

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））  
分担研究報告書

腎・泌尿器系の希少・難治性疾患群に関する診断基準・診療ガイドラインの確立  
(研究代表者 飯島一誠 神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野教授)

腎性低尿酸血症

研究分担者 四ノ宮 成祥 防衛医科大学校・分子生体制御学講座・教授

**研究要旨**

腎性低尿酸血症 (RHUC: Renal hypouricemia) は、尿細管障害を認めないにもかかわらず、腎近位尿細管における尿酸再吸収不全または分泌亢進に伴う尿酸排泄の増加から、血清尿酸値 (SUA) が低値を示す疾患である。本疾患は、しばしば重篤な運動後急性腎不全や尿路結石を合併し、日本人に多い疾患であることも分かっている。また、遺伝子解析技術の向上によって、一部ではあるが疾患と遺伝子型との関連が明らかになってきている。しかし、RHUCは基本的に無症状であり、比較的稀なことから病名の認知度も低い。診療ガイドラインも存在せず、多くの症例で診断や治療、合併症への対処、再発予防などが適切になされていないのが現状である。

報告者らは、これまでに発症に関わる2つの病因遺伝子を同定しており、RHUCは1型（尿酸輸送体Urate transporter 1 (URAT1/SLC22A12) 遺伝子の変異が原因）と2型（同じく尿酸輸送体Glucose transporter 9 (GLUT9/SLC2A9) 遺伝子の変異が原因）に分類されるようになった。また、このいずれにも属さない分類不能型とされるRHUC3型の存在も明らかにしている。報告者らは、本疾患に関して国内外でも最大規模の症例数を有するのみならず、本疾患の遺伝子解析における十分な経験、知識及び技術をもとに尿酸関連疾患に関する独創的な研究を展開している。

本研究では、これまでに国内外で報告されたRHUCについてのエビデンスを収集し、これを基にMindsに準拠したRHUC診療ガイドラインを予定年度内（平成26年度～28年度）に策定することを目指している。現在、「Minds診療ガイドライン作成マニュアル」にしたがって作業を進めており、既にガイドライン作成組織の編制は終了している。クリニカルクエスチョンを含めたスコープの作成も平成26年度内に終了し、近々システムティック・レビューを開始できる見込みである。

本研究事業の成果として世界初のRHUC診療ガイドラインを策定することにより、本疾患そのものの認知度を上昇させる重要な啓発基盤となることが期待できる。そして、これまでは発見が遅れていた患者を含め多くの症例において、診断、治療、合併症の予防が、より適切に実施されることが期待できる。

## A. 研究目的

腎性低尿酸血症(RHUC)は、尿細管障害を認めないにもかかわらず、腎近位尿細管における尿酸再吸収不全または分泌亢進に伴う尿酸排泄の増加から、血清尿酸値(SUA)が低値を示す尿酸輸送体病である。

本症は、諸外国に比し日本人に多い疾患であることが分かっているものの、比較的稀な疾患である。血清中の尿酸の高値を特徴とする高尿酸血症に比べ、医療従事者においてもその知名度は低く、重篤な合併症である運動後急性腎不全や尿路結石を発症してから初めて発見されることが多い。運動後急性腎不全は、透析導入につながる重大な合併症であり、患者の将来に大きな影響を与えるものである。本疾患についての診療ガイドラインが存在しないことから、正確な診断基準や標準的な診療についてのコンセンサスも得られていない。そのため、多くの症例で適切な診断や治療がなされず、合併症への対処や再発予防などの対策も十分でないのが現状である。本研究の目的は、Mindsに準拠したRHUCの診療ガイドラインを世界に先駆けて策定することにある。そして、RHUCのガイドラインを広く発信することで、RHUCの更なる実態解明と潜在的な患者の把握、疾患対処への啓発に繋げることを目指している。

これまでに報告者らは、腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子が、それぞれ *URAT1* (Enomoto et al., *Nature*, 2002) 及び *GLUT9* (Matsuo et al., *Am J Hum Genet*, 2008) であることを報告してきた。後者の報告においては、2万人以上の自衛隊員を対象とした大規模健康診断データベースを活用して低尿酸血症の症例スクリーニングを

行い、希少疾患の原因遺伝子の解明と分子病態の解明に結びつけることができた。また、報告者らの解析によって、RHUCには1型及び2型のいずれにも属さない分類不能型(3型)も存在することが明らかとなった。すなわち、異なる遺伝子の異常による、異なった分子病態が存在していることが示唆されていることから、それぞれの分子病態に基づいた対策が必要であることが予想される。報告者らはこれまでに、腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子診断法を世界に先駆けて開発し、総計100例以上に及ぶRHUCの症例数の解析を積み重ねてきた。

RHUCは血清尿酸の低値を主徴とする疾患であるが、この対極に血清尿酸の高値を示す高尿酸血症や痛風が存在する。RHUCの疾患原因分子は尿酸の輸送体であり、高尿酸血症や痛風の治療標的分子となることも知られている。これらのことから、高尿酸血症に関する研究成果はRHUCの診断や治療等にも有用であると考えられ、報告者らは低尿酸・高尿酸に関する包括的な研究を展開している。その一例として、*ABCG2*が尿酸排泄輸送体として重要な機能を握っていることを多施設間研究により見出した。これら一連の研究は、RHUCの原因分子である尿酸再吸収輸送体に関する知見とともに新たな尿酸の排泄・再吸収機構を提唱している。

このような、国内外でも類を見ない規模での多施設にわたる独創的解析の蓄積が、RHUC診療ガイドラインの策定に向けた効率的な研究の実施を可能にしている。

## B. 研究方法

Minds準拠の診療ガイドラインを策定するため、方法はすべてMindsが公開している「Minds診療ガイドライン作成マニュアル」(Ver. 1.1 - 2014.7.23公開；公益財団法人 日本医療機能評価機構 EBM医療情報部 発行) に従った (図1)。このマニュアルはMindsガイドラインセンターのホームページ (<http://minds4.jcqh.or.jp/minds/guideline/manual.html>) より無料でダウンロード可能なオープンアクセス・リソースであり、我が国に固有の医療事情を配慮したガイドラインの作成方法を記載したものである。

また、RHUCの診療ガイドラインを作成するにあたり、「痛風・高尿酸血症の診療ガイドライン」の作成実績を持つ、一般社団法人 日本痛風・核酸代謝学会より協力を得た。具体的には、当該学会より委嘱された4名の学会員をガイドライン作成委員に加えることで、RHUCの診療ガイドラインを本研究班と当該学会との共同編集とした。

これらの方法により、ガイドライン作成経験者を交えた効率的かつ効果的なRHUCの診療ガイドラインを作成するための体制を整え、作成を開始した。

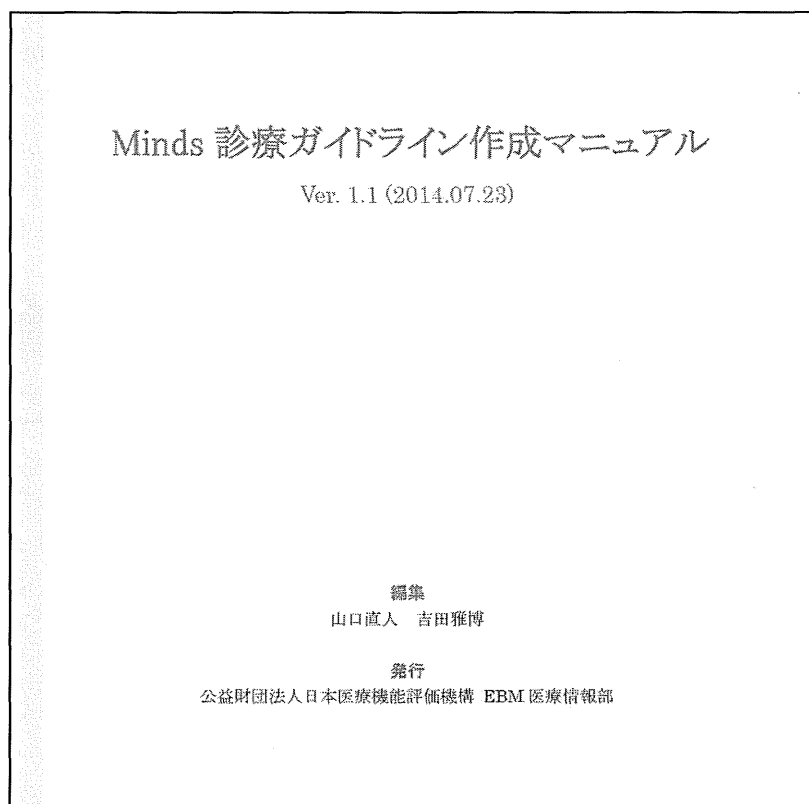


図1 Minds 診療ガイドライン作成マニュアル

本マニュアルは公益財団法人 日本医療機能評価機構 EBM 医療情報部が発行しているオープンアクセス・リソースであり、我が国に固有の医療事情を配慮したガイドラインの作成方法を記載したものである。報告者らは、このMindsのマニュアルに準拠したRHUC診療ガイドラインを策定中である。

(倫理面への配慮)

本研究は、エビデンス収集に基づく腎性低尿酸血症のガイドライン作成を担当しているものであるため、以下の倫理指針に該当するものはない。

- ・ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
- ・疫学研究に関する倫理指針
- ・遺伝子治療臨床研究に関する指針
- ・臨床研究に関する倫理指針
- ・ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針
- ・厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針

### C. 研究結果

現在、図2に示した計画に従いRHUCの診療ガイドラインを策定中である。平成27年2月現在、既にガイドライン作成組織の編制

を終了している。スコープ及びクリニカルクエスト(CQ)も平成26年度内に確定し、ほぼ予定通りエビデンスの収集を開始できる見込みである。

#### 1) ガイドライン作成組織について

Minds診療ガイドライン作成マニュアルに基づき、以下のようなガイドライン作成組織を編制した(丸印は代表者)。

##### (1) ガイドライン作成主体(共同編集)

- ・当研究班(厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業):腎・泌尿器系の希少・難治性疾患群に関する診断基準・診療ガイドラインの確立研究班(腎性低尿酸血症担当))
- ・一般社団法人 日本痛風・核酸代謝学会

項目↓	時期→	H26.		H27.		H28.		H29.			
		7-9.	10-12.	1-3.	4-6.	7-9.	10-12.	1-3.	4-6.		
GL作成目的の明確化		○									
GL作成体制の決定		○	○								
本邦におけるRHUCの現状を確認			○	○							
スコープ作成			○	○							
重要臨床課題からCQを設定			○	○							
エビデンス収集				○	○						
エビデンス評価・統合					○	○					
推奨作成						○	○				
診療GL草案作成							○	○	○		
外部評価									○	○	
診療GL最終決定・公開・普及										○	○

図2 RHUCガイドライン策定計画

平成28年度末の完成を予定している。平成27年2月現在、ほぼ計画通り進行中である。

(2) ガイドライン統括委員会

- 四ノ宮成祥 (防衛医大)
- 市田公美 (東京薬科大)
- 久留一郎 (鳥取大)

(4) ガイドライン作成グループ

- 市田公美 (東京薬科大)
- 松尾洋孝 (防衛医大)
- 箱田雅之 (安田女子大)
- 山口聡 (北彩都病院)
- 中山昌喜 (防衛医大)

(3) ガイドライン作成事務局

- 松尾洋孝 (防衛医大)
- 中山昌喜 (防衛医大)

診療ガイドライン名	腎性低尿酸血症の診療ガイドライン					
氏名						
所属						
<p>2012年10月1日から2014年9月30日の期間で、上記のガイドラインに関連した、1企業（または1組織、1団体）あたりでの経済的関係について以下の通り申告する。</p>						
関連項目	申告基準	COIの有無	本人/家族	時期	企業・組織・団体名	備考
役員・顧問職	100万円以上/年	有・無	本人 家族			
株	100万円以上/年	有・無	本人 家族			
特許権使用料	100万円以上/年	有・無	本人 家族			
講演料	100万円以上/年	有・無	本人			
原稿料	100万円以上/年	有・無	本人			
研究費（受託・共同研究費）	100万円以上/年	有・無	本人			
奨学（奨励）寄付金	100万円以上/年	有・無	本人			
寄附講座	所属（専任）の有無	有・無	本人			
その他（ ）	100万円以上/年	有・無	本人 家族			
<p>申告日： 2014年 10月 1日</p> <hr/> <p>署名： _____ 印</p>						

図3 経済的利益相反（COI）の申告書様式（初回用）

経済的COIはRHUCガイドラインの策定期間中、数度にわたり申告を受ける。

#### (5) システマチックレビューチーム

##### ○ 四ノ宮成祥 (防衛医大)

細山田真 (帝京大)

荻野和秀 (鳥取大)

浜田紀宏 (鳥取大)

太田原顕 (山陰労災病院)

Minds診療ガイドライン作成マニュアルに基づき、すべての委員から図3の記載に従った経済的利益相反(COI)について申告を受けた。経済的COIについては、策定期間中に数度にわたり申告を受ける予定である。

また、ガイドライン策定資金は、すべて本研究班が受ける厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))から支出される。

#### 2) 疾患トピックとスコープ、及びクリニカルクエスチョンについて

現在、ガイドライン作成グループにおいて疾患トピックとスコープ、及びクリニカルクエスチョンを作成中であり、平成26年度内に確定される見込みである。この後、同年度内にシステマチックレビューチームによるエビデンスの収集が開始される予定である。

#### D. 考察

腎性低尿酸血症は日本人に多い疾患であるが、比較的稀なことから認知度は低い。その合併症である透析などの処置が必要となる重篤な運動後急性腎不全や尿路結石を発症してから初めて診断されることが多く、適切に処置されていない例が多いのが実情である。このような疾患において世界に先駆けてガイドラインを策定することで、

RHUCの更なる実態の解明と潜在的な患者の把握並びに啓発に繋げることが期待できる。

作成中のガイドラインについては、これまでに報告されているエビデンスに基づいたRHUCの全体像を提示するほか、定義そのものが統一されていない疾患の診断指針を初めて提示することで、広く国内における潜在的な患者の顕在化を図ることも目的としている。そのため、外部評価やパブリックコメントなどを通してフィードバックを行い、RHUCの分子病態の理解並びにその重篤な合併症である運動後急性腎不全の対策や防止法等について、医療従事者等への普及・啓発活動に引き続き努めてゆく所存である。

報告者らは、世界で初めて腎性低尿酸血症1型及び2型の病因遺伝子の同定に成功するなどの実績を重ねており(*Nature*, 2002; *Am J Hum Genet*, 2008)、同疾患においては、症例数の蓄積やその解析技術の開発など研究基盤の整備が進展している。報告者らは、ガイドライン策定を含めたRHUCの研究に取り組んでいることから、全国の臨床医から腎性低尿酸血症患者の遺伝子解析が依頼されるようになった。報告者らは、依頼された遺伝子解析の結果を通知するとともに、合併症対策を含めた啓発活動も実施している。我々の研究協力者には尿酸代謝を専門とする臨床グループや、疫学及び統計学の専門家が含まれており、理想的なトランスレーショナル研究の体制が確立している。研究事業期間中には、学術的・国際的に価値の高い関連研究成果を発表するとともに、シンポジウムや講演会での発表を通して、国内外の他の研究者との連携を図りながら更なる研究体制の充実を目指す

ことで、エビデンスを収集するのみならず、腎性低尿酸血症3型などの新しいエビデンスを見出すことも同時に進めている。

## E. 結論

本研究を通して、RHUCの診療ガイドラインの策定に向けての基盤が構築された。現在、そのアウトラインができあがりつつある段階であり、平成28年度末の完成を目指して、平成26年度中にエビデンスの収集が始められる予定である。

希少な腎性低尿酸血症に対する診療ガイドラインの策定は、医療従事者及び患者への的確な啓発につながり、ひいては重篤な合併症に対する効果的な予防対策の実施が期待できる。これはまた、本疾患の病態の理解と、それを通じた生理学的な血清尿酸値調節の分子機構の解明につながる。そして、生活習慣病である高尿酸血症や痛風における新規治療方や予防法の開発に資することも期待できる。

## F. 研究発表

### 【原著論文】

1. T. Chiba, H. Matsuo, S. Nagamori, A. Nakayama, Y. Kawamura, S. Shimizu, M. Sakiyama, M. Hosoyamada, S. Kawai, R. Okada, N. Hamajima, Y. Kanai, N. Shinomiya, Identification of a hypouricemia patient with SLC2A9 R380W, a pathogenic mutation for renal hypouricemia type 2. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 33, 261-265 (2014).
2. Y. Takada, H. Matsuo, A. Nakayama, M. Sakiyama, A. Hishida, R. Okada, Y. Sakurai, T. Shimizu, K. Ichida, N. Shinomiya, Common variant of PDZK1, adaptor protein gene of urate transporters, is not associated with gout. *J. Rheumatol.* 41, 2330-2331 (2014).
3. T. Takada, K. Ichida, H. Matsuo, A. Nakayama, K. Murakami, Y. Yamanashi, H. Kasuga, N. Shinomiya, H. Suzuki, ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 33, 275-281 (2014).
4. M. Sakiyama, H. Matsuo, S. Shimizu, H. Nakashima, A. Nakayama, T. Chiba, M. Naito, T. Takada, H. Suzuki, N. Hamajima, K. Ichida, T. Shimizu, N. Shinomiya, A common variant of organic anion transporter 4 (OAT4/SLC22A11) gene is associated with renal underexcretion type gout. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 29, 208-210 (2014).
5. M. Sakiyama, H. Matsuo, T. Chiba, A. Nakayama, T. Nakamura, S. Shimizu, E. Morita, N. Fukuda, H. Nakashima, Y. Sakurai, K. Ichida, T. Shimizu, N. Shinomiya, Common variants of cGKII/PRKG2 are not associated with gout susceptibility. *J. Rheumatol.* 41, 1395-1397 (2014).
6. A. Nakayama, H. Matsuo, T. Shimizu, Y. Takada, T. Nakamura, S. Shimizu, T. Chiba, M. Sakiyama, M. Naito, E.

- Morita, K. Ichida, N. Shinomiya, Common variants of a urate-associated gene LRP2 are not associated with gout susceptibility. *Rheumatol. Int.* 34, 473-476 (2014).
7. A. Nakayama, H. Matsuo, H. Nakaoka, T. Nakamura, H. Nakashima, Y. Takada, Y. Oikawa, T. Takada, M. Sakiyama, S. Shimizu, Y. Kawamura, T. Chiba, J. Abe, K. Wakai, S. Kawai, R. Okada, T. Tamura, Y. Shichijo, A. Akashi, H. Suzuki, T. Hosoya, Y. Sakurai, K. Ichida, N. Shinomiya, Common dysfunctional variants of ABCG2 have stronger impact on hyperuricemia progression than typical environmental risk factors. *Sci. Rep.* 4, 5227 (2014).
  8. H. Matsuo, T. Takada, A. Nakayama, T. Shimizu, M. Sakiyama, S. Shimizu, T. Chiba, H. Nakashima, T. Nakamura, Y. Takada, Y. Sakurai, T. Hosoya, N. Shinomiya, K. Ichida, ABCG2 dysfunction increases the risk of renal overload hyperuricemia. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 33, 266-274 (2014).
  9. 高田雄三, 松村耕治, 松尾洋孝, 中山昌喜, 清水聖子, 崎山真幸, 千葉俊周, 四ノ宮成祥, 中島宏, 櫻井裕, 清水徹, 宮平靖, 痛風・高尿酸血症のリスク評価のための迅速遺伝子検査. *DNA 多型* 22, 151-154 (2014).
  10. T. Chiba, H. Matsuo, Y. Kawamura, S. Nagamori, T. Nishiyama, L. Wei, A. Nakayama, T. Nakamura, M. Sakiyama, T. Takada, Y. Taketani, S. Suma, M. Naito, T. Oda, H. Kumagai, Y. Moriyama, K. Ichida, T. Shimizu, Y. Kanai, N. Shinomiya, NPT1/SLC17A1 is a renal urate exporter in humans and its common gain-of-function variant decreases the risk of renal underexcretion gout. *Arthritis Rheumatol.* 67, 281-287 (2015).
  11. T. Chiba, H. Matsuo, M. Sakiyama, A. Nakayama, S. Shimizu, K. Wakai, S. Suma, H. Nakashima, Y. Sakurai, T. Shimizu, K. Ichida, N. Shinomiya, Common variant of ALPK1 is not associated with gout: a replication study. *Hum. Cell* 28, 1-4 (2015).
  12. H. Matsuo, K. Yamamoto, H. Nakaoka, A. Nakayama, M. Sakiyama, T. Chiba, A. Takahashi, T. Nakamura, H. Nakashima, Y. Takada, I. Danjoh, S. Shimizu, J. Abe, Y. Kawamura, S. Terashige, H. Ogata, S. Tatsukawa, G. Yin, R. Okada, E. Morita, M. Naito, A. Tokumasu, H. Onoue, K. Iwaya, T. Ito, T. Takada, K. Inoue, Y. Kato, Y. Nakamura, Y. Sakurai, H. Suzuki, Y. Kanai, T. Hosoya, N. Hamajima, I. Inoue, M. Kubo, K. Ichida, H. Ooyama, T. Shimizu, N. Shinomiya, Genome-wide association study of clinically defined gout identifies multiple risk loci and its association with clinical subtypes. *Ann. Rheum. Dis.* (epub ahead of print).
  13. H. Matsuo, H. Tomiyama, W. Satake, T. Chiba, H. Onoue, Y. Kawamura, A.



- Nakayama, S. Shimizu, M. Sakiyama, M. Funayama, K. Nishioka, T. Shimizu, K. Kaida, K. Kamakura, T. Toda, N. Hattori, N. Shinomiya, ABCG2 variant has opposing effects on onset ages of Parkinson's disease and gout. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* (epub ahead of print).
14. M. Sakiyama, H. Matsuo, Y. Takada, T. Nakamura, A. Nakayama, T. Takada, S. I. Kitajiri, K. Wakai, H. Suzuki, N. Shinomiya, Ethnic differences in ATP-binding cassette transporter, sub-family G, member 2 (ABCG2/BCRP): genotype combinations and estimated functions. *Drug Metab. Pharmacokinet.* (epub ahead of print).
- 【学会発表】
15. H. Matsuo, K. Ichida, T. Takada, A. Nakayama, H. Nakashima, T. Nakamura, Y. Kawamura, Y. Takada, S. Shimizu, M. Sakiyama, T. Chiba, N. Hamajima, Y. Sakurai, T. Shimizu, N. Shinomiya: Common variants in ABCG2 as a major cause of early-onset gout. Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress. Cebu, Philippines, 2014. 4. 1-5.
16. A. Nakayama, H. Matsuo, K. Ichida, T. Takada, H. Nakashima, T. Nakamura, Y. Takada, S. Shimizu, M. Sakiyama, N. Hamajima, Y. Sakurai, T. Shimizu, N. Shinomiya, A major risk of early-onset gout: ABCG2 dysfunction in a Japanese male population. 20th IEA World Congress of Epidemiology 2014. Anchorage, USA, 2014. 8. 17-21.
17. H. Matsuo, A. Nakayama, M. Sakiyama, T. Chiba, S. Shimizu, H. Nakashima, H. Nakaoka, K. Wakai, T. Ito, K. Yamamoto, Y. Sakurai, K. Ichida, T. Shimizu, N. Shinomiya, ABCG2 dysfunction causes renal underexcretion hyperuricemia as well as renal overload hyperuricemia. The American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, San Diego, USA, 2014. 10. 18-22.
18. A. Nakayama, H. Matsuo, K. Yamamoto, H. Nakaoka, M. Sakiyama, T. Chiba, T. Nakamura, S. Shimizu, Y. Takada, Y. Kawamura, H. Ogata, N. Hamajima, I. Inoue, M. Kubo, K. Ichida, T. Shimizu, N. Shinomiya, Genome-wide association study of clinically-defined gout. International Symposium on Genome Science 2015 "Expanding Frontiers of Genome Science II", Tokyo, 2015. 1. 20-21.
19. H. Matsuo, A. Nakayama, M. Sakiyama, T. Chiba, S. Shimizu, H. Nakashima, T. Nakamura, Y. Takada, T. Takada, H. Nakaoka, K. Wakai, S. Kawai, Y. Guang, H. Nakagawa, T. Ito, K. Yamamoto, Y. Sakurai, K. Ichida, T. Shimizu, N. Shinomiya, ABCG2 dysfunction causes not only renal urate overload hyperuricemia but also renal urate underexcretion hyperuricemia. 25th JEA Congress of Epidemiology 2014. Nagoya, 2015. 1. 22-23.

20. A. Nakayama, H. Matsuo, H. Nakaoka, T. Nakamura, H. Nakashima, Y. Takada, Y. Oikawa, T. Takada, M. Sakiyama, S. Shimizu, T. Chiba, K. Wakai, S. Kawai, R. Okada, T. Tamura, Y. Shichijo, A. Akashi, Y. Sakurai, K. Ichida, N. Shinomiya, Genefic effect by dysfunctional variants of ABCG2 is stronger than environmental effects for hyperuricemia. 25th JEA Congress of Epidemiology 2014. Nagoya, 2015. 1. 22-23.
21. 中山昌喜、松尾洋孝、崎山真幸、千葉俊周、清水聖子、中島宏、高田雄三、高田龍平、若井建志、川合紗世、銀光、中川弘子、櫻井裕、鈴木洋史、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥：尿酸排泄輸送体 ABCG2 の機能低下は腎排泄低下型と腎負荷型高尿酸血症の両方を引き起こす。第 9 回トランスポーター研究会年会，名古屋，2014. 6. 14-15.
22. 小縣開、松尾洋孝、市田公美、高田龍平、中山昌喜、崎山真幸、中島宏、高田雄三、清水聖子、棚橋勇輝、浜島信之、櫻井裕、清水徹、四ノ宮成祥：尿酸トランスポーター遺伝子 ABCG2 の機能低下型変異は若年性痛風の主要な病因である。埼玉，第 9 回 医実隊・防衛医大交流研究会，2014. 7. 11.
23. 立川誠四郎、松尾洋孝、中山昌喜、崎山真幸、千葉俊周、河村優輔、中村好宏、七条由佳、赤司藍理、若井建志、伊藤利光、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥：尿酸排泄低下型と腎負荷型高尿酸血症はともに尿酸排泄トランスポーター ABCG2 機能低下により引き起こされる。埼玉，第 9 回 医実隊・防衛医大交流研究会，2014. 7. 11.
24. 崎山真幸、松尾洋孝、山本健、中岡博史、中山昌喜、高橋篤、中村好宏、浜島信之、久保充明、井ノ上逸朗、市田公美、大山博司、清水徹、四ノ宮成祥：痛風のゲノムワイド関連解析（第 4 報）。「ゲノム支援」拡大班会議，神戸，2014. 08. 20-21.
25. 中山昌喜、松尾洋孝、中岡博史、中村好宏、高田雄三、及川雄二、高田龍平、崎山真幸、清水聖子、千葉俊周、若井建志、市田公美、四ノ宮成祥：高尿酸血症の発症には生活習慣より遺伝子が強く影響する：リスク評価のための遺伝子マーカー ABCG2。第 87 回日本生化学会大会，京都，2014. 10. 15-18.
26. 松尾洋孝、中山昌喜、崎山真幸、千葉俊周、清水聖子、中島宏、中村好宏、高田雄三、中岡博史、若井建志、伊藤利光、山本健、市田公美、清水徹、四ノ宮成祥：尿酸排泄輸送体 ABCG2 遺伝子の機能低下型変異は腎排泄低下型と腎負荷型高尿酸血症の両方の原因となる。第 59 回日本人類遺伝学会，東京，2014. 11. 20-22.
27. 中山昌喜、松尾洋孝、中岡博史、中村好宏、中島宏、高田雄三、及川雄二、高田龍平、崎山真幸、清水聖子、千葉俊周、若井建志、櫻井裕、市田公美、四ノ宮成祥：高尿酸血症の発症において ABCG2 遺伝子変異による影響は生活習慣より強い。第 59 回日本人類遺伝学会，東京，2014. 11. 20-22.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許（出願中）：発明の名称：尿酸トランスポーター，並びに，尿酸輸送関連疾患素因及び炎症関連疾患素因の評価方法及び評価キット，検査体及び薬．特許出願中，発明者：松尾洋孝，高田龍平，鈴木洋史，池淵

祐樹，伊藤晃成，市田公美，中村好宏，四ノ宮成祥．

2. 実用新案登録

該当無し

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））  
分担研究報告書

腎・泌尿器系の希少・難治性疾患群に関する診断基準・診療ガイドラインの確立  
（研究代表者 飯島一誠 神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野教授）

ガイドライン作成における臨床遺伝専門医の役割  
—先天性腎疾患の診断確定における遺伝子解析の有用性について—

研究分担者 森貞直哉 神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野  
こども急性疾患学部門特命講師

#### 研究要旨

近年の遺伝子解析技術の進歩により、さまざまな疾患の原因遺伝子が同定できるようになった。本研究では臨床所見のみでは診断確定が困難な先天性腎疾患、特に先天性腎尿路奇形症候群（CAKUT）の遺伝子解析を行い、その有用性を検討した。文書による同意を取得し、患者末梢血からゲノム DNA を採取した。28 家系 35 例の解析を行い、そのうち 7 家系 9 例の遺伝子変異を同定した。同定した原因遺伝子は *HNF1B*、*OFD1*、*EYA1*、*NPHP1* および 22q 部分重複であった。これらの中には当初の予測とは異なる結果が得られたものがあり、遺伝子解析が診断の確定に有用であることが示唆された。

#### A. 研究目的

近年の遺伝子解析技術の進歩により、これまで不明であった多くの先天性疾患の原因遺伝子が同定されるようになった。疾患の中には症状、臨床検査からの臨床診断ではその診断確定が困難なものがあり、このような場合には遺伝子解析による診断が極めて有用なツールとなると考えられている。この中には、アルポート症候群、ネフロン癆、エプスタイン症候群、先天性腎尿路奇形（congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT）など多くの先天性腎・泌尿器系疾患が含まれている。

本研究では、主に臨床症状から原因遺伝子の推定が困難な CAKUT を対象として原因遺伝子解析を施行した。

#### B. 研究方法

対象疾患を CAKUT とし、全国の医療機関からの依頼を受け、腎外症状の有無を問わずに遺伝子解析を施行した。患者の末梢血を採取し、そのリンパ球からゲノムを抽出して解析を行った。遺伝子解析法は、直接シーケンス法、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法、array Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法および次世代

シーケンサーを用いた。

本研究は、神戸大学遺伝子解析研究倫理審査委員会にて、研究課題名「先天性腎尿路奇形(CAKUT)の疾患遺伝子及び疾患感受性遺伝子同定研究」で承認を受けた。採取した検体は連結可能な状態で匿名化され、抽出したゲノムは鍵のついた部屋で保管された。研究対象者には担当者から上記研究の研究計画書ならびに説明文書を提示し、文書で同意を得たもののみを検体採取した。結果によって遺伝カウンセリングを受けられることを事前に明記した。

### C. 研究結果

本研究期間中である 2015 年 4 月から 12 月までに集積した CAKUT 関連患者検体は 28 家系 35 例で、CAKUT の種類としては腎低形成・異形成 11 例、原因不明の腎機能障害 8 例、膀胱尿管逆流 7 例、多嚢胞性異形成腎 5 例、水腎症 3 例、嚢胞腎 3 例、片側無発生 2 例、膀胱機能障害 2 例、総排泄腔遺残 1 例、骨盤腎 1 例であった（一人の患者で複数の CAKUT をもつことがある）。変異が同定できたのは 7 家系 9 例で、変異同定率は家系ベースで 25.0%、症例ベースで 25.7%であった。内訳は *HNF1B* 変異が 2 家系 3 例（スプライス部位の変異が 1 例、ヘテロ全欠失が 1 家系 2 例）、*OFD1* フレームシフト変異による oral-facial-digital 症候群 1 型 (OFD1) が 1 家系 2 例、*EYA1* フレームシフト変異による branchio-oto-renal (BOR) 症候群が 1 例、22 番染色体部分重複症候群 (22q partial tetrasomy) が 1 例、また *NPHP1* ホモ全欠失によるネフロン癆が 2 家系 2 例であった。*HNF1B* 変異例は、1 家系は腎

低形成、もう 1 家系 2 例は膀胱障害を共通する症状として認め、1 例が片側腎低形成、もう 1 例が小腎嚢胞を認めた。*OFD1* 変異例は母子例であるが、子は典型的な *OFD1* であるが、母は無症状であった。*OFD1* 変異を持つ無症状例の報告はなく、X 染色体の不活化解析を施行したところ母は Random pattern、子は Skewed pattern（偏りあり）であった。

### D. 考察

CAKUT はさまざまな表現型 (phenotype) と、さまざまな原因遺伝子 (genotype) が報告されている。腎症状に限るとその genotype-phenotype 相関は明らかではなく、原因遺伝子は解析してみないとわからないことも多い。

今回の検討では *HNF1B* 変異に 2 家系認めたが、この 2 家系では表現型が全く異なっていた。うち 1 家系の母子例は同じ変異を持ちながら異なる表現型を持っていた。過去の報告をみても *HNF1B* 変異例は多彩な phenotype を持っている。なぜこのように表現型が異なるのかは不明であり、今後の検討が必要である。

*OFD1* 変異の母子例は、親子で同一の変異を持ちながら、表現型が異なっていた。この原因として、変異自体が病原性を持たない可能性もあるが、本症例は 4 塩基の欠失によるフレームシフト変異であり、また過去に *OFD1* の原因変異として報告されているものであることから、病因性がある可能性が高い変異と考えている。X 染色体不活化と *OFD1* の関連を検討した報告は過去にもあるが一定の見解は得られておらず、本症例は貴重な報告例であると考えて

いる。

22番染色体部分重複症候群の症例は難聴と耳介奇形、片側腎無発生を認め、当初BOR症候群と考えられていた。しかし染色体解析の結果、22番染色体部分重複症候群であることが判明した。本症例は遺伝カウンセリング後に家族を含めたアレイCGH解析を行い、患者のみの新規変異であることが同定できた。臨床症状のみではBOR症候群との鑑別は困難であり、染色体・遺伝子解析がきわめて有用であった。

*NPHP1*変異例は当初腎機能障害をともなう嚢胞腎として解析を施行したが、解析によりネフロン癆であることが判明した。臨床的にネフロン癆と腎低形成、異形成を鑑別することは難しく、遺伝子解析によりその原因を解明することができた。

#### E. 結論

遺伝子解析によりさまざまなCAKUT、腎機能障害の原因を同定することができた。原因遺伝子が多彩なため、今後は次世代シーケンサーやアレイCGHを用いた解析を積極的に進めることが必要と考えている。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 学会発表

1) 森貞直哉、庄野朱美、忍頂寺毅史、貝藤裕史、池田真理子、野津寛大、亀井宏一、伊藤秀一、田中亮二郎、飯島一誠. 次世代シーケンサーによるヒトCAKUTの原因遺伝子解析. 日本小児遺伝学会、名古屋、2014.4.10

2) 森貞直哉、久保川育子、中川卓、忍頂寺毅史、池田真理子、石橋和人、梶山瑞隆、石田明人、竹島泰弘、飯島一誠. 一次急病センターでの有熱性尿路感染症の初期症状と検尿所見についての検討. 日本小児救急医学会、横浜、2014.6.6

3) 森貞直哉. 本邦におけるCAKUT包括的原因遺伝子解析. 日本小児腎臓病学会、秋田、2014.6.7

4) 森貞直哉、庄野朱美、忍頂寺毅史、貝藤裕史、野津寛大、亀井宏一、伊藤秀一、田中亮二郎、飯島一誠. 本邦におけるCAKUT包括的原因遺伝子解析システムの構築. 日本腎臓学会、横浜、2014.7.6

5) 森貞直哉、野津寛大、亀井宏一、伊藤秀一、田中亮二郎、飯島一誠. 網羅的遺伝子解析法を用いたヒトCAKUTの原因遺伝子解析. 発達腎研究会、東京、2014.8.31

6) Naoya Morisada, Kandai Nozu, Akemi Shono, Takeshi Ninchoji, Hiroshi Kaito, Koichi Kamei, Shuichi Ito, Ryojiro Tanaka, Kazumoto Iijima. The comprehensive genetic analysis of CAKUT in Japan. *European Society of Pediatric Nephrology*, Porto, 2014.9.20

7) Naoya Morisada, Mariko Taniguchi-Ikeda, Kandai Nozu, Akemi Shono, Koichi Kamei, Shuichi Ito, Ryojiro Tanaka, Kazumoto Iijima. The comprehensive genetic analysis of congenital anomalies of kidney and urinary tract (CAKUT) in Japan. *American Society of Human Genetics*,

SanDiego, 2014.10.20

8) 森貞直哉、野津寛大、亀井宏一、伊藤秀一、田中亮二郎、石川智朗、足立昌夫、野田俊輔、石黒利佳、関根孝司、小崎健次郎、飯

島一誠. 染色体構造異常による syndromic  
CAKUT の原因遺伝子についての検討. 日  
本人類遺伝学会、東京、2014.11.20

H. 知的財産権の出願・登録状況 該当な  
し

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物



## 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌	出版年等
<u>Ishikura K</u> , Uemura O, <u>Hamasaki Y</u> , <u>Ito S</u> , Wada N, Hattori M, Ohashi Y, Tanaka R, <u>Nakanishi K</u> , Kaneko T, Honda M; Pediatric CKD Study Group in Japan; Committee of Measures for Pediatric CKD of Japanese Society of Pediatric Nephrology.	Progression to end-stage kidney disease in Japanese children with chronic kidney disease: results of a nationwide prospective cohort study.	Nephrol Dial Transplant	2014;29(4):878-84.
Yoshino A, Honda M, Sasaki N, Hataya H, <u>Ishikura K</u> , Sakazume S, Tanaka Y, Nagai T.	Selection of infants who potentially have congenital anomalies of the kidney and urinary tract from a large cohort for a more thorough examination.	Clin Exp Nephrol.	2014 Sep 26. [Epub ahead of print]
Nozu K, Vorechovsky I, Kaito H, Fu XJ, <u>Nakanishi K</u> , Hashimura Y, Hashimoto F, Kamei K, <u>Ito S</u> , Kaku Y, Imasawa T, Ushijima K, Shimizu J, Makita Y, Konomoto T, Yoshikawa N, <u>Iijima K</u> .	Nozu K, Vorechovsky I, Kaito H, Fu XJ, Nakanishi K, Hashimura Y, Hashimoto F, Kamei K, Ito S, Kaku Y, Imasawa T, Ushijima K, Shimizu J, Makita Y, Konomoto T, Yoshikawa N, Iijima K.	Clin J Am Soc Nephrol.	2014;9(11):1958-64.
Nozu K, <u>Iijima K</u> , Ohtsuka Y, Fu XJ, Kaito H, <u>Nakanishi K</u> , Vorechovsky I.	Alport syndrome caused by a COL4A5 deletion and exonization of an adjacent AluY.	Mol Genet Genomic Med.	2014;2(5):451-3.
Fu XJ, <u>Morisada N</u> , Hashimoto F, Taniguchi-Ikeda M, Hashimura Y, Ohtsubo H, Ninchoji T, Kaito H, Nozu K, Takahashi E, <u>Nakanishi K</u> , Kurahashi H, <u>Iijima K</u> .	A patient with autosomal recessive Alport syndrome due to segmental maternal isodisomy.	Human Genome Variation	2014;1:14006
Sawai T, Nangaku M, <u>Ashida A</u> , Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T, Yoshida Y, Fujimura Y, Hattori M, Kagami S.	Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society.	Clin Exp Nephrol.	2014;18(1):4-9
Sirachainan N, Komwilaisak P, Kitamura K, Hongeng S, <u>Sekine T</u> , Kunishima S.	The first two cases of MYH9 disorders in Thailand: an international collaborative study.	Ann Hematol.	2014 Nov 15. [Epub ahead of print]
<u>池住洋平</u>	腎実質性高血圧、腎血管性高血圧	小児科診療	2014;77:716-718
Chiba T, Matsuo H, Nagamori S, Nakayama A, Kawamura Y, Shimizu S, Sakiyama M, Hosoyamada M, Kawai S, Okada R, Hamajima N, Kanai Y, <u>Shinomiyama N</u> .	Identification of a hypouricemia patient with SLC2A9 R380W, a pathogenic mutation for renal hypouricemia type 2.	Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.	2014;33(4-6):261-5
Morisada N, Nozu K, <u>Iijima K</u> .	Branchio-oto-renal syndrome: comprehensive review based on nationwide surveillance in Japan.	Pediatr Int.	2014;56(3):309-14

Original Article

# Progression to end-stage kidney disease in Japanese children with chronic kidney disease: results of a nationwide prospective cohort study

Kenji Ishikura<sup>1,2</sup>, Osamu Uemura<sup>3</sup>, Yuko Hamasaki<sup>4</sup>, Shuichi Ito<sup>5</sup>, Naohiro Wada<sup>6</sup>, Motoshi Hattori<sup>7</sup>, Yasuo Ohashi<sup>8</sup>, Ryojiro Tanaka<sup>9</sup>, Koichi Nakanishi<sup>10</sup>, Tetsuji Kaneko<sup>2</sup>, Masataka Honda<sup>1</sup> and on behalf of the Pediatric CKD Study Group in Japan in conjunction with the Committee of Measures for Pediatric CKD of the Japanese Society of Pediatric Nephrology

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center, Tokyo, Japan, <sup>2</sup>Division of Clinical Research Support Center, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center, Tokyo, Japan, <sup>3</sup>Department of Pediatric Nephrology, Aichi Children's Health and Medical Center, Aichi, Japan, <sup>4</sup>Department of Pediatric Nephrology, Toho University Faculty of Medicine, Tokyo, Japan, <sup>5</sup>Department of Nephrology and Rheumatology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan, <sup>6</sup>Department of Pediatric Nephrology, Shizuoka Children's Hospital, Shizuoka, Japan, <sup>7</sup>Department of Pediatric Nephrology, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan, <sup>8</sup>Department of Biostatistics, School of Public Health, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, <sup>9</sup>Department of Nephrology, Hyogo Prefectural Children's Hospital, Hyogo, Japan and <sup>10</sup>Department of Pediatrics, Wakayama Medical University, Wakayama, Japan

Correspondence and offprint requests to: Kenji Ishikura; E-mail: kenzo@ii.e-mansion.com

## ABSTRACT

**Background.** The risk of progressing to end-stage kidney disease (ESKD) and factors associated with progression in children with chronic kidney disease (CKD) are unclear, especially in Asian children.

**Methods.** We started a nationwide, prospective cohort study of 447 Japanese children with pre-dialysis CKD in 2010, with follow-up in 2011. Progression to ESKD was analyzed by Kaplan–Meier analysis according to CKD stage. Cox regression analysis was used to identify risk factors for progression.

**Results.** Data were analyzed for 429/447 children. Five patients died, of which four died before progression to ESKD. Fifty-two patients progressed to ESKD (median follow-up 1.49 years), including 9/315 patients with stage 3 CKD, 29/107 with Stage 4 CKD and 14/25 with Stage 5 CKD. One-year renal survival rates were 98.3, 80.0 and 40.9%, for Stages 3, 4 and 5 CKD, respectively. Risk factors for progression to ESKD included CKD stage [versus Stage 3; Stage 4: hazard ratio (HR) 11.12, 95% confidence interval (CI) 4.22–29.28,  $P < 0.001$ ;

Stage 5: HR 26.95, 95% CI 7.71–94.17,  $P < 0.001$ ], heavy proteinuria ( $>2.0$  g/g urine creatinine; HR 7.56, 95% CI 3.22–17.77,  $P < 0.001$ ) and age ( $<2$  years: HR 9.06; 95% CI 2.29–35.84,  $P = 0.002$ ; after starting puberty: HR 4.88; 95% CI 1.85–12.85,  $P = 0.001$ ).

**Conclusions.** In this cohort, 12.5% of children with pre-dialysis CKD progressed to ESKD with a median follow-up of 1.49 years. Children with advanced (Stage 4/5) CKD were particularly likely to progress. To our knowledge, this is the first, nationwide, prospective cohort study of children with pre-dialysis CKD in Asia.

**Keywords:** Asia, child, chronic kidney disease, end-stage kidney disease, prognosis

## INTRODUCTION

Chronic kidney disease (CKD) in children is a progressive and intractable disease [1]. In the CKD in Children study, children with a glomerular filtration rate (GFR) of  $<30$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>

showed significant growth failure and other clinically important disorders compared with children with a higher GFR ( $\geq 50$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), and experienced greater progressive changes in their GFR [2]. The mortality rate in children with end-stage kidney disease (ESKD) is also quite high, and was reported to be 98.8/1000 person-years among children who started dialysis between 1990 and 2010 in the USA [3].

The prevalence of CKD in children/adolescents varies considerably among studies and countries [4–10]. Furthermore, the incidence of Stage 2–5 CKD in children was reported to range from 7.7 to 12.1 per million [6], based on data reported in six countries (Italy [11], Belgium [12], Spain [13], Sweden [14], France [15] and Turkey [16]). The broad range in the incidence of CKD was at least partly due to differences in the clinical definition of CKD used in each study. The differences in study design and possible differences in CKD characteristics among ethnic groups also mean it is difficult to compare the prevalence of CKD and ESKD among studies, or estimate the prevalence of severe kidney disease worldwide or in specific populations lacking current data. Furthermore, while the prevalence of CKD in adults is steadily increasing in many countries [8], the current situation in children is less clear, particularly in Asian children.

It was also suggested that the rate of decline in renal function in Japanese adults appears to be slow compared with that in other countries, and that hypertension, proteinuria and low GFR were significant risk factors for a faster decline of GFR in Japanese adults [17]. However, no studies have examined the decline in renal function in Japanese children with CKD, or sought to identify risk factors for progression to ESKD.

To address these issues and to help us to better understand the current status of CKD in Japan, we implemented a nationwide, prospective cohort study of pre-dialysis CKD in Japanese children [9], the first such study in Asia. We previously reported that the prevalence of Stage 3–5 CKD was 2.98 cases/100 000 children, and that most children with CKD presented with non-glomerular disease, including congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). As the original results were derived from a cross-sectional analysis, we could not determine the rate of disease progression in these patients at that time. Therefore, as planned, we conducted a follow-up survey to determine the rate of disease progression in these patients. From this context, the aims of the present analyses were (1) to investigate the progression of CKD to ESKD or death and (2) to identify factors associated with disease progression.

## MATERIALS AND METHODS

### Study design and population

The study design and patient population are described in more detail in our original report [9]. Briefly, we sent two surveys in August 2010 to 1190 institutions (all members of the Japanese Society for Pediatric Nephrology, all university and children's hospitals, and all general hospitals with >200 beds) in Japan inviting them to report on cases of pediatric CKD managed as of 1 April 2010. The first survey

documented the number of children with Stage 3–5 CKD in each institution. The respondents were asked to search their medical records to determine the numbers of patients with a confirmed diagnosis of CKD, or patients with abnormal serum creatinine (SCr) values. In the second survey, the respondents were asked to record the clinical characteristics of each patient. A total of 925/1190 institutions (77.7%) responded to the first questionnaire. In the second questionnaire, the participating institutions provided data for 479 children. Of these, 447 children who met the following criteria were evaluable: (i) children with CKD aged 3 months to 15 years as of 1 April 2010; (ii) presence of Stage 3–5 CKD; (iii) no history of chronic dialysis or renal transplantation; (iv) renal failure lasting >3 months (cases with transient increases in SCr were excluded).

In September 2011, surveys were conducted for the 113 medical institutions that provided data for the cohort of children ( $n = 447$ ) established in our original report [9]. The deadline for responding to this survey was November 2011. Data were provided for 429/447 children in the follow-up survey. The survey asked clinicians to record patient characteristics [e.g. height, weight, blood pressure, cardiac function and blood and urine parameters, including urine protein/creatinine ratio (g/g urine creatinine)], outcomes (start of dialysis, kidney transplantation and death), CKD complications, disease type and neonatal data (birth weight, gestational age and presence of asphyxia), as of 1 November 2011. All surveys were to be returned using provided envelopes and data entry was conducted by the data center.

CKD stage was assessed as previously described [9, 18]. Stages 3, 4 and 5 CKD were defined as SCr levels more than twice, four times and eight times, respectively, the median normal levels in age- and sex-matched Japanese children. In our previous report [9], we validated these reference levels by applying the abbreviated Schwartz equation [19], with Stages 3, 4 and 5 CKD being classified as GFR 30–59, 15–29 and <15 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, respectively (<1/2, <1/4 and <1/8 of normal GFR, respectively), defined according to established guidelines [20–22]. All of the participating institutions reported using enzyme immunoassays to measure SCr. Heavy proteinuria was defined as urine protein/creatinine ratio >2.0 g/g urine creatinine. The patients were divided into three age groups for males (<2,  $\geq 2$  to <10.8 and  $\geq 10.8$  years) and females (<2,  $\geq 2$  to <10.0 and  $\geq 10.0$  years), where 10.8 and 10.0 years correspond to the mean age of Japanese males and females, respectively, at the start of puberty [23]. Hypertension was defined as systolic blood pressure >95th percentile [24].

The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and the ethical guidelines issued by the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. The study was approved by a central ethics board at Tokyo Metropolitan Children's Medical Center (approval number: 23–49). Because data were reported using patient medical records, informed consent was not obtained in accordance with the above guidelines.

### Statistical analysis

The primary outcome was the progression of CKD to ESKD. The cumulative proportion of progression was estimated by the Kaplan–Meier method, where death was also

**Table 1. Patient characteristics according to CKD stage**

	All patients	Stage 3	Stage 4	Stage 5	P-value*
<i>n</i>	447	315	107	25	
Age (years)	8.6 ± 4.5	8.6 ± 4.6	8.4 ± 4.2	9.9 ± 4.5	0.321
Sex, male/female ( <i>n</i> )	272/175	192/123	67/40	13/12	0.618
Serum creatinine (mg/dL)	1.6 ± 1.2	1.1 ± 0.4	2.2 ± 0.8	5.3 ± 2.0	<0.001
Height (cm)	119.6 ± 27.8	120.5 ± 28.1	117.1 ± 26.9	118.1 ± 28.9	0.547
Height (SD)	-1.5 ± 1.8	-1.3 ± 1.5	-1.8 ± 2.1	-2.8 ± 3.2	<0.001
BUN (mg/dL)	35.5 ± 18.7	28.3 ± 9.7	48.4 ± 18.1	74.9 ± 31.5	<0.001
Cystatin-C (mg/L)	2.1 ± 0.8	1.9 ± 0.5	3.1 ± 1.0	4.1 ± 0.9	<0.001
eGFR abbreviated (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	39.6 ± 15.9	47.3 ± 11.4	22.6 ± 5.3	10.4 ± 3.3	<0.001
eGFR complete (mL/min/1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>b</sup>	39.9 ± 12.4	43.9 ± 10.0	24.7 ± 5.2	13.5 ± 4.0	<0.001

Values are means ± standard deviation. CKD, chronic kidney disease; SDS, standard deviation score; BUN, blood urea nitrogen; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

<sup>a</sup>Abbreviated Schwartz equation [19], eGFR = 41.3 [height (m)/SCr (mg/dL)].

<sup>b</sup>Complete Schwartz equation [19], eGFR = 39.1 [height (m)/Scr (mg/dL)]<sup>0.516</sup>[1.8/cystatin C (mg/L)]<sup>0.294</sup> × [30/BUN (mg/dL)]<sup>0.169</sup> [1.099]<sup>male</sup> [height (m)/1.4]<sup>0.188</sup>.

\*P-values were determined by analysis of variance for all variables except sex, which was analyzed by the  $\chi^2$  test.

considered as an event. The day on which SCr was measured that was closest to 1 April 2010 was used as the starting point (i.e. T = 0 years). Cox's proportional hazard regression model was used to identify possible predictors of CKD progression by calculating hazard ratios (HRs) with 95% confidence intervals (CIs). All statistical analyses were carried out using SAS system version 9 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

## RESULTS

### Patient characteristics

The characteristics of the patients, as of 1 April 2010, are summarized in Table 1. Of the 447 children in this cohort, 405 were of Asian ethnicity and 3 were of another ethnicity; ethnicity was not reported by the institution for the remaining 39 children.

As would be expected, SCr, blood urea nitrogen and cystatin C levels increased significantly with increasing CKD stage, consistent with reductions in eGFR, as determined with the abbreviated and complete Schwartz equations [19]. Children with Stage 5 CKD tended to be older than children with Stage 3/4 CKD.

### Progression to ESKD and renal replacement therapy

Table 2 shows the patient outcomes during this survey. Overall, 52 patients progressed to ESKD during the follow-up period [median follow-up period (interquartile range) 1.49 years (1.16–1.64 years); Stage 3, *n* = 9; Stage 4, *n* = 29; Stage 5, *n* = 14]. Of these, 1/9 patients in Stage 3, 21/29 patients in Stage 4 and 8/14 in Stage 5 had CAKUT. Five deaths (sepsis in two; acute encephalitis, graft versus host disease and acute heart failure and pulmonary edema caused by advanced uremia in one each) occurred during the study period, of which four occurred before and one occurred after progression to ESKD. The detailed characteristics of patients with progression to ESKD or who died are presented in Table 3. The Kaplan–Meier analysis for the time to ESKD or death (included as an event) is presented in Figure 1. Among 429/447 children with available data, the survival rates at 1 year were 98.3, 80.0 and 40.9% in children with Stage 3, 4 and 5 CKD,

**Table 2. Outcomes and renal replacement therapies according to CKD stage**

	All patients	Stage 3	Stage 4	Stage 5
<i>n</i>	447	315	107	25
Data not provided by the participating institution	18	11	4	3
Death before progression to ESKD	4	1	2	1
ESKD	52 <sup>a</sup>	9	29 <sup>a</sup>	14
Renal replacement therapies				
PD	27	6	15	6
Preemptive kidney transplantation	16	1	11	4
Kidney transplantation after PD	3	0	1	2
HD	4 <sup>a</sup>	2	1 <sup>a</sup>	1
PD after HD	2	0	1	1
Change in CKD stage (excluding death before progressing to ESKD)				
To Stage 2	43	1	0	0
To Stage 3	210	6	0	0
To Stage 4	40	56	1	
To Stage 5 (5D)		10 (9)	38 (29)	20 (14)

CKD, chronic kidney disease; ESKD, end-stage kidney disease; PD, peritoneal dialysis; HD, hemodialysis.

<sup>a</sup>Includes one death.

respectively. The Kaplan–Meier plot and survival rates were almost identical when deaths were censored instead of being included as an event; the survival rates at 1 year were 98.3, 80.9 and 43.1% in children with Stage 3, 4 and 5 CKD, respectively.

The most common chronic renal replacement therapy in children with ESKD was peritoneal dialysis, which was used in 27 children, followed by preemptive kidney transplantation in 16 patients (Table 2).

During the follow-up period, 40 and 10 of 315 children with Stage 3 CKD progressed to Stage 4 and Stage 5 (Stage 5D in 9/10 patients) CKD, respectively, while 38/107 patients with Stage 4 CKD progressed to Stage 5 (Stage 5D in 29/38 patients).

### Factors associated with CKD progression

CKD progression was defined as ESKD or death occurring during follow-up. Table 4 shows the factors that were