

201510012B

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 26 ~ 27 年度 総合研究報告書

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 26~27 年度 総合研究報告書

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 26~27 年度 総合研究報告書

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. 研究構成員	
II. 総合研究報告書	
<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）	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	18
IV. 研究成果の刊行物・別冊-----	20
V. 資料	
1, 爪膝蓋骨症候群( <i>LMX1B</i> 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. 研究構成員

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および診断基準の確立

研究構成員

研究代表者

張田 豊 東京大学医学部小児科 講師

研究分担者

服部 元史 東京女子医科大学腎臓小児科 教授

芦田 明 大阪医科大学小児科 講師

北中 幸子 東京大学医学部小児科 准教授

磯島 豪 東京大学医学部小児科 助教

事務局 張田 豊

〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学医学部附属病院小児科

Tel:03-5800-8903 Fax: 03-3816-4108

e-mail: haritay-ped@h.u-tokyo.ac.jp

## II. 総合研究報告書

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

*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：

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))や巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)の原因となる。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り、その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。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 H26 年度に *LMX1B* 関連腎症の本邦で初めての実態把握を行い、可能な場合には遺伝子解析をあわせて行った。また 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、厳密な疫学調査に基づくものではなく、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。

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、巣状分節様糸球体硬化症(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グ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患者に *LMX1BR246Q* 変異を同定した(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(FSGS)を引き起こすことが報告されている(Boyer *et al.*,

2013)。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り、FSGSのごく一部は遺伝子異常を原因とする(表1)が、多くの原因は未だ不明である。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り、これまで原因不明の腎疾患患者の中に本遺伝子変異を原因とする患者が存在する可能性が推察されるが、その頻度、予後などの全体像は全く不明である。

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行った(図2)。調査対象は(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 症例である。可能な場合には遺伝子解析を実施した。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検討を行った。

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。

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 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、日本腎臓病学会会員である。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* 関連腎症の可能性の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:  $\geq 90$ , CKD2: 60-89, CKD3: 30-59, CKD4: 15-30, CKD5:  $< 15$  それぞれ mL/min/1.73m<sup>2</sup>)
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あった場合に *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ケ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. 実態調査結果

#### 1-1 一次調査結果

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への一次調査を平成 26 年 12 月に行った。合計 398 医療機関へのアンケートのうち、回答率は 46.0%であった。腎疾患総合レジストリにおける爪膝蓋骨症候群登録症例、遺伝性ネフローゼ症候群症例、Collagenofibrotic

Glomerulopathy 症例についても二次調査の対象とした。二次調査の対象は(1)爪膝蓋骨症候群 19 例、(2)NPLRD 7 例、(3)遺伝性ネフローゼ症候群／家族性 FSGS 22 例、(4)Collagenofibrotic Glomerulopathy 10 例、合計 57 例であった。

#### 1-2 二次調査結果

二次調査の回答率は 84.2%であった。内訳は(1)爪膝蓋骨症候群 17 例、(2)NPLRD 7 例、(3)遺伝性ネフローゼ症候群／家族性 FSGS 17 例、(4)Collagenofibrotic Glomerulopathy 8 例である。

## 2. 疾患の再分類

遺伝子検査の結果、NPLRD 症例の 1 例および家族性 FSGS1 家系 6 例に *LMX1B* R246Q 変異が同定された。そのため R246Q 変異は一つの疾患概念ととらえるべきと判断され、登録症例を疾患分類を以下のように再分類した。(1)爪膝蓋骨症候群(17 例)、(2) *LMX1B*R246 変異(7 例)、(3)NPLRD(*LMX1B* 変異無しあるいは遺伝子検査無し)(6 例)、(4) 遺伝性ネフローゼ症候群／家族性 FSGS(14 例)、(5)Collagenofibrotic Glomerulopathy(8 例)。

## 3. 各疾患群の実態

### 3-1 腎症を有する爪膝蓋骨症候群 (17 例、表 2)

腎症を有する爪膝蓋骨症候群患者が 17 名であった。腎症の発症率を 2~5 割とし、また本調査の回収率を 4 割とすると本邦の爪膝蓋骨症候群患者のうち、主要な施

設で診察を受けている患者は100~200人程度と推定される。海外で厳密な調査ではないが5万人に一人という発症頻度が報告されており、人種差は特に無いとされる。それに比べて本邦では爪膝蓋骨症候群の頻度が低い可能性もあるが、本症の適切な診断がなされていない症例が多数存在する可能性も否定できない。腎外症状が多彩であり、なおかつ軽微なものが存在するため、軽微な症状の症例では本症の診断が困難である。

17例中腎生検は12例で行われており、基底膜の変化(虫食い像あるいは不規則な肥厚)が認められたのが8例であった。残りの4例はFSGS、微小変化、Focal glomerular obsolescenceと診断されており、病理所見だけでは必ずしも爪膝蓋骨症候群を示唆するものではなかった。

治療としては免疫抑制治療(ステロイド、シクロフォスファミド)を受けた症例が1例、それ以外の症例では免疫抑制治療はされておらず、6例でアンジオテンシン阻害薬等が用いられていた。その他の10例では無治療で経過観察されていた。

報告の有った17例のうち、末期腎不全に至った症例(CKD5)が2例、高度腎機能低下症例(CKD4)が2例あった。

3-2 *LMX1B* R246 変異による腎症(7例、表3)

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)。爪膝蓋骨症候群と異なり、R246Q変異症例は

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。また腎症の診断年齢は1-11歳と小児期であり、全員小児期に蛋白尿または血尿蛋白尿として発症していた。

病理学的所見としてはすでに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。しかし家系例のうち腎生検が行われた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(表4)。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。腎組織所見で特徴的な基底膜変化が有る場合には本症を考慮することができるが、それ以外の場合には鑑別診断として*LMX1B*変異を想定する事は極めて難しい。しかし網羅的遺伝子解析が今後臨床的に広く行われるようになれば孤発性腎症の中で*LMX1B*遺伝子変異症例がこれまで以上に見つかるものと予想される。

*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。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(図3)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。

### 3-3 *LMX1B*変異を有しない NPLRD (6例、表5)

*LMX1B*変異がないものの爪膝蓋骨症候群と同様の基底膜病変を有する症例が5例、また遺伝子検査がなされていない症例が1例あった。組織所見上はいずれの症例においても腎病理学的に部分的では有るものの爪膝蓋骨症候群と同様の基底膜変化(虫食い像)を有しており、爪膝蓋骨症候群と区別することは困難であった。これらの症例はいずれの症例も腎機能低下を認めており、二例(同胞)で末期腎不全に至っていた。若年で発症した二例で精神運動発達遅滞を認めた。

本調査の NPLRD6 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4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。

### 3-4 遺伝性ネフローゼ症候群/家族性 FSGS(14例、表6)

*LMX1B*R246Q 変異の見つかった症例を除いた14例の報告があった。これらの症例のうち、遺伝子検査(WT1, NPHS1, NPHS2)が施行されたのは5例であり、うち3例は全エクソン解析により既報の原因遺伝子では原因が同定されなかった。9例については全く遺伝子検査が行われていなかった。これらの患者における遺伝的背景を明らかにするためには網羅的遺伝子解析の基盤整備が必要である。

腎生検を施行された症例12例の内、FSGSの診断が7例、微小変化が4例であった。1例において基底膜の不規則な肥厚が指摘されている。

末期腎不全に至った症例が4例あり、腎予後が不良であると考えられた。

### 3-5 Collagenofibrotic Glomerulopathy (8例、表7)

2例は学童期の発症であった。高齢の症例も多いものの、腎機能が悪化する確率

が高く、4例が維持透析を施行されていた。二例の小児期発症例では中枢神経症状を合併していた。報告された8例についてはコラーゲン線維の沈着が基底膜の緻密層を中心としたものではなく、メサンギウム領域や内皮下であったため、NPLRDと診断される症例は存在せず、*LMX1B* 遺伝子検査が施行された症例はなかった。爪膝蓋骨症候群の腎症との病理学的な鑑別は困難ではないと考えられた。

#### 4. 爪膝蓋骨症候群(*LMX1B* 関連腎症を含む)の診断基準の作成

##### 4-1 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ギウム基質内に 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ゲ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)

##### 4-2 *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。

## 4-3 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、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。

## 5. 膠原線維糸球体沈着症 : Collagenofibrotic Glomerulopathy の疾患概要の作成

### 5-1 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。

### 5-2 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。

### 5-3 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。

### 5-4 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。

### 5-5 予後

2~6割が末期腎不全へと進行する。

## D. 考察

今回の調査により、*LMX1B* 関連腎症を診断するためには(1)検尿異常を呈する症例や、組織診断上 FSGS や微小変化とされる腎症を呈する患者において、爪や関節所見を正しく認識すること、(2)爪や関節の異常が有る際には *LMX1B* の異常の可能性を考慮して尿検査を施行すること、(3)遺伝性ネフローゼ症候群／家族性 FSGS 症例においては *LMX1B* 遺伝子変異の可能性を考えて遺伝子検査を施行すること(あるいは網羅的遺伝子解析を実施する)が重要と考えられた。腎臓専門医、小児腎臓専門医のみではなく、一般小児科診療においてこの疾患の理解を広めることが重要と考えられる。また将来的な課題としては、特徴的な基底膜変化と病態の関連については依然不明な点が多いこと、また遺伝性腎疾患における網羅的遺伝子解析の環境整備に問題が有ることなどが課題として考えられた。また基底膜変化が存在するが *LMX1B* 遺伝子変異が見出されなかった NPLRD に属する患者については新たな疾患概念と考えられる可能性が示唆された。本調査では若年患者も多く含まれており、長期的な腎予後については不明な点が多いため、引き続き症例の集積を行い経過を追う必要がある。

### *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; 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 5)。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がある。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 6)。

*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*<sup>-/-</sup> 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*<sup>+/-</sup> 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., 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.
- 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.,