

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患政策研究事業)
研究分担者報告書

LMX1B 関連腎症の臨床病理学的検討

研究代表者 張田豊 東京大学小児科 講師
分担研究者 服部元史 東京女子医科大学 教授

研究要旨：

LMX1B 遺伝子変異は爪形成不全、膝蓋骨の低形成、腸骨の角状突起、肘関節の異形成を 4 主徴とする爪膝蓋骨症候群(nail-patella 症候群)の原因となる。患者の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。*LMX1B* 変異はまた nail-patella 症候群と同様の腎症を有するが、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))や家族性巣状糸球体硬化症(FSGS)の原因となる。このためこれまで 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。

私たちは H26 年度に *LMX1B* 関連腎症の実態把握を行い、(1)爪膝蓋骨症候群、(2)*LMX1BR246* 変異、(3)NPLRD(*LMX1B* 変異無しあるいは遺伝子検査無し)、(4) 遺伝性ネフローゼ症候群/家族性 FSGS、(5)Collagenofibrotic Glomerulopathy の病型に分類した。本研究では実態調査結果を元に、腎外症状を来さない *LMX1BR246* 変異および NPLRD(*LMX1B* 変異無しあるいは遺伝子検査無し)についての臨床病理学的解析を行った。その結果爪膝蓋骨症候群で特徴的とされる腎組織所見(糸球体基底膜変化)が *LMX1B* 関連腎症では見られないことが多いこと、爪膝蓋骨症候群で認められる糸球体基底膜変化と同様の変化は他の遺伝子変異症例においても認められることが判明した。すなわち病理学的所見(糸球体基底膜変化)は *LMX1B* 遺伝子変異に特異的ではなく、また病理学的所見の有無は遺伝子変異の存在を必ずしも示唆しないことが明らかになった。

A. 研究目的

1, 爪膝蓋骨症候群(Nail-Patella 症候群)

爪膝蓋骨症候群(Nail-Patella 症候群, MIM161200)は爪形成不全、膝蓋骨の低形成あるいは無形成、腸骨の角状突起

(iliac horn)、肘関節の異形成を 4 主徴とする常染色体性優性遺伝性疾患である。

爪膝蓋骨症候群の症状は多彩であるが (Sweeney *et al.*, 2003)、爪の異形成はほぼ 100%に認められ、程度は完全欠損から

低形成まで様々である。三角状の爪半月が特徴である。爪の異常は生下時から認められることも多いが軽度であると気づかれにくい。膝蓋骨の形成不全は 9 割に認められ、理学所見上膝関節屈曲時の陥凹が認められる。機能的に問題となることは少ない。肘関節の異常も 9 割近くに認められ、肘関節の伸展、回内、回外が制限される。腸骨の角状突起は 7-8 割に認められ、大きいと外表からも触知される。しばしば腎症を発症し、一部は末期腎不全に進行するため、本症候群の QOL に大きく影響する。

1998年に爪膝蓋骨症候群の原因遺伝子として *LMX1B* が同定された。*LMX1B* は染色体 9q34 に位置する。*Lmx1b* 遺伝子ノックアウトマウスのホモ接合体欠失個体で爪の低形成、膝蓋骨の欠損、腎の異常などの類似の症状を呈する。

*LMX1B*には今までに 130 種類以上の変異が同定されており、すべてヘテロ接合体変異で発症する。親からの遺伝あるいは *de novo* 変異が原因である。

2, 爪膝蓋骨症候群(Nail-Patella 症候群)腎症

爪膝蓋骨症候群の約半数(報告により 25-62%)に腎症を合併する。通常は無症候性の蛋白尿、稀に血尿が見られるが、時に高度の蛋白尿により、ネフローゼ症候群を呈することもある。2-15%の症例で腎機能が進行性に悪化し末期腎不全になったと報告されている(Bongers *et al.*, 2002)。小児期に腎不全に至った症例も報告されている。

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。

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

爪膝蓋骨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が存在し、nail-patella-like renal disease(NPLRD)と呼ばれている(MIM 256020)。これらの症例では蛋白尿などの検尿所見、ネフローゼ症候群、時には腎不全を呈し、特に電子顕微鏡所見として糸球体基底膜の変化が認められるものの、爪、膝蓋骨、腸骨などの腎外症状を呈さない(Bongers *et al.*, 2002)。私たちは NPLRD の一例において *LMX1B* 遺伝子変異 R246Q を見いだした(Isojima *et al.*, 2014)が、*LMX1B* 変異が主要な原因であるかどうかは明らかではない。実際に実態調査で NPLRD と分類された症例は 6 例であった。

4, *LMX1B*R246 変異による腎症

磯島らが NPLRD の原因となると報告した R246 変異は FSGS 患者においても同定されている。2013年にフランスのグループが家族性 FSGS 症例に対して網羅的遺伝子解析を行い、*LMX1B* の R246Q (2 家系)および R246P (1 家系) 変異をその原因として報告した(Boyer *et al.*, 2013)。

また本邦の実態調査で R246Q 変異家系が含まれていた。これらの R246Q 変異症例の一部は末期腎不全に至っていた。これらの家系では爪や膝蓋骨などの腎外症状を有していない。

本研究では H26 年度の *LMX1B* 関連腎症の実態調査を元に、爪膝蓋骨症候群腎病理像および爪膝蓋骨症候群を示さない *LMX1B* 関連腎症の臨床像および腎病理像を検討した。

B. 研究方法

1. 倫理面への配慮

実態調査については、「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」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。本研究の実施について、東京大学医学部倫理委員会の承認を得た。

2. 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 症例についての一次調査で症例ありとされた医療機関および、腎臓病総合レジストリー(Japan Renal Biopsy Registry (J-RBR)) から抽出された該当症例に対し、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)、可能な場合には腎生検結果の詳細を検討した。
8. 経過中の状況: 治療内容、維持透析の有無、腎移植の有無

C. 結果

1. *LMX1B* R246Q 変異患者の腎病理像

本調査に含まれた R246Q 変異を有する患者を表 1 に示す。内訳は磯島らが 2014 年に報告した一人(R1)(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 6 症例, R2-7)である。この家族例については、Nephrology 誌に報告した(Konomoto *et al.*, 2016)。この家系では既に死亡して発症契機がわからない一例(R7)を除きいずれも小児期の血尿蛋白尿あるいは蛋白尿として気づかれていた。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、すでに磯島らが報告した症例 R1(Isojima *et al.*, 2014)では爪膝蓋骨症候群腎症に特有の基底膜変

化が存在し、*LMX1B*変異の同定のきっかけになった。この症例では基底膜の緻密層に虫食い像が認められ、またタンニン酸染色で線維状の物質が同定されるなど、爪膝蓋骨症候群腎症と同様の病理像を呈した。

しかし本邦の R246Q 変異の家族例のうち腎生検が行われた 3 例では一例に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)は認められず、やはり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裏付けている。海外からの報告も含め、*LMX1B* 変異が同定された孤発性腎症を表 2 に示す。いずれの症例でも爪や骨格系に変化は認めず、本調査の R1 をのぞき、病理学的に明らかな糸球体基底膜の変化は認められていない(Edwards *et al.*, 2015)。

2, *LMX1B*R246Q 変異患者の腎予後

爪膝蓋骨症候群の予後として腎機能は最も重要な因子の一つである。一方で *LMX1B* 変異が同定された孤発性腎症の腎予後はこれまで明らかではなかった。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(表 1)。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。

これまでに Boyer らにより報告された R246Q 変異家系(Boyer *et al.*, 2013)を含めた R246Q 変異症例の年齢と腎機能の相関図を図 1 に示す。これまでに報告されている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が、これまでの R246Q 変異症例は腎症がある事が前提で診断されており、選択バイアスがかかっている事は否定できない。

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

爪膝蓋骨症候群に特徴的とされる糸球体基底膜変化が *LMX1B* 異常に特異的かどうかはこれまで明らかではなかった。本調査での Nail-patella-like renal disease (NPLRD)症例のリストを表 3 に示す。いずれの症例も爪膝蓋骨症候群の家族歴は無く、爪膝蓋骨症候群を疑わせる腎外症状を有していない。

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、小児期に末期腎不全に至った同胞症例(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的変化である事が示唆された。特

微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。

D. 考察

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臨床病理学的検討を行った。

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 例のみで有る事は大変興味深い。R246Q 変異症例では必ずしも腎予後が良くない事を含め、糸球体基底膜変化が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った。この現象は *NUP107* に特有のものなのかは現在のところ不明であるが、基底膜変化が糸球体上皮障害による二次的な変化である事を強く示唆するものであり、腎病理所見ではなく、遺伝的な原因を元に疾患の分類を行う事が妥当だと判断さ

れる。

一方で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でき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。

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* 変異を有する孤発性腎症や腎症全体を *LMX1B* 関連腎症という一つの疾患概念として定義し直すべきと考える (Isojima *et al.*, 2014; Lemley, 2014)。慢性的な腎障害 (血尿、蛋白尿、あるいは腎機能障害) を来す症例の診療においては、爪や関節症状などに注意をして観察する事が重要であり、また腎外症状がない場合にも *LMX1B* 遺伝子のヘテロ接合体変異、あるいは腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見 (腎生検病理において、腎糸球体基底膜の肥厚と虫食い像 "moth-eaten appearance" を認め、さらにリンタングステン酸染色あるいはタンニン酸染色により基底膜内に線維成分が染色される) が存在する場合には *LMX1B* 関連腎症の可能性を検討すべきである。

R246 変異を有する孤発性腎症の予後から明らかになったようにこれらの症例では成人期以降で腎機能が低下する可能性がある。今後爪膝蓋骨症候群および *LMX1B* 関連腎症の症例を集積する事で遺伝子変異 — 表現型の相関 (Genotype-Phenotype Correlation) を

明らかにする必要がある。

【引用文献】

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.

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.

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.

Isojima, T., Harita, Y., Furuyama, M., Sugawara, N., Ishizuka, K., Horita, S., Kajihō, 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.

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., Saitsu, 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.

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.

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。近年の網羅的遺伝子解析により孤発性腎症の症例においても *LMX1B* 変異が明らかになる症例が今後増加すると考えられる。これらの症例では慢性腎不全へ進行する可能性もふまえた長期的なフォローアップが必要である。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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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
2. 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
3. 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

2. 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- 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

3. 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

表 1 R246Q 変異症例の臨床病理学的検討

症例	性別	LMX1B変異	発症時 年齢	発症時 尿蛋白	発症時 潜血	発症時 診断	腎外症状の 把握	診断時 年齢	腎生検診断	特徴的 基底膜変化	最終 年齢	最終 GFR区分
R1	F	R246Q	3	3+	3+	血尿蛋白尿	無	6	LM:微小変化 EM:虫食い像	有	12	1
R2	F	R246Q	1	ND	ND	血尿蛋白尿	無	ND	LM:微小変化 EM:GBMの部分的な非薄化	無	18	1
R3	F	R246Q	1	2+	1+	血尿蛋白尿	無	ND	ND	ND	11	1
R4	F	R246Q	11	2+	-	蛋白尿	無	14	ND	ND	15	1
R5	F	R246Q	6	3+	1+	血尿蛋白尿	無	45	LM:微小変化 EM:施行せず不明	無	39	5
R6	F	R246Q	13	3+	-	蛋白尿	無	41	LM:FSGS EM:足突起癒合	無	43	1
R7	M	R246Q	ND	ND	ND	ND	無	40	ND	ND	40	5

LM:光学顕微鏡、EM:電子顕微鏡、ND:不明 ACE-I:アンギオテンシン変換酵素阻害薬、ARB:アンギオテンシン受容体拮抗薬
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)

LMX1B 関連腎症の実態調査に含まれた R246Q 変異 7 症例についての臨床病理学的検討を示す。R1 のみで特徴的な糸球体基底膜の変化が認められた。成人期に腎機能が低下した 2 症例(R5, R7)が存在した。

表2 孤発性腎症の原因として報告された *LMX1B* 変異

LMX1B変異	患者数	発症年齢	腎組織像	特徴的基底膜変化	文献
p.R246Q	10	6-70	FSGS:4 Terminal kidney:1	0/1	Boyer O, et al. J Am Soc Nephrol 2013
	2	17-25	FSGS:2	0/0	Boyer O, et al. J Am Soc Nephrol 2013
	1	6	MCD:1	1/1	Isojima T, et al. Nephrol Dial Transplant 2014
	6	1-13	MCD:3 FSGS:1	0/3*	Konomoto T, et al. Nephrology (Carlton) 2016
p.R246P	2	5-35	MCD:2	0/0	Boyer O, et al. J Am Soc Nephrol 2013
p.R249Q	9	15-53	Non-diagnostic:3 MPG::2	0/0	Edwards N, et al. Clin Kidney J 2015
p.A278V	1	7	N.D.	N.D.	Giglio Set al. J Am Soc Nephrol 2015

MCD: Minimal Change Disease, MPG: Mesangial Proliferative Glomerulonephritis,

N.D.: Not Determined

* 一人の患者で部分的な糸球体基底膜の菲薄化のみを認めた。

図1 R246Q 変異症例における年齢と腎機能の相関

本邦の R246Q 変異 7 症例及びこれまでに Boyer らにより報告された R246Q 変異 12 症例のうち腎機能が明らかになった症例の年齢及び eGFR の相関を示す。

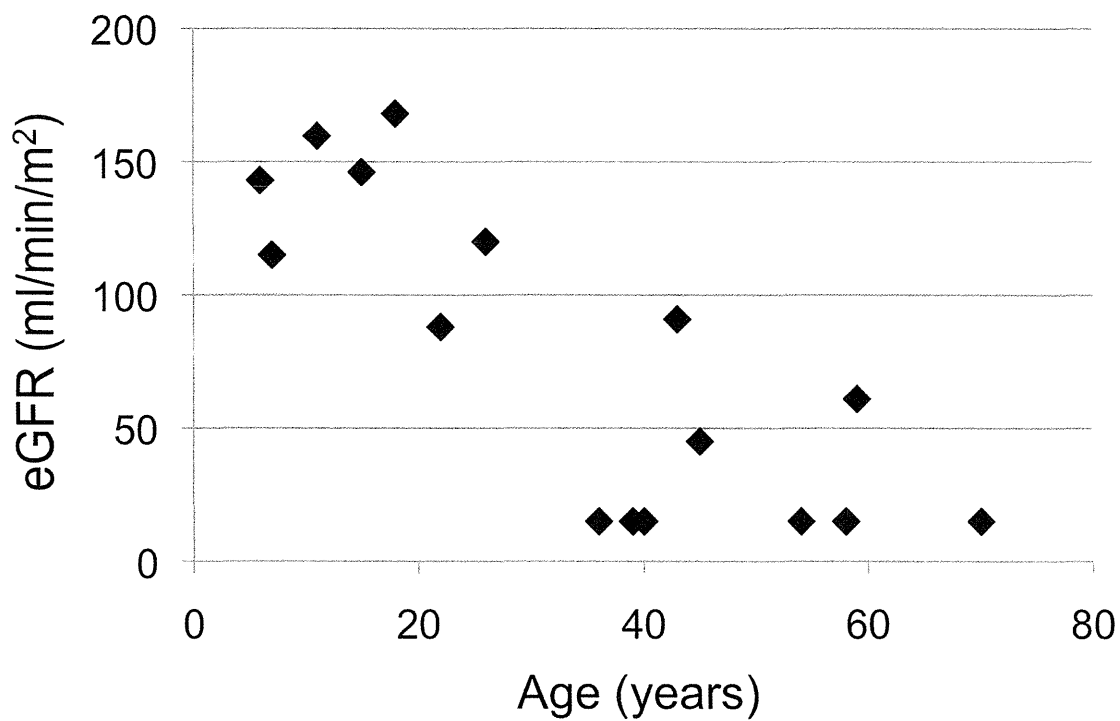


表 3 NPLRD 6 症例の臨床病理学的特徴

症例	性別	家族歴	遺伝子解析	LMX1B 変異	発症時年齢	発症時 eGFR	発症時診断	爪膝蓋骨腸骨の変化	腎生検診断	腎代替療法	経過中合併症	最終年齢	最終 GFR 区分
L1	F	有	有	無	3	78	ネフローゼ	無	LM:FSGS, EM:一部に虫食い像	維持透析、腎移植	無	13	5
L2	M	有	有	無	3	100	ネフローゼ	無	LM:FSGS, EM:一部に虫食い像	維持透析	無	8	5
L3	M	無	有	無	25	ND	ネフローゼ	無	LM:FSGS, EM:一部に虫食い像	無	精神運動発達遅滞、 網膜色素変性	38	3
L4	F	有	有	無	4	ND	蛋白尿	無	LM:微小変化, EM:虫食い像	無	反回神経麻痺	18	3
L5	F	有	無	ND	10	60.78	血尿蛋白尿	無	LM:メサンギウム増殖, EM:GBMヘコラーゲン線維の沈着	無	無	23	3
L6	M	無	有	無	15	ND	腎機能不全	無	LM:メサンギウム増殖, 基底膜の不規則な肥厚、二重化	無	精神運動発達遅滞	15	3

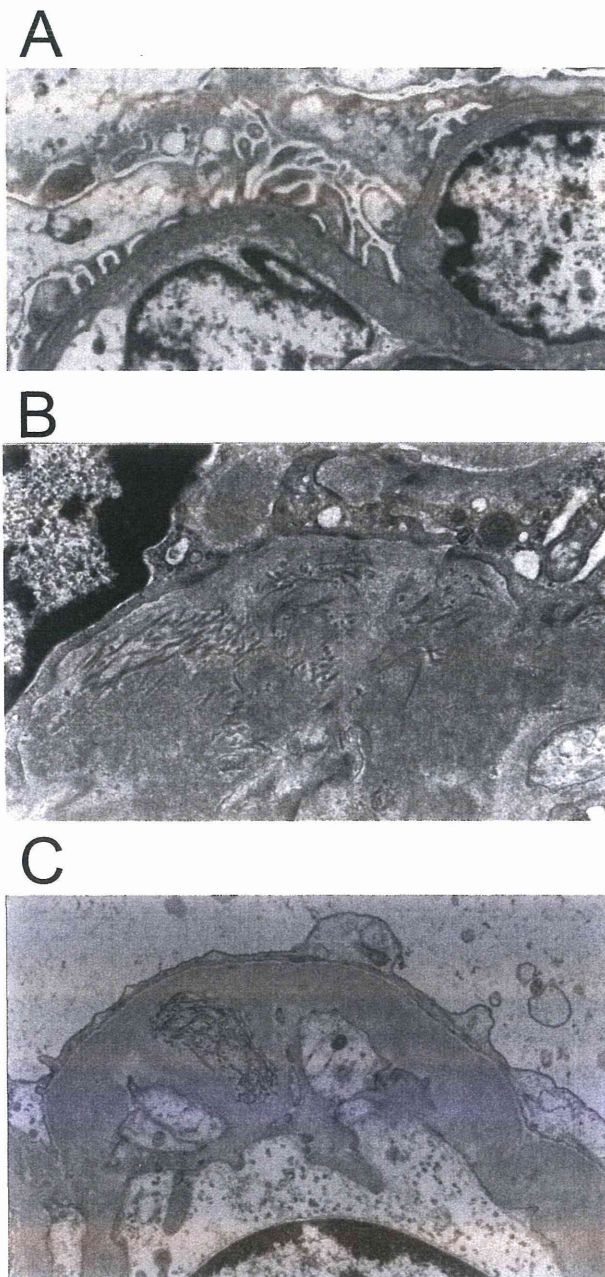
LM:光学顕微鏡、EM:電子顕微鏡、ND:不明 ACE1:アンギオテンシン変換酵素阻害薬、ARB:アンギオテンシン受容体拮抗薬
GFR区分はCKD1:≥90, CKD2:60-89, CKD3:30-59, CKD4:15-30, CKD5:<15 それぞれmL/min/1.73m²)

このうち、L1 および L2 には *LMX1B* 以外の原因遺伝子変異(*NUP107*)が同定された。

図2 *NUP107*変異患者に見られた糸球体基底膜の変化

NPLRD と登録されたが *NUP107*変異が同定された症例の腎病理所見。

電子顕微鏡像として爪膝蓋骨症候群腎症で認められる基底膜の虫食い様変化および膠原線維の沈着を認める。*LMX1B*変異による特徴的基底膜変化との差異を同定する事は困難である。



厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患政策研究事業)
研究分担者研究報告書

爪膝蓋骨症候群 (*LMX1B* 関連腎症を含む) の診断基準の作成

研究代表者	張田豊	東京大学小児科	講師
分担研究者	芦田明	大阪医科大学小児科	講師
分担研究者	服部元史	東京女子医科大学	教授
分担研究者	北中幸子	東京大学小児科	准教授
分担研究者	磯島豪	東京大学小児科	助教

研究要旨：

LMX1B 遺伝子変異は腎外症状を有する爪膝蓋骨症候群(nail-patella 症候群)の原因となるだけでなく、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))や家族性巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)の原因となる。このため *LMX1B* 変異を原因とする腎症全体を *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。

本研究では爪膝蓋骨症候群腎症および *LMX1B* 遺伝子変異が関係する腎症についての実態調査の結果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。

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、正確な疫

学調査は存在せず、また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。古典的な疾患であるもののこれまでに海外も含めて明確な診断基準は示されていない。

一方で *LMX1B* 変異は 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病態の原因にもなりうる。例えば nail-patella-like renal disease (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 を呈する患者に *LMX1B* 変異 R246Q を同定した (Isojima et al., 2014)。また全く同じ R246Q 変異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 (FSGS) を引き起こすことが報告され (Boyer et al., 2013)、*LMX1B* 変異が腎外症状を有さない孤発性腎症の原因となる事が明らかになった。

これらの事実から *LMX1B* 変異を原因とする、腎外症状を伴わない一群の腎症も含め、広く *LMX1B* 遺伝子異常ととらえ爪膝蓋骨症候群をあらたに定義し直す必要が生じている。そこで本研究班では H26 年度に本邦の *LMX1B* 関連腎症の実態調査を実施し、腎症を有する爪膝蓋骨症候群、*LMX1B* 変異が同定された孤発性腎症、NPLRD、遺伝性ネフローゼ症候群について検討した。本研究ではそ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。

また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) の疾患概要の作成をおこなった。

B. 研究方法

倫理面への配慮

実態調査については、「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」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。本研究の実施について、東京大学医学部倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

診断基準および疾患概要を以下のように作成した。

爪膝蓋骨症候群の診断基準

主項目を満たし、かつ副項目 1 項目以上を有し、さらに鑑別疾患を除外したものを爪膝蓋骨症候群と診断する。

主項目

爪の低形成あるいは異形成

(手指に多く、特に母指側に強い。程度は完全欠損から低形成まで様々である。三角状の爪半月のみを呈する場合もあり、軽症であると気づかれにくい。)

副項目

- 1.膝蓋骨形成不全
- 2.肘関節異常
- 3.腸骨の角状突起
- 4.*LMX1B* 遺伝子のヘテロ接合体変異

参考項目

- 1.爪膝蓋骨症候群の家族歴
- 2.腎障害（血尿、蛋白尿、あるいは腎機能障害）
- 3.腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見
(腎障害が有った場合に腎生検を検討するが、本症の診断上は必須ではない。病理像としては腎糸球体基底膜の肥厚と虫食い像”moth-eaten appearance”が特徴的である。肥厚した糸球体基底膜中央の緻密層やメサングウム基質内に III 型コラーゲン繊維の沈着が見られる。これらの線維成分はリンタングステン酸染色あるいはタンニン酸染色で染色される)

鑑別診断

- 1.Meier-Gorlin 症候群 (OMIM224690),
- 2.Genitopatellar 症候群 (OMIM606170)
- 3.DOOR 症候群(OMIM220500)
- 4.8トリソミーモザイク症候群
- 5.Coffin-Siris 症候群 (OMIM135900)/ BOD 症候群(OMIM113477)
- 6.RAPADILINO 症候群 (OMIM266280)

LMX1B 関連腎症の診断基準

主項目の三つを満たし、副項目の少なく

とも一つを満たすものを *LMX1B* 関連腎症と診断する。

主項目

- 1.腎障害（血尿、蛋白尿、あるいは腎機能障害）
- 2.爪膝蓋骨症候群の診断基準を満たさない
- 3.腎障害を来す他の原因(遺伝子異常など)を有さない

副項目

- 1.*LMX1B* 遺伝子のヘテロ接合体変異
- 2.腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見
(腎生検病理において、腎糸球体基底膜の肥厚と虫食い像”moth-eaten appearance”を認め、さらにリンタングステン酸染色あるいはタンニン酸染色により基底膜内に線維成分が染色される)

注. 尿所見異常あるいは腎機能障害あり、腎生検所見で腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見が有った場合あるいは常染色体優性遺伝形式を示す家族歴を有する場合に *LMX1B* 遺伝子検査を考慮する。

重症度分類（爪膝蓋骨症候群および *LMX1B* 関連腎症共通）

慢性腎臓病重症度分類で重症に該当するもの(図赤)、あるいはいずれの腎機能であっても尿蛋白/クレアチニン比 0.5g/g・Cr 以上のものを、重症として扱う。

膠原線維糸球体沈着症：

Collagenofibrotic Glomerulopathy の疾患概要

1, 概要

糸球体沈着症のうち、非アミロイド、非免疫グロブリン由来の細線維の沈着による疾患群の一つである。光顕組織像では糸球体メサンギウム基質領域の拡大、糸球体内皮細胞下腔の開大がみられ、これらの部位に免疫染色で III 型コラーゲンの沈着を認める。メサンギウム細胞の増加は顕著ではない。電子顕微鏡で観察すると、メサンギウム領域と糸球体内皮細胞下腔に可視型 III 型コラーゲンの沈着が観察される。

2, 原因

ほとんどの症例で血中の III 型プロコラーゲンの N 端ペプチド量が増加していることから、III 型コラーゲンの産生増加が原因の一つと考えられている。血中ヒアルロン酸の増加も報告されており、膠原線維とプロテオグリカンの産生異常が背景にある可能性がある。家族性の発症例も報告されているが、遺伝的な原因については不明である。

(注意) III 型プロコラーゲンとヒアルロン酸の測定は肝疾患が保険適用である。

3, 症状

小児から成人にかけて、すべての年齢で発症する。多くの症例で蛋白尿や浮腫を認める。6 割程度の患者でネフローゼ症候群レベルの蛋白尿を呈する。血尿は比較的軽度である。腎機能低下例では高血圧と貧血を高率に認める。末期腎不全に進行する症例も存在する。

腎外症状は認めない。

4, 治療法

高血圧や浮腫に対する支持的治療が行われるが、現時点で特異的な治療法はない。腎不全に至った症例は腎代替療法が必要となる。

5, 予後

2~6 割が末期腎不全へと進行する。

D. 考察

爪膝蓋骨症候群の診断基準

古典的な疾患であるにもかかわらずこれまで爪膝蓋骨症候群の厳密な診断基準は報告されていない。

本研究では実態調査結果を元に診断基準の必須条件(主項目)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。なお、今回の調査で爪の所見が軽微であり見逃されていた症例も存在しており、診断が容易ではない場合も有る。例えば三角状の爪半月のみを呈する場合もあり、細かい観察が必要であるという注意喚起を目的として診断基準に軽症であると気づかれにくいとの表現を加えた。

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。これにより関節などの所見を有する典型的な爪膝蓋骨症候群の他、爪の所見のみの症例であっても *LMX1B* 遺伝子変異があれば本症候群と診断できる。

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; Ghomid 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ではなく副項目とした。

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、腎機能と蛋白尿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: NPLRD)を *LMX1B* 関連腎症に含める方針とした。一方で、実態調査には NPLRD のなかで他の遺伝子異常が見つかった症例も存在した(Miyake et al., 2015)が、その場合は除外する事とした。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。

このため診断基準としてはまず主項目

として腎障害（血尿、蛋白尿、あるいは腎機能障害）を満たすが、爪膝蓋骨症候群の診断基準を満たさないことと、腎障害を来す他の原因(遺伝子異常など)を有さないことを必須とした。

また副項目として *LMX1B* 遺伝子のヘテロ接合体変異か腎糸球体基底膜の特徴的電顕所見のいずれかを満たすものとし、この二つのうち少なくとも一つを診断に必須の項目とした。

この基準により腎障害を来す他の原因(遺伝子異常など)を除外した上で、*LMX1B* 遺伝子変異を伴う腎障害と、*LMX1B* 遺伝子変異の有無によらず Nail-Patella Like Renal Disease の症例を本疾患群に含むこととなる。

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

これまで 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)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。

概要としてはこれまで報告されている本疾患に特徴的な腎病理像により規定される疾患であり、また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に加え、近年報告された血中ヒアルロン酸の増加についても記載した。

症状、治療法および予後については本実態調査で腎予後が悪い症例が多かった事をふまえて記載した。

E. 結論

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。本研究の成果である診断基準を元とした各疾患の予後調査や個々の疾患の治療法開発への活用が期待される。

【引用文献】

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., Huysmans, F.T., Levtchenko, 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.

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.

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)*.

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.

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

1. 論文発表

1. 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
2. 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
3. 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

2. 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- 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, 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

3. 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

III. 研究成果の刊行に関する一覧表