

	汎アミノ酸尿	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> なし	<input type="checkbox"/> 不明
U-BpCO <sub>2</sub>				mmHg
アシドーシス補正後の重炭酸排泄分画 (FE HCO <sub>3</sub> ) *				%

\*  $FEHCO_3^- (\%) = \frac{\text{尿中 } HCO_3^- \times \text{血清 Cr}}{\text{血清 } HCO_3^- \times \text{尿中 Cr}} \times 100$

尿中  $HCO_3^-$  (mmol/L) =  $0.03 \times \text{尿 } PCO_2 \times 10^{\text{尿 pH} - (6.33 - 0.5\sqrt{\text{尿 Na} + \text{K}})}$

または

尿中  $HCO_3^-$  (mmol/L)  $\div$  尿  $PCO_2 - 1.2$  mmol/L

経過中について

			「あり」の場合、出現時期														
くる病/骨軟化症	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明		西暦 年 月														
腎石灰化/結石	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明		西暦 年 月														
腎嚢胞	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明		西暦 年 月														
腎性尿崩症	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明		西暦 年 月														
他の合併症	<input type="checkbox"/> あり( ) <input type="checkbox"/> なし		西暦 年 月														
維持透析	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、導入時期:西暦 年 月																
腎移植	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、その時期:西暦 年 月																
Fanconi 症候群に対する治療薬剤	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <table border="0" style="width:100%"> <tr> <td style="text-align:center">薬剤名</td> <td style="text-align:center">使用時期</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> <tr> <td>( )</td> <td>西暦( )年( )月~( )年( )月</td> </tr> </table>			薬剤名	使用時期	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月	( )	西暦( )年( )月~( )年( )月
薬剤名	使用時期																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																
( )	西暦( )年( )月~( )年( )月																

現在について

年齢	歳	ヶ月
身長	cm	
体重	kg	
血液・尿所見は透析/移植症例は記入しなくて結構です		
血液	pH	
	HCO3	mmol/L
	Cr	mg/dL
	ALP	IU/L
	Na	mEq/L
	K	mEq/L
	Cl	mEq/L
	Ca	mg/dL
	P	mg/dL
UA	mg/dL	

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査(二次調査)

Imerslund-Gräsbeck 症候群

下記の項目を分かる範囲でご記入ください。

施設名	
診療科	
先生のお名前	
メールアドレス (内容を照会させていただく場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
生年月	西暦 年 月
性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女
血族婚	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
同一疾患の家族歴 (「あり」の場合は家系 図等を記載してください)	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
遺伝子解析施行の有無 (「施行」の場合は、解 析施設名および結果を 記載してください)	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行

発症年齢	歳  ヶ月  日 または 不明	
臨床診断年齢	歳  ヶ月  日	
発見理由		
検査所見(発症時、西暦 年 月)		
血算	RBC	万/ $\mu$ L
	Hb	g/dL
	Ht	%
	MCV	fL
	MCH	pg
	MCHC	%
生化学	TP	g/dL
	Alb	g/dL
	Cr	mg/dL
ビタミン	Vit B12	pg/mL
尿	蛋白	mg/dL
	潜血	-  ±  +  2+  3+
	赤血球	個/hpf
	Cr	mg/dL
	$\beta$ 2MG	$\mu$ g/L
	$\alpha$ 1MG	mg/L

検査所見(最近のもの、西暦 年 月)		
血算	RBC	万/ $\mu$ L
	Hb	g/dL
	Ht	%
	MCV	fL
	MCH	pg
	MCHC	%
生化学	Cr	mg/dL
ビタミン	Vit B12	pg/mL
定期的な Vit B12 補充療法		<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
尿	蛋白	mg/dL
	潜血	-  ±  +  2+  3+

	赤血球	個/hpf
	Cr	mg/dL
	β 2MG	μg/L
	α 1MG	mg/L

透析導入	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、その時期 西暦(        )年(        )月
腎移植	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、その時期 西暦(        )年(        )月

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査(二次調査)

Donnai-Barrow/facio-oculo-acoustico-renal (DB/FOAR)症候群

下記の項目を分かる範囲でご記入ください。

施設名	
診療科	
先生のお名前	
メールアドレス (内容を照会させていただく場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
生年月	西暦 年 月
性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女
血族婚	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
同一疾患の家族歴 (「あり」の場合は家系 図等を記載してくださ い)	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし
遺伝子解析施行の有無 (「施行」の場合は、解 析施設名および結果を 記載してください)	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行

可能な範囲でお答えください。

臨床診断年齢	歳 月 日
発見/診断の契機	

血液検査所見(西暦 年 月)

TP	g/dL
Alb	g/dL
Cr	mg/dL
Ca	mg/dL
P	mg/dL
UA	mg/dL

尿検査所見(西暦 年 月)

蛋白	mg/dL
潜血	- ± + 2+ 3+
赤血球	個/hpf
Cr	mg/dL
β 2MG	μg/L
α 1MG	mg/L
尿糖	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
汎アミノ酸尿	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明

両眼間解離	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
大泉門開大	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
脳梁欠損	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
小頭症	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
特徴的顔貌 (down-slanting palpebral fissure, flat bridge of the nose, tall broad forehead)	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
虹彩欠損	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
感音性難聴	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
近視	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
精神発達遅滞	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明

心奇形	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明 ありの場合、内容を記載してください
横隔膜ヘルニア	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
omphalocele/臍帯ヘルニア	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
肋骨/椎体異常	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明
他の合併症	<input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 不明 ありの場合、内容を記載してください

透析導入	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、その時期 西暦(        )年(        )月
腎移植	<input type="checkbox"/> 施行 <input type="checkbox"/> 未施行 施行の場合、その時期 西暦(        )年(        )月

直近の身長・体重 西暦(        )年(        )月計測

身長	cm
体重	kg



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

腎尿細管における低分子蛋白再吸収分子機構の解明

研究分担者 張田 豊 東京大学医学部附属病院小児科講師

研究要旨

糸球体で濾過された低分子蛋白は、近位尿細管において cubilin-amnionless (CUBAM) 複合体によってエンドサイトーシスの機構で再吸収されるが、複合体の膜輸送や糖鎖修飾の異常に関する詳細は検討されていない。Imerslund-Gräsbeck 症候群 (IGS) は CUBAM 複合体の構成分子である cubilin (CUBN)あるいは amnionless (AMN)の変異によって起こり、近位尿細管及び腸管上皮における内因子-ビタミン B12 複合体を含む低分子蛋白の再吸収障害を呈する。今回新たに同定した新規 CUBN変異を含め、これまでに報告されている AMN および CUBN変異の解析により CUBAM 複合体の細胞膜輸送の分子機構を明らかにした。腎尿細管および腸管上非における低分子蛋白のエンドサイトーシスの分子機構が明らかになった。

A.  
研究目的

糸球体で濾過された低分子蛋白は、近位尿細管において cubilin-amnionless (CUBAM) 複合体によってエンドサイトーシスの機構で再吸収される。これらの分子の異常が低分子蛋白の再吸収障害をきたす機序を解明することを目的とする。

B.研究方法

Imerslund-Gräsbeck 症候群 (IGS) は近位尿細管及び腸管上皮における内因子-ビタミン B12 複合体を含む低分子蛋白の再吸収障害を呈する疾患であり、cubilin 遺伝子 (CUBN)あるいは amnionless 遺伝子 (AMN)の変異により発症する。2 歳時に巨赤芽球性貧血 (ビタミン B12 吸収不全) と診断され、5 歳時に蛋白尿を指摘され 6 歳時に腎生検を施行された男児において (腎生検結果は正常組織所見)、エクソーム解析

およびサンガーシーケンスによる遺伝子解析を施行した。また、培養細胞を用いて膜発現量およびエンドサイトーシス量の定量評価し、さらに cubilin の糖鎖修飾を解析した。糖鎖修飾部位の同定のために SILAC (stable isotope labeling using amino acids in cell culture) 法を用いた。

C. 研究結果

IGS 患児において CUBN のヘテロのミスセンス変異 c.1957G>C (p.Gly653Arg)を検出した。新規変異であり、両親の解析から de novo と考えられた。

次に腎生検組織標本を用いて、amnionless および cubilin の染色を行った。正常近位尿細管ではこれらの蛋白は刷子縁に存在するが、患児においては amnionless と cubilin の局在が細胞質内へと変化しており、

CUBAM 複合体の細胞膜輸送障害が示唆された。

次に、培養細胞を用いて cubilin と amnionless の膜発現量およびエンドサイトーシスを定量化し、患者変異による影響を検討した。amnionless は cubilin と共依存的に細胞膜表面上に輸送されるが、患者 CUBN 変異は両者の膜発現および複合体のエンドサイトーシスを著明に低下させた。さらに cubilin は amnionless と共発現することにより特異な糖鎖修飾が起こるが患者 CUBN 変異によりその変化が阻害されることを見いだした。これらの変化はこれまでに報告されている一部の CUBN 変異およびすべての AMN ミスセンス変異でも同様の結果が得られた。SILAC 法を用い amnionless 依存的な cubilin 分子の糖鎖修飾部位を同定した。一方で cubilin と amnionless の結合は Gly653Arg 変異により変化は見られず、蛋白複合体の結合自体は糖鎖修飾および細胞膜発現の十分条件ではなかった。細胞に糖鎖修飾阻害薬を添加することにより amnionless 依存的 cubilin 膜移行が阻害されたことから、糖鎖修飾こそが膜輸送に必要であることが示唆された。糖鎖修飾不全変異体を用いた解析により cubilin 分子の CUB ドメインにおける複数の糖鎖修飾が小胞体からゴルジ体への移行を可能とし、CUBAM 複合体の細胞膜発現に必要であることが明らかになった。

#### D. 考察

今回 IGS で見いだした新規 CUBN 変異および既報の CUBN および AMN のミスセンス変異を解析し、変異が cubilin の糖鎖修飾を阻害し、その結果 CUBAM の細胞膜輸送を阻害す

る事を見いだした。尿細管における低分子蛋白の再吸収機構に関する理解が深まった。

#### E. 結論

IGS 症例の解析により、近位尿細管における低分子蛋白の再吸収には CUBAM 複合体の翻訳後修飾及び細胞膜輸送が必須である事を明らかにした。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Saito K, Shiino T, Kurihara H, Harita Y, Hattori S, Ohta Y. Afadin regulates RhoA/Rho-associated protein kinase signaling to control formation of actin stress fibers in kidney podocytes. Cytoskeleton 72:146-56, 2015
- 2) Matsunaga A, Harita Y, Shibagaki Y, Shimizu N, Shibuya K, Ono H, Kato H, Sekine T, Sakamoto N, Igarashi T, Hattori S. Identification of 4-Trimethylaminobutyraldehyde Dehydrogenase (TMABA-DH) as a Candidate Serum Autoantibody Target for Kawasaki Disease. PLoS One. 10(5):e0128189, 2015
- 3) 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) 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誌 28:

- 120-128, 2015
- 5) 張田豊：スリット膜関連分子と細胞内骨格調節 腎と透析 78: 364-368, 2015
  - 6) 張田豊：蛋白尿. 小児疾患診療のための病態生理 小児内科 47 増:474-478, 2015
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) Udagawa T, Miura K, Saito A, Harita Y. Defect of interdependent membrane targeting and endocytosis of cubilin and amnionless leads to Imerslund-Gräsbeck syndrome Renal Week 2015, San Diego, USA, Nov. 5-8, 2015
  - 4) 宇田川智宏、三浦健一郎、鶴見晴子、加藤元博、斎藤亮彦、三井純、大出晃司、張田豊 Cubilin と Amnionless の共依存的膜輸送障害は Imerslund-Grasbeck 症候群の原因となる。第6回分子腎臓フォーラム 大阪 2015年9月5日
  - 5) 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
  - 6) 安藤 友久、張田 豊、森田 進、信田りの、磯島 豪、安戸 裕貴、三浦 健一郎、北中 幸子、岡 明 広範な腹壁腫脹で発症した Acute Hemorrhagic Edema の一例 日本小児科学会学術集会 大阪 2015年4月17-19日
  - 7) 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 日本腎臓学会学術集会 名古屋 2015年6月5-7日
  - 8) Tsurumi H, Harita Y, Kurihara H, Miura K, Hattori M, Oka A. Alteration of mesangial cell-cell junction in glomerulonephritis is associated with directional migration. Asian Society of Pediatric Research, 大阪 2015年4月15-17日
  - 9) 鶴見 晴子, 栗原 秀剛, 三浦 健一郎, 服部 元史, 張田 豊 メサンギウム細胞接着構造は極性形成に必要であり細胞運動性を制御する 日本腎臓学会学術集会 名古屋 2015年6月5-7日
  - 10) 宇田川 智宏, 三浦 健一郎, 鶴見 晴子, 斎藤 亮彦, 張田 豊 新規 Cubilin 遺伝子変異解析による近位尿細管再吸収メカニズムの解明 日本腎臓学会学術集会 名古屋 2015年6月5-7日
  - 11) 宇田川 智宏, 三浦 健一郎, 鶴見 晴子, 加藤 元博, 張田 豊 Imerslund-Grasbeck 症候群の解析による尿細管再吸収分子機構の解明 日本小児腎臓病学会学術集会 神戸 2015年6月18-20日
  - 12) 滝澤 慶一, 張田 豊, 三浦 健一郎, 松本 幸男, 古谷 憲孝, 岡 明, 西本 創, 高見澤 勝 ネフローゼ症候群、急性腎障害を呈したループス腎炎の4歳女児

例 日本小児腎臓病学会学術集会  
神戸 2015年6月18-20日

- 13) 鶴見 晴子, 栗原 秀剛, 三浦 健一郎,  
五十嵐 隆, 岡 明, 服部 元史, 張田 豊  
メサンギウム細胞接着の分子構造とメ  
サンギウム増殖性腎炎におけるその変  
化および意義 日本小児腎臓病学会学  
術集会 神戸 2015年6月18-20日
- 14) 苗代 有鈴, 神田 祥一郎, 金子 直人,  
藪内 智朗, 多田 憲正, 菅原 典子,  
宮井 貴之, 石塚 喜世伸, 近本 裕子,  
秋岡 祐子, 世川 修, 三浦 健一郎,  
張田 豊, 近藤 秀治, 香美 祥二, 服  
部 元史 巨大腭嚢胞を認めた繊毛病

の1例 日本小児腎臓病学会学術集  
会 神戸 2015年6月18-20日

- 15) 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 巢  
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

G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
三浦健一郎	腎尿細管性アシドーシス	水口雅、市橋光、崎山弘	今日の小児治療指針第16版	医学書院	東京	2015	627-629

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
三浦健一郎	Dent病	小児内科	47巻増刊号	568-571	2015
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誌	28巻2号	120-128	2015
張田豊	蛋白尿	小児内科	47巻増刊号	474-478	2015

