

図2 ポドサイトのCD80を中心とした微小変型ネフローゼ症候群の病因論 (Two-hit theory)

a) ポドサイトに存在するTLRsにウイルスRNAやある種の血清タンパクが結合し(1st hit), その刺激でNF- κ Bが活性化する, b) NF- κ Bの活性化によって, ポドサイトにCD80が発現し, ポドサイト足突起の消失や血漿タンパクの尿中漏出が起こる, c) 制御性T細胞(Treg)が正常な場合, CTLA-4の発現やIL-10の分泌が起こり, CD80の活性が抑制され, タンパク尿は一過性に終わる, d) 異常なTregを有する(2nd hit) MCNS患者では, CD80の活性化状態が維持されタンパク尿が持続する。(VEGF: vascular endothelial growth factor; IL: interleukin; TLRs: toll like receptors; NF- κ B: nuclear factor-kappa B; CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; Treg: regulatory T cell; TGF- β : transforming growth factor-beta; GBM: glomerular basement membrane; GEC: glomerular epithelial cells. 文献⁴⁸⁾を参考に筆者が作図)

でのポドサイト障害に関する最近の仮説の中から、「足突起のアクチン骨格の障害」と「GBMやポドサイト-GBM接合部の障害」に関する代表的なものを紹介する。

4) MCNSの病因としてのポドサイト足突起のアクチン骨格障害機序

最近, ShimadaやGarinらのグループは,「抗原提示細胞が発現しT細胞の活性化に関わる共刺激分子・CD80(B7.1とも呼ばれる)がポドサイト表面に過剰かつ持続的に発現することがMCNSの病因として重要である」としている^{61)~63)}。彼らはMCNSの病因論としてTwo-hit theoryという仮説を提唱しているのでそれを紹介する⁴⁸⁾(図2参照): ①ポドサイトの足突起に存在するToll Like Receptors (TLRs)に何らかの抗原(ウイルスRNAやある種の血清タンパク)が結合する(1st hit), ②TLRsからの刺激によりNF- κ B(nuclear factor-kappa B)が活性化する, ③NF- κ Bの活性化に

よって, ポドサイトにCD80が過剰発現する, ④CD80の過剰発現やNF- κ B経路の活性化が, ポドサイトの骨格であるシナプトポドインやアクチンの構造変化をきたす, ⑤ポドサイトの構造変化の結果, 足突起の消失や糸球体毛細血管内からボウマン嚢(尿中)への血漿タンパク漏出が生じる, ⑥しかし制御性T細胞(regulatory T cell: Treg)の機能や数が正常な健常人では, TregからCD80活性化抑制分子であるCTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4: ヒト細胞傷害性Tリンパ球抗原-4)やIL-10が分泌され, CD80活性が抑制されるため, タンパク尿の出現は一過性に終わる。この典型的な例がウイルス感染などの発熱に伴って出現する熱性タンパク尿である。⑦一方, MCNS患者の循環血中では何らかの理由でTregが機能的または量的に低下・減少しており(2nd hit), CTLA-4の発現やIL-10の分泌が少なく, CD80の活性化状態が維持されるためタンパク尿が持続する。実際, この仮説を裏付

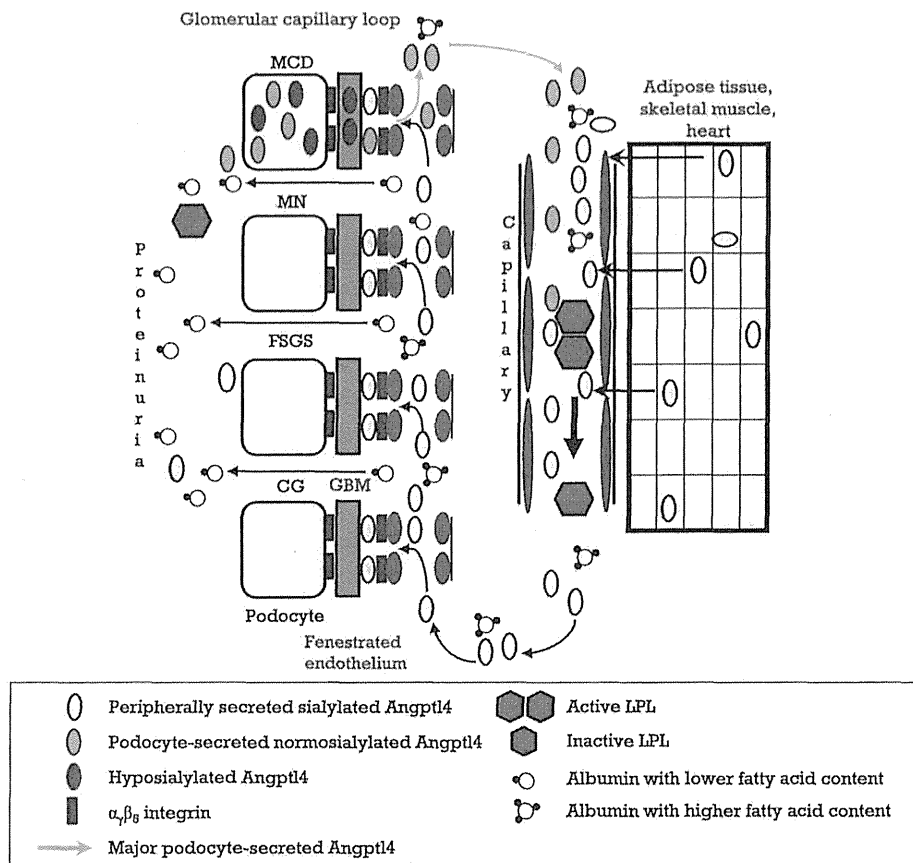


図3 ポドサイトの異常アンジオポエチン関連タンパク4 (Angptl4) を中心とした微小変型ネフローゼ症候群の病因論

MCNS 患者のポドサイトはシアリル化率が低い Angptl4 と、正常にシアリル化された Angptl4 の 2 種類を過剰に発現する。いずれの Angptl4 も GBM に蓄積するが、シアリル化率の低い Angptl4 は、ポドサイトや GBM に蓄積しやすい。ポドサイトや GBM への Angptl4 の大量の蓄積は、両者の接合面でのシグナル伝達を活性化し、足突起の消失やタンパク尿を招く。(MCD: minimal change disease; FSGS: focal and segmental glomerulosclerosis; CG: non-HIV collapsing glomerulopathy; MN: membranous nephropathy; GBM: glomerular basement membrane. Clement LC, Mace C, Avila-Casado C, Joles JA, Kersten S, et al. (2014) Circulating angiopoietin-like 4 links proteinuria with hypertriglyceridemia in nephrotic syndrome. Nat Med 20 : 37-46, Figure 6 を Macmillan Publishers Ltd. の許諾を得て転載)

ける実験として、LPS を投与して作成した MCNS モデルマウスのポドサイトにおいて、タンパク尿の出現、足突起の消失、アクチンの再構成に加えて CD80 の発現増加を認めるという報告がある³⁹⁾。ポドサイトの CD80 の発現増加は、T 細胞性のサイトカインである IL-13 や poly:IC (polyinosinic-polycytidylic acid) でも誘導される²⁷⁾⁶³⁾。Poly:IC はウイルス RNA を模倣する合成二本鎖 RNA アナログであり、TLR-3 の活性化因子であるが、このことは上気道炎などのウイルス感染症を契機として MCNS が再発することが多い臨床所見⁶⁴⁾を合理的に説明できる。さらに Garin らは MCNS 患者において、ポドサイトでの CD80 の過剰発現を反

映して尿中 CD80 が増加していることや、尿中 CD80/CTLA-4 比が再発時には寛解時に比べて 100 倍以上になっていることも報告している⁶¹⁾⁶²⁾。また最近、「ポドサイトの CD80 発現が NS 患者のタンパク尿出現において重要な役割を担っている」ことを示唆する臨床例が報告された。すなわち、関節リウマチの治療薬であるアバタセプト (abatacept: CTLA-4 の細胞外ドメインとヒト IgG1 の Fc ドメインで構成された可溶性融合タンパクで、CD80/86 に結合し共刺激シグナルを阻害する薬剤) を難治性の FSGS 患者 5 名に投与したところ、全例で寛解が得られたという⁶⁵⁾。

MCNS における Treg の機能的または量的な異常の

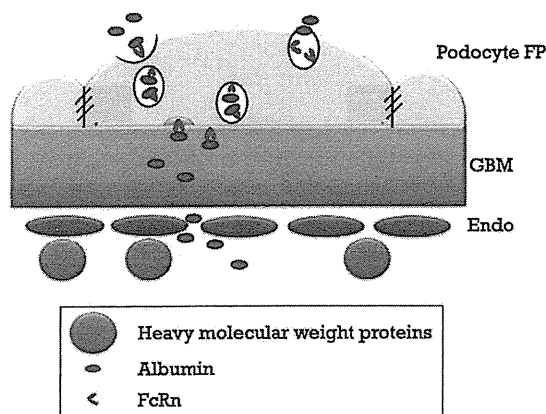


図4 微小変化型ネフローゼ症候群における選択的アルブミン尿の出現機序 (仮説)

微小変化型ネフローゼ症候群においてはポドサイトのスリット膜密度が減少しているにもかかわらず、アルブミンのみが尿中出现する (選択的アルブミン尿)。この理由は不明であるが、血中から内皮細胞やGBMを経てポドサイトに到達したアルブミンが、Fcレセプターと結合し、エンドサイトーシスとエキソサイトーシスによって、細胞質内を通過するというメカニズムを想定すると説明できる。(FP: foot process; GBM: glomerular basement membrane; Endo: endothelial cell. Tojo A, Kinugasa S. Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption. International Journal of Nephrology 2012; 2012: 481520. doi: 10.1155/2012/481520, Figure 4より転載. Copyright © 2012 Akihiro Tojo and Satoshi Kinugasa: <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

存在についても、筆者らの知見を含めていくつかの報告が見られる^{66)~68)}。しかし、なぜTregの機能的・量的な低下や減少がMCNSの乳幼児に見られるのかは不明である。成長とともにMCNSの治癒率が高まることから、遺伝的素因や環境因子による免疫系の発達の遅れと考えるのが妥当であろう。

5) ポドサイトとGBM接合部の障害機序

近年、ポドサイトにおけるアンジオポエチン関連タンパク4 (angiopoietin-like protein 4: Angptl4)の質的かつ量的な異常発現が、脂質異常症を含むMCNSの多くの特徴と関係している可能性が示唆された^{70)~71)}。Angptl4は、構造面や機能面でアンジオポエチンと共通点を有する糖タンパク質で、ヒトの多くの組織に発現している。一般にAngptl4は、血管内皮細胞表面に存在するリポ蛋白質リパーゼ (中性脂肪を分解する脂質分解酵素)の活性を抑制するため、血漿中の中性脂肪を上昇させる⁷²⁾。

最近、Clementらは、MCNSのモデル動物や患者において、ポドサイトの産生した異常なAngptl4が病因

的役割を果たしているという仮説を提唱している⁷⁰⁾。

その根拠として、①ポドサイトに特異的にAngptl4を発現増強させたトランスジェニックラットでは、高度のタンパク尿、GBMの荷電消失、および足突起の消失を認めること、②MCNSモデルラットの腎糸球体のAngptl4の解析では、等電点が8~8.5と陽性荷電しているものと、等電点が7と中性荷電のもの2種類が過剰に発現していること、③MCNSモデルラットのポドサイトから分泌されたAngptl4は正常にシアリル化されていないこと、などの所見を報告した。これらの事実から、彼らは「MCNS患者のポドサイトはシアリル化していない異常な陽性荷電Angptl4を過剰に産生し、それが正常にシアリル化されたAngptl4とともにポドサイトやGBMに蓄積し、ポドサイトとGBMの接合面でのシグナル伝達を活性化し、足突起の消失やタンパク尿を招く」と推測している (図3⁶⁹⁾⁷¹⁾。一方で、NSに到るような大量のタンパク尿は、血清中の遊離脂肪酸とアルブミンの比を高め、その結果、腎外組織 (骨格筋や心臓、脂肪組織)でのシアリル化したAngptl4の分泌を亢進させるため、血清中のAngptl4高値はMCNSのみならず、他の腎疾患でも認められる。この場合、血清中のAngptl4は糸球体の内皮細胞のβ5インテグリンと相互作用して、むしろタンパク尿を抑制する方向に作用するという⁷¹⁾。

現在のところ、前述のポドサイトでのCD80分子の過剰発現とAngptl4のGBMへの蓄積との関係は不明である⁴⁷⁾。しかしマウスにMCNS病変を惹起するLPS (TLR4の活性化因子)を投与すると、脂肪組織ではAngptl4の発現が亢進する⁷³⁾一方、ポドサイトではCD80の発現が亢進している³⁰⁾ことから、何らかの病的因子がポドサイトのAngptl4発現とCD80分子発現を同時に刺激している可能性が示唆される。

6) MCNSにおけるアルブミンの選択的尿中漏出の機序

SDにおけるネフリンの発現が低下または消失しているようなフィンランド型先天性NSや、ポドサイトの剝離が認められるFSGSにおいて、アルブミン以外の血漿タンパクも尿中出现する非選択的タンパク尿が見られることは理解しやすい⁷⁴⁾。一方、MCNSにおいてはアルブミンを主体とした選択的タンパク尿が認められる。MCNSのポドサイト障害として見られる特徴的な病理学的変化は、糸球体毛細血管壁を広範に覆っているポドサイトの足突起の消失であり、ポドサイトのSD密度は最高80%減少している⁷⁵⁾。このようにポドサイトのSD密度が低下した状態で、アルブミンが、どのような機序で血漿から尿中に選択的に漏出するのについては不明な点が多い。この疑問に対して最近、Tojoらは循環血中から内皮細胞やGBMを経てポド

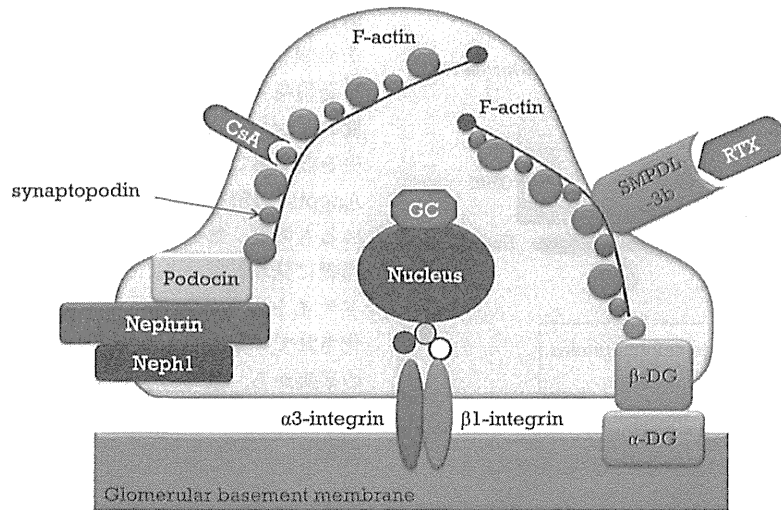


図5 微小変型ネフローゼ症候群に用いられる薬剤の作用機序に関する新しい考え方：ポドサイトへの作用
GCはポドサイトのNF- κ Bの細胞内シグナリングを抑制することで、またCsAは、ポドサイトにおけるシナプトポデインのカルシニューリン依存性脱リン酸化を抑制することで、アクチン細胞骨格を安定化させ、タンパク尿を減少させる可能性がある。RTXは、CD20のみならず、ポドサイトのSMPDL-3bにも結合し、それを保護することによってアクチン細胞骨格の破壊を防ぎ、タンパク尿を抑制するという報告がある。(GC：glucocorticoid；CsA：cyclosporine；RTX：rituximab；SMPDL-3b：sphingomyelin phosphodiesterase acid-like 3b；DG：dystroglycans.)

サイトに到達したアルブミンが、ポドサイトに発現しているFcレセプターに結合し、エンドサイトーシスとエキソサイトーシスによって、細胞質内を通過する、という輸送メカニズムを提唱している⁷⁴⁾(図4)。

MCNSの治療薬の作用機序に関する新しいパラダイム

これまで述べてきたように、MCNSの病因論において、リンパ球(特にT細胞)機能異常説からポドサイト障害説へとパラダイムシフトが起きている。それに伴って、MCNSに有効な薬剤の作用機序についても、作用点を中心に見直されている⁷⁶⁾⁷⁷⁾。すなわち、グルココルチコイド(glucocorticoid：GC)やシクロホスファミド(cyclophosphamide)、ミコフェノール酸モフェチル(mycophenolate mofetil)、レバミゾール(levamisole)、シクロスポリンA(cyclosporine A：CsA)、RTXなどの免疫抑制薬は、MCNS患者のリンパ球機能異常を是正することで効果を発揮するものと考えられてきたが、近年、GC、CsAやRTXについては、図5に示すようにポドサイトへの直接作用も示唆されている⁷⁶⁾⁷⁷⁾。それらについて以下に簡単に述べる。

1) MCNSにおけるGCの新しい作用機序

小児のMCNS患者の80%~90%がGCで寛解する

ことは知られているものの、GCがどのようにMCNSの病態を改善するのかについては不明な点が多い。しかしGCの受容体が全身の細胞に普遍的に発現していることや、最近のMCNSの病因論におけるポドサイトの重要性を考え合わせると、GCがポドサイトの受容体に直接作用してタンパク尿の出現を抑制している可能性がある。実際、最近の研究では、デキサメタゾンがヒトのポドサイトの構造や機能に大きな影響を及ぼすこと⁷⁸⁾や、ポドサイトのNF- κ Bの細胞内シグナリングを抑制することがわかっている⁷⁹⁾。

筆者も最近、「MCNSの主たる病因はポドサイト障害である」というパラダイムに基づいていくつかの検討を行っている。その中で、ポドサイトのNF- κ Bに着目した研究を紹介する。言うまでもなくNF- κ Bは免疫反応において、中心的役割を果たす転写因子の一つで、ストレスやサイトカイン、紫外線等で活性化されて核内移行し、DNAに結合、転写調節を行い、TNF- α 、IL-6などの炎症性サイトカインの産生調節に関与する。MCNSでもNF- κ Bの発現増強が近年、報告されている^{80)~82)}。そこで、「NF- κ B阻害剤はMCNSの治療薬になり得るのではないか」という仮説を立て、最近開発されたNF- κ B阻害剤であるdehydroxy-methyl-epoxyquinomicin(DHMEQ)をMCNSモデルマウスに投与して検討を行った⁸³⁾。その結果、DHMEQ非投与群

では有意なタンパク尿, 低アルブミン血症を呈したのに対し, DHMEQ 投与群ではこれらの所見は軽減し, ポドサイトの構造変化(足突起の消失)も見られず, ポドサイト内での NF- κ B の核内移行も阻害されていた。これらの結果から, NF- κ B 阻害薬・DHMEQ は, ポドサイトにおいて NF- κ B の核内移行を阻害することで, その構造変化を抑制し, タンパク尿を減少させるものと思われた。したがって DHMEQ は MCNS の新規治療薬となる可能性がある。

2) MCNS における CsA の新しい作用機序

CsA は GC に対する反応性の低い MCNS 患者にも有効性が高いことから, よく用いられる薬剤である。これまで, MCNS における CsA の作用機序は, 活性化した T 細胞の細胞内シグナル伝達の抑制と考えられてきたが, 近年, ポドサイトへの直接作用の可能性が Paul らによって示された⁸⁴⁾。すなわち, CsA は, ポドサイトにおけるシナプトポディンのカルシニューリン依存性脱リン酸化に作用してアクチン細胞骨格を安定化させ, タンパク尿を減少させるという考え方を示した。

3) MCNS における RTX の新しい作用機序

B 細胞の表面抗原である CD20 に対するモノクローナル抗体である RTX は, 難治性の MCNS でも高い有効性を示すため, 近年, その使用頻度が増えている薬剤⁴⁰⁾⁸⁵⁾で, わが国でも保険収載される予定である。RTX が MCNS に対して有効性を発揮する機序については不明な点が多いが, 有効例においては末梢血 B 細胞の枯渇を認めることから, B 細胞の枯渇化が細胞間相互作用で自己反応性 T 細胞をも減少させる可能性などが考えられてきた⁸⁶⁾。しかし, Fornoni らは, RTX は B 細胞表面の CD20 を認識するだけでなく, ポドサイトの SMPDL-3b (sphingomyelin phosphodiesterase acid-like 3b)にも結合し, それを保護することによってアクチン細胞骨格の破壊を防ぎ, タンパク尿を抑制している可能性を示した⁸⁷⁾。

おわりに

MCNS の病因論は, 1974 年に Shalhoub が提唱した「リンパ球機能異常説」から 40 年の月日が流れたにも関わらず, いまだに解明されていない。その間にパラダイムは「ポドサイト障害説」へと移行し, 雨後のタケノコのように多くの病因論が提唱されている。すなわち, 紹介した病因論以外にも, ヘモペキシン (hemopexin⁸⁸⁾⁸⁹⁾, 活性酸素⁹⁰⁾, 一酸化窒素⁴²⁾, あるいは c-mip⁹¹⁾といった分子の重要性を強調する病因論も数多く報告されている。いずれの仮説も魅力あるものではあるが, 今のところ, 発表者以外の研究グループによ

って追試で検証された研究成果はない。また今日, ポドサイト障害が研究のスポットライトを浴びているとは言え, その障害を引き起こす異常は, Treg を始めとする免疫異常である可能性は否定できない。むしろ「T 細胞機能異常がポドサイトに様々な変化を起している」と考えた方が, 合理的説明が可能である。したがって, 今後は, 「リンパ球機能異常説」と「ポドサイト障害説」の二つのパラダイムを繋ぐ病因論研究が望まれる。

謝辞 本論文を作成するにあたり, 臨床研究に協力下さった多くの患者さんとその保護者の方々に深謝いたします。また特発性ネフローゼ症候群の病態・病因解明のために臨床研究, 動物実験を行ってくださった関西医科大学小児科学教室・腎臓病診療班の北尾哲也先生, 加藤正吾先生, 山内壮作先生, 下智比古先生, そして彼らを指導してくれた辻章志先生, 木全貴久先生に心より感謝いたします。

日本小児科学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) KDIGO. Chapter 3 : Steroid-sensitive nephrotic syndrome in children. *Kidney Int* 2012 ; (Supplements 2) : 163—171.
- 2) Eddy AA, Symons JM. Nephrotic syndrome in childhood. *Lancet* 2003 ; 362 : 629—639.
- 3) Neuhaus TJ, Fay J, Dillon MJ, et al. Alternative treatment to corticosteroids in steroid sensitive idiopathic nephrotic syndrome. *Arch Dis Child* 1994 ; 71 : 522—526.
- 4) Ahmad H, Tejani A. Predictive value of repeat renal biopsies in children with nephrotic syndrome. *Nephron* 2000 ; 84 : 342—346.
- 5) Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis : a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974 ; 2 : 556—560.
- 6) Garin EH. Circulating mediators of proteinuria in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2000 ; 14 : 872—878.
- 7) Kaneko K. Pathogenesis in Childhood Idiopathic Nephrotic Syndrome : An Update of Patchwork. *Curr Pediatr Rev* 2009 ; 5 : 56—64.
- 8) Kobayashi T, Ando Y, Umino T, et al. Complete remission of minimal-change nephrotic syndrome induced by apheresis monotherapy. *Clin Nephrol* 2006 ; 65 : 423—426.
- 9) Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, et al. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991 ; 40 : 453—460.
- 10) Daniel V, Trautmann Y, Konrad M, et al. T-lymphocyte populations, cytokines and other growth factors in serum and urine of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 1997 ; 47 : 289—297.
- 11) Hulton SA, Shah V, Byrne MR, et al. Lympho-

- cyte subpopulations, interleukin-2 and interleukin-2 receptor expression in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1994 ; 8 : 135—139.
- 12) Kemper MJ, Meyer-Jark T, Lilova M, et al. Combined T- and B-cell activation in childhood steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2003 ; 60 : 242—247.
 - 13) Mandreoli M, Beltrandi E, Casadei-Maldini M, et al. Lymphocyte release of soluble IL-2 receptors in patients with minimal change nephropathy. *Clin Nephrol* 1992 ; 37 : 177—182.
 - 14) Neuhaus TJ, Wadhwa M, Callard R, et al. Increased IL-2, IL-4 and interferon-gamma (IFN-gamma) in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 1995 ; 100 : 475—479.
 - 15) Cho BS, Yoon SR, Jang JY, et al. Up-regulation of interleukin-4 and CD23/FcepsilonRII in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1999 ; 13 : 199—204.
 - 16) Lin CY, Chien JW. Increased interleukin-12 release from peripheral blood mononuclear cells in nephrotic phase of minimal change nephrotic syndrome. *Acta Paediatr Taiwan* 2004 ; 45 : 77—80.
 - 17) Matsumoto K, Kanmatsuse K. Elevated interleukin-18 levels in the urine of nephrotic patients. *Nephron* 2001 ; 88 : 334—339.
 - 18) Suranyi MG, Guasch A, Hall BM, et al. Elevated levels of tumor necrosis factor-alpha in the nephrotic syndrome in humans. *Am J Kidney Dis* 1993 ; 21 : 251—259.
 - 19) Matsumoto K, Kanmatsuse K. Elevated vascular endothelial growth factor levels in the urine of patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2001 ; 55 : 269—274.
 - 20) Saxena S, Mittal A, Andal A. Pattern of interleukins in minimal-change nephrotic syndrome of childhood. *Nephron* 1993 ; 65 : 56—61.
 - 21) Stachowski J, Barth C, Michalkiewicz J, et al. Th1/Th2 balance and CD45-positive T cell subsets in primary nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2000 ; 14 : 779—785.
 - 22) Matsumoto K, Kanmatsuse K. Increased IL-12 release by monocytes in nephrotic patients. *Clin Exp Immunol* 1999 ; 117 : 361—367.
 - 23) Bustos C, Gonzalez E, Muley R, et al. Increase of tumour necrosis factor alpha synthesis and gene expression in peripheral blood mononuclear cells of children with idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Clin Invest* 1994 ; 24 : 799—805.
 - 24) Yap HK, Cheung W, Murugasu B, et al. Th1 and Th2 cytokine mRNA profiles in childhood nephrotic syndrome : evidence for increased IL-13 mRNA expression in relapse. *J Am Soc Nephrol* 1999 ; 10 : 529—537.
 - 25) Laflam PF, Garin EH. Effect of tumor necrosis factor alpha and vascular permeability growth factor on albuminuria in rats. *Pediatr Nephrol* 2006 ; 21 : 177—181.
 - 26) Webb NJ, Watson CJ, Roberts IS, et al. Circulating vascular endothelial growth factor is not increased during relapses of steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1999 ; 55 : 1063—1071.
 - 27) Lai KW, Wei CL, Tan LK, et al. Overexpression of interleukin-13 induces minimal-change-like nephropathy in rats. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 1476—1485.
 - 28) Davin JC, Rutjes NW. Nephrotic syndrome in children : from bench to treatment. *Int J Nephrol* 2011 ; 2011 : 372304.
 - 29) van den Berg JG, Weening JJ. Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2004 ; 107 : 125—136.
 - 30) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986 ; 136 : 2348—2357.
 - 31) Lama G, Luongo I, Tirino G, et al. T-lymphocyte populations and cytokines in childhood nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 2002 ; 39 : 958—965.
 - 32) Kanai T, Shiraishi H, Yamagata T, et al. Th2 cells predominate in idiopathic steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Clin Exp Nephrol* 2010 ; 14 : 578—583.
 - 33) Stachowski J, Krynicki T, Barth C, et al. [Does the changed Th1/Th2 activity in children with the assessment of body water in children with nephrotic syndrome : initial results]. *Pol Merkur Lekarski* 2000 ; 8 : 222—224.
 - 34) Mansfield LE, Trygstad CW, Ajugwo RE, et al. Serum concentrations of immunoglobulins E and G and alpha 2-macroglobulin in childhood renal disease. *J Allergy Clin Immunol* 1980 ; 66 : 227—232.
 - 35) Meadow SR, Sarsfield JK. Steroid-responsive and nephrotic syndrome and allergy : clinical studies. *Arch Dis Child* 1981 ; 56 : 509—516.
 - 36) Meadow SR, Sarsfield JK, Scott DG, et al. Steroid-responsive nephrotic syndrome and allergy : immunological studies. *Arch Dis Child* 1981 ; 56 : 517—524.
 - 37) Rebien W, Muller-Wiefel DE, Wahn U, et al. IgE mediated hypersensitivity in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Int J Pediatr Nephrol* 1981 ; 2 : 23—28.
 - 38) Kaneko K, Tuchiya K, Fujinaga S, et al. Th1/Th2 balance in childhood idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2002 ; 58 : 393—397.
 - 39) Reiser J, von Gersdorff G, Loos M, et al. Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 2004 ; 113 : 1390—1397.
 - 40) Bagga A, Sinha A, Moudgil A. Rituximab in patients with the steroid-resistant nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 2751—2752.
 - 41) Kimata T, Hasui M, Kino J, et al. Novel use of rituximab for steroid-dependent nephrotic syndrome in children. *Am J Nephrol* 2013 ; 38 :

- 483—488.
- 42) Iharada A, Kaneko K, Tsuji S, et al. Increased nitric oxide production by T- and B-cells in idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 1033—1038.
 - 43) Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein—nephrin—is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998 ; 1 : 575—582.
 - 44) Asanuma K, Mundel P. The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 2003 ; 7 : 255—259.
 - 45) Grahammer F, Schell C, Huber TB. The podocyte slit diaphragm—from a thin grey line to a complex signalling hub. *Nat Rev Nephrol* 2013 ; 9 : 587—598.
 - 46) Tryggvason K, Pettersson E. Causes and consequences of proteinuria : the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J Intern Med* 2003 ; 254 : 216—224.
 - 47) Chugh SS, Clement LC, Mace C. New insights into human minimal change disease : lessons from animal models. *Am J Kidney Dis* 2012 ; 59 : 284—292.
 - 48) Shimada M, Araya C, Rivard C, et al. Minimal change disease : a “two-hit” podocyte immune disorder? *Pediatr Nephrol* 2011 ; 26 : 645—649.
 - 49) Simic I, Tabatabaeifar M, Schaefer F. Animal models of nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 2079—2088.
 - 50) Adler S. Characterization of glomerular epithelial cell matrix receptors. *Am J Pathol* 1992 ; 141 : 571—578.
 - 51) Drenckhahn D, Franke RP. Ultrastructural organization of contractile and cytoskeletal proteins in glomerular podocytes of chicken, rat, and man. *Lab Invest* 1988 ; 59 : 673—682.
 - 52) Mundel P, Gilbert P, Kriz W. Podocytes in glomerulus of rat kidney express a characteristic 44 KD protein. *J Histochem Cytochem* 1991 ; 39 : 1047—1056.
 - 53) Regele HM, Fillipovic E, Langer B, et al. Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2000 ; 11 : 403—412.
 - 54) Tryggvason K, Wartiovaara J. Molecular basis of glomerular permselectivity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001 ; 10 : 543—549.
 - 55) Dai Y, Gu L, Yuan W, et al. Podocyte-specific deletion of signal transducer and activator of transcription 3 attenuates nephrotoxic serum-induced glomerulonephritis. *Kidney Int* 2013 ; 84 : 950—961.
 - 56) Ueno T, Kobayashi N, Nakayama M, et al. Aberrant Notch1-dependent effects on glomerular parietal epithelial cells promotes collapsing focal segmental glomerulosclerosis with progressive podocyte loss. *Kidney Int* 2013 ; 83 : 1065—1075.
 - 57) Wang L, Tang Y, Howell DN, et al. A novel mouse model of podocyte depletion. *Nephron Exp Nephrol* 2012 ; 121 : e10—22.
 - 58) Ghiggeri GM, Caridi G, Magrini U, et al. Genetics, clinical and pathological features of glomerulonephritis associated with mutations of nonmuscle myosin IIA (Fechtner syndrome). *Am J Kidney Dis* 2003 ; 41 : 95—104.
 - 59) Jalanko H. Congenital nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 2121—2128.
 - 60) Saleem MA. New developments in steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 699—709.
 - 61) Garin EH, Diaz LN, Mu W, et al. Urinary CD80 excretion increases in idiopathic minimal-change disease. *J Am Soc Nephrol* 2009 ; 20 : 260—266.
 - 62) Garin EH, Mu W, Arthur JM, et al. Urinary CD80 is elevated in minimal change disease but not in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2010 ; 78 : 296—302.
 - 63) Shimada M, Ishimoto T, Lee PY, et al. Toll-like receptor 3 ligands induce CD80 expression in human podocytes via an NF-kappaB-dependent pathway. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27 : 81—89.
 - 64) Alwadhani RK, Mathew JL, Rath B. Clinical profile of children with nephrotic syndrome not on glucocorticoid therapy, but presenting with infection. *J Paediatr Child Health* 2004 ; 40 : 28—32.
 - 65) Yu CC, Fornoni A, Weins A, et al. Abatacept in B7-1-positive proteinuric kidney disease. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 2416—2423.
 - 66) Araya C, Diaz L, Wasserfall C, et al. T regulatory cell function in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 1691—1698.
 - 67) Kimata T, Tsuji S, Kino J, et al. Close association between proteinuria and regulatory T cells in patients with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 667—669.
 - 68) Liu LL, Qin Y, Cai JF, et al. Th17/Treg imbalance in adult patients with minimal change nephrotic syndrome. *Clin Immunol* 2011 ; 139 : 314—320.
 - 69) Chugh SS, Mace C, Clement LC, et al. Angiotensin-like 4 based therapeutics for proteinuria and kidney disease. *Front Pharmacol* 2014 ; 5 : 23.
 - 70) Clement LC, Avila-Casado C, Mace C, et al. Podocyte-secreted angiotensin-like-4 mediates proteinuria in glucocorticoid-sensitive nephrotic syndrome. *Nat Med* 2011 ; 17 : 117—122.
 - 71) Clement LC, Mace C, Avila-Casado C, et al. Circulating angiotensin-like 4 links proteinuria with hypertriglyceridemia in nephrotic syndrome. *Nat Med* 2014 ; 20 : 37—46.
 - 72) Yoshida K, Shimizugawa T, Ono M, et al. Angiotensin-like protein 4 is a potent hyperlipidemia-inducing factor in mice and inhibitor of lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 2002 ; 43 : 1770—1772.
 - 73) Lu B, Moser A, Shigenaga JK, et al. The acute phase response stimulates the expression of an-

- giopietin like protein 4. *Biochem Biophys Res Commun* 2010 ; 391 : 1737—1741.
- 74) Tojo A, Kinugasa S. Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption. *Int J Nephrol* 2012 ; 2012 : 481520.
- 75) Lahdenkari AT, Lounatmaa K, Patrakka J, et al. Podocytes are firmly attached to glomerular basement membrane in kidneys with heavy proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2004 ; 15 : 2611—2618.
- 76) Mathieson PW. The podocyte as a target for therapies—new and old. *Nat Rev Nephrol* 2012 ; 8 : 52—56.
- 77) Schonemberger E, Ehrlich JH, Haller H, et al. The podocyte as a direct target of immunosuppressive agents. *Nephrol Dial Transplant* 2011 ; 26 : 18—24.
- 78) Xing CY, Saleem MA, Coward RJ, et al. Direct effects of dexamethasone on human podocytes. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 1038—1045.
- 79) Hussain S, Romio L, Saleem M, et al. Nephrin deficiency activates NF-kappaB and promotes glomerular injury. *J Am Soc Nephrol* 2009 ; 20 : 1733—1743.
- 80) Cao C, Lu S, Dong C, et al. Abnormal DNA-binding of transcription factors in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001 ; 16 : 790—795.
- 81) Sahali D, Pawlak A, Le Gouvello S, et al. Transcriptional and post-transcriptional alterations of IkappaBalpha in active minimal-change nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2001 ; 12 : 1648—1658.
- 82) Coppo R, Camilla R, Porcellini MG, et al. Saquinavir in steroid-dependent and -resistant nephrotic syndrome : a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2012 ; 27 : 1902—1910.
- 83) Shimo T, Adachi Y, Yamanouchi S, et al. A novel nuclear factor kappaB inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, ameliorates puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in mice. *Am J Nephrol* 2013 ; 37 : 302—309.
- 84) Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S, et al. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 2008 ; 14 : 931—938.
- 85) Kronbichler A, Kerschbaum J, Fernandez-Fresnedo G, et al. Rituximab Treatment for Relapsing Minimal Change Disease and Focal Segmental Glomerulosclerosis : A Systematic Review. *Am J Nephrol* 2014 ; 39 : 322—330.
- 86) Datta SK. Anti-CD20 antibody is an efficient therapeutic tool for the selective removal of autoreactive T cells. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2009 ; 5 : 80—82.
- 87) Fornoni A, Sageshima J, Wei C, et al. Rituximab targets podocytes in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Sci Transl Med* 2011 ; 3 : 85ra46.
- 88) Lennon R, Singh A, Welsh GI, et al. Hemopexin induces nephrin-dependent reorganization of the actin cytoskeleton in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 2140—2149.
- 89) McCarthy ET, Sharma M, Savin VJ. Circulating permeability factors in idiopathic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ; 5 : 2115—2121.
- 90) Bertelli R, Trivelli A, Magnasco A, et al. Failure of regulation results in an amplified oxidation burst by neutrophils in children with primary nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 2010 ; 161 : 151—158.
- 91) Zhang SY, Kamal M, Dahan K, et al. c-mip impairs podocyte proximal signaling and induces heavy proteinuria. *Sci Signal* 2010 ; 3 : ra39.

20. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ *et al*. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke* 2006; 37: 1583–1633
21. Schiller A, Covic A. Kidney and brain – a renal perspective of ‘Les Liaisons Dangereuses.’ *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1370–1373
22. Murray CJL, Lopez AD. Global Patterns of Cause of Death and Burden of Disease in 1990, with Projections to 2020. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1996.
23. Menotti A, Jacobs DR, Jr, Blackburn H *et al*. Twenty-five-year prediction of stroke deaths in the seven countries study: the role of blood pressure and its changes. *Stroke* 1996; 27: 381–387
24. Lai MN, Lai JN, Chen PC *et al*. Increased risks of chronic kidney disease associated with prescribed Chinese herbal products suspected to contain aristolochic acid. *Nephrology* 2009; 14: 227–234

Received for publication: 30.7.2013; Accepted in revised form: 27.12.2013

Nephrol Dial Transplant (2014) 29: 878–884
doi: 10.1093/ndt/gfu012
Advance Access publication 9 February 2014

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

Kenji Ishikura^{1,2}, Osamu Uemura³, Yuko Hamasaki⁴, Shuichi Ito⁵, Naohiro Wada⁶, Motoshi Hattori⁷, Yasuo Ohashi⁸, Ryojiro Tanaka⁹, Koichi Nakanishi¹⁰, Tetsuji Kaneko² and Masataka Honda¹ 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

¹Department of Nephrology, Tokyo Metropolitan Children’s Medical Center, Tokyo, Japan, ²Division of Clinical Research Support Center, Tokyo Metropolitan Children’s Medical Center, Tokyo, Japan, ³Department of Pediatric Nephrology, Aichi Children’s Health and Medical Center, Aichi, Japan, ⁴Department of Pediatric Nephrology, Toho University Faculty of Medicine, Tokyo, Japan, ⁵Department of Nephrology and Rheumatology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan, ⁶Department of Pediatric Nephrology, Shizuoka Children’s Hospital, Shizuoka, Japan, ⁷Department of Pediatric Nephrology, Tokyo Women’s Medical University, Tokyo, Japan, ⁸Department of Biostatistics, School of Public Health, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, ⁹Department of Nephrology, Hyogo Prefectural Children’s Hospital, Hyogo, Japan and ¹⁰Department 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 m² showed significant growth failure and other clinically important disorders compared with children with a higher GFR (≥ 50 mL/min/1.73 m²), 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 m², 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

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 ²) ^a | 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 ²) ^b | 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.

^aAbbreviated Schwartz equation [19], eGFR = 41.3 [height (m)/SCr (mg/dL)].

^bComplete Schwartz equation [19], eGFR = 39.1 [height (m)/Scr (mg/dL)]^{0.516}[1.8/cystatin C (mg/L)]^{0.294} × [30/BUN (mg/dL)]^{0.169} [1.099]^{male} [height (m)/1.4]^{0.188}.

^cP-values were determined by analysis of variance for all variables except sex, which was analyzed by the χ^2 test.

creatinine. The patients were divided into three age groups for males (<2, ≥2 to <10.8 and ≥10.8 years) and females (<2, ≥2 to <10.0 and ≥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 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

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 ^a | 9 | 29 ^a | 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 ^a | 2 | 1 ^a | 1 |
| PD after HD | 2 | 0 | 1 | 1 |
| Change in CKD stage (excluding death before progressing to ESKD) | | | | |
| To Stage 2 | | 43 | 1 | 0 |
| To Stage 3 | | 210 | 6 | 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.

^aIncludes one death.

with Stage 5 CKD tended to be older than children with Stage 3/4 CKD.

Progression to ESKD and renal replacement therapy

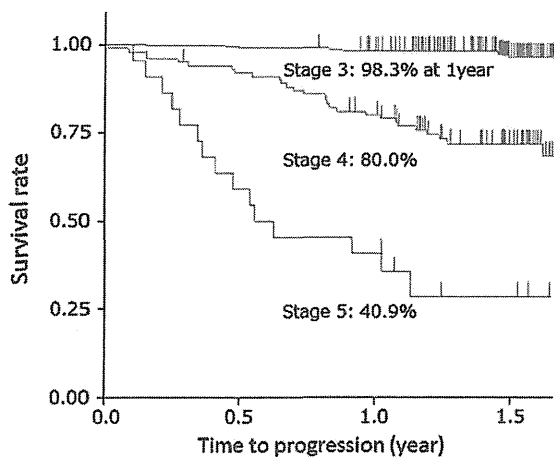
Table 2 shows the patient outcomes during this survey. Overall, 52 patients progressed to ESKD during the follow-up period [median follow-up period (interquartile range) 1.49 years (1.16-1.64 years); Stage 3, *n* = 9; Stage 4, *n* = 29; Stage 5, *n* = 14]. Of these, 1/9 patients in Stage 3, 21/29 patients 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

Table 3. Characteristics of patients who progressed to ESKD or who died

| CKD stage in 2010 ^a | Age in 2010 (years) | Sex | Primary etiology | Method of detecting CKD | Recognizable syndrome |
|--------------------------------|---------------------|------------------------|---|--|--|
| Deaths | | | | | |
| 3 | 3.6 | Male | Unknown | Urinary tract infection | Down syndrome |
| 4 | 3.4 | Male | Cortical necrosis (perinatal period) | Blood analysis in the neonatal period, asphyxia, neonatal shock | — |
| 4 | 0.7 | Male | CAKUT without obstructions | Fetal ultrasonography/ultrasonography in the neonatal period | — |
| 4 Deaths after ESKD | 8.3 | Male | Drug induced | Detected during the management of other diseases(e.g. heart disease) | — |
| 5 | 13.5 | Female | CAKUT without obstructions | Failure to thrive, weight loss and general fatigue | — |
| Progression to ESKD | | | | | |
| 3 (n = 9) | 9.8 ± 4.9 | 6 males 3 females | CAKUT without obstructions (1); chronic glomerulonephritis (2); congenital nephrotic syndrome (1); focal segmental glomerulosclerosis (2); nephronophthisis (1); other inherited kidney damage (2) | Analysis by chance (4); annual urinalysis at school (3); blood analysis in the neonatal period, asphyxia, neonatal shock (1); fetal ultrasonography/ultrasonography in the neonatal period (1) | Bardet-Beadle syndrome (1); Lowe syndrome (1) |
| 4 (n = 28) | 9.5 ± 4.7 | 15 males 13 females | CAKUT with obstructions (4); CAKUT without obstructions (17); congenital nephrotic syndrome (1); hemolytic uremic syndrome (1); nephronophthisis (3); neurogenic bladder (1); other inherited kidney damage (1) | Analysis by chance (6); annual urinalysis at school (2); blood analysis in the neonatal period, asphyxia, neonatal shock (4); dysuria, including neurogenic bladder and nocturia (1); failure to thrive, weight loss and general fatigue (3); fetal ultrasonography/ultrasonography in the neonatal period (6); symptoms of glomerulonephritis (edema, oliguria or gross hematuria (1); unknown (1); urinalysis at 3 years (2); urinary tract infection (2)) | 15q syndrome (1); chromosomal anomalies (1); Ellis-van Creveld syndrome (1); Prune belly syndrome (1); renal coloboma syndrome (1) |
| 5 (n = 14) | 9.9 ± 1.2 | 9 males 5 females | CAKUT with obstructions (1); CAKUT without obstructions (7); cortical necrosis (perinatal period) (3); nephronophthisis (1); polycystic kidney disease (2) | Analysis by chance (2); annual urinalysis at school (2); blood analysis in the neonatal period, asphyxia, neonatal shock (1); failure to thrive, weight loss and general fatigue (2); fetal ultrasonography/ultrasonography in the neonatal period (5); unknown (1); urinary tract infection (1) | — |

CAKUT, congenital anomalies of the kidney and urinary tract; CKD, chronic kidney disease; ESKD, end-stage kidney disease. Values in parentheses indicate the number of patients. Age is shown as the mean ± SD.

^aData are presented for individual patients (deaths) or groups by CKD stage (alive).



| | Number of participants remaining | | | |
|---------|----------------------------------|-----|-----|-----|
| Stage 3 | 315 | 296 | 287 | 178 |
| Stage 4 | 107 | 92 | 78 | 41 |
| Stage 5 | 25 | 13 | 9 | 3 |

FIGURE 1. Kaplan-Meier plot showing time to ESKD according to CKD stage. $T = 0$ years was defined as the day on which serum creatinine was measured that was closest to 1 April 2010. The 1-year survival rates are shown for each stage.

Table 4. Risk factors for ESKD (Cox regression model)

| Variable | HR | 95% CI | P-value |
|---|-------|------------|---------|
| Sex | | | |
| Female | 1.56 | 0.67–3.62 | 0.306 |
| Male | 1.00 | — | — |
| Age | | | |
| Age <2 years (versus 2 years to the start of puberty) ^a | 9.06 | 2.29–35.84 | 0.002 |
| After puberty (versus 2 years to the start of puberty) ^a | 4.88 | 1.85–12.85 | 0.001 |
| Recognizable syndrome ^b | 2.54 | 0.75–8.58 | 0.133 |
| CKD stage | | | |
| CKD Stage 4 (versus Stage 3) | 11.12 | 4.22–29.28 | <0.001 |
| CKD Stage 5 (versus Stage 3) | 26.95 | 7.71–94.17 | <0.001 |
| CAKUT | 0.60 | 0.25–1.47 | 0.261 |
| Preterm delivery (<37 weeks) | 1.33 | 0.50–3.53 | 0.562 |
| Heavy proteinuria ^c | 7.56 | 3.22–17.77 | <0.001 |
| Hypertension ^d | 0.53 | 0.19–1.46 | 0.219 |
| Use of antihypertensive drugs | 1.08 | 0.42–2.75 | 0.874 |

ESKD, end-stage kidney disease; HR, hazard ratio; CI, confidence interval; CKD, chronic kidney disease; CAKUT, congenital anomalies of the kidney and urinary tract.

^aAge at the start of puberty was defined as 10.8 years for males and 10.0 years for females [23].

^bRecognizable syndromes included Down syndrome, Kabuki syndrome, Townes-Brocks syndrome, VATER association, prune belly syndrome, Wolf-Hirschhorn syndrome and branchio-oto-renal syndrome, among others.

^cUrine protein/creatinine ratio >2.0 g/g urine creatinine.

^dSystolic blood pressure >95th percentile.

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, 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 independently associated with CKD progression, as determined using Cox's proportional hazards model. As shown in this table, CKD stage and heavy proteinuria were significantly associated with disease progression. Age of <2 years and age at or above the start of puberty were significantly associated with increased risk of disease progression. In contrast, sex, the presence of a recognizable syndrome, disease (CAKUT or other disease), preterm delivery (<37 weeks), hypertension (systolic blood pressure >95th percentile) [24] and the use of antihypertensive drugs were not associated with disease progression. The results did not change when we included the duration of disease instead of age or eGFR calculated using the abbreviated Schwartz equation instead of CKD stage, or if deaths were censored instead of being included as an event (data not shown).

DISCUSSION

The main findings of this prospective cohort study in Japanese children with CKD Stages 3–5 are that (i) the prognosis of CKD in children is poor, as disease progression to a higher CKD stage or ESKD occurred in a sizeable number of children, particularly those with advanced (Stages 4/5) CKD, and (ii) advanced CKD stage and heavy proteinuria were independently associated with progression to ESKD. Age of <2 years and age at or above the start of puberty (≥ 10.8 years in males and ≥ 10.0 years in females) were also significantly associated with increased risk of disease progression. To our knowledge, this is the first nationwide, prospective cohort study of children with pre-dialysis CKD to examine the risk for progression to ESKD in Asia.

The present results are broadly consistent with those reported elsewhere, showing the poor outcomes of CKD in children [1, 3–6, 11, 12, 14–16, 25]. In a retrospective analysis of 176 children with dysplastic kidneys and ≥ 5 years of follow-up, Gonzalez Celedon *et al.* [1] reported that there was an early improvement in renal function, which lasted until ~ 3.2 years of age, and was followed thereafter by maintained or deteriorating renal function, particularly after 7 and 11 years of age. They reported that hypertension, albuminuria, number of febrile urinary tract infections, eGFR at onset and puberty were significantly associated with disease progression. Sanna-Cherchi *et al.* [26] reported that the prognosis of CAKUT was also poor, as 58/312 patients required dialysis by 30 years of age. Elevated SCr and proteinuria were associated with worse outcomes, as were specific disorders (solitary kidney, posterior urethral valves and vesicoureteral reflux). In the present study,

a sizeable proportion (12.5%) of children progressed from Stage 3 to 5 CKD to ESKD during the follow-up period (median 1.49 years). In addition, children with advanced stage CKD (4/5) are at particularly high risk of progressing to ESKD, irrespective of the primary etiologies of CKD. Furthermore, as in the study by Sanna-Cherchi *et al* [26], we found that proteinuria was a risk factor for progression to ESKD. We also found that age <2 years and age at or above the start of puberty were significantly associated with increased risk of progressing to ESKD relative to the risk in patients aged 2 to the start of puberty (10.8 years in males and 10.0 years in females). These results may reflect the risk of disease progression in very young patients with severe congenital complications and that disease progression may be more pronounced in puberty.

The CKD in Children cohort study in the USA [5, 6], as well as studies performed in France [15], Sweden [14], Italy [11] and Australia/New Zealand [25], consistently reported that many children with CKD ultimately require renal replacement therapies. However, renal transplantation was reported to achieve better long-term outcomes and reduce the mortality rate compared with dialysis in children with ESKD [25]. Although the most common modality (51.9%) of renal replacement therapies was peritoneal dialysis in our cohort, ~30% of children with ESKD received preemptive kidney transplantation, reflecting the current trends in Japan. The superiority and clinical benefits of preemptive kidney transplantation relative to dialysis should be confirmed in future studies.

The present study and the studies described above have consistently shown that heavy proteinuria is independently associated with CKD progression. Prior studies have also indicated that antihypertensive drugs, particularly angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) and angiotensin receptor blockers (ARBs), help to delay or prevent the progression to ESKD in children [27, 28]. These drugs not only lower blood pressure, but also have antiproteinuric, antifibrotic and anti-inflammatory properties. In the present study, 28.4 and 28.2% of patients were prescribed an ARB or ACEI, respectively, and 7.2% were prescribed a calcium channel blocker [9]. In contrast, the use of an antihypertensive drug and hypertension *per se* were not associated with progression to CKD in our cohort study. In the Italkid project, also an observational study, the use of an ACEI did not significantly modify the progressive course of hypodysplastic nephropathy in children [29]. Therefore, in children with CKD, the effects of antihypertensive drugs, particularly ACEIs and ARBs, on modifying disease progression shown in adults need to be verified in future studies. We are now conducting a randomized controlled trial to prospectively examine the renoprotective effects of ARBs to address this issue (UMIN ID: UMIN00006917, <http://indext.umin.ac.jp>).

The strengths of this study are that the cohort was representative of children with CKD throughout Japan, as the information was obtained from ~80% of the institutions that manage children with CKD at the time of establishment of the cohort, and the follow-up rate of this cohort was 96%.

Some limitations also warrant mention. We classified CKD using reference SCr levels determined enzymatically in Japanese children. These diagnostic criteria have not been validated

globally and so the criteria may not be appropriate for other populations, particularly non-Asian children. However, as described in our prior report [9], this approach was necessary because of potential limitations of using the Schwartz equation in Japanese children or for screening purposes, where SCr is available, but height is not. The duration of follow-up, ~1.5 years, is also relatively short in the context of CKD progression. The pubertal stage of patients was not assessed in this study. Therefore, to estimate the effects of puberty on disease progression, we stratified the patients according to the mean age of Japanese children at the start of puberty (10.8 years in males and 10.0 years in females [23]) in lieu of the actual pubertal stage.

In conclusion, this nationwide, prospective cohort study showed that 12.5% of children with pre-dialysis CKD (stages 3–5) ultimately progressed to ESKD in the follow-up period (median 1.49 years). In particular, children with Stage 4 or 5 were at very high risk of progression to ESKD. Heavy proteinuria was also significantly associated with progression to ESKD. A longer follow-up of this cohort is currently underway to explore outcomes of these children beyond adolescence and into adulthood.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data are available online at <http://ndt.oxfordjournals.org>.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by 'Research on rare and intractable diseases, Health and Labour Sciences Research Grants' from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. The authors would like to thank Drs Takuhito Nagai (Aichi), Kenichi Satomura (Osaka), Takuji Yamada (Aichi), Midori Awazu (Tokyo), Hiroshi Asanuma (Tokyo), Hideo Nakai (Tochigi), Toshiyuki Ohta (Hiroshima), Kazumoto Iijima (Hyogo), Takeshi Matsuyama (Tokyo), Mayumi Sako (Tokyo), Hidefumi Nakamura (Tokyo), Shuichiro Fujinaga (Saitama), Hirotugu Kitayama (Shizuoka), Naoya Fujita (Shizuoka), Masataka Hisano (Chiba), Daishi Hirano (Tokyo), Yuko Akioka (Tokyo), Hiroshi Hataya (Tokyo), Shunsuke Shinozuka (Tokyo), Ryoko Harada (Tokyo), Hiroyuki Satoh (Tokyo), Takashi Sekine (Tokyo), Yoshinobu Nagaoka (Hokkaido), Yoshimitsu Gotoh (Aichi), Yohei Ikezumi (Niigata), Takeshi Yamada (Niigata), and Akira Matsunaga (Yamagata) of the Pediatric CKD Study Group in Japan for their contributions to the study. The authors also would like to thank the institutions listed in the Supplementary data, Table for their participation in surveys, and Mr Masaaki Kurihara, Ms Chie Matsuda and Ms Naomi Miyamoto of the Japan Clinical Research Support Unit (Tokyo) for their help with data management.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The results presented in this paper have not been published previously in whole or part, except in abstract format. Kenji

Ishikura has received lecture fees and travel expenses from Novartis Pharma and Asahi Kasei Pharma. Osamu Uemura has received lecture fees and travel expenses from Asahi Kasei Pharma and Siemens Group in Japan. Yuko Hamasaki has received research grants from Novartis Pharma, and lecture fees from Novartis Pharma, Astellas Pharma, and Pfizer Japan. Ryojiro Tanaka has received lecture fees from Pfizer Japan. Koichi Na-375 kanishi has received lecture fees from Novartis Pharma, Asahi Kasei Pharma, and Astellas Pharma. Masataka Honda has received lecture fees from Novartis Pharma and Asahi Kasei Pharma.

REFERENCES

- Gonzalez Celedon C, Bitsori M, Tullus K. Progression of chronic renal failure in children with dysplastic kidneys. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1014–1020
- Furth SL, Abraham AG, Jerry-Fluker J *et al*. Metabolic abnormalities, cardiovascular disease risk factors, and GFR decline in children with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 2132–2140
- Mitsnefes MM, Laskin BL, Dahhou M *et al*. Mortality risk among children initially treated with dialysis for end-stage kidney disease, 1990–2010. *JAMA* 2013; 309: 1921–1929
- Chadha V, Warady BA. Epidemiology of pediatric chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2005; 12: 343–352
- Copelovitch L, Warady BA, Furth SL. Insights from the chronic kidney disease in Children (CKiD) study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 2047–2053
- Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ *et al*. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 363–373
- US Renal Data System. 2010 Atlas of CKD & ESRD. USRDS Coordinating Center, 914 South 8th Street, Minneapolis, MN 55404, USA, 2010
- Warady BA, Chadha V. Chronic kidney disease in children: the global perspective. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1999–2009
- Ishikura K, Uemura O, Ito S *et al*. Pre-dialysis chronic kidney disease in children: results of a nationwide survey in Japan. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28: 2345–2355
- Neu AM, Ho PL, McDonald RA *et al*. Chronic dialysis in children and adolescents. The 2001 NAPRTCS Annual Report. *Pediatr Nephrol* 2002; 17: 656–663
- Ardissino G, Dacco V, Testa S *et al*. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project. *Pediatrics* 2003; 111: e382–e387
- Mong Hiep TT, Ismaili K, Collart F *et al*. Clinical characteristics and outcomes of children with stage 3–5 chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 935–940
- Areses Trapote R, Sanahuja Ibanez MJ, Navarro M. Epidemiology of chronic kidney disease in Spanish pediatric population. *REPIR II Project. Nefrologia* 2010; 30: 508–517
- Esbjorn E, Berg U, Hansson S. Epidemiology of chronic renal failure in children: a report from Sweden 1986–1994. *Swedish Pediatric Nephrology Association. Pediatr Nephrol* 1997; 11: 438–442
- Deleau J, Andre JL, Briancon S *et al*. Chronic renal failure in children: an epidemiological survey in Lorraine (France) 1975–1990. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 472–476
- Bek K, Akman S, Bilge I *et al*. Chronic kidney disease in children in Turkey. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 797–806
- Imai E, Horio M, Yamagata K *et al*. Slower decline of glomerular filtration rate in the Japanese general population: a longitudinal 10-year follow-up study. *Hypertens Res* 2008; 31: 433–441
- Uemura O, Honda M, Matsuyama T *et al*. Age, gender, and body length effects on reference serum creatinine levels determined by an enzymatic method in Japanese children: a multicenter study. *Clin Exp Nephrol* 2011; 15: 694–699
- Schwartz GJ, Munoz A, Schneider MF *et al*. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 629–637
- K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: S1–S266
- Hogg RJ, Furth S, Lemley KV *et al*. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines for chronic kidney disease in children and adolescents: evaluation, classification, and stratification. *Pediatrics* 2003; 111: 1416–1421
- Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y *et al*. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67: 2089–2100
- Matsuo N. Skeletal and sexual maturation in Japanese children. *Clin Pediatr Endocrinol* 1993; 2(Suppl 1): 1–4
- Special Issue: Evidence-based Practice Guideline for the Treatment of CKD. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 2013; 55: 585–860 [in Japanese]
- McDonald SP, Craig JC. Long-term survival of children with end-stage renal disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2654–2662
- Sanna-Cherchi S, Ravani P, Corbani V *et al*. Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int* 2009; 76: 528–533
- Hadtstein C, Schaefer F. Hypertension in children with chronic kidney disease: pathophysiology and management. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 363–371
- Wuhl E, Schaefer F. Therapeutic strategies to slow chronic kidney disease progression. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 705–716
- Ardissino G, Vigano S, Testa S *et al*. No clear evidence of ACEi efficacy on the progression of chronic kidney disease in children with hypodysplastic nephropathy—report from the ItalKid Project database. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 2525–2530

Received for publication: 4.8.2013; Accepted in revised form: 7.1.2013

（先天性腎尿路異常を中心とした小児慢性腎臓病の自然史の解明と早期診断・
腎不全進行抑制の治療法の確立（H25－難治等（難）－一般－017）
研究事業期間：平成25年4月1日から平成26年3月31日まで（1年計画の1年目）

研究代表者 石倉 健司 東京都立小児総合医療センター 腎臓内科 医長

研究要旨

【研究目的】

本研究の目的は、これまでに確立した小児 CKD のコホートをを用いて前向き追跡調査を継続し、小児 CKD の中長期の予後（末期腎不全への進行および生命予後）を明らかにすることである。さらに、小児 CKD の適切な診断がなされることを目的に、小児腎臓科医のみならず広く小児医療に携わる医師を対象にした、[小児慢性腎臓病（小児 CKD）診断時の腎機能評価の手引き]（以下腎機能評価の手引き）を作成する。

【研究方法】

小児 CKD コホートの追跡調査は、年次調査を行い小児 CKD 患者の末期腎不全への進行を明らかにし、さらに原疾患が CAKUT である患者の泌尿器科的合併症について情報を収集する。

また、小児腎臓病学会の小児 CKD 対策委員会（以下 CKD 対策委員会）がこれまで確立した、本邦の血清クレアチニン（Cr）、シスタチン C、 $\beta 2$ ミクログロブリン（ $\beta 2$ MG）の基準値や、我々日本小児 CKD 研究グループが確立したスクリーニングのための小児 CKD ステージ判定表と、Cr やシスタチン C に基づく GFR の推算式を利用して腎機能障害を診断する、腎機能評価の手引きを作成する。腎機能評価の手引き作成は、小児科学会、小児泌尿器科学会、小児腎臓病学会の協力のもとに行い、小児腎臓病の専門家のみならず広く小児科診療に携わる医師を対象に周知する。

【結果】

年次調査の結果、コホート確立時（2010 年 4 月）のステージに基づきリスク分類し、ステージ 3、ステージ 4、ステージ 5 の 3 年腎生存率はそれぞれ 90.8%、48.9%、10.4%であった。また 447 人のコホート中 278 人が CAKUT であり、その中の 112 人に VUR を合併していた。原疾患が CAKUT である 278 人の腎生存率を、VUR の有無で比較すると、ステージ 3 で、VUR（+）94.2%、VUR（-）95.7%、ステージ 4 で、VUR（+）55.6%、VUR（-）46.5%、ステージ 5 で、VUR（+）25%、VUR（-）0%であり、各ステージとも VUR の有無で差が無かった（ログランク検定）。

小児科学会、小児泌尿器科学会、小児腎臓病学会の協力のもと腎機能評価の手引きを作成した。腎機能評価の手引きは、Cr、シスタチン C、 $\beta 2$ MG を組み合わせた腎機能評価のアルゴリズムを中心とし、腎臓専門医以外にも広く普及することを目指す構成とした。現在各学会と調整し、上記 3 学会の学術集会で配布するとともに、各学会のホームページでもダウンロード可能となる予定である。

【考察】

CAKUT を中心とする小児 CKD の 3 年腎生存率を明らかにした。ステージ 4 の 3 年腎生存率が約 50% であり、ステージ 4 以上の小児 CKD は急速に末期腎不全に進行する疾患であることが明らかになった。一方 CAKUT 患者の VUR 合併率は高いが、VUR の有無で末期腎不全進行に差が無かった。しかし本コホート研究は、ステージ 3 以上の CKD を対象としており、より早期では CKD 進行に差がある可能性は否定できず、今後の検討を要する。

腎機能評価の手引きは、広く腎臓専門医以外への普及を目指しており、より早期の小児 CKD 診断に結びつくことが期待される。

【結論】

アジア圏で唯一となる小児 CKD 患者から構成されるコホートにより、3 年のフォローアップデータを収集し、腎予後（末期腎不全への進行）を明らかにした。また腎機能評価の手引きが、今後小児 CKD の早期診断と適切な介入に結びつくことが期待される。

【研究分担者】

本田 雅敬

東京都立小児総合医療センター 副院長

上村 治

あいち小児保健医療総合センター

内科部 副センター長

中井 秀郎

自治医科大学 とちぎ子ども医療センター

小児泌尿器科

大橋 靖雄

東京大学医学系研究科 公共健康医学専攻

生物統計学分野 教授

服部 元史

東京女子医科大学医学部 腎臓小児科

教授

田中 亮二郎

兵庫県立こども病院 腎臓内科 部長

中西 浩一

和歌山県立医科大学 小児科 講師

伊藤 秀一

国立成育医療研究センター 腎臓・リウマチ・

膠原病科 医長

濱崎 祐子

東邦大学医学部

小児腎臓学講座 講師

A. 研究目的

小児 CKD は先天性腎尿路異常(CAKUT)を中心とした疾患であり、乳幼児期から徐々に腎機能が悪化し、成長発達に大きな影響を及ぼす重大な疾患である。

CAKUT とは先天的に腎臓のサイズが小さい、あるいは構造が未熟な低形成・異形成腎に種々の泌尿器科的合併症を有する疾患である。自然史が不明であり進行のリスク因子も解明されていない。

このような状況において、平成 22 年度の「本邦小児の新たな診断基準による小児慢性腎臓病(CKD)の実態把握のための調査研究(H22-難治-一般

-021)」では、小児 CKD 患者(生後 3ヶ月から 15歳、ステージ 3 から 5 でかつ腎移植、透析患者を除外)の全国推計を実施した。この結果 2010 年 4 月 1 日時点の全国の小児 CKD 患者(ステージ 3-5)は 542.5 人(95% CI: 497.5-587.5)、有病率は 100 万人あたり 29.8 人と推計された。また、91.1%が非糸球体性疾患で、そのうちの 68.3%が CAKUT であった(Ishikura K et al. Pre-dialysis chronic kidney disease in children: results of a nationwide survey in Japan. Nephrology Dialysis Transplantation 2013;28:2345-55)。さらに我々は、本コホートの追跡調査を行い(小児保存期慢性腎臓病患者の長期予後の解明と腎不全進行抑制の治療法の確立(H23-難治-一般-113))、観察開始から 1 年の腎生存率とそのリスク因子を明らかにしている(Ishikura K et al. Progression to end-stage kidney disease in Japanese children with chronic kidney disease: Results of a nationwide prospective cohort study. Nephrol Dial Transplant 2014 Feb 9. [Epub ahead of print])。

本研究の目的は、これまでに確立した小児 CKD のコホートを用いて前向き追跡調査を継続し、小児 CKD の中長期の予後(末期腎不全への進行および生命予後)を明らかにすることである。さらに、小児 CKD の適切な診断がなされることを目的に、小児腎臓科医のみならず広く小児医療に携わる医師を対象にした、[小児慢性腎臓病(小児 CKD)診断時の腎機能評価の手引き](以下腎機能評価の手引き)を作成する。

B. 研究方法

小児 CKD コホートの追跡研究と腎機能評価の手引きの作成を進める。

1. 小児 CKD コホートの追跡研究

平成 22 年度の小児 CKD 実態調査は、全国 1190 施設を対象に行われた。この 1190 施設は全ての大学病院、小児病院、小児腎臓病学会会員所属施設、

病床数 200 以上で小児科病棟を有する施設からなり、本邦のほぼ全ての小児 CKD 患者(ステージ 3-5)をカバーしていると考えられる。また回収率は 77.7%と良好であった。この研究により、計 447 人の小児 CKD 患者の症例情報とこれらの患者を管理する計 113 施設の治療方針等の情報を収集した。

本研究では上記の全施設と全ての該当患者を対象に小児 CKD コホートの追跡調査(年次調査)を行い、小児 CKD 患者の末期腎不全への進行を明らかにする。さらに CAKUT の泌尿器科的合併症についても情報を収集する。

2. 腎機能評価の手引きの作成

小児腎臓病学会の小児 CKD 対策委員会(以下 CKD 対策委員会)がこれまで確立した、本邦の血清クレアチニン(Cr)、シスタチン C、 $\beta 2$ ミクログロブリン($\beta 2$ MG)の基準値や、我々日本小児 CKD 研究グループが確立したスクリーニングのための小児 CKD ステージ判定表と、Cr やシスタチン C に基づく GFR の推算式を利用して、腎機能障害を診断する腎機能評価のアルゴリズムを確立する。さらにこのアルゴリズムを中心とする、腎機能評価の手引きを作成する。腎機能評価の手引き作成には、小児科学会、小児泌尿器科学会、小児腎臓病学会の協力のもとに行い、小児腎臓病の専門家のみならず広く小児科診療に携わる医師を対象に周知することを目的とする。

(倫理面への配慮)

疫学研究に関する倫理指針を遵守し、研究計画書は研究代表者施設の倫理審査委員会の審査を受け、承認を得た(平成 25 年 7 月)。また同指針に基づき、あらかじめ研究の実施についての情報を公開している (http://www.byouin.metro.tokyo.jp/shouni/tiken/rinnshou_shounin.html)。またデータセンターで扱う患者情報はすべて匿名化情報とした。

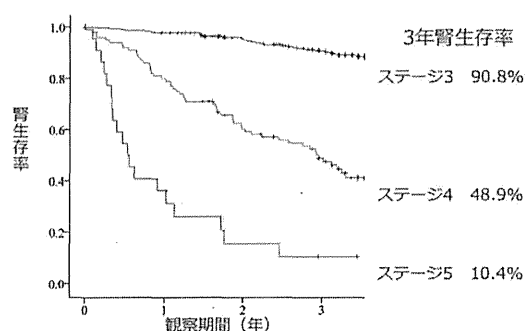
さらに本研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守し、個人情報管理に万全を期して実施した。また研究代表者の所属医療機関での利益相反委員会で、研究者の利益相反管理の申出を行った。

C. 研究結果

1. 小児 CKD コホートの追跡研究

本年度も全国 113 施設の全患者 447 人に対して追跡調査を行い、409 人(91.5%)の情報を収集することができた(2014 年 3 月時点)。コホート確立後の腎生存率は図 1 に示したとおりであり、特にステージ 4 以上が急速に末期腎不全に進行することが示された。

図 1 CKD ステージごとの腎生存率



予後の詳細を以下に記す。追跡期間中末期腎不全進行は 103 人で、その内訳は、腹膜透析 51 人、先行的腎移植 36 人、腹膜透析後腎移植 5 人、血液透析 9 人、血液透析後腹膜透析 2 人であった。また追跡期間中 9 人が死亡した。

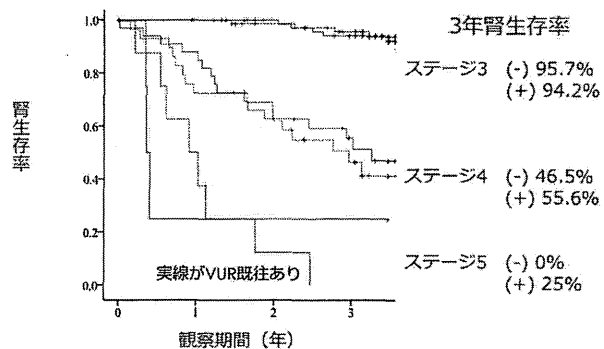
さらに原疾患が CAKUT である患者の泌尿器科合併症として、膀胱尿管逆流症(VUR)の解析を行った。表 1 に CAKUT の患者を VUR の有無で分け、患者背景を示した。

表1 VURの有無で群別した患者背景 (CAKUT患者)

| | VUR | | P値 |
|---------------------------------------|-------------|-------------|--------|
| | あり | なし | |
| N | 112 | 123 | |
| 性 n (%) | | | |
| 男 | 88 (78.6) | 62 (50.4) | <0.001 |
| 女 | 24 (21.4) | 61 (49.6) | |
| 年齢 (20104月) | 7.9 ± 4.7 | 8.7 ± 4.5 | 0.210 |
| 年齢 (診断時) | 1.5 ± 2.8 | 2.8 ± 3.9 | 0.005 |
| CKD ステージ 3/4/5, n (%) | | | 0.645 |
| ステージ3 | 74 (66.1) | 84 (68.3) | |
| ステージ4 | 33 (29.5) | 31 (25.2) | |
| ステージ5 | 5 (4.5) | 8 (6.5) | |
| 血清 Cr (mg/dl) | 1.6 ± 1.1 | 1.7 ± 1.2 | 0.827 |
| eGFR (簡易式 ml/min/1.73m ²) | 38.7 ± 17.0 | 39.5 ± 16.7 | 0.731 |
| eGFR (完全式 ml/min/1.73m ²) | 42.5 ± 12.5 | 38.6 ± 13.1 | 0.094 |
| UTIの既往 n (%) | 73 (65.1) | 23 (18.7) | <0.001 |
| 複数回のUTIの既往 n (%) | 51 (48.2) | 14 (8.6) | <0.001 |
| 尿たんぱく (g/g creatinine) | 1.33 ± 2.99 | 0.92 ± 1.01 | 0.296 |
| 高度たんぱく尿 n (%) | 7 (13.2) | 9 (13.4) | 0.971 |
| 高血圧 n (%) | 20 (23.3) | 17 (17.9) | 0.372 |

両群間で重症度 (CKD ステージや血清 Cr, GFR) には差がなかったが, 男女比, 診断時年齢には有意差があった。さらに各ステージの腎生存率を VUR の有無に分けて生存時間解析を行った (図 2)。各 CKD ステージで VUR の有無による腎生存率に有意差は認められなかった (ログランク検定)。

図2 VURの有無による腎生存率



2. 腎機能評価の手引き

小児科学会, 小児泌尿器科学会, 小児腎臓病学会の協力のもと腎機能評価の手引きを作成した (別添)。腎機能評価の手引きは, Cr, シスタチン C, β 2MG を組み合わせた腎機能評価のアルゴリズムを中心とし, 腎臓専門医以外にも広く普及することを目指す構成とした。現在各学会と調整し, 上記3学会の学術集会で配布するとともに, 各学会のホームページでもダウンロード可能となる予定である。

D. 考察

2010年に確立した本邦小児CKDのコホートを前方視的に追跡調査し, 3年間の腎生存率を明らかにした。今後はこのコホートで, より長期の小児CKDの自然史や, 疾患進行の危険因子を解明していくことが望まれる。また Cr, シスタチン C, β 2MG を組み合わせた腎機能評価のアルゴリズムを中心とした, 腎機能評価の手引きを作成した。

本邦小児CKDの3年腎生存率は, ステージ3, ステージ4, ステージ5がそれぞれ90.8%, 48.9%, 10.4%であり, ステージ4以上の小児CKDは急速に末期腎不全に進行する疾患であることが明らかになった。結果には示さなかったが, ステージ3は疾患 (CAKUT とそれ以外) により進行に差が認められたが, ステージ4, 5では疾患による進行の差がなく, 進行したCKDそれ自体が原疾患に関わらず末期腎不全への進行につながることを示唆された。

CAKUT患者のVUR合併率は高いが, VURの有無で末期腎不全進行に差がなかった。このことは近年指摘されているように, 末期腎不全進行はVURそのものよりも先天的な腎の低形成, 異形成が主因である可能性を示唆する。しかし本コホート研究は, ステージ3以上のCKDを対象としており, より早期ではCKD進行に差がある可能性は否定できず, 今後の課題である。

国際的にも小児保存期CKDの疫学研究は少なく, アジア圏ではこれまで全く報告されていない。欧米とは, おそらく遺伝的な背景からCKDの頻度や疾患

構成が異なっていることが知られており、本邦の小児 CKD の診療を発展させていく上で、貴重なデータとなることが期待される。またこの研究体制は、本年度も高い回収率であり、また個人情報保護に配慮し連結可能匿名化情報を慎重に扱っており、長期間確実に調査を継続する体制が整備されている。今後も継続し、小児 CKD の成人への移行期を超えた自然史を明らかにしていく予定である。腎機能評価の手引きは、広く腎臓専門医以外への普及を目指しており、より早期の小児 CKD 診断に結びつくことが期待される。

E. 結論

アジア圏で唯一となる小児 CKD 患者のコホートの追跡調査を行った。CAKUTを中心とした小児 CKD でも、特にステージ 4 以降は急速に進行する疾患である事が明らかになった。

さらに小児腎臓病の専門家のみならず、広く小児科診療に携わる医師を対象に腎機能評価の手引きを作成した。この手引きが広く使用されることにより、末期腎不全に進行し、また様々な合併症を有する小児 CKD が早期に診断され、適切な治療介入に結びつくことが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究成果の公表

1. 論文発表

- 1) Kaneko K, Ishikura K, Iijima K, Honda M. The problem of transition from pediatric to adult healthcare in patients with steroid-sensitive nephrotic syndrome (SSNS): a survey of the experts. Clin Exp Nephrol in press
- 2) Ishikura K, Uemura O, Hamasaki Y, Ito S, Wada N, Hattori M, Ohashi Y, Tanaka R, Nakanishi K, Kaneko T, Honda M.

Progression to end-stage kidney disease in Japanese children with chronic kidney disease: Results of a nationwide prospective cohort study. Nephrol Dial Transplant in press

- 3) Iijima K, Sako M, Saito M, Ito S, Hataya H, Tanaka R, Ohwada Y, Kamei K, Ishikura K, Yata N, Nozu K, Honda M, Nakamura H, Nagata M, Ohashi Y, Nakanishi K, Yoshikawa N. for the Japanese Study Group of Kidney Disease in Children. Cyclosporine C2 monitoring for the treatment of frequently relapsing nephrotic syndrome in children: A multicenter randomized phase II trial. Clin J Am Soc Nephrol in press
- 4) Uemura O, Nagai T, Ishikura K, Ito S, Hataya H, Gotoh Y, Fujita N, Akioka Y, Kaneko T, Honda M. Cystatin C-based equation for estimating glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents. Clin Exp Nephrol. 2013; [Epub ahead of print]
- 5) Nagaoka Y, Ishikura K, Hamada R, Miyagawa T, Kono T, Sakai T, Hamasaki Y, Hataya H, Honda M. Severe posterior reversible encephalopathy syndrome resolved with craniectomy. Pediatr Int. 2013; 55: 644-646
- 6) Uemura O, Nagai T, Ishikura K, Ito S, Hataya H, Gotoh Y, Fujita N, Akioka Y, Kaneko T, Honda M. Creatinine-based equation to estimate the glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents with chronic kidney disease. Clin Exp Nephrol. 2013; [Epub ahead of print]
- 7) Nagai T, Uemura O, Ishikura K, Ito S,