

ネイルパテラ症候群の全国医療水準の向上のための診療手引書の作成に関する研究

研究分担者 張田 豊 東京大学・医学部附属病院・准教授

研究要旨

【研究目的】

ネイルパテラ症候群（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。*LMX1B*の遺伝子異常が原因である。

ネイルパテラ症候群患者の約半数は蛋白尿や血尿を呈する腎症を発症し、一部は末期腎不全に進行する。腎予後がQOLに多大な影響を及ぼすが、腎症の進展と関連する因子については不明な点が多い。指定難病として遺伝学的検査が普及することが見込まれることから、本邦のネイルパテラ症候群症例について、腎機能高度低下あるいは末期腎不全となる症例の遺伝子変異の詳細を検討した。

【研究方法】

*LMX1B* 遺伝子の変異解析を行ない、同定された変異と主治医より提供された臨床情報を検討した。また同じ変異を有する家系内症例の症状について検討した。

【結果】

重篤な腎症を呈したネイルパテラ症候群患者で認められた変異は*LMX1B*とDNAとの結合に重要なホメオドメインの特定のHelix構造に存在していた。同じ変異を持つ家系例を解析したところ何らかの尿所見以上を呈するが必ずしも腎機能が悪化しない症例も多く存在した。また腎機能低下症例では全例で高度蛋白尿を呈していた。

【考察・結論】

重症腎症症例ではホメオドメイン部位の特定の變異に集積しており、また全例若年期に高度蛋白尿を呈していた。一方で同じ變異を有していても表現型には個人差が存在するため、變異の種類以外にも腎予後を規定する因子が存在する。高度蛋白尿を呈する場合には腎機能低下に注意が必要である。

A. 研究目的

ネイルパテラ症候群（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。原因は*LMX1B*の遺伝子異常である。

ネイルパテラ症候群患者の約半数は蛋白尿や血尿を呈する腎症を発症し、その一部は末期腎不全に進行する。腎不全に至る症例の割合は高くはないものの、腎予後は本症候群のQOLに多大な影響を及ぼす。腎機能が高度に低下症例あるいは腎不全症例の報告は限られており、現時点ではどのような因子が腎症発症と関係するかについては不明な点が多い。

本研究では本邦のネイルパテラ症候群症例について、腎機能高度低下あるいは末期腎不全となる症例の遺伝子変異の特徴を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 症例の集積

H26-27 年度 厚生労働科学研究費補助金 難治疾

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)およびその後研究班で把握した患者について、主治医への二次調査の解析を行った。

2) *LMX1B* 遺伝子変異解析

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ケンシング法により塩基配列を同定した。  
(倫理面への配慮)

本研究は、「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ネイルパテラ症候群および *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) 重症腎症合併ネイルパテラ症候群の原因となる *LMX1B* 変異の特徴

高度腎機能低下(CKD Stage4)症例および末期腎不全症例では *LMX1B* p.V262fs, p.V265F, p.V265L, p.V265F, c819+1G>A の変異が同定された(表1)。一例では *LMX1B* 遺伝子変異を検出せず、またもう一例では遺伝子解析の同意を得られず解析に至らなかった。また p.E57X 変異を有する患者で父及び父方叔父に末期腎不全となっており、この変異との関連が示唆された。

これらの変異の病原性について変異バリエントのデータベースである LOVD (<https://databases.lovd.nl/shared/genes>)、および ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) に登録した。

若年者で末期腎不全に至っている症例が3例あった。蛋白尿発症年齢、蛋白尿の程度などに着目すると、これらの症例はいずれもネフローゼレベルあるいは高度蛋白尿を呈していた。

過去に報告されている末期腎不全に至った爪膝蓋骨症候群症例を文献的に検索し、今回の症例と合わせて検討した(表2)。蛋白尿の多寡については文献上でほとんどが不明であった。*LMX1B* 変異と末期腎不全に至った年齢に関しては、今回の研究では若年期に3名が末期腎不全に至っていた。既報のそのほかの変異を有する症例でも同様に小児期から若年期に末期腎不全となっていた。

これらの患者の変異部位について図1aに示す。高度腎機能低下症例および末期腎不全症例でみられた変異のほとんどはホメオドメインの一部に集積していた。これまでネイルパテラ症候群で末期腎不全に陥った症例で遺伝子変異が同定されている症例は少ないものの、LIMドメインに存在する p.C59Y, p.E57X を除いて他の変異(p.A236P, c.741+1G>A, p.V263D)はいずれもホメオドメインに存在した。特に今回同定された変異は第3および第4ヘリックスに集簇しており(図1b)、第3ヘリックスはDNA二重らせん構造の主溝(Major groove)と最も接する領域に存在し、DNAの塩基配列を特異的に認識する上で中心的な役割を果たすと考

えられる。

### 2) 重症腎症症例の家族例の解析 (図2)

p.V265F 変異を有する家系Aでは16歳時に末期腎不全となった患者を有する。その妹は最終フォローアップ年齢20歳で、高度蛋白尿(6g/gcre)を呈しており、腎機能低下傾向が認められる。一方でこの同胞例の父は同じ変異を有しているが最終フォローアップの44歳時点で腎機能は保たれており、蛋白尿も0.4g/gcreと軽度である。

p.E57X を有する家系Bでは遺伝子検査を施行した患者は55歳時点でeGFR 70台と比較的保たれていたが、父親が30歳で腎不全に至っていた。またその弟(患者の父方叔父)も兄に腎臓を提供後に腎不全となっている。父の遺伝子検査を施行していないがこの変異との関連が濃厚と考えられた。

## D. 考察

2020年度の診療報酬改定によりネイルパテラ症候群(爪膝蓋骨症候群)/*LMX1B* 関連腎症に対して遺伝学的検査が保険適応となった。今後本症候群において遺伝子検査が拡大するとその病原性を判断したり、どのように予後判断に活用するかがさらに重要となる。

本研究では重症な腎症を呈する症例の遺伝学的特徴を明らかにし、また過去の末期腎不全に至った本症候群患者の報告と合わせて解析したところ、ホメオドメインの極めて限られた部分に変異が集積することを明らかにした。この部位は腎症のみを呈する *LMX1B* 関連腎症の原因となる変異とは異なっており、また立体構造としてはDNAの主溝に近接していた(図1)。そのためDNAへの結合の程度や、変異が影響を及ぼすターゲットの配列の違いが臓器特異性や、腎症の重症度と関連する可能性が示唆された。

末期腎不全となる患者の家族を検討すると、同じホメオドメインの変異を有している同一家系の症例でも必ずしも腎機能の低下がない、あるいは腎機能低下が緩やかな症例が存在し、大きな個人差が存在することが示唆された。

一方で本研究では重症な腎症を呈する患者がいずれも高度な蛋白尿を呈することが明らかになった。これまで本症候群患者の腎症の進展と蛋白尿の程度に関連があるかについて明らかではなかった。若年期から高度蛋白尿を呈する症例では腎機能低下に注意が必要と考えられた。

## E. 結論

ホメオドメイン部位の特定の変異は重症腎症の原因となる。表現型には個人差が存在するため、変異の種類以外にも腎予後を規定する因子が存在する。高度蛋白尿を呈する場合には腎機能低下に注意が必要である。

## G. 研究成果の公表

### 1. 論文発表

張田豊 【全身性疾患と腎 update】(第7章) 遺伝性疾患 ネイルパテラ症候群(解説/特集) 腎と透析 86 巻増刊 Page446-448(2019.06)

張田豊【指定難病ペディア 2019】個別の指定難病 腎・泌尿器系 ネイルパテラ症候群(爪膝蓋骨症候群)/LMX1B 関連腎症[指定難病 315] 日本医師会雑誌 148 巻特別 1 Page S251, 2019

張田豊【知っていますか?小児科領域のスポーツ障害】慢性スポーツ障害 スポーツと血尿・蛋白尿・腎機能異常 小児科診療 83 巻 2 号 Page199-204, 2020

表1

腎機能低下、末期腎不全に至った爪膝蓋骨症候群症例の臨床的特徴とLMX1B遺伝子変異

性別	蛋白尿発症 年齢	蛋白尿の程度	末期腎不 全年齢	最終フォロー アップ年齢	CKD ステージ	LMX1B 変異
M	3	Nephrotic	16	21	5	p.V265F
F	3	Nephrotic	-	20	3	p.V265F
M	5	Nephrotic	24	47	5	No mutation found
F	7	Nephrotic	-	25	4	c.819+1 G>A
M	7	1.5-2.0g/day	15	49	5	p.V262fs
M	9	1.5-2.5g/day	-	23	4	p.V265L
F	18	Subnephrotic	72	74	5	ND

表2

末期腎不全に至った爪膝蓋骨症候群症例

変異	末期腎不全年齢	文献
p.C59Y	7	Heidet et al. Am J Pathol 162:145-155, 2003
p.C59Y	16	Bongers et al. Pediatr Nephrol 17:703-712, 2002
p.E57X	30's	本研究
p.A236P	NA	Ghoumid et al. Eur J Hum Genet 24:44-50, 2016
p.V263D	16	Heidet et al. Am J Pathol 162:145-155, 2003
c.741+1G>A	24	Bongers et al. Eur J Hum Genet 13:935-946, 2005
p.V265F	16	本研究
p.V262fs	15	本研究

図1 腎機能低下を生じる爪膝蓋骨症候群の遺伝子変異部位の局在

a, 爪膝蓋骨症候群腎症(NPS with nephropathy)のうち、末期腎不全(CKD Stage5)、および高度低下(CKD Stage4)患者で同定された変異を太字で示す。これらの変異は腎外症状を伴わないLMX1B 関連腎症(LMX1B-associated Nephropathy)の原因となる変異と異なる場所に集積している。

b, CKD Stage4 あるいは5 の患者で同定された変異の部位(V262, V265)は HelixIII に位置し、DNA 二重らせん構造の主溝(Major groove)に接する領域に存在する。

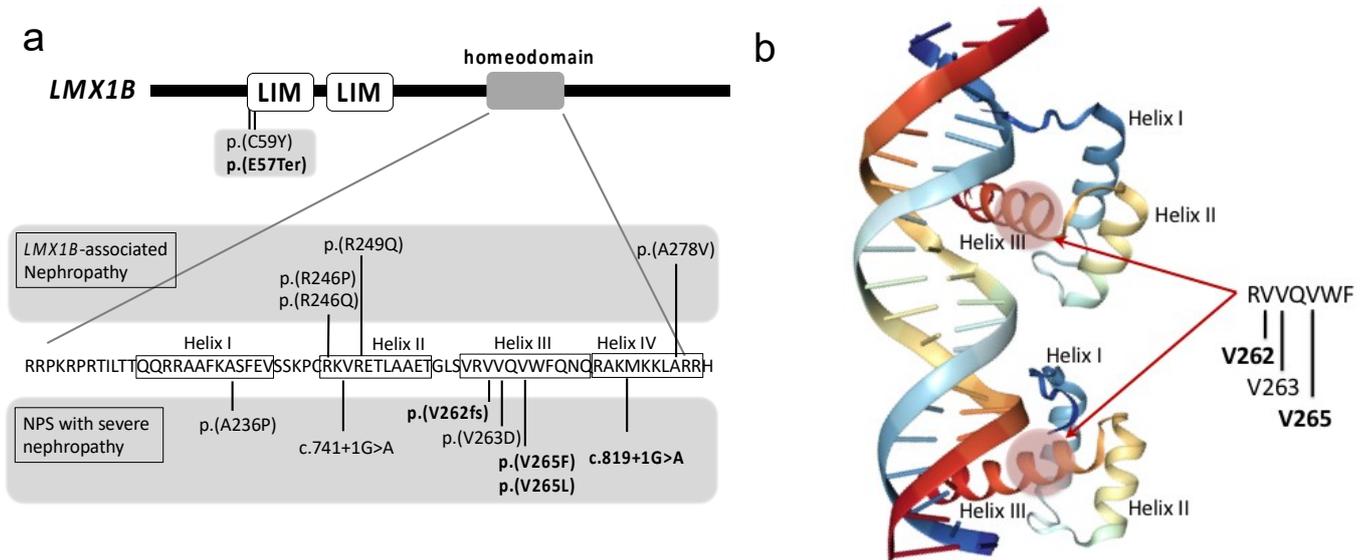
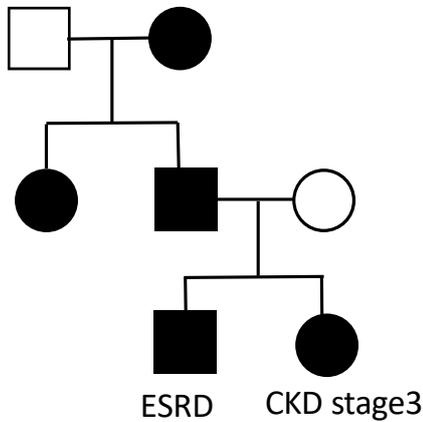


図2 腎機能低下、末期腎不全に至った爪膝蓋骨症候群症例の家族例の検討

Family A  
(p.V265F)



Family B  
(p.E57X)

