造が変化し、尿酸輸送能が消失するものと考えられている<sup>4)</sup>。

現在、腎性低尿酸血症の原因遺伝子として報告されている既知の原因遺伝子は、*URAT1* と *GLUT9* のみである。しかし、腎性低尿酸血症のうち *URAT1* と *GLUT9* の両者に遺伝子変異を認めない症例が存在しており、新規遺伝子異常に起因する腎性低尿酸血症 3 型の存在が想定されている。今後、さらなる新規原因遺伝子の同定が待たれる。

- 1) 市田公美：【尿酸排泄異常の成因】腎性低尿酸血症、高尿酸血症と痛風 17：28-32, 2009
- 2) 久留一郎, 坪井麻理子, 重政千秋：遺伝性腎性低尿酸血症. 日本臨牀 54：3337-3342, 1996
- 3) 松尾洋孝, 市田公美：GLUT9 の異常症. 高尿酸血症と痛風 18：84-89, 2010
- 4) Kawamura Y, Matsuo H, Chiba T, et al：Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type 2 (RHUC2). Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 30：1105-1111, 2011
- 5) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al：Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. Nature 417：447-452, 2002
- 6) Ichida K, Hosoyamada M, Hisatome I, et al：Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of *URAT1* gene on urinary urate excretion. J Am Soc Nephrol 15 (1)：164-173, 2004
- 7) 松尾洋孝：尿酸の再吸収機構と輸送体病—ゲノムワイド関連解析後の新展開. Annual Review 腎臓 2010：9-20, 2010
- 8) Dinour D, Bahn A, Ganon L, et al：URAT1 mutations cause renal hypouricemia type 1 in Iraqi Jews. Nephrol Dial Transplant 26 (7)：2175-2181, 2011
- 9) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al：Mutations in glucose transporter 9 gene *SLC2A9* cause renal hypouricemia. Am J Hum Genet 83：744-751, 2008

\* \* \*

## 3. 腎性低尿酸血症

## Renal hypouricemia

中山昌喜<sup>\*1</sup> 松尾洋孝<sup>\*1</sup> 市田公美<sup>\*2</sup> 四ノ宮成祥<sup>\*1</sup>**Keywords** 腎性低尿酸血症, GLUT9/SLC2A9, URAT1/SLC22A12, 尿酸輸送体(トランスポーター), 運動後急性腎不全

## I. 概 念

腎性低尿酸血症は、血清中の低尿酸値を特徴とする遺伝性疾患であり、疾患頻度は不明である。無症候性であることも多いが、合併症として運動後急性腎不全や尿路結石が問題となる。腎臓の近位尿細管における尿酸の再吸収障害に起因しており、原因遺伝子により腎性低尿酸血症1型(renal hypouricemia type 1: RHUC1)と腎性低尿酸血症2型(renal hypouricemia type 2: RHUC2)に分けられる<sup>1)</sup>。それぞれurate transporter 1(URAT1/SLC22A12)とglucose transporter 9(GLUT9/SLC2A9)の遺伝子変異が原因である。現在のところ根治療法はなく、合併症に対して対症療法を行う。腎性低尿酸血症そのものの予後は良好であり、十分な水分摂取などにより合併症を予防することが肝要である。

## II. 病 態

尿酸輸送に関わる膜トランスポーター(尿酸輸送体)の遺伝子変異により、腎臓の近位尿細管細胞における尿酸再吸収機能が低下することが、基本的な病態である。

## 1. 尿酸について

プリン体は、細胞のDNAや食物中などに広く認められる物質であり、これが生体内で代謝され尿酸となる。ヒトを含む霊長類の一部では、尿酸

分解酵素であるウリカーゼuricaseは偽遺伝子となっており、その機能が欠損している。このため、ウリカーゼをもつマウスなどと比較すると、ヒトの血清尿酸値は高値を示す。血中に尿酸が過剰に存在する状態である高尿酸血症は、痛風や高血圧のリスクとなるなど、過剰な尿酸の不利益は広く知られている。一方で、尿酸は強力な抗酸化作用を有し、ヒトの血中における第一の抗酸化物質として(同じく抗酸化物質であるビタミンCの約6倍の濃度で存在する)、長寿(あるいはアンチエイジング)に関連する可能性も考えられている<sup>2)</sup>。

## 2. 腎臓における尿酸の動態

腎臓における尿酸の動態では、再吸収や分泌をつかさどる尿酸輸送体が重要な役割を担っている。腎糸球体において原尿中に濾過された尿酸は、その大部分が近位尿細管で再吸収される。ヒトの腎臓における生理学的な尿酸の再吸収は、主にURAT1<sup>3)</sup>およびGLUT9<sup>4)</sup>の2つの尿酸再吸収輸送体が担っている。*in vitro*の検討において、URAT1とGLUT9はどちらも高尿酸血症治療薬ベンズプロマロンにより、その再吸収機能が抑制される。

最近の研究により、尿酸分泌をつかさどる輸送体ABCG2/BCRP(ATP-binding cassette, subfamily G, member 2)が見出されており、その遺伝子変異が痛風の主要な原因の一つであることも判明している<sup>5)</sup>。

\*1防衛医科大学校分子生体制御学講座

(〒359-8513 所沢市並木3-2)

\*2東京薬科大学病態生理学教室

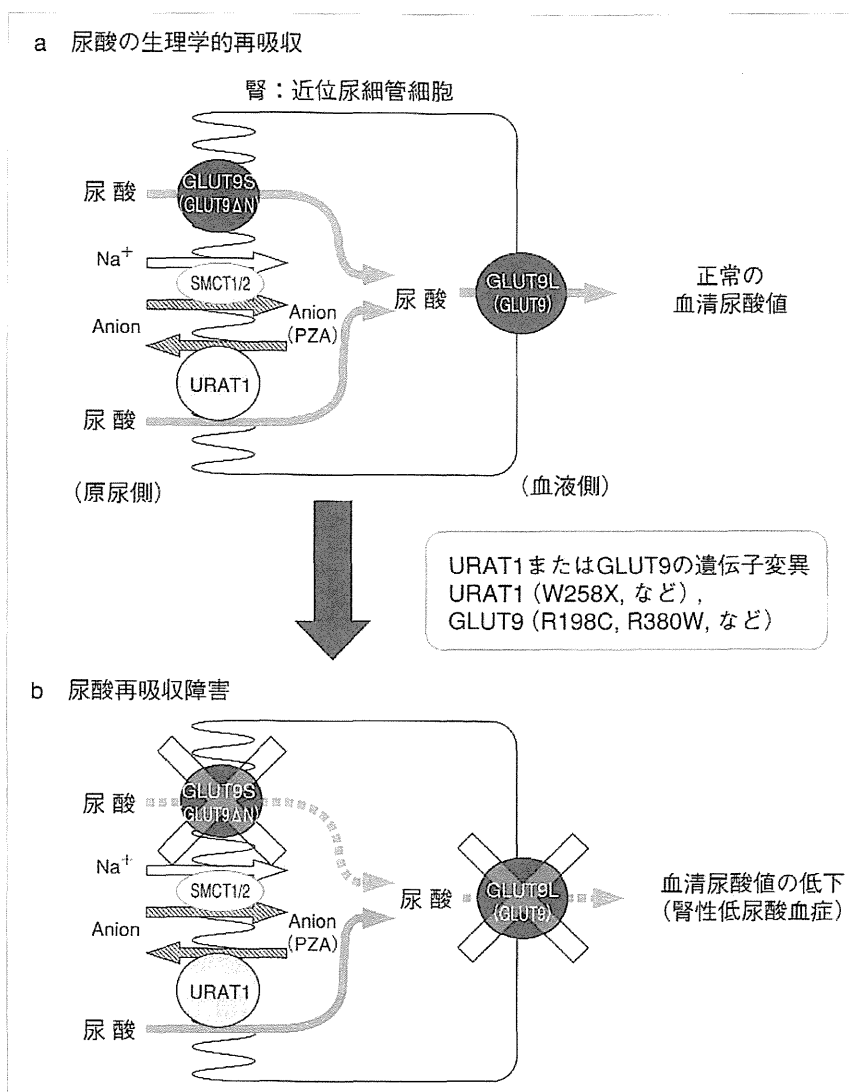


図 腎臓における尿酸の生理学的再吸収および障害の分子機構

腎臓の近位尿細管細胞における尿酸再吸収および障害の分子機構を示す。  
 a：尿酸の生理学的再吸収モデルにおいて，尿酸は原尿側から血液側へ，URAT1 および GLUT9（アイソフォームである GLUT9L と GLUT9S に分けて表示している）という2つの膜輸送体を介して再吸収される。  
 b：URAT1 または GLUT9 に遺伝子変異があり，再吸収機能が低下すると，血清尿酸値は低下する（ここでは一例として，GLUT9 に遺伝子変異があった場合を示している）。PZA は URAT1 輸送体において尿酸と交換輸送され，尿酸の再吸収を促進することから，腎性低尿酸血症1型と2型の鑑別にピラジナミド負荷試験が使用できる。しかし，URAT1 または GLUT9 の遺伝子変異を直接解析した方が，被検者に対する負担が軽く，かつ簡便である。

### 3. 腎性低尿酸血症の発症機序と分類

URAT1 または GLUT9 の遺伝子変異により，近位尿細管における尿酸の再吸収機能が低下すると，原尿からの尿酸の再吸収は減少し，尿中への尿酸排泄が増加する。このため，血中の尿酸値は

減少し，腎性低尿酸血症が引き起こされる（図）。

腎性低尿酸血症の原因となる遺伝子変異にはいくつかのパターンが知られており，URAT1 遺伝子の機能消失変異である「W258X」変異<sup>3)</sup> (URAT1 遺伝子の258番目のアミノ酸であるトリプトファ

表 腎性低尿酸血症の主な鑑別疾患

- A. 尿酸排泄亢進型低尿酸血症
1. 腎性低尿酸血症 (1型: URAT1 異常症, 2型: GLUT9 異常症, 3型 (?): 遺伝子未同定)
  2. Wilson 病
  3. Fanconi 症候群
  4. ADH 不適合分泌症候群 (SIADH)
  5. 悪性腫瘍
  6. 糖尿病
  7. 薬物の使用 (benzbromarone, probenecid, sulfinpyrazone 等)
  8. 妊娠
  9. 難治性下痢
- B. 尿酸産生低下型低尿酸血症
1. 特発性尿酸産生低下型低尿酸血症
  2. キサンチン尿症 (タイプ I, タイプ II)
  3. モリブデンコファクター欠損症
  4. purine nucleoside phosphorylase (PNP) 欠損症
  5. phosphoribosylpyrophosphate (PRPP) 合成酵素活性低下症
  6. 重症肝障害
  7. 薬物の使用 (allopurinol 等)
  8. るいそう

ン (W) に対応するコドンが終止コドン (X) となる変異) は日本人の腎性低尿酸血症患者に最も高頻度に認められる。GLUT9 遺伝子では、やはり機能消失変異である「R198C」および「R380W」変異 (GLUT9 遺伝子の 198 番目または 380 番目のアルギニン (R) に対応するコドンがそれぞれシステイン (C) またはトリプトファン (W) となる変異) が、腎性低尿酸血症患者における遺伝子変異として最初に報告された<sup>4)</sup>。「R198C」および「R380W」はともに GLUT9 の膜貫通領域近傍の塩基性アミノ酸が中性アミノ酸に置換される変異で、これにより膜貫通部位の構造変化が引き起こされ尿酸輸送機能が消失するという機序が考えられている<sup>1)</sup>。

URAT1 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症を「腎性低尿酸血症 1 型」、GLUT9 遺伝子変異により引き起こされる腎性低尿酸血症を「腎性低尿酸血症 2 型」と呼ぶが、URAT1 と GLUT9 のいずれにも変異を認めない症例が確認されていることから、「腎性低尿酸血症 3 型」<sup>6)</sup> の存在が示唆される (表)。

### Ⅲ. 診断および臨床検査

現時点では腎性低尿酸血症の診断・治療ガイドラインは存在しない。健康診断等で偶然発見されることが多いが、合併症を発症して初めて診断されることもある。血液・尿検査所見、合併症などを参考にして診断する。病型の判別には薬剤負荷試験が用いられることもあるが、患者への負担を考慮すると、尿酸輸送体の遺伝子検査によるタイプ分けが現実的であると考えられる。

#### 1. 自覚症状・他覚症状

ほとんどの例では特別な自覚症状や他覚症状はなく、健康診断で偶然見つかることが多い。運動後に急性腎不全を発症する場合や尿路結石の症状を呈することがある。

#### 2. 血液検査 (血清尿酸値)

低尿酸血症の基準について、過去の報告によれば血清尿酸値を「1.5 mg/dL 以下」とするものから「4.0 mg/dL 以下」とするものまで幅がある<sup>7)</sup>。一般にその基準を「2.0 mg/dL 以下」とするものが多いが、この場合、URAT1 や GLUT9 のヘテロ変異による軽度の低尿酸血症患者 (血清尿酸値 2.0~3.0 mg/dL) を見逃す可能性があり、注意が必要である。

#### 3. 尿検査 (尿中尿酸排泄率 (尿酸クリアランス比))

腎臓から尿中への尿酸排泄亢進の有無を検査するため、尿中尿酸排泄率 fractional excretion of uric acid (FE<sub>UA</sub>) を測定する。FE<sub>UA</sub> はクレアチンクリアランスと尿酸クリアランスの比であり、1 回の採血および一時尿または蓄尿の検体を用い、以下の計算式により算出する。

$$FE_{UA}(\%) = (UUA \times SCr) / (SUA \times UCr) \times 100$$

(ただし、UUA は尿中尿酸値 (mg/dL), SCr は血清クレアチニン値 (mg/dL), SUA は血清尿酸値 (mg/dL), UCr は尿中クレアチニン値 (mg/dL) を指す)

FE<sub>UA</sub> の基準値は 5.5~11.1% である。腎性低尿酸血症患者では 50% を超えることもある。

#### 4. 病型鑑別 (ピラジナミド負荷試験, 遺伝子検査)

結核治療薬ピラジナミドの代謝産物であるピラジンカルボン酸 (PZA) と尿酸は, URAT1 において交換輸送され, 尿酸の再吸収を促進する。したがって, 正常な URAT1 をもつ場合, ピラジナミド負荷試験により尿酸再吸収の増加を示す。逆に, URAT1 の機能が低下している腎性低尿酸血症 1 型においては, ピラジナミド負荷試験では尿酸再吸収の増加が認められないか, もしくは増加の程度は少ない。一方, GLUT9 輸送体は PZA を輸送しないため, 腎性低尿酸血症 2 型では正常と同様の尿酸再吸収の増加を示す<sup>4,6,8)</sup>。

しかし, 臨床の現場でピラジナミド負荷試験などの薬剤負荷試験を行うことは, 患者に対する負担が大きい。そのため, 腎性低尿酸血症 1 型と 2 型の鑑別には, URAT1 遺伝子や GLUT9 遺伝子における既知の変異を中心に調べる遺伝子検査が簡便かつ現実的であると考えられる。

#### 5. 鑑別疾患

鑑別疾患としては, キサンチン尿症や Fanconi 症候群など既知の遺伝性疾患のほか, 薬物使用による近位尿細管障害などの病態が含まれる (表)。

## IV. 治療

腎性低尿酸血症に対する根治療法は存在せず, 合併症に対しては対症療法 (尿路結石に対して鎮痛剤投与や補液など, 急性腎不全に対して利尿剤投与や水分管理など) を行う。腎性低尿酸血症そのものの予後は良好であり, 合併症の予防を念頭

に置いて対処する。

患者には運動前に数 100 mL 程度の十分な水分摂取を薦め, また運動前日の飲酒を避けることで, 脱水による合併症の誘発を予防する。特に, NSAIDs (非ステロイド性抗炎症薬) 服用後の無酸素運動は運動後急性腎不全を誘発しやすいことが知られており, 患者には注意喚起すべきである。

#### 文献

- 1) Kawamura Y, Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al : Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type 2 (RHUC2). *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 30 : 1105-1111, 2011
- 2) Hediger MA : Kidney function : gateway to a long life? *Nature* 417 : 393-395, 2002
- 3) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, Shigeta Y, et al : Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature* 417 : 447-452, 2002
- 4) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, Nakayama A, et al : Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet* 83 : 744-751, 2008
- 5) Matsuo H, Takada T, Ichida K, Nakamura T, et al : Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout : a function-based genetic analysis in a Japanese population. *Sci Transl Med* 1 : 5ra11, 2009
- 6) 松尾洋孝, 四ノ宮成祥 : 代謝 臨床分野での進歩 腎性低尿酸血症の遺伝学. *Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌* 2012, pp145-154, 中外医学社, 東京, 2012
- 7) 市田公美 : 【尿酸排泄異常の成因】腎性低尿酸血症. *高尿酸血症と痛風* 17 : 28-32, 2009
- 8) 松尾洋孝 : 尿酸の再吸収機構と輸送体病—ゲノムワイド関連解析後の新展開. *Annual Review 腎臓* 2010, pp9-20, 中外医学社, 東京, 2010

# Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2012

2012年1月30日発行

中外医学社

## 5. 腎性低尿酸血症の遺伝学

防衛医科大学校分子生体制御学講座講師 松尾 洋孝  
同 教授 四ノ宮成祥

**key words** renal hypouricemia, urate transporter, URAT1/SLC22A12, GLUT9/SLC2A9, ABCG2/BCRP, genome-wide association study

### 動 向

腎性低尿酸血症は、腎臓の近位尿細管における尿酸の再吸収不全に起因する尿酸トランスポーター病である。合併症として運動後急性腎不全や尿路結石が問題となる。腎性低尿酸血症は遺伝学的には1型と2型に分類されており、病因遺伝子はurate transporter 1 (*URAT1/SLC22A12*) 遺伝子およびglucose transporter 9 (*GLUT9/SLC2A9*) 遺伝子であることが、いずれも日本人の症例解析から明らかとなっている。URAT1およびGLUT9は、どちらも腎臓の近位尿細管における尿酸再吸収トランスポーターであり、これらの機能不全により、腎性低尿酸血症とその合併症が起きる(表1)。一方、尿酸排泄トランスポーター遺伝

子*ABCG2/BCRP* (ATP-binding cassette transporter, subfamily G, member 2) は、高尿酸血症や痛風の主要病因遺伝子であり(表1)、その機能低下により血清尿酸値が有意に上昇することがわかってきた。

*URAT1*, *GLUT9*, *ABCG2*の各遺伝子は、いずれも血清尿酸値のゲノムワイド関連解析 genome-wide association study (GWAS) においてその関与が示されており(表2)、ヒトの血清尿酸値の調節に重要な生理学的役割を担っている。これらの遺伝子のうち、*URAT1* 遺伝子はヒトゲノム解読以降に初めて同定されたものであり、*GLUT9* および *ABCG2* の両遺伝子についてもヒトゲノム解読後のGWASが進展した時期に

表1 ヒトの尿酸トランスポーターと尿酸代謝関連疾患

尿酸トランスポーター	遺伝子座位	生理機能(尿酸輸送)	トランスポーター機能不全による尿酸代謝関連疾患
URAT1/SLC22A12	11q13	腎近位尿細管における尿酸再吸収	腎性低尿酸血症1型 (RHUC1, renal hypouricemia type 1)
GLUT9/SLC2A9	4p16-p15.3	腎近位尿細管における尿酸再吸収	腎性低尿酸血症2型 (RHUC2, renal hypouricemia type 2)
未同定	—	—	腎性低尿酸血症3型? (RHUC3, renal hypouricemia type 3?)
ABCG2/BCRP	4q22	尿酸排泄	痛風 (gout)*

\*痛風は単一遺伝子疾患ではないが、主要病因遺伝子として*ABCG2* 遺伝子が同定されている。

表2 血清尿酸値の変動を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS)

発表年	著者	対象人数	対象人種	候補遺伝子	文献
2007	Li, et al.	4,371人 [1,301人]	イタリア人Sardinia [イタリア人Chianti]	<i>GLUT9/SLC2A9, PIA2</i>	21
2008	Döring, et al.	1,644人 [4,162人] [4,066人] [1,719人]	ドイツ人Augsberg [ドイツ人Augsberg] [ドイツ人Pomerania] [オーストリア人Salzburg]	<i>GLUT9/SLC2A9</i>	22
2008	Vitart, et al.	986人 [708人]	クロアチア人 [イギリス人Orkney島]	<i>GLUT9/SLC2A9</i>	23
2008	McArdle, et al.	868人	ドイツ系アメリカ人	<i>GLUT9/SLC2A9</i>	24
2008	Dehghan, et al.	7,699人 4,148人 11,024人 3,843人	ヨーロッパ系白人 オランダ人Rotterdam アメリカ人白人 アメリカ人黒人	<i>GLUT9/SLC2A9, ABCG2</i> <i>SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3 gene cluster</i>	26
2009	Kolz, et al.	28,141人	ヨーロッパ人(メタ解析)	<i>GLUT9/SLC2A9, ABCG2</i> <i>SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3 gene cluster</i> <i>URAT1/SLC22A12, OAT4/SLC22A11</i> <i>MCT9/SLC16A9, PDZK1, GCKR</i> <i>LRRC16A-SCGN gene cluster</i>	35
2010	Kamatani, et al.	14,700人	日本人	<i>URAT1/SLC22A12, GLUT9/SLC2A9</i> <i>ABCG2, LRP2</i>	40
2010	Yang, et al.	22,054人	欧米白人(メタ解析)	<i>GLUT9/SLC2A9, ABCG2</i> <i>OAT4/SLC22A11</i> <i>SLC17A4-SLC17A1-SLC17A3-SLC17A2 gene cluster</i> <i>GCKR, INHBC, RREB1, PDZK1</i>	41

注 [ ] は replication study の対象を示す。(文献31より引用, 改変)

ようやく尿酸関連疾患の原因となることが示された。このように、腎性低尿酸血症を含む尿酸関連疾患の原因となる「尿酸値の調節に関わる遺伝子」の同定が最近までなされなかった要因の1つに、ヒトにおける尿酸の代謝がマウスを含めた他のほ乳類と比較して大きく異なっていることが関係している。本稿では、ヒトゲノム研究の進展に伴い明らかとなってきた血清尿酸値の調節メカニズムや、尿酸関連疾患、特に腎性低尿酸血症の遺伝学の進展について概説する。

### A. 尿酸動態における種差

ヒトおよび霊長類の一部では尿酸分解酵素であ

るウリカーゼが欠損している。そのため、ヒトの尿酸値はマウスなどの他の多くのほ乳類と比較すると高値を示す<sup>1)</sup>。ウリカーゼ遺伝子は霊長類の進化過程において段階的に抑制されてきており、類人猿以降になると偽遺伝子化して完全に活性を失っている。多くのほ乳類では、尿酸はウリカーゼにより分解されて水溶性のアラントインとなり、容易に体外に排出される。しかしながら、ヒトにおいてはウリカーゼがないため尿酸がプリン代謝の最終代謝産物となる。このうち、2/3は腎臓から尿中に排泄され、残りの1/3が腸管から便中に排泄される。したがって、ヒトにおける尿酸の代謝・輸送動態の異常に起因する疾患については、尿酸トランスポーター遺伝子ノックアウトマ



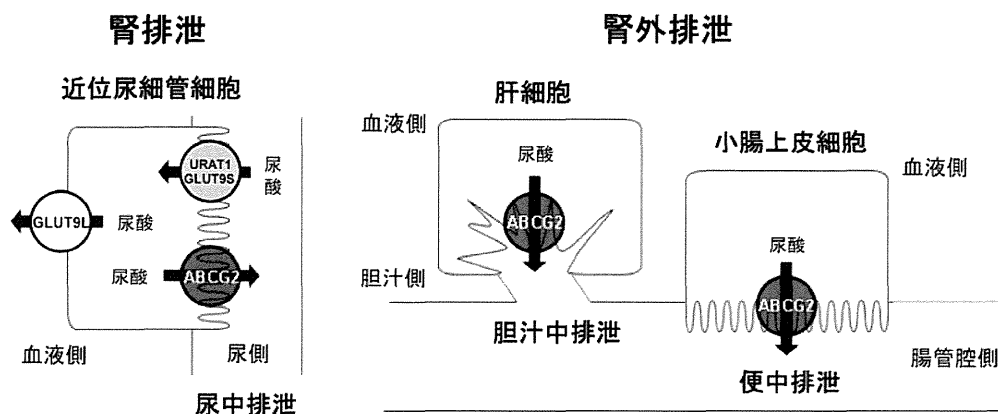


図1 尿酸トランスポーターを介した尿酸の再吸収および排泄の分子機構 (文献28より引用, 改変)  
 URAT1とGLUT9は尿酸再吸収トランスポーターとして腎臓の近位尿細管における尿酸の再吸収を司る。一方で、ABCG2は尿酸排泄トランスポーターとして、腎臓からの尿酸排泄に加えて、腸管への尿酸排泄(腎外排泄)を司ることが示唆されている。

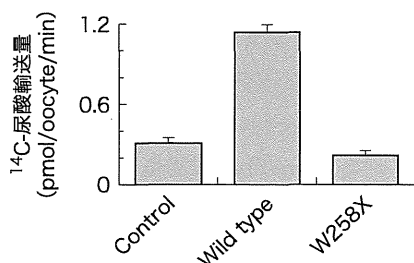


図2 *URAT1* 遺伝子の病変変異による尿酸輸送能の著明な低下 (文献4より引用, 改変)  
*URAT1*の野生株(wild type)と変異体(W258X)をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させて、RI標識した尿酸の輸送能を評価した。*URAT1*の野生株においては著明な尿酸輸送能を示し、変異体(W258X)では機能が消失し、腎性低尿酸血症1型の病変変異であることが示唆された。Controlは*URAT1*を発現させていない卵母細胞の解析結果を示す。

ウスなどのモデル動物を用いても真の病態解明は困難である。このような事情から、多数例のヒトを対象とした解析、特にヒトの疾患における臨床遺伝学的解析とそれに基づく分子機能解析が不可欠であった<sup>2)</sup>。分子クローニング技術の向上によ

り1990年代までに多くの疾患について病因遺伝子が同定された一方で、腎性低尿酸血症の病因遺伝子の同定や尿酸再吸収・排泄の分子の実態の解明についてはヒトゲノム研究の進展を待つことになった<sup>3)</sup>。

### B. 腎性低尿酸血症1型

腎性低尿酸血症1型の病因遺伝子である*URAT1*は、有機アニオントランスポーターであるOAT4との配列の相同性から、ヒトゲノム概要版の情報を活用することにより初めて同定された<sup>4)</sup>。このとき*URAT1*遺伝子が尿酸の再吸収トランスポーターをコードすることも併せて報告された(図1)。*URAT1*タンパク質は近位尿細管の管腔側に局在する尿酸再吸収トランスポーターとして腎特異的に発現しており、痛風・高尿酸血症治療薬であるベンズブロマロンの標的分子である。*URAT1*遺伝子の機能が完全に消失するW258X変異(258番目のトリプトファンが終止コドンとなるナンセンス変異)では尿酸輸送が顕著に抑制されることから(図2)、*URAT1*はヒト

の尿酸動態において重要な生理学的役割を果たすものと考えられた。日本人の腎性低尿酸血症32例についての解析では、30例に*URATI* 遺伝子の変異が認められた<sup>5)</sup>。これまでの日本人の低尿酸血症の症例解析ではW258X変異が最も高頻度に認められる<sup>5-7)</sup>。特に、W258X (G774A) 変異 (DNAレベルで774番目のグアニンがアデニンに置換される変異) は日本人では頻度の高い塩基多型 single nucleotide polymorphism (SNP) であり、アレル頻度は2.30～2.37%であると報告されている<sup>8,9)</sup>。低尿酸血症の病因遺伝子変異であるW258X (G774A) が認められる場合には、痛風になりにくいことも報告されている<sup>9)</sup>。低尿酸血症は日本人に多いことが知られているが、これはアジア大陸で生じた*URATI* 遺伝子のW258X変異が弥生時代頃に日本に渡来し、その遺伝子が広まった「創始者効果」により日本人に多く認められるようになったためと考えられている<sup>10)</sup>。韓国においても*URATI* 遺伝子のW258X変異が低尿酸血症の主要な病因変異であることが報告されている<sup>11)</sup>。アジア以外では*URATI* 遺伝子 (特にW258X変異) が関わっているという事実はない。例えば、ギリシアの腎性低尿酸血症8例の検討では*URATI* 遺伝子の変異は全く見出されておらず<sup>12)</sup>、アジア地域以外での低尿酸血症には異なる遺伝子が関与している可能性が指摘されていた。日本人の腎性低尿酸血症でも一部に*URATI* 遺伝子の変異を認めない症例が存在することから<sup>5,6)</sup>、*URATI* 以外の腎性低尿酸血症の病因遺伝子の探索が始まった。

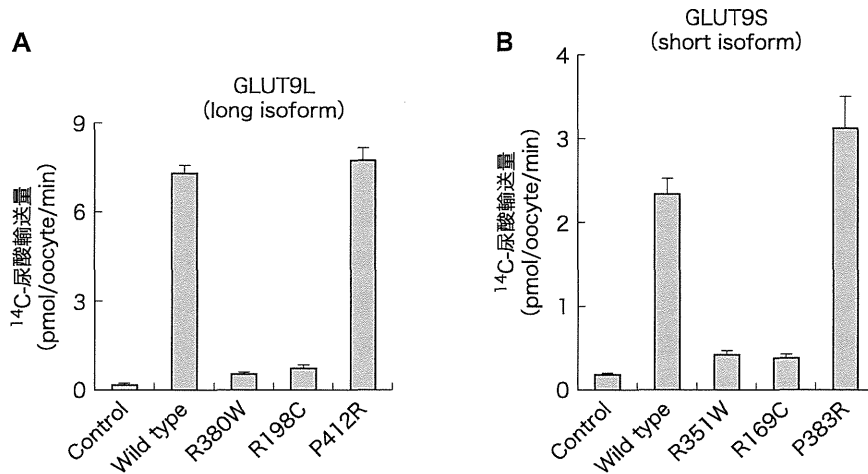
## C. 腎性低尿酸血症2型

### 1. 病因遺伝子*GLUT9/SLC2A9*

我々は、GWAS後に日本の大規模健康診断データベースを活用した遺伝子解析を実施することにより、*GLUT9/SLC2A9*が第2の尿酸の再吸収ト

ランスポーターであり (図1)、その機能消失型の変異が腎性低尿酸血症の原因となること (図3) を報告した<sup>13)</sup>。この報告以降、*URATI/SLC22A12* 遺伝子の異常によるものを「腎性低尿酸血症1型」 (RHUC1, renal hypouricemia type 1, OMIM 220150) と表記し、*GLUT9/SLC2A9* 遺伝子の異常によるものは「腎性低尿酸血症2型」 (RHUC2, renal hypouricemia type 2, OMIM 612076) と表記されるようになった (表1)。

我々が行った解析<sup>13)</sup> では、*GLUT9*変異症例はヘテロ変異による中程度の血清尿酸値の低下 (1.5～2.7 mg/dl) を示しており、尿酸値の低下やFE<sub>UA</sub>の上昇は*URATI* 遺伝子のW258Xヘテロ変異によるものと同程度の変化であった。腎性低尿酸血症1型と2型の臨床的特徴の相違点は、ピラジナミド負荷試験に対する反応の違いである。*URATI* トランスポーターはピラジナミドの代謝産物であるピラジンカルボン酸 (PZA) と尿酸との交換輸送を行い尿酸の再吸収を促進する。したがって、*URATI* の機能低下をきたす1型の症例においては、負荷試験による尿酸再吸収の増加が認められないか、もしくはその程度が低下する。一方、*GLUT9* トランスポーターはPZAを輸送しないため、ピラジナミド負荷試験において正常反応 (尿酸再吸収の増加) を示すことが特徴である。しかしながら、臨床の現場でピラジナミド負荷試験を実施することは患者に対する負担が大きいため、腎性低尿酸血症1型と2型の鑑別には、薬物負荷試験よりも遺伝子解析を用いるほうが簡便かつ現実的である。我々が*URATI* 変異以外の病因による腎性低尿酸血症 (*GLUT9*変異によるもの=2型) の概念を確立したことにより、腎性低尿酸血症の重要な合併症である運動後急性腎不全が、*URATI* の機能低下を直接的な原因とするのか、あるいは*GLUT9*機能低下を含めた腎性低尿酸血症という病態自体によるのかを検討することが可能となった。その後*GLUT9* 遺伝子のホモ



**図3** *GLUT9* 遺伝子の病変変異による尿酸輸送能の著明な低下 (文献13より引用, 改変)  
*GLUT9*の野生株 (wild type) と変異体をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させて、RI標識した尿酸の輸送能を評価した。*GLUT9*のlong isoform (*GLUT9L*), short isoform (*GLUT9S*)ともに、野生株においては著明な尿酸輸送能を示し、変異体のうちR198CとR380W (*GLUT9S*ではR169CとR351Wに相当)では機能がほぼ消失し、腎性低尿酸血症2型の病変変異であることが示唆された。Controlは*GLUT9*を発現させていない卵母細胞の解析結果を示す。

変異を認める症例が海外でみづかり、血清尿酸値が1.0 mg/dl以下、 $FE_{UA}$ が150%以上を示した。このように、*GLUT9*の尿酸再吸収能が血清尿酸値に及ぼす影響力は、*URAT1*に比べて高いことが示唆された。さらに、この家族例を含む2種類の*GLUT9*遺伝子ホモ変異症例において運動後急性腎不全や尿路結石の合併が確認されたことにより、病変遺伝子の種類にかかわらず、腎性低尿酸血症という病態が運動後急性腎不全を誘発することが明らかになった。

このほか、低尿酸血症の1例に*GLUT9*遺伝子のP412R変異を認めたという報告があった<sup>14)</sup>。しかし、報告された変異タンパク質の機能変化の程度が小さいことや、我々の解析では機能低下が再現できないこと (図3)<sup>13)</sup> などから、P412R変異が病変に関わる変異であるかどうかについては今後の検討が必要である<sup>15)</sup>。

これまでの解析により、*URAT1*および*GLUT9*

の両遺伝子に変異を認めない腎性低尿酸血症例が存在することも確認されており、今後、未知の病変遺伝子異常による「腎性低尿酸血症3型」(*RHUC3*, renal hypouricemia type 3) (表1)が見出される可能性が指摘されている。尿酸再吸収トランスポーター *URAT1* は既に臨床で使用されている痛風・高尿酸血症治療薬ベンズブロマロンの標的分子であることがわかった。同じく、尿酸再吸収トランスポーターである*GLUT9*も痛風・高尿酸血症の治療標的分子として極めて重要であることが示唆されている。そのため、「腎性低尿酸血症3型」の病変遺伝子の同定は、痛風・高尿酸血症の新たな治療標的分子の同定にもつながるものと期待できる。

## 2. *GLUT9*病変変異と細胞質内アンカー機能不全

腎性低尿酸血症1型の病変遺伝子である*URAT1*に多く認められるW258X変異はナンセ

ンス変異であり、機能消失をきたすことは自明である。一方、腎性低尿酸血症2型の病因遺伝子 *GLUT9* において同定された病因変異には興味深い特徴があった<sup>16)</sup>。最初に同定された *GLUT9* 遺伝子の2つの病因変異 (R198C, R380W) は、ともに膜貫通部位近傍の細胞内ループの中に存在し (図4)、塩基性アミノ酸のアルギニンから中性アミノ酸への置換が起きることにより、プラス電荷の消失が生じる<sup>13)</sup>。この2つの *GLUT9* 遺伝子の変異は、*GLUT1* 欠損症候群 (*GLUT1* deficiency syndrome, *GLUT1DS*)<sup>17)</sup> で認められる glucose transporter 1 (*GLUT1/SLC2A1*) 遺伝子の病因変異 (R153C と R333W) と全く相同なアミノ酸残基の変異である<sup>18)</sup>。 *GLUT1* および *GLUT9* 遺伝子両者に認められる病因変異部位のアルギニンは、*GLUT* family で保存されたモチーフの中に存在する。これらのモチーフは、ほ乳類のみならず、細菌、酵母、植物の糖トランスポーターに共通したコンセンサスパターンである sugar transport proteins signature の中にある<sup>13)</sup>。この2つのモチーフのうち、*GLUT1* の R333W を含む配列については、膜貫通部位をつなぎとめるアンカーの1つとして重要な役割を担うことが示されている。Satoらは、このモチーフにおける3つのアルギニン残基を中性アミノ酸に置換することで、この細胞内ループが前後の膜貫通部位とともに、細胞外に飛び出ることを示している (図4)<sup>19)</sup>。 *GLUT9* においては、相同のモチーフ中に認められるアルギニン残基は2つのみであるが、R380 は sugar transport proteins signature の中でも最もよく保存されており、細胞質内アンカーとして膜トポロジーの維持に重要な役割を担っていると考えられる。 *GLUT9* の R198 についての報告はこれまでになかったが、R380 と同様に膜貫通部位近傍の細胞質内ループに位置すること、正電荷のアルギニンから中性アミノ酸への変異を認めてトランスポーター機能の消失に繋がること、

sugar transport proteins signature の中に位置し最も保存されているアルギニン残基であることなど、多くの共通点が認められる。したがって、R198, R380 とともに細胞質内アンカーとして膜トポロジーの維持に重要な役割を担っており、これらのアミノ酸残基で正電荷消失を伴うミスセンス変異が起きることがトランスポーター機能の消失に繋がる主要なメカニズムの1つであると考えられる<sup>20)</sup>。

#### D. GWASに基づく尿酸関連遺伝子の同定

初期のGWASにより尿酸値の変動に関与する遺伝子として *GLUT9/SLC2A9* が報告され<sup>21-24)</sup>、*GLUT9* がヒトにおいて生理学的に重要な尿酸トランスポーターの候補であることが示された。Vitartらは、*GLUT9* が尿酸を輸送することをGWASの報告の際に初めて記載し、さらにその輸送動態 ( $K_m$  値,  $890 \mu M$ ) についても明らかにした<sup>23)</sup>。その後の報告でも、*GLUT9* の尿酸に対する  $K_m$  値は  $300 \sim 1000 \mu M$  とされており、*URAT1* の親和性と同等であることが報告されている<sup>14,25)</sup>。腎性低尿酸血症1型の病因遺伝子である *URAT1* の同定はヒトゲノム解読後の成果であったが、腎性低尿酸血症2型の病因遺伝子である *GLUT9* 遺伝子の同定が上記のGWASの成果が報告されるまでなされなかったのは興味深い。尿酸代謝は哺乳類間でも著しい種差があるため、ヒトゲノム研究の進展が尿酸トランスポーター病の同定に不可欠であったことがうかがえる。

初期のGWASでは *GLUT9* 遺伝子のみが尿酸値変動に関わる主要な遺伝子であったが、その後、解析対象数をさらに増やしたGWASが実施されることにより、*GLUT9* 以外にも *ABCG2* や *SLC17A3* を含む遺伝子領域が尿酸値の変動に関与することが報告された (表2)<sup>26)</sup>。 *ABCG2* については、痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子であり

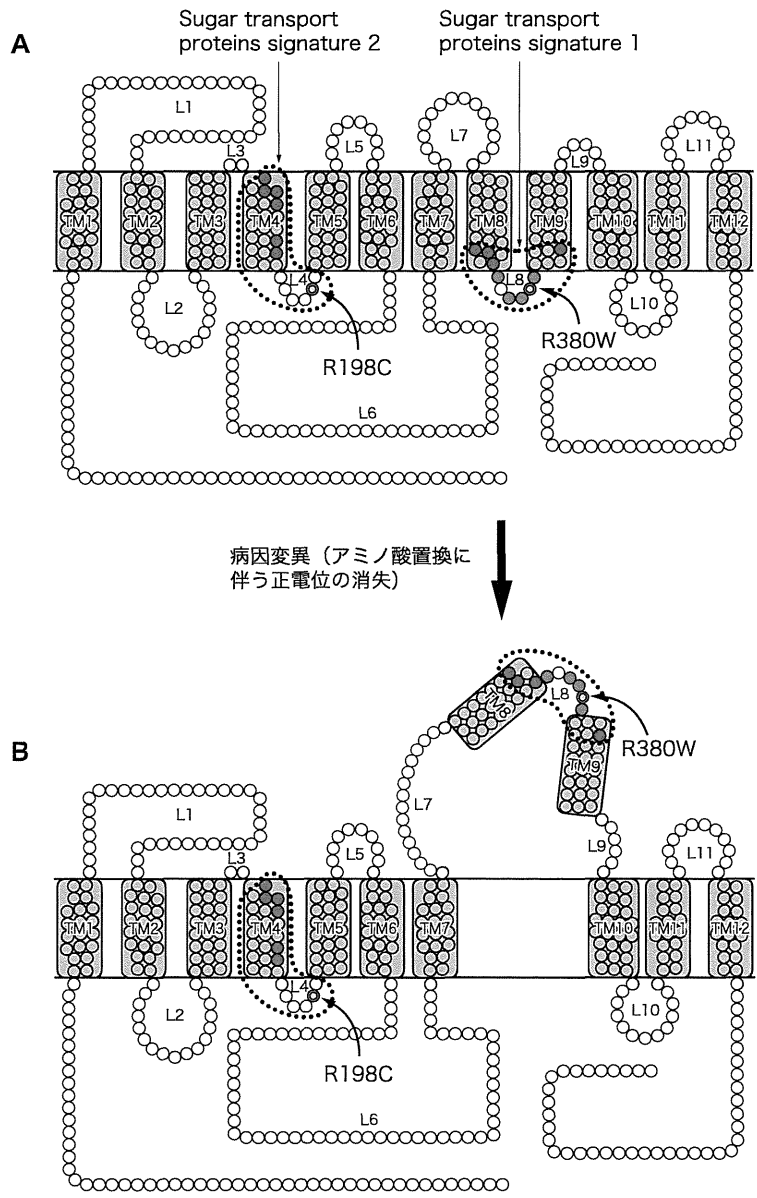


図4 GLUT1 および GLUT9 に共通する病因変異による細胞内アンカー機能不全 (文献20より引用, 改変)

- A. GLUT1の病因変異(R153CとR333W)とそれに相同なGLUT9の病因変異(R198CとR380W)は、ともに糖トランスポーターにおいて種を超えて保存される sugar transport proteins signature の中に認められ、膜貫通部位近傍の細胞内ループに位置している。どちらも、塩基性アミノ酸のアルギニン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。図はGLUT9のトポロジーモデルと病因変異部位を示す。
- B. GLUT1に関する過去の報告では、sugar transport proteins signature における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来すことが示されている。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として重要である。GLUT9の病因変異においても、細胞内アンカー機能不全により尿酸輸送能の消失が起きる可能性が示唆されている。

尿酸の排泄トランスポーターをコードすることがわかってきた<sup>27-29)</sup>。ヒトにおいては、血清尿酸の2/3が腎臓から尿中へ、残りの1/3が主に小腸から便中へ排泄されることが古くから知られていた<sup>30)</sup>。ABCG2トランスポーターが腎臓、肝臓および小腸に発現していることから、これらの臓器における尿酸排泄機序に中心的な役割を果たしていることが示唆される。尿酸トランスポーターに関する一連の仕事により、我々は、教科書的に記載されながらその詳細が不明であった腎外排泄を含む尿酸排泄の分子機構モデルを提唱することができた(図1)<sup>31)</sup>。

一方、*SLC17A3-SLC17A1-SLC17A4*のように、GWASで同定された領域が複数のトランスポーター遺伝子を含む領域にまたがっている場合には、連鎖不平衡という大きな問題がある。すなわち、GWASで同定されたSNPが複数の遺伝子のうちどの遺伝子の影響を反映しているかという課題については、遺伝学的解析のみでは解決が困難である。これを解決して血清尿酸値の生理学的な調節において真に重要な遺伝子を同定するためには、GWAS後のさらなる詳細な解析が必要である。このようななか、*SLC17A3-SLC17A1-SLC17A4*のうち、*NPT1/SLC17A1* 遺伝子のSNPと痛風発症が関連しているという報告がある<sup>32)</sup>。また、*NPT1/SLC17A1* および *NPT4/SLC17A3* がともに尿酸を輸送することが報告された<sup>33,34)</sup>。これらの知見をもとに、*SLC17A3-SLC17A1-SLC17A4* 遺伝子領域中のどのトランスポーター遺伝子が血清尿酸値の生理学的な調節に重要なのか、今後解明されていくものと思われる。

これまでのGWASの成果をもとに、近年、2万8000人以上を対象としたメタ解析が実施され、尿酸値の変動に関わるさらに多くの遺伝子群が報告された<sup>35)</sup>。この報告では、*GLUT9*、*ABCG2*、*SLC17A3*の3つの遺伝子領域のほかに、新たに6つの遺伝子領域が見出された。そのうち、

*URAT1/SLC22A12*、*OAT4/SLC22A11*、*MCT9/SLC16A9*がトランスポーター遺伝子の領域としてあげられ、*PDZK1*、*GCKR*、*LRRC16A-SCGN*はその他の機能を担う遺伝子領域として報告されている(表2)。このGWASメタ解析において、*URAT1* 遺伝子のSNPと尿酸値変動との関わりが初めて確認された。さらに、*LRRC16A-SCGN*以外の5つは、その後のreplication studyにおいても血清尿酸値への影響の再現性が認められている<sup>36)</sup>。*OAT4*については尿酸輸送活性があることが既に示されており<sup>37,38)</sup>、高尿酸血症や低尿酸血症などとの関連が解明されていくものと考えられる。また、PDZドメインタンパク質*PDZK1*は、*URAT1*をはじめとするトランスポーターと結合してその機能を高めるため<sup>39)</sup>、尿酸トランスポートソーム(尿酸輸送分子複合体)における尿酸輸送調節機構の解明につながることを期待される。2010年には日本人を対象としたGWASの結果も発表されており<sup>40)</sup>、日本人においても*GLUT9*、*URAT1*、*ABCG2*が血清尿酸値と関連することが示されたほか、新たな関連遺伝子候補として*LRP2*が報告された。さらに、欧米の白人を対象としたメタ解析では、*INHBC*、*RREB1*が新たな関連遺伝子として浮上してきている(表2)<sup>41)</sup>。これらの遺伝子と尿酸関連疾患との関係についても、今後の研究の進展が期待される。

### むすび

本稿では、腎性低尿酸血症の病因遺伝子探索のこれまでの経緯について振り返ってみた。ヒトゲノム情報の解読後に、腎臓の尿酸再吸収トランスポーターをコードする*URAT1*が腎性低尿酸血症1型の病因遺伝子であることが同定された。また、重要なポストゲノム研究の1つとも言えるGWASと関連研究の進展により、腎性低尿酸血症2型の病因遺伝子*GLUT9*や痛風・高尿酸血症の主要病因遺伝子*ABCG2*が同定された。血清尿酸値の変

動に関わるGWASでは, *URAT1*, *GLUT9*, *ABCG2* 以外にも複数の尿酸トランスポーター候補遺伝子が示されており, 今後, これらの遺伝子についても生理機能や尿酸関連疾患との関係が明らかになるものと期待される。痛風・高尿酸血症治療薬であるベンズブプロマロンの標的分子が*URAT1*であることからわかるように, 腎性低尿酸血症の病因遺伝子の解析は, 痛風や高尿酸血症に対する新たな分子標的薬の開発にも繋がる。腎性低尿酸血症3型の病因遺伝子の同定を含めた今後の尿酸トランスポーター研究の展開は, 尿酸代謝関連疾患の診断や治療に大いに寄与するであろう。

## 文献

- 1) Wu XW, Lee CC, Muzny DM, et al. Urate oxidase: primary structure and evolutionary implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989; 86: 9412-6.
- 2) 松尾洋孝. 残されたトランスポーターへのアプローチ2. トランスポーターの分子機能を指標とした臨床遺伝学的解析による痛風の主要病因遺伝子 *ABCG2* の同定. *遺伝子医学MOOK*, 2010; 19: 116-25.
- 3) 松尾洋孝. 尿酸の再吸収機構と輸送体病-ゲノムワイド関連解析後の新展開. In: 御手洗哲也, 東原英二, 秋澤忠男, 五十嵐隆, 金井好克, 編. *Annual Review 腎臓* 2010. 東京: 中外医学社; 2010. p.9-20.
- 4) Enomoto A, Kimura H, Chairoungdua A, et al. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*. 2002; 417: 447-52.
- 5) Ichida K, Hosoyamada M, Hisatome I, et al. Clinical and molecular analysis of patients with renal hypouricemia in Japan-influence of *URAT1* gene on urinary urate excretion. *J Am Soc Nephrol*. 2004; 15: 164-73.
- 6) Wakida N, Tuyen DG, Adachi M, et al. Mutations in human urate transporter 1 gene in pre-secretory reabsorption defect type of familial renal hypouricemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90: 2169-74.
- 7) Komoda F, Sekine T, Inatomi J, et al. The W258X mutation in *SLC22A12* is the predominant cause of Japanese renal hypouricemia. *Pediatr Nephrol*. 2004; 19: 728-33.
- 8) Iwai N, Mino Y, Hosoyamada M, et al. A high prevalence of renal hypouricemia caused by inactive *SLC22A12* in Japanese. *Kidney Int*. 2004; 66: 935-44.
- 9) Taniguchi A, Urano W, Yamanaka M, et al. A common mutation in an organic anion transporter gene, *SLC22A12*, is a suppressing factor for the development of gout. *Arthritis Rheum*. 2005; 52: 2576-7.
- 10) Ichida K, Hosoyamada M, Kamatani N, et al. Age and origin of the G774A mutation in *SLC22A12* causing renal hypouricemia in Japanese. *Clin Genet*. 2008; 74: 243-51.
- 11) Cheong HI, Kang JH, Lee JH, et al. Mutational analysis of idiopathic renal hypouricemia in Korea. *Pediatr Nephrol*. 2005; 20: 886-90.
- 12) Tzovaras V, Chatzikiyakidou A, Bairaktari E, et al. Absence of *SLC22A12* gene mutations in Greek Caucasian patients with primary renal hypouricaemia. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007; 67: 589-95.
- 13) Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene *SLC2A9* cause renal hypouricemia. *Am J Hum Genet*. 2008; 83: 744-51.
- 14) Anzai N, Ichida K, Jutabha P, et al. Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter *URATv1* (*SLC2A9*) in humans. *J Biol Chem*. 2008; 283: 26834-8.
- 15) 金井好克. 尿酸排泄異常の成因 尿酸トランスポーター. *高尿酸血症と痛風*, 2009; 17: 21-7.
- 16) 松尾洋孝, 市田公美. *GLUT9*の異常症. *高尿酸血症と痛風*, 2010; 18: 84-9.
- 17) Pascual JM, Wang D, Lecumberri B, et al. *GLUT1* deficiency and other glucose transporter diseases. *Eur J Endocrinol*. 2004; 150: 627-33.
- 18) Pascual JM, Wang D, Yang R, et al. Structural signatures and membrane helix 4 in *GLUT1*: inferences from human blood-brain glucose transport mutants. *J Biol Chem*. 2008; 283: 16732-42.
- 19) Sato M, Mueckler M. A conserved amino acid motif (R-X-G-R-R) in the *Glut1* glucose transporter is an important determinant of membrane topology. *J Biol Chem*. 1999; 274: 24721-5.

- 20) Kawamura Y, Matsuo H, Chiba T, et al. Pathogenic GLUT9 mutations causing renal hypouricemia type 2 (RHUC2). *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2011; 30: 1105-11.
- 21) Li S, Sanna S, Maschio A, et al. The GLUT9 gene is associated with serum uric acid levels in Sardinia and Chianti cohorts. *PLoS Genet*. 2007; 3: e194.
- 22) Döring A, Gieger C, Mehta D, et al. SLC2A9 influences uric acid concentrations with pronounced sex-specific effects. *Nat Genet*. 2008; 40: 430-6.
- 23) Vitart V, Rudan I, Hayward C, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. *Nat Genet*. 2008; 40: 437-42.
- 24) McArdle PF, Parsa A, Chang YP, et al. Association of a common nonsynonymous variant in GLUT9 with serum uric acid levels in old order amish. *Arthritis Rheum*. 2008; 58: 2874-81.
- 25) Caulfield MJ, Munroe PB, O'Neill D, et al. SLC2A9 Is a High-Capacity Urate Transporter in Humans. *PLoS Med*. 2008; 5: e197.
- 26) Dehghan A, Köttgen A, Yang Q, et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. *Lancet*. 2008; 372: 1953-61.
- 27) Woodward OM, Köttgen A, Coresh J, et al. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009; 106: 10338-42.
- 28) Matsuo H, Takada T, Ichida K, et al. Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: a function-based genetic analysis in a Japanese population. *Sci Transl Med*. 2009; 1: 5ra11.
- 29) 松尾洋孝, 高田龍平, 市田公美, 他. 痛風の主要な病因遺伝子ABCG2の同定. *実験医学*. 2010; 28: 1285-9.
- 30) Sica DA, Schoolwerth A. Elements of normal renal structure and function: Renal handling of organic anions and cations. In: Brenner BM, editor. *Brenner and Rector's The Kidney*. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2004. p.645-9.
- 31) 松尾洋孝. 痛風の病因遺伝子. *痛風と核酸代謝*. 2010; 34: 159-69.
- 32) Urano W, Taniguchi A, Anzai N, et al. Sodium-dependent phosphate cotransporter type 1 sequence polymorphisms in male patients with gout. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69: 1232-4.
- 33) Iharada M, Miyaji T, Fujimoto T, et al. Type 1 sodium-dependent phosphate transporter (SLC17A1 Protein) is a Cl(-)-dependent urate exporter. *J Biol Chem*. 2010; 285: 26107-13.
- 34) Jutabha P, Anzai N, Kitamura K, et al. Human sodium phosphate transporter 4 (hNPT4/SLC17A3) as a common renal secretory pathway for drugs and urate. *J Biol Chem*. 2010; 285: 35123-32.
- 35) Kolz M, Johnson T, Sanna S, et al. Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. *PLoS Genet*. 2009; 5: e1000504.
- 36) van der Harst P, Bakker SJ, de Boer RA, et al. Replication of the five novel loci for uric acid concentrations and potential mediating mechanisms. *Hum Mol Genet*. 2010; 19: 387-95.
- 37) 木村弘章, 市田公美, 細山田真, 他. 近位尿管細管腔膜側に存在するヒト有機陰イオントランスポーター hOAT4 (human Organic Anion Transporter 4) における尿酸輸送の解析. *痛風と核酸代謝*. 2001; 25: 113-20.
- 38) Hagos Y, Stein D, Ugele B, et al. Human renal organic anion transporter 4 operates as an asymmetric urate transporter. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18: 430-9.
- 39) Anzai N, Miyazaki H, Noshiro R, et al. The multivalent PDZ domain-containing protein PDZK1 regulates transport activity of renal urate-anion exchanger URAT1 via its C terminus. *J Biol Chem*. 2004; 279: 45942-50.
- 40) Kamatani Y, Matsuda K, Okada Y, et al. Genome-wide association study of hematological and biochemical traits in a Japanese population. *Nat Genet*. 2010; 42: 210-5.
- 41) Yang Q, Köttgen A, Dehghan A, et al. Multiple genetic loci influence serum urate levels and their relationship with gout and cardiovascular disease risk factors. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010; 3: 523-30.



# Ophthalmic Features of CHARGE Syndrome With CHD7 Mutations

Sachiko Nishina,<sup>1</sup> Rika Kosaki,<sup>2</sup> Tatsuhiko Yagihashi,<sup>3</sup> Noriyuki Azuma,<sup>1</sup> Nobuhiko Okamoto,<sup>4</sup> Yoshikazu Hatsukawa,<sup>5</sup> Kenji Kurosawa,<sup>6</sup> Takahiro Yamane,<sup>7</sup> Seiji Mizuno,<sup>8</sup> Kinichi Tsuzuki,<sup>9</sup> and Kenjiro Kosaki<sup>3,10\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Ophthalmology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Division of Medical Genetics, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>4</sup>Department of Medical Genetics, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Osaka, Japan

<sup>5</sup>Department of Ophthalmology, Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Osaka, Japan

<sup>6</sup>Division of Medical Genetics, Kanagawa Children's Medical Center, Kanagawa, Japan

<sup>7</sup>Division of Ophthalmology, Kanagawa Children's Medical Center, Kanagawa, Japan

<sup>8</sup>Department of Genetics, Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center, Aichi, Japan

<sup>9</sup>Department of Ophthalmology, Aichi Children's Health and Medical Center, Aichi, Japan

<sup>10</sup>Center for Medical Genetics, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

Received 26 December 2010; Accepted 25 October 2011

Coloboma and various ocular abnormalities have been described in CHARGE syndrome, although the severity of visual impairment varies from case to case. We conducted a multicenter study to clarify the ophthalmic features of patients with molecularly confirmed CHARGE syndrome. Thirty-eight eyes in 19 patients with CHARGE syndrome and confirmed CHD7 mutations treated at four centers were retrospectively studied. Colobomata affected the posterior segment of 35 eyes in 18 patients. Both retinochoroidal and optic disk colobomata were bilaterally observed in 15 patients and unilaterally observed in 3 patients. The coloboma involved the macula totally or partially in 21 eyes of 13 patients. We confirmed that bilateral large retinochoroidal colobomata represents a typical ophthalmic feature of CHARGE syndrome in patients with confirmed CHD7 mutations; however, even eyes with large colobomata can form maculas. The anatomical severity of the eye defect was graded according to the presence of colobomata, macula defect, and microphthalmos. A comparison of the severity in one eye with that in the other eye revealed a low-to-moderate degree of agreement between the two eyes, reflecting the general facial asymmetry of patients with CHARGE syndrome. The location of protein truncation and the anatomical severity of the eyes were significantly correlated. We suggested that the early diagnosis of retinal morphology and function may be beneficial to patients, since such attention may determine whether treatment for amblyopia, such as optical correction and patching, will be effective in facilitating the visual potential or whether care for poor vision will be needed.

© 2012 Wiley Periodicals, Inc.

**Key words:** CHARGE syndrome; CHD7; coloboma; ophthalmic features

## How to Cite this Article:

Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. 2012. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet Part A* 158A:514–518.

## INTRODUCTION

CHARGE syndrome is a multiple malformation syndrome named from the acronym of its major features: coloboma, heart defects, atresia of the choanae, retarded growth and/or development, genital anomalies, and ear abnormalities [Pagon et al., 1981; Zentner et al., 2010]. The major ocular feature of CHARGE syndrome is coloboma, and a previous investigation by ophthalmologists revealed an incidence of up to 86%, although the severity

Grant sponsor: Ministry of Health, Labour and Welfare, Tokyo, Japan.

\*Correspondence to:

Kenjiro Kosaki, M.D., Ph.D., Department of Pediatrics, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan. E-mail: kkosaki@z3.keio.ac.jp

Published online 2 February 2012 in Wiley Online Library

(wileyonlinelibrary.com).

DOI 10.1002/ajmg.a.34400

of coloboma and visual impairment varied from case to case [Russell-Eggitt et al., 1990].

Recently, the gene *Chromodomain helicase DNA-binding protein-7 (CHD7)* at chromosome 8q12.1 was identified as a causative gene of CHARGE syndrome [Vissers et al., 2004]. Up to 70% of patients clinically diagnosed as having CHARGE syndrome exhibit mutations in the *CHD7* gene [Aramaki et al., 2006a; Jongmans et al., 2006; Lalani et al., 2006]. Although the exact function of this gene product remains unknown, it may have an important effect on an early stage of ocular morphogenesis.

We conducted the present multicenter study to clarify the ophthalmic features of patients with molecularly confirmed CHARGE syndrome and to explore the role of *CHD7* in ocular development.

## PATIENTS AND METHODS

Thirty-eight eyes in 19 patients clinically diagnosed as having CHARGE syndrome at the National Center for Child Health and Development, the Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, the Kanagawa Children's Medical Center, or the Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center were retrospectively studied. All the patients had been molecularly confirmed to carry *CHD7* mutations at the Keio University School of Medicine [Aramaki et al., 2006a]. The clinical diagnosis of CHARGE syndrome was made based on the Blake criteria [Blake et al., 1998]. Molecular screening for mutations in the *CHD7* gene was conducted as reported previously [Aramaki et al., 2006b]. Ophthalmic features were examined using slit-lamp biomicroscopy and binocular indirect ophthalmoscopy. Two patients were also examined using a spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT). The SD-OCT images were obtained with RS-3000 (NIDEK Co., Ltd., Gamagori, Japan). The best-corrected visual acuity (BCVA) was measured with a standard Japanese VA chart using Landolt rings or pictures at 5 m, then converted to Snellen VA.

The anatomical severity of the eye defect was classified as follows: Grade 1, Normal; Grade 2, colobomata with macular formation; Grade 3, colobomata including the macula; and Grade 4, colobomata, macular defect, and microphthalmos. Then, Cohen's kappa coefficient [Cohen, 1960] was used to measure the agreement of the severity in the two eyes among 19 *CHD7*-mutation positive patients. The potential correlation between the anatomical severity of the eyes in an individual and the amino acid position where the truncation of the *CHD7* protein occurred in the same individual was evaluated among 14 patients with protein-truncating mutations.

This study was approved by the institutional ethics committee; the patients or the parents of the patients provided informed consent prior to enrollment in the study.

## RESULTS

The characteristics of the 38 eyes of the 19 patients with CHARGE syndrome carrying *CHD7* mutations are summarized in Table I. Ten patients (53%) were male and 9 (47%) were female. The age of the patients at the time of the examination ranged from 1 to 21 years

TABLE I. Characteristics of Patients of CHARGE Syndrome With *CHD7* Mutations (n = 9)

Variable	Number
Gender	
Male	10 (53%)
Female	9 (47%)
Age at examination	1–21 years
Mean	7.9 ± 5.0 years
Ocular abnormalities (colobomata)	
Bilateral	17 (89.4%)
Unilateral	1 (5.3%)
None	1 (5.3%)
BCVA	
<20/400	4 (21.1%)
20/400 to <20/60	7 (36.8%)
20/60 to 20/20	6 (31.6%)
Not measured	2 (10.5%)

BCVA, best-corrected visual acuity.

(mean 7.9 ± 5.0 years). Ocular abnormalities were found in 18 patients (94.7%), bilateral abnormalities were observed in 17 patients (89.4%), and unilateral abnormalities were observed in 1 patient (5.3%). Among these 18 patients, all 35 abnormal eyes had varying severities of colobomata.

The ocular features of the individual patients are summarized in Table II. Colobomata affected the posterior segment in 35/38 eyes (92.1%), retinochoroidal coloboma was present in 33 eyes (86.8%), and optic disk coloboma was present in 33 eyes (86.8%). Both retinochoroidal coloboma and optic disk coloboma were bilaterally present in 15 patients (78.9%) and unilaterally present in 3 patients (15.8%). The coloboma involved the macula totally or partially in 21 eyes (55.3%) of the 13 patients (68.4%): bilaterally in 8 patients

TABLE II. Ocular Features of the Patients (n = 19 patients, 38 eyes)

Findings	Number of patients (%)			Number of eyes (%)
	Bilateral	Unilateral	Total	
Colobomata	17 (89.5)	1 (5.3)	18 (94.7)	35 (92.1)
Retinochoroidal	15 (78.9)	3 (15.8)	18 (94.7)	33 (86.8)
Optic disk	15 (78.9)	3 (15.8)	18 (94.7)	33 (86.8)
Macula	8 (42.1)	5 (26.3)	13 (68.4)	21 (55.3)
Iris	1 (5.3)	0 (0.0)	1 (5.3)	2 (5.3)
Lens	0 (0.0)	1 (5.3)	1 (5.3)	1 (2.6)
Microphthalmos	3 (15.8)	2 (10.5)	5 (26.3)	8 (21.1)
Microcornea	3 (15.8)	1 (5.3)	4 (21.1)	7 (18.4)
Ptosis	1 (5.3)	1 (5.3)	2 (10.5)	3 (7.9)
PFV	0 (0.0)	1 (5.3)	1 (5.3)	1 (2.6)
Cataract	0 (0.0)	1 (5.3)	1 (5.3)	1 (2.6)
High myopia (>6.0 D)	2 (10.5)	1 (5.3)	3 (15.8)	5 (13.2)

PFV, persistent fetal vasculature.

(42.1%) and unilaterally in 5 patients (26.3%). The SD-OCT demonstrated a partially formed macula and cystic changes in the colobomatous area in 1 case (Fig. 1).

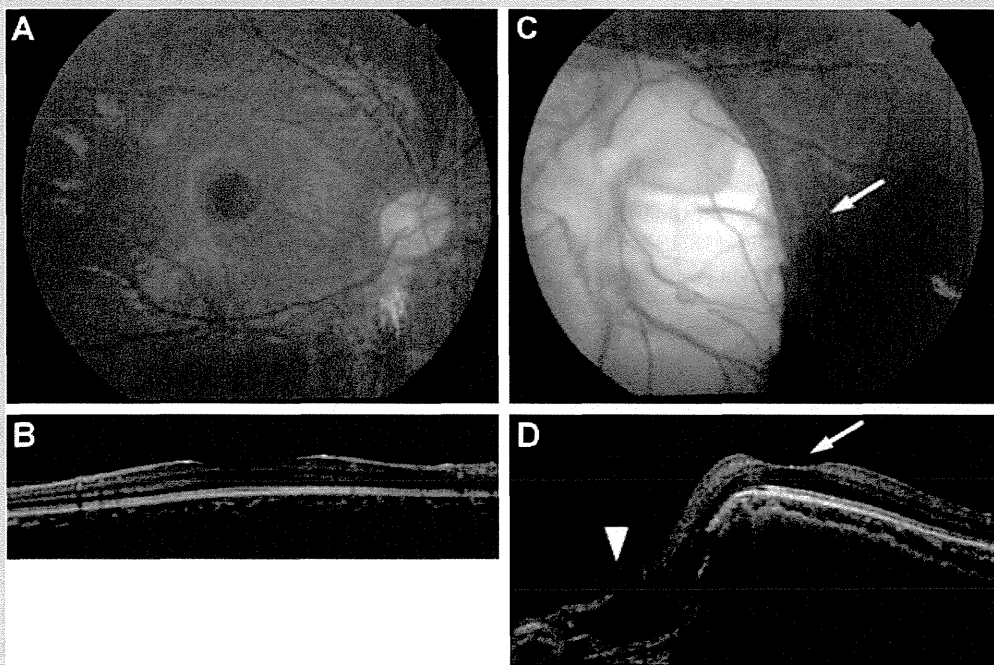
Only 2 eyes of 1 patient (5.3%) were identified as having iris colobomata, and 1 eye (2.6%) of another patient was revealed by examination under general anesthesia to have a dislocated and colobomatous lens. No cases of eyelid colobomata were seen, but congenital ptosis was present in 3 eyes (7.9%) of 2 patients who had undergone surgical treatment. All the cases of ptosis were not pseudoptosis associated with microphthalmos and/or cranial nerve palsy, but were true congenital ptosis associated with poor levator function. We evaluated the levator muscle function in each case. None of the patients had a history of acquired causes or signs of oculomotor palsy, such as paralytic strabismus and limited ocular movement.

Microphthalmos was found in 8 eyes (21.1%) of 5 patients (26.3%): bilaterally in 3 patients (15.8%) and unilaterally in 2 patients (10.5%). Microcornea was also present in 7 eyes (18.4%) of 4 patients (21.1%): bilaterally in 3 patients (15.8%) and unilaterally in 1 patient (5.3%). Persistent fetal vasculature was identified in 1 eye (2.6%). Cataracts had developed in 1 eye (2.6%), but neither glaucoma nor retinal detachment was observed in this series.

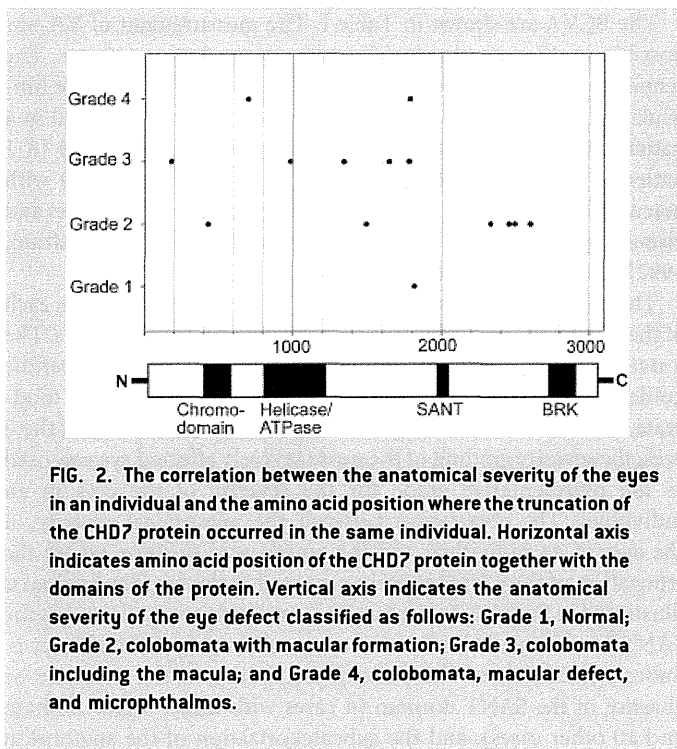
The refraction could be estimated in 23 eyes of 12 patients (63.2%). Of these eyes, 10 were myopic, 7 were emmetropic, and 6 were hypermetropic. High myopia ( $-6.00$  diopters or more) was found in 5 eyes (13.2%) of 3 patients (15.8%).

The BCVA are shown in Table I. The measurement of VA was possible in 17 patients (89.5%) older than 3 years of age. The remaining 2 patients were infants or mentally retarded. The binocular BCVA or BCVA in the better eye was less than 20/400 in 4 patients (21.1%), less than 20/60 but no less than 20/400 in 7 patients (36.8%), and 20/60 to 20/20 in 6 patients (31.6%) with macular formation (Fig. 1). The overall prevalence of blindness and visual impairment (less than 20/60) [World Health Organization, 1992] among the 17 patients was 65%.

The agreement of anatomical severity between the 2 eyes in each of the 19 patients was evaluated using Cohen's Kappa statistics. The  $\kappa$  statistic of 0.41 suggested a moderate degree of agreement, per the guidelines by Landis and Koch [1977]. Because there was a moderate, if not a substantial, agreement between the severity of the 2 eyes, the severity grading of the more severely affected eye was used as the representative grade for the severity of the eyes in an individual. The correlation between the anatomical severity of the eyes in an individual and the amino acid position where the truncation of the CHD7 protein occurred in the same individual is illustrated in Figure 2. Patients with truncated protein devoid of the SANT domain tended to have severer anatomical defects of the eyes. Subcategorization of the patients according to the presence or absence of the SANT domain (4 cases with intact SANT domain and 10 other cases), and the subcategorization of the anatomical severity of the eyes in an individual (7 cases classified as Grade 1 or 2 vs. 7 cases classified as Grade 3 or 4) revealed a statistically



**FIG. 1.** Fundus photographs and spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) scan of the retina in the right eye (A,B) and the left eye (C,D) in a 6-year-old girl. A: Retinochoroidal colobomata inferior to the optic disk is visible in the right eye. B: The SD-OCT shows a good macular formation in the right eye, resulting in a BCVA of 20/20. C: Retinochoroidal and optic disk coloboma are seen in the left eye. The colobomata partially involved the macula [arrow]. D: The SD-OCT shows a partially formed macula [arrow] and cystic changes in the colobomatous area [arrow head] in the left eye, resulting in a BCVA of 20/50 after amblyopia treatment.



**FIG. 2.** The correlation between the anatomical severity of the eyes in an individual and the amino acid position where the truncation of the *CHD7* protein occurred in the same individual. Horizontal axis indicates amino acid position of the *CHD7* protein together with the domains of the protein. Vertical axis indicates the anatomical severity of the eye defect classified as follows: Grade 1, Normal; Grade 2, colobomata with macular formation; Grade 3, colobomata including the macula; and Grade 4, colobomata, macular defect, and microphthalmos.

significant correlation between the location of protein truncation and the anatomical severity of the eyes ( $P=0.02$ , chi-squared test).

## DISCUSSION

In the current series, the incidence of coloboma, the major ocular feature of CHARGE syndrome, was 94.7% (18/19), which was much higher than the previously reported incidence. Since most of the authors were ophthalmologists, the number of cases without eye defects might have been underrepresented. Hence, this high incidence should be viewed with caution. Nevertheless, attending clinical geneticists were on duty at all the participating children's hospitals, and thus the bias from such underrepresentation may be relatively small. The finding that there was one mutation-positive patient who did not have abnormal eye findings confirms that no finding in CHARGE syndrome has a 100% penetrance as is sometimes surmised.

Both retinochoroidal and optic disk coloboma occurred in 94.7% of the cases, mostly bilaterally, while the incidence of iris coloboma was only 5.3% (1/19). Coloboma also affected the macula in 68.4% of the cases. We confirmed that bilateral large retinochoroidal colobomata represent a typical ophthalmic feature of CHARGE syndrome with *CHD7* mutations.

The incidence of anomalies in the anterior segment was lower than that in the posterior segment, although microphthalmos, microcornea, PFV, and cataracts were present in some cases bilaterally or unilaterally. The presence of characteristic large

retinochoroidal coloboma indicates the essential role of *CHD7* in the closure of the fetal fissure posteriorly between 5 and 6 weeks of gestation, and the malfunction of *CHD7* may have an effect so severe as to influence the entire ocular morphogenesis to some degree. Although most cases had bilateral colobomata in the posterior segment, the severity and associated features often differed between the two eyes. Other associated features in this series were ptosis in 10.5% and high myopia in 15.8%. Subtle-associated anomalies and refractive errors may have been underestimated in examinations that were not performed under general anesthesia.

The anatomical severity grading of the eye defect was evaluated in two ways: a comparison between the severity in one eye in comparison with that in the other eye and the correlation between the severity and the genotype. The low-to-moderate degree of agreement between the two eyes (i.e., left and right) reflects the general facial asymmetry in patients with CHARGE syndrome [Zentner et al., 2010]. In other words, the lack of substantial or perfect agreement between the anatomical severity of the right and the left eyes indicates a variable phenotypic effect of the same mutation. Yet, the location of protein truncation and the anatomical severity of the eyes were significantly correlated: if the chromodomain, helicase/ATP domain, and SANT domains are intact, the severity of the eyes tends to be milder. Interestingly, all four cases in which those domains were intact had less severe eye defects with intact macula. Further studies are warranted to verify this potential genotype–phenotype correlation.

The visual acuities of the eyes ranged between no light perception and 20/20, and the prevalence of blindness and visual impairment (less than 20/60) was 65% among 17 patients. A poor visual prognosis depended on the presence of a large coloboma involving the macula in the posterior segment and associated microphthalmos or microcornea, as reported previously [Russell-Eggitt et al., 1990; Hornby et al., 2000]. On the other hand, even eyes with large colobomata as a result of *CHD7* mutations were capable of forming maculas, resulting in good central visual acuity with superior visual field defects. As shown in the case illustrated in Figure 1, even a partially formed macula will enable useful vision following the adequate treatment of amblyopia as optical correction and patching during the earlier age of visual development. A recent report of a case examined using OCT revealed additional morphologic characteristics of eyes in patients with CHARGE syndrome carrying *CHD7* mutations [Holak et al., 2008]. Further investigation of retinal morphology and function using OCT and electroretinograms (ERG) may help to clarify the function of *CHD7* in ocular morphogenesis, including macular formation.

We suggested that the early diagnosis of retinal morphology and function, especially of macular lesions by way of OCT and ERG, may be beneficial to patients, since such attention may determine whether treatment for amblyopia, such as optical correction and patching, will be effective in facilitating the visual potential or whether care for poor vision will be needed. An infant's visual acuity rapidly develops during its first 2–3 years and continues up until 7–8 years of age, but plasticity decreases progressively thereafter. Thus, a better visual prognosis can be obtained with the earlier treatment of amblyopia during the critical period of visual development.