

201510012A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患政策研究事業

LMX1B 関連腎症の実態調査 **診断基準の確立**
および

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 張 田 豊

平成 28(2016) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患政策研究事業

LMX1B 関連腎症の実態調査と診断基準の確立

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

平成 28 (2016) 年 3 月

研究組織

研究代表者	張田 豊	東京大学医学部附属病院	小児科
研究分担者	北中 幸子	東京大学医学部附属病院	小児科
	磯島 豪	東京大学医学部附属病院	小児科
	芦田 明	大阪医科大学	小児科
	服部 元史	東京女子医科大学	腎臓小児科

目次

I. 総括研究報告

<i>LMX1B</i> 関連腎症の実態調査と診断基準の確立-----	1
-------------------------------------	---

張田 豊 (東京大学 小児科)

II. 分担研究報告

1. <i>LMX1B</i> 関連腎症の臨床病理学的検討 -----	16
-------------------------------------	----

張田 豊 (東京大学 小児科)

服部 元史 (東京女子医科大学 小児科)

2. 爪膝蓋骨症候群 (<i>LMX1B</i> 関連腎症を含む) の診断基準の作成-----	28
--	----

張田 豊 (東京大学 小児科)

服部 元史 (東京女子医科大学 小児科)

芦田 明 (大阪医科大学 小児科)

北中 幸子 (東京大学 小児科)

磯島 豪 (東京大学 小児科)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	35
--------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別冊-----	36
----------------------	----

V. 資料

1, 爪膝蓋骨症候群(*LMX1B* 関連腎症を含む)の診断基準

2, 膠原線維糸球体沈着症: Collagenofibrotic Glomerulopathy の疾患概要

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患政策研究事業)
統括研究報告書

LMX1B 関連腎症の実態調査と診断基準の確立

研究統括者 張田豊 東京大学小児科 講師

研究要旨：我が国の慢性透析患者数は増加し続けている。巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) は緩徐に腎機能が進行する代表的な慢性糸球体疾患である。FSGS のごく一部は遺伝子異常を原因とするが、多くの原因は未だ不明である。

爪膝蓋骨症候群(nail-patella 症候群)は爪形成不全、膝蓋骨の低形成、腸骨の角状突起、肘関節の異形成を4主徴とする遺伝性疾患である。約半数は蛋白尿や血尿を呈する腎症を発症、その一部は末期腎不全に進行し、腎予後が QOL に多大な影響を及ぼす。原因は *LMX1B* の遺伝子異常である。

LMX1B 変異はまた nail-patella 症候群と同様の腎症を有するが爪、膝蓋骨、腸骨などの変化を伴わない孤発性腎症(nail-patella-like renal disease(NPLRD))や家族性 FSGS の原因となる。これまで FSGS や原因不明の腎不全と診断されている症例の中で、*LMX1B* 変異を原因とする症例が一定数いると考えられ、このような腎症全体を *LMX1B* 関連腎症という一つの疾患概念として定義し直す必要がある。

本研究では *LMX1B* 関連腎症の実態調査を行った。H27 年度は調査結果を元に *LMX1B* 遺伝子変異を原因とする孤発性腎症と、*LMX1B* 異常は同定できないものの爪膝蓋骨症候群腎症と病理学的に区別のつかない腎症の臨床病理学的特徴を検討した。またその両者をまとめて *LMX1B* 関連腎症とし、爪膝蓋骨症候群とあわせて診断基準を作成した。加えて同時に行った Collagenofibrotic Glomerulopathy の調査結果を元に Collagenofibrotic Glomerulopathy(日本語病名を膠原線維糸球体沈着症とした)についての疾患概要をまとめた。

本研究の成果は、我が国における腎疾患の医療水準の向上に貢献することが期待される。

A. 研究目的

爪膝蓋骨症候群(nail-patella 症候群)は爪形成不全、膝蓋骨の低形成、腸骨の角状突起、肘関節の異形成を4主徴とする遺伝性疾患である。約半数は腎症を発症

し、一割強は末期腎不全に進行するため、腎予後が QOL に多大な影響を及ぼす。爪や骨格異常のために小児科や整形外科を受診しても、疾患の認識度が低いため未診断の例が多く、腎症になって初めて気づかれる症例も存在する。頻度は5万人

に一人程度といわれているが、本邦の患者数は明らかでない。原因は *LMX1B* 遺伝子異常である。

爪膝蓋骨症候群腎症の腎組織所見としては、光学顕微鏡レベルでは腎不全の程度に応じた所見であり、FSGS、増殖性糸球体腎炎など多様で特徴的な所見がない (Bongers *et al.*, 2002)。しかし電子顕微鏡で不規則に肥厚した糸球体基底膜、その緻密層に認められる虫食い像 (moth-eaten appearance)、タンニン酸染色やリンタングステン酸染色などの特殊染色により基底膜とメサンギウム基質にコラーゲン線維束が認められる (図 1)。また免疫染色では沈着するコラーゲン線維は III 型コラーゲンである。

一方、nail-patella 症候群と同様の腎症を有するが爪、膝蓋骨、腸骨などの変化を伴わない例が少数報告されている (nail-patella-like renal disease (NPLRD))。NPLRD は、腎生検における特徴的な電子顕微鏡所見 (糸球体基底膜の不規則な肥厚、虫食い像) によってのみ診断されるため、腎疾患患者の中には診断に至っていない症例が多く存在すると推察される。近年私達は NPLRD の原因を *LMX1B* 変異と同定した (Isojima *et al.*, 2014)。同時にフランスの研究チームが全く同じアミノ酸の変異 (R246Q) が複数の家系において末期腎不全に至る巣状分節様糸球体硬化症を引き起こすことが報告されている (Boyer *et al.*, 2013)。これらから *LMX1B* 変異を原因とする、腎外症状を伴わない一群の腎症が存在することが明らかになったが、その頻度、予後は全く不明である。

本研究では、*LMX1B* を原因とする腎疾患 (*LMX1B* 関連腎症) の全体像を明らかにするための全国調査を H26 年度に行った。H27 年度はまず H26 年に行った実態調査をもとに、典型的な爪膝蓋骨症候群とは異なり腎外症状を有しない孤発性腎症のうち、*LMX1B* の関与が明らかな症例と関与が疑われる症例について細かく臨床病理学検討を行った。

また古典的な疾患であるにもかかわらずこれまで本邦を含めて爪膝蓋骨症候群の厳密な診断基準は明確に規定されていない。そこで本邦の *LMX1B* 関連腎症の実態調査結果を踏まえ爪膝蓋骨症候群 (*LMX1B* 関連腎症を含む) の診断基準の作成を行った。爪膝蓋骨症候群および *LMX1B* 関連腎症の診断基準を作成した。

さらに今回の実態調査では爪膝蓋骨症候群と病理所見上鑑別が必要な Collagenofibrotic Glomerulopathy についても検討した。本疾患患者は爪、膝、肘などの関節所見は有しないが、糸球体に III 型 Collagen 繊維の沈着を認める点が爪膝蓋骨症候群腎症と類似している。ただし Collagenofibrotic Glomerulopathy ではコラーゲンの沈着はメサンギウム領域から糸球体毛細血管基底膜内皮下であり、爪膝蓋骨症候群における基底膜内を首座としない点が異なる。血中の procollagen type III peptide が陽性になるなどの所見も診断には有用である (Alchi *et al.*, 2007)。本症は本邦において頻度が高いとされるが、大規模な調査はこれまで行われていない。本研究では実際調査を元に診断にあたり重要な Collagenofibrotic Glomerulopathy (日本

語病名を膠原線維糸球体沈着症とした)の
個票の作成もあわせておこなった。

B. 研究方法

1) *LMX1B*関連腎症の実態調査

(1)爪膝蓋骨症候群、(2)NPLRD、(3)遺
伝性ネフローゼ症候群、家族性 FSGS、
(4)Collagenofibrotic Glomerulopathy 症
例について、10年以内に診療経験が有る
かどうかについて郵送によるアンケート
調査を行った。対象は日本小児腎臓病学
会代議員、日本腎臓学会評議員、日本腎
病理協会会員である。調査の際に *LMX1B*
関連腎症の説明(臨床経過、特徴的な電子
顕微鏡所見等)を提示し、可能性のある症
例のスクリーニングを行った。(1)爪膝蓋
骨症候群および NPLRD、(2)巣状分節様
糸球体硬化症および原因不明の糸球体腎
炎、から *LMX1B* 関連腎症の可能性があ
る症例のスクリーニングを行う。

また、H26年度の腎病理診断標準化委
員会および腎疾患データベース地域・領
域中核ワーキングにおいて承認を受け、
本邦の腎臓病総合レジストリー(J-RBR)
からの該当症例の抽出を行った。対象は
(1)爪膝蓋骨症候群、(2)NPLRD、(3)遺伝
性ネフローゼ症候群、家族性FSGS、
(4)Collagenofibrotic Glomerulopathyで
ある。

一次調査で症例ありとされた医療機関
に対し、主治医への二次調査を行った。
臨床情報は、カルテより抽出を行った。
主要観察項目は以下の通りである。

1. 対象症例の基本情報:診断名、生年月、
性別、年齢、

2. 家族歴:爪膝蓋骨症候群の家族歴、腎
疾患(検尿異常、腎機能障害、末期腎不全)
の家族歴、血族婚の有無
3. 診断にまつわる状況:診断の契機とな
った症状、診断年齢
4. 爪、膝蓋骨、腸骨、肘関節異常の有無
5. 検査:レントゲン所見での特徴的な所
見の有無、尿検査、腎機能検査(血清クレ
アチニン、eGFR、GFR 区分は CKD1:≥90,
CKD2:60-89, CKD3:30-59, CKD4:15-30,
CKD5:<15 それぞれ mL/min/1.73m²)
6. 遺伝子検査:同定された *LMX1B* 変異
の有無、その他の遺伝子変異の有無
7. 腎生検所見(特に特徴的な基底膜変化
の有無)
8. 経過中の状況:治療内容、維持透析の
有無、腎移植の有無

2) *LMX1B* 遺伝子検査

患者および主治医より希望が有った場
合に *LMX1B* 遺伝子検査を実施した。
QIAamp DNA Blood Midi Kit (Qiagen,
Hilden, Germany)を用いて末梢血からゲ
ノム DNA を抽出した。*LMX1B* の全コード
領域およびエクソンイントロン接合領
域を PCR により増幅した。PCR 増幅に
用いたプライマーと PCR の条件は既報
の通りである(Sato U et al. *PediatrRes*
2005)。PCR 産物を用いてダイレクトシ
ークエンス法により塩基配列を同定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」
「人を対象とする医学系研究に関する倫
理指針」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に
関する倫理指針」を遵守し、「難病の患者

数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル」に従って行った。実態調査(疫学研究)、および遺伝子解析それぞれについて東京大学医学部倫理委員会の承認を得た。

遺伝子解析については各医療機関で *LMX1B* 関連腎症疑いの患者を診断し、本人、家族の同意が得られた場合に、解析の同意を得た上で検体採取を行った。

C. 研究結果

1, *LMX1B*R246Q 変異患者の腎病理像

本調査に含まれた R246Q 変異を有する患者は 7 人であった。磯島らが報告した一例(Isojima *et al.*, 2014)および家族性 FSGS として遺伝子検査を施行されて変異が明らかとなった家族例(1 家系 3 症例)である(Konomoto *et al.*, 2016)。この家系では診断年齢は 1-11 歳と小児期であり、全員小児期に血尿蛋白尿として発症していた。爪、膝蓋骨、腸骨、肘関節などの腎外症状はなく、その他中枢神経等の合併症も有していない。

病理学的所見としては磯島らが報告した症例(Isojima *et al.*, 2014)では糸球体基底膜に爪膝蓋骨症候群腎症と同様の病理像を呈した。しかしそれ以外の家系例で腎生検が行われた 3 例のうち 1 例で基底膜の部分的な菲薄化が認められたものの、いずれの症例でも特徴的な基底膜変化(虫食い像など)は認めなかった。

その他の海外からの報告も含めて(Boyer *et al.*, 2013; Edwards *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2015), *LMX1B* 変異が同定された孤発性腎症で基底膜変化が

明らかになった症例は本邦の一例のみであった。必ずしも基底膜変化が *LMX1B* による腎症の発症に必須ではないことを示唆する。

2, *LMX1B*R246Q 変異患者の腎予後

LMX1B 変異が同定された孤発性腎症の腎予後はこれまで不明であった。本邦の実態調査に含まれた R246Q 変異を有する 7 名のうち、二人は治療を受けずに末期腎不全に至っていた。また四人はレニン・アンジオテンシン系阻害薬を処方され、これらの患者は腎不全には至っていない。この四人のうち一人は CKD のステージ 2 であるが、残りの三人は小児であり、今後の腎機能については不明であるため、レニン・アンジオテンシン系阻害薬の治療効果があるかどうかについては現時点では不明である。

海外から報告された R246Q 変異症例(Boyer *et al.*, 2013)を含めた患者の年齢と腎機能の相関から R246 変異では爪膝蓋骨症候群の腎予後に比べ、腎機能の低下速度が速いことが示唆される。しかし現時点では、症例数が少なく今後の検討が必要である。

3, Nail-Patella-Like Renal Disease (NPLRD)の検討

本調査では NPLRD の 6 例の内 5 例に *LMX1B* 遺伝子検査を行ったが、これらの症例では *LMX1B* 遺伝子変異は同定されなかった。

またこのうち、同胞症例(症例 L1 および L2)において *NUP107* の変異が同定された(Miyake *et al.*, 2015))。これらの症

例では図2に示すように基底膜へのコラーゲン線維の沈着が明確であり、爪膝蓋骨症候群腎症の病理像との区別は困難であった。このため基底膜への線維性物質の沈着は *LMX1B* 変異に特異的なものではなく、糸球体上皮細胞の機能障害によって起こる二次性の変化である事が示唆された。特徴的な基底膜病変を有する症例において *LMX1B* 変異が同定されない場合には網羅的解析により他の原因が明らかになる場合があることを示唆している。

4, 爪膝蓋骨症候群(*LMX1B* 腎症を含む)の診断基準の作成 (資料)

5, 膠原線維糸球体沈着症: Collagenofibrotic Glomerulopathy の疾患概要の作成 (資料)

D. 考察

LMX1B 関連腎症の臨床病理学的検討

本研究ではH26年に行った実態調査をもとに、典型的な爪膝蓋骨症候群とは異なり腎外症状を有しない孤発性腎症のうち、*LMX1B*の関与が明らかな症例と関与が疑われる症例について細かく臨床病理学検討を行った。

まず、R246Q変異を有する症例の解析から、これらの症例では爪膝蓋骨症候群腎症に特徴的な腎病理所見を呈さない症例が多い事が明らかになった。腎症を伴う爪膝蓋骨症候群においても特徴的な糸球体基底膜変化を呈さない症例も認められるものの多くの症例では特徴的な病理

学的所見が得られるのに対し、R246Q変異症例でそのような所見を認めた症例が海外を含めて1例のみである事は大変興味深い。これらの症例で必ずしも腎予後が良くない事から、特異的な糸球体基底膜変化は腎予後や蛋白尿と相関しない事が推察される。すなわち糸球体基底膜変化は二次的な変化と考える事ができる。また爪膝蓋骨症候群腎症に特徴的な病理学的変化は今回 *LMX1B* 以外の遺伝子変異(*NUP107*)でも生じる事が明らかになり、基底膜変化が糸球体上皮障害による二次性の変化である事を強く示唆するものである。これらの結果から腎病理所見のみではなく、遺伝的な原因を元に疾患の分類を行う事が重要と考えられた。

ただし、爪膝蓋骨症候群においても *LMX1B* 遺伝子変異が同定されない症例も存在しており、爪膝蓋骨症候群の診断において *LMX1B* 遺伝子変異は必須条件ではない。同様に爪膝蓋骨症候群と区別のつかない病理学的所見を有する腎症に関しては *LMX1B* 遺伝子変異の存在が明らかにならなくても *LMX1B* に関連した腎症であると診断せざるを得ない。

爪膝蓋骨症候群および *LMX1B* 関連腎症の診断基準策定の意義

これらの結果から他の遺伝的背景を有する腎症を除外した上で、*LMX1B* 遺伝子変異を原因とする孤発性腎症と、*LMX1B* 異常は同定できないものの爪膝蓋骨症候群腎症と病理学的に区別のつかない腎症を *LMX1B* 関連腎症という一つの疾患概念として定義し直すべきと考えられた (Isojima *et al.*, 2014; Lemley, 2014)。

爪膝蓋骨症候群の診断基準

実態調査結果を元にまず爪膝蓋骨症候群の必須条件として爪の低形成または異形成を挙げた。これは今回の実態調査でも爪の変化は全例に見られること、またこれまでの爪膝蓋骨症候群の総説においても爪の所見の有病率はほぼ 100%とされている(Sweeney *et al.*, 2003; Bongers *et al.*, 2005)ためである。

また副項目として膝蓋骨、肘関節異常、腸骨の角状突起などの症状のうち一つを有するか、*LMX1B* 遺伝子のヘテロ接合体変異を有する場合に爪膝蓋骨症候群と診断することとした。

また参考所見として爪膝蓋骨症候群の家族歴、腎障害（血尿、蛋白尿、あるいは腎機能障害）とした。また腎障害を有する症例においても腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見は全例で認められる訳ではないという実態調査の結果を踏まえ基底膜変化は参考所見とした。また *LMX1B* 遺伝子変異も爪膝蓋骨症候群の全例で見られる訳ではないため(Bongers *et al.*, 2005; Ghoumid *et al.*, 2016)、遺伝子変異の有無は爪膝蓋骨症候群診断の必須項目からは除外し副項目とした。

重症度分類については腎症が患者の QOL に最も影響する事を鑑み、腎機能と尿蛋白量からなる慢性腎疾患の重症度分類を採用した。

LMX1B 関連腎症の診断基準

実態調査結果およびこれまでの報告から、*LMX1B* R246Q 変異などのいくつかの変異による孤発性腎症および *LMX1B*

変異は同定されていないものの病理学的に爪膝蓋骨症候群腎症に類似した病変を来す腎症 (Nail-Patella-Like Renal Disease: NPRLD) を *LMX1B* 関連腎症と定義した。一方で、実態調査には NPRLD のなかで他の遺伝子異常が見つかった症例も存在したため(Miyake *et al.*, 2015)、他の原因が明らかな場合は *LMX1B* 関連腎症から除外する事とした。また実態調査およびこれまでの報告で R246Q 変異症例においても特徴的な糸球体基底膜変化が認められない症例が多い事(Boyer *et al.*, 2013; Konomoto *et al.*, 2016)から、基底膜変化の有無は必須ではない事とした。

膠原線維糸球体沈着症 : Collagenofibrotic Glomerulopathy の疾患概要

Collagenofibrotic Glomerulopathy の日本語病名が存在していなかった。今回本研究班およびこの疾患群の症例についての先進的研究を進めておられる西慎一先生(神戸大学腎臓内科教授)とも協議した上で日本語病名を膠原線維糸球体沈着症とした。

本疾患は特徴的な腎病理像により規定される疾患である。原因としては以前より指摘されている III 型コラーゲンの産生増加が考えられており、また患者で血中ヒアルロン酸の増加が認められる事が近年報告されており、最新の情報をまとめて記載した。

症状、治療法および予後については本実態調査症例では腎予後が悪い症例が多く、調査結果をふまえて記載した。

LMX1B の Genotype-Phenotype Correlation (遺伝子変異・表現型相関)

爪膝蓋骨症候群および *LMX1B* 関連腎症としてはこれまでに 180 を超えるヘテロ接合体変異が報告されている (Boyer *et al.*, 2013; Ghomid *et al.*, 2016)。ナンセンス変異は遺伝子の様々な部分に見られるのに対してミスセンス変異は LIM ドメインおよびホメオドメインに集中している (Clough *et al.*, 1999)。腎外症状については明らかな遺伝子変異・表現型相関は認められないが、ホメオドメインに変異を持つ症例では蛋白尿を有する頻度が有意に高いと報告されている (Bongers *et al.*, 2008)。興味深い事に *LMX1B* 関連腎症で認められる変異 (R246, R249, A278) は全てホメオドメインに存在している (図 2)。それではなぜこれらの変異は腎外症状を起こさないのでしょうか？一つの説明としてはこれらの変異の転写活性への影響が弱い可能性が挙げられる。実際に我々が *in vitro* の系で検討したところ爪膝蓋骨症候群の原因変異として知られる V265L 変異に比べて R246Q 変異の転写阻害効果が弱い事が明らかになっている (Isojima *et al.*, 2014)。しかし、転写活性が残存している変異による爪膝蓋骨症候群も報告されており、(Dreyer *et al.*, 2000)、必ずしも転写活性への影響が弱い事が腎外症状の有無を説明するものでもない。他の説明としては組織特異的な *LMX1B* の制御機構が挙げられる。*LMX1B* は他の分子との相互作用を通じて機能する事が知られているため、そのような補助分子が組織特異的に存在する可能性も考えられる。ある特有の変異が

腎臓においてのみその補助分子に影響して *LMX1B* 活性に影響を与える可能性も考えられるだろう。あるいは *LMX1B* が糸球体の細胞、特に糸球体上皮細胞に特有の分子の制御を行い、R246Q 変異などの特定の変異ではその細胞特異的な下流因子への影響のみが阻害される可能性もある。さらには継時的な要素が関与する可能性もある。というのは通常 *Lmx1b* は発生期の細胞で発現し、成体では腎臓など一部の臓器でのみ発現が見られる。そのため R246Q などの変異が出生後の成体の組織の維持に関わるプロセスのみに影響を与える可能性も考えられる。

LMX1B による糸球体上皮細胞障害のメカニズム

Lmx1b は四肢、目や骨格などを形作る細胞の運命や分化を決定する段階で中心的な役割を果たしていると考えられる。腎臓の発生発達あるいは腎臓の機能の維持において *Lmx1b* がどのような働きをしているかについては遺伝子改変マウスを用いて明らかになりつつある。これまでに幾つかのメカニズムが提案されている (図 3)。

Lmx1b の発現は腎臓発生の S-shaped body stage に始まり、出生後は糸球体上皮細胞でその発現が持続する (Morello and Lee, 2002)。*Lmx1b*-ノックアウトマウスの腎臓では糸球体基底膜の不規則な肥厚が見られ (Chen *et al.*, 1998)、糸球体での IV 型コラーゲン $\alpha 3$ や $\alpha 4$ 鎖の発現が低下し (Morello *et al.*, 2001) また CD2AP や Podocin の mRNA や蛋白発現が低下する (Miner *et al.*, 2002)。

LMX1B は *COL4A4*, *CD2AP* や *NPHS2* の発現制御部位に結合するため、これが基底膜あるいは糸球体の携帯制御の一つの機序考えられる (Morello *et al.*, 2001; Miner *et al.*, 2002)。最近では *Lmx1b* と *FoxC* による協調的な *NPHS2* の発現制御についても報告されている (He *et al.*, 2014)。

しかし、*Lmx1b*^{-/-} マウスの結果を解釈する上で、幾つかの注意点が存在する。まず、*Lmx1b*^{+/-} マウスでは腎臓や爪、骨などに表現型をきたさない事からヒトで見られるような *LMX1B* のハプロ不全がマウスでは見られない事である。二つ目に糸球体上皮細胞特異的な *Lmx1b* ノックアウトマウスでは部分的な糸球体硬化症を来すが、これらのマウスではコラーゲン $\alpha 3$ や $\alpha 4$ 鎖、また Podocin の発現は変化がなかった (Suleiman *et al.*, 2007)。三つ目にコラーゲン $\alpha 3$ や $\alpha 4$ 鎖の発現低下は少なくとも一部の爪膝蓋骨症候群の患者では認められていないことが挙げられる (Heidet *et al.*, 2003)。

しかしながら我々の検討では R246Q 変異患者では Podocin や *CD2AP* の発現に変化が見られておりこれらの転写活性あるいは細胞内局在へ影響が、糸球体上皮障害の形成に関与する可能性が示唆された (Isojima *et al.*, 2014; Konomoto *et al.*, 2016)。

E. 結論

爪膝蓋骨症候群を含む *LMX1B* 関連腎症についての本邦で初めての実態調査を行い、これらの疾患の臨床病理学特徴を

明らかにした。また本邦における *LMX1B* 関連腎症の実態調査をもとに爪膝蓋骨症候群 (*LMX1B* 関連腎症を含む) の診断基準の作成を行った。加えて同時に行った Collagenofibrotic Glomerulopathy の調査結果を元に Collagenofibrotic Glomerulopathy (日本語病名を膠原線維糸球体沈着症とした) についての疾患概要をまとめた。

これらの疾患では慢性腎不全への進行を視野に入れた長期的なフォローアップが必要であり、また今後の症例の集積により長期の腎予後などについて検討すべきと考えられる。これらの疾患群の全貌を明らかにし、遺伝的あるいは病理学的な所見により改めて診断基準として定義した事でこれまで未診断であった難治性腎疾患の再分類が可能となる。本研究の成果は将来的な各疾患の予後調査や個別の治療法開発などの基礎として必須のものであり、本邦の腎疾患患者の診断・診療の質の向上に貢献しうると考える

【参考文献】

- Alchi, B., Nishi, S., Narita, I., and Gejyo, F. (2007). Collagenofibrotic glomerulopathy: clinicopathologic overview of a rare glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 49, 499-506.
- Bongers, E.M., de Wijs, I.J., Marcelis, C., Hoefsloot, L.H., and Knoers, N.V. (2008). Identification of entire *LMX1B* gene deletions in nail patella syndrome: evidence for haploinsufficiency as the main pathogenic mechanism underlying dominant inheritance in man. *Eur J Hum Genet* 16, 1240-1244.

- Bongers, E.M., Gubler, M.C., and Knoers, N.V. (2002). Nail-patella syndrome. Overview on clinical and molecular findings. *Pediatr Nephrol* 17, 703-712.
- Bongers, E.M., Huysmans, F.T., Levtschenko, E., de Rooy, J.W., Blickman, J.G., Admiraal, R.J., Huygen, P.L., Cruysberg, J.R., Toolens, P.A., Prins, J.B., Krabbe, P.F., Borm, G.F., Schoots, J., van Bokhoven, H., van Remortele, A.M., Hoefsloot, L.H., van Kampen, A., and Knoers, N.V. (2005). Genotype-phenotype studies in nail-patella syndrome show that LMX1B mutation location is involved in the risk of developing nephropathy. *Eur J Hum Genet* 13, 935-946.
- Boyer, O., Woerner, S., Yang, F., Oakeley, E.J., Linghu, B., Gribouval, O., Tete, M.J., Duca, J.S., Klickstein, L., Damask, A.J., Szustakowski, J.D., Heibel, F., Matignon, M., Baudouin, V., Chantrel, F., Champigneulle, J., Martin, L., Nitschke, P., Gubler, M.C., Johnson, K.J., Chibout, S.D., and Antignac, C. (2013). LMX1B mutations cause hereditary FSGS without extrarenal involvement. *J Am Soc Nephrol* 24, 1216-1222.
- Chen, H., Lun, Y., Ovchinnikov, D., Kokubo, H., Oberg, K.C., Pepicelli, C.V., Gan, L., Lee, B., and Johnson, R.L. (1998). Limb and kidney defects in Lmx1b mutant mice suggest an involvement of LMX1B in human nail patella syndrome. *Nat Genet* 19, 51-55.
- Clough, M.V., Hamlington, J.D., and McIntosh, I. (1999). Restricted distribution of loss-of-function mutations within the LMX1B genes of nail-patella syndrome patients. *Hum Mutat* 14, 459-465.
- Dreyer, S.D., Morello, R., German, M.S., Zabel, B., Winterpacht, A., Lunstrum, G.P., Horton, W.A., Oberg, K.C., and Lee, B. (2000). LMX1B transactivation and expression in nail-patella syndrome. *Hum Mol Genet* 9, 1067-1074.
- Edwards, N., Rice, S.J., Raman, S., Hynes, A.M., Srivastava, S., Moore, I., Al-Hamed, M., Xu, Y., Santibanez-Koref, M., Thwaites, D.T., Gale, D.P., and Sayer, J.A. (2015). A novel LMX1B mutation in a family with end-stage renal disease of 'unknown cause'. *Clin Kidney J* 8, 113-119.
- Ghoumid, J., Petit, F., Holder-Espinasse, M., Jourdain, A.S., Guerra, J., Dieux-Coeslier, A., Figeac, M., Porchet, N., Manouvrier-Hanu, S., and Escande, F. (2016). Nail-Patella Syndrome: clinical and molecular data in 55 families raising the hypothesis of a genetic heterogeneity. *Eur J Hum Genet* 24, 44-50.
- Giglio, S., Provenzano, A., Mazzinghi, B., Becherucci, F., Giunti, L., Sansavini, G., Ravaglia, F., Roperto, R.M., Farsetti, S., Benetti, E., Rotondi, M., Murer, L., Lazzeri, E., Lasagni, L., Materassi, M., and Romagnani, P. (2015). Heterogeneous genetic alterations in sporadic nephrotic syndrome associate with resistance to immunosuppression. *J Am Soc Nephrol* 26, 230-236.
- He, B., Ebarasi, L., Zhao, Z., Guo, J., Ojala, J.R., Hultenby, K., De Val, S., Betsholtz, C., and Tryggvason, K. (2014). Lmx1b and FoxC combinatorially regulate podocin expression in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 25, 2764-2777.
- Heidet, L., Bongers, E.M., Sich, M., Zhang, S.Y., Loirat, C., Meyrier, A., Broyer, M., Landthaler, G., Faller, B., Sado, Y., Knoers, N.V., and Gubler, M.C. (2003). In vivo expression of putative LMX1B targets in nail-patella syndrome kidneys.

- Am J Pathol 163, 145-155.
- Isojima, T., Harita, Y., Furuyama, M., Sugawara, N., Ishizuka, K., Horita, S., Kajiho, Y., Miura, K., Igarashi, T., Hattori, M., and Kitanaka, S. (2014). LMX1B mutation with residual transcriptional activity as a cause of isolated glomerulopathy. Nephrol Dial Transplant 29, 81-88.
- Konomoto, T., Imamura, H., Orita, M., Tanaka, E., Moritake, H., Sato, Y., Fujimoto, S., Harita, Y., Hisano, S., Yoshiura, K.I., and Nunoi, H. (2016). Clinical and histological findings of autosomal dominant renal-limited disease with LMX1B mutation. Nephrology (Carlton).
- Lemley, K.V. (2014). LMX1B mutations with nails and kneecaps: a new paradigm? Nephrol Dial Transplant 29, 9-12.
- Miner, J.H., Morello, R., Andrews, K.L., Li, C., Antignac, C., Shaw, A.S., and Lee, B. (2002). Transcriptional induction of slit diaphragm genes by Lmx1b is required in podocyte differentiation. J Clin Invest 109, 1065-1072.
- Miyake, N., Tsukaguchi, H., Koshimizu, E., Shono, A., Matsunaga, S., Shiina, M., Mimura, Y., Imamura, S., Hirose, T., Okudela, K., Nozu, K., Akioka, Y., Hattori, M., Yoshikawa, N., Kitamura, A., Cheong, H.I., Kagami, S., Yamashita, M., Fujita, A., Miyatake, S., Tsurusaki, Y., Nakashima, M., Saito, H., Ohashi, K., Imamoto, N., Ryo, A., Ogata, K., Iijima, K., and Matsumoto, N. (2015). Biallelic Mutations in Nuclear Pore Complex Subunit NUP107 Cause Early-Childhood-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. Am J Hum Genet 97, 555-566.
- Morello, R., and Lee, B. (2002). Insight into podocyte differentiation from the study of human genetic disease: nail-patella syndrome and transcriptional regulation in podocytes. Pediatr Res 51, 551-558.
- Morello, R., Zhou, G., Dreyer, S.D., Harvey, S.J., Ninomiya, Y., Thorner, P.S., Miner, J.H., Cole, W., Winterpacht, A., Zabel, B., Oberg, K.C., and Lee, B. (2001). Regulation of glomerular basement membrane collagen expression by LMX1B contributes to renal disease in nail patella syndrome. Nat Genet 27, 205-208.
- Suleiman, H., Heudobler, D., Raschta, A.S., Zhao, Y., Zhao, Q., Hertting, I., Vitzthum, H., Moeller, M.J., Holzman, L.B., Rachel, R., Johnson, R., Westphal, H., Rasche, A., and Witzgall, R. (2007). The podocyte-specific inactivation of Lmx1b, Ldb1 and E2a yields new insight into a transcriptional network in podocytes. Dev Biol 304, 701-712.
- Sweeney, E., Fryer, A., Mountford, R., Green, A., and McIntosh, I. (2003). Nail patella syndrome: a review of the phenotype aided by developmental biology. J Med Genet 40, 153-162.
- F. 健康危険情報
なし
- G. 研究発表
- 論文発表
- 張田豊： 特発性ネフローゼ症候群の発症機序(総説) 日本小児腎臓病学会誌 Vol28. No2, 120-128, 2015
 - 張田豊： 遺伝的腎疾患(爪膝蓋骨症候群および LMX1B 関連腎症) 腎と透析, 2016, in press
 - Konomoto T, Imamura H, Orita M, Tanaka

- E, Moritake H, Sato Y, Fujimoto S, Harita Y, Hisano S, Yoshiura KI, Nunoi H. Clinical and histological findings of autosomal dominant renal-limited disease with LMX1B mutation. *Nephrology*. doi: 10.1111/nep.12666, 2015
4. Yamamoto T, Tagawa A, Eguchi M, Ohashi N, Yasuda H, Harita Y, Hattori M, Yamaguchi Y, Ohyama K. Glomerulopathy with distinctive fibrillar deposits but lacking glomerular deposition of type III collagen. *CEN Case Report*, 2016 in press
5. Hattori M, Iwano M, Sako M, Honda M, Okada H, Akioka Y, Ashida A, Kawasaki Y, Kiyomoto H, Terada Y, Hirano D, Fujieda M, Fujimoto S, Masaki T, Maruyama S, Mastuo S. Transition of adolescent and young adult patients with childhood-onset chronic kidney disease from pediatric to adult renal services: a nationwide survey in Japan. *Clin Exp Nephrol*. 2016 Jan 19. [Epub ahead of print]
6. Ogino D, Hashimoto T, Hattori M, Sugawara N, Akioka Y, Tamiya G, Makino S, Toyota K, Mitsui T, Hayasaka K. Analysis of the genes responsible for steroid-resistant nephrotic syndrome and/or focal segmental glomerulosclerosis in Japanese patients by whole-exome sequencing analysis. *J Hum Genet*. 2016 Feb;61(2):137-41. doi: 10.1038/jhg.2015.122.
7. Miyake N, Tsukaguchi H, Koshimizu E, Shono A, Matsunaga S, Shiina M, Mimura Y, Imamura S, Hirose T, Okudela K, Nozu K, Akioka Y, Hattori M, Yoshikawa N, Kitamura A, Cheong HI, Kagami S, Yamashita M, Fujita A, Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saito H, Ohashi K, Imamoto N, Ryo A, Ogata K, Iijima K, Matsumoto N. Biallelic Mutations in Nuclear Pore Complex Subunit NUP107 Cause Early-Childhood-Onset Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Am J Hum Genet*. 2015 Oct 1;97(4):555-66. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.08.013.
8. Hattori M, Sako M, Kaneko T, Ashida A, Matsunaga A, Igarashi T, Itami N, Ohta T, Gotoh Y, Satomura K, Honda M, Igarashi T. End-stage renal disease in Japanese children: a nationwide survey during 2006-2011. *Clin Exp Nephrol*. 2015 Oct;19(5):933-8. doi: 10.1007/s10157-014-1077-8.
9. Muso E, Mune M, Hirano T, Hattori M, Kimura K, Watanabe T, Yokoyama H, Sato H, Uchida S, Wada T, Shoji T, Yuzawa Y, Takemura T, Sugiyama S, Nishizawa Y, Ogahara S, Yorioka N, Sakai S, Ogura Y, Yukawa S, Iino Y, Imai E, Matsuo S, Saito T. Immediate therapeutic efficacy of low-density lipoprotein apheresis for drug-resistant nephrotic syndrome: evidence from the short-term results from the POLARIS Study. *Clin Exp Nephrol*. 2015 Jun;19(3):379-86. doi: 10.1007/s10157-014-0996-8.

学会発表

1. 張田豊:特発性ネフローゼ症候群の発症機序 日本小児腎臓病学会 神戸 2015年6月18-20日
2. 張田豊:蛋白尿はなぜ出るのか?—ネフローゼ症候群の血中因子と遺伝的

素因一 第7回千葉小児腎フォーラム
浦安市 2015年10月15日

3. 張田豊、北中幸子、磯島豪、芦田明、服部元史 LMX1B 関連腎症の実態調査による疾患概念の確立 日本小児腎臓病学会 神戸 2015年6月18-20日
4. 張田豊、北中幸子、磯島豪、芦田明、服部元史 LMX1B 関連腎症の実態調査 名古屋 日本腎臓学会学術集会 2015年6月5-7日
5. 中田 智大(京都府立医科大学 腎臓内科), 石田 良, 藤井 敦子, 三原 悠, 富田 彩, 草場 哲郎, 磯島 豪, 張田豊, 北中 幸子, 玉垣 圭一 巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)治療中に LMX1B 遺伝子変異を同定した 1 例 日本腎臓学会西部学術集会 金沢 2015年10月23-24日

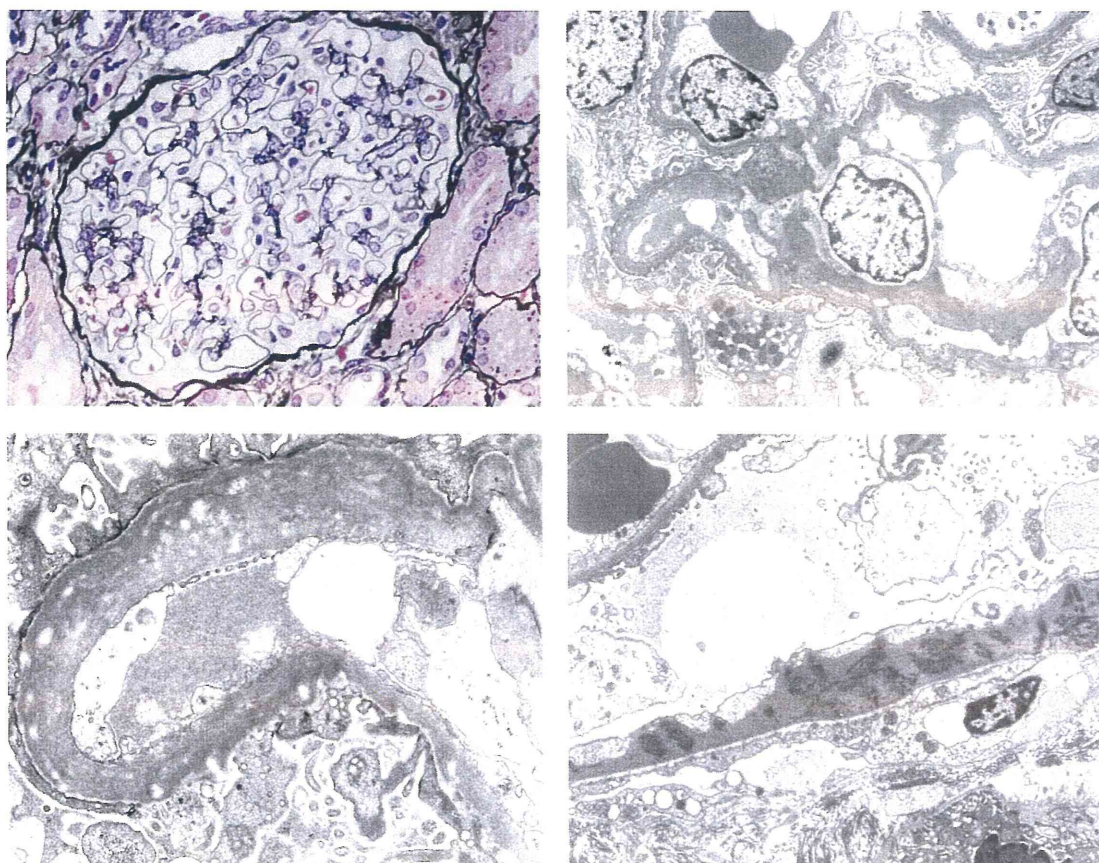
その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

図1 Nail-Patella 症候群および Nail-Patella-Like Renal Disease に特徴的な腎組織所見



a (PAM 染色)	b(電顕所見)
c(電顕所見)	d(タンニン酸染色)

光顕所見：特異的所見はなく、初期はほぼ正常、進行すると基底膜の不規則な肥厚やメサンギウム基質の増加が見られる。時に糸球体の巣状、分節状硬化や全節性硬化が見られる。

電顕所見：基底膜の肥厚と”moth-eaten appearance”(虫食い像)が特徴的である。III型コラーゲン繊維の沈着が肥厚した糸球体基底膜中央の緻密層やメサンギウム基質内に見られる。時にこれらの膠原線維は糸球体上皮細胞側や内皮下にも存在する。これらの線維成分はリンタンゲステン酸染色あるいはタンニン酸染色で染色される。

図2 *LMX1B* 関連腎症における *LMX1B* 変異

孤発性腎症の原因となる変異として *LMX1B* の homeodomain に存在する特定の変異が報告されている。

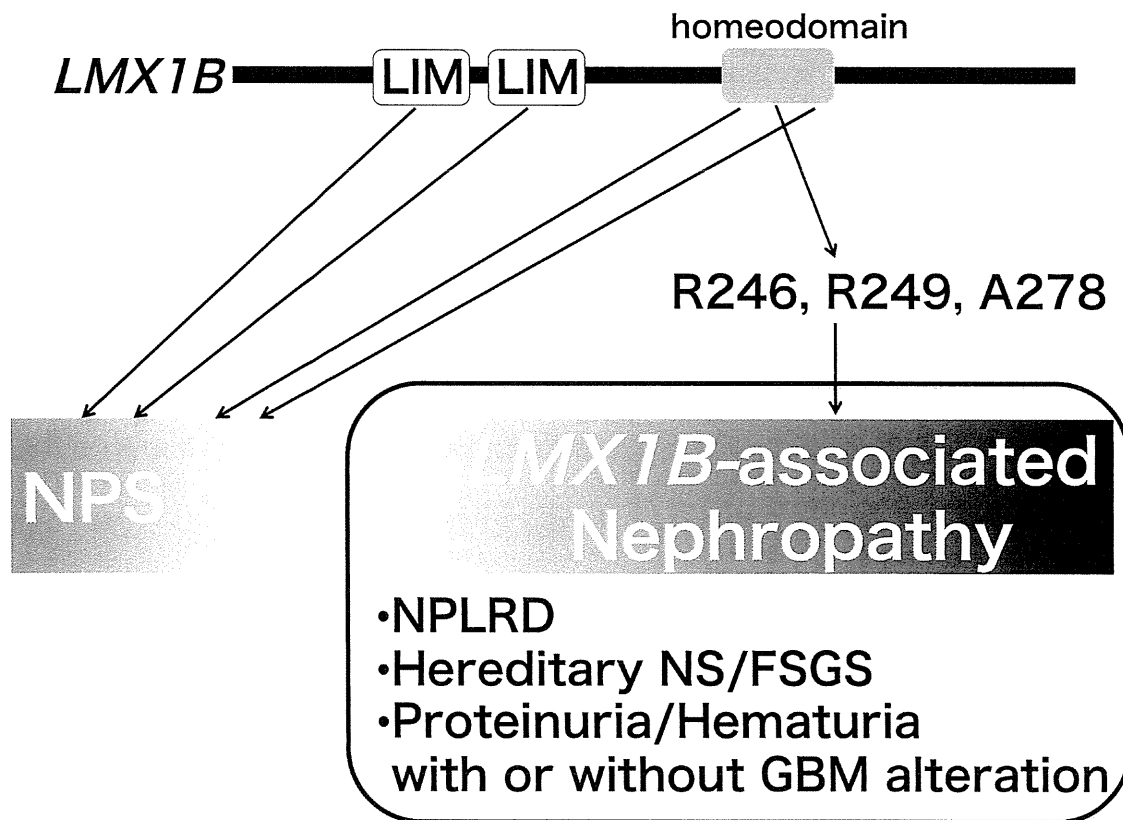
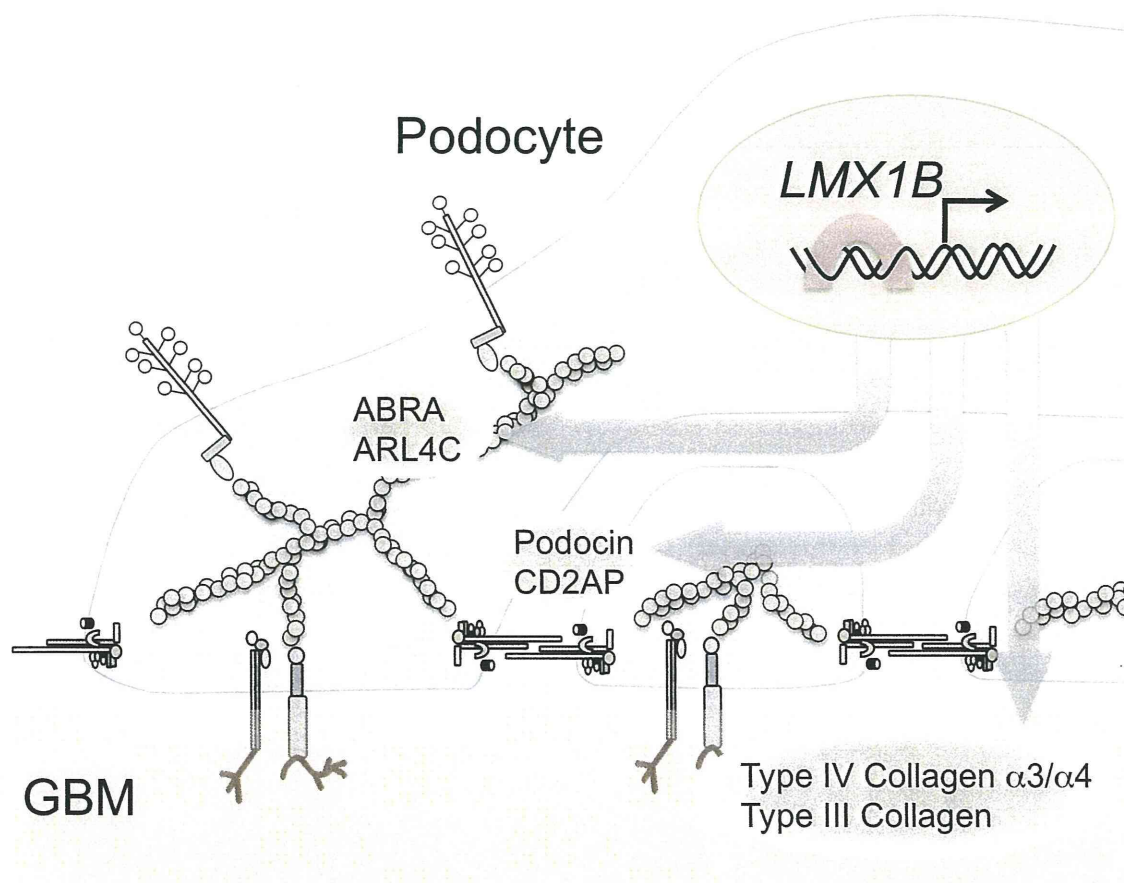


図3 *LMX1B*による糸球体上皮細胞形態制御機構

LMX1B の下流経路の候補として糸球体上皮細胞のアクチン骨格制御因子やスリット膜関連分子あるいは基底膜成分の発現や局在の制御が想定されている。



II. 分担研究報告