

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）

## 尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査

平成27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 三浦 健一郎

平成28（2016）年 5月

## 目 次

I . 総括研究報告	
尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査-----	3
三浦健一郎	
(資料)尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査のアンケート調査用紙	
II . 分担研究報告	
1 . 腎尿細管における低分子蛋白再吸収分子機構の解明-----	28
張田豊	
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 32

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））  
総括研究報告書

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の全国調査

研究代表者 三浦健一郎 東京女子医科大学腎臓小児科講師

研究要旨

Dent 病、Lowe 症候群など、尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患は希少疾患であり、世界的にも患者数は把握されておらず、本邦における診断基準も明確でない。本研究は、全国アンケート調査を行うことにより、これらの疾患の患者数および臨床像を明らかにし、診断基準の策定につなげることを目的とする。それぞれの疾患に関するアンケート調査票を作成し、添付した。全国の小児科医・内科医への送付準備を整えている。並行して行われる遺伝子解析結果と合わせれば、遺伝子型と臨床像の解析が可能になるとともに、今後の厚生労働行政施策および日常診療における確定診断の一助となることが期待される。

A. 研究目的

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患には Dent 病、Lowe 症候群、シスチン症、特発性 Fanconi 症候群、Imerslund-Gräsbeck 症候群、Donnai Barrow/facio-oculo-acoustico-renal (DB/FOAR)症候群が含まれ、いずれも希少疾患である。尿細管性蛋白尿、すなわち低分子蛋白尿を呈するだけの症例から小児期の末期腎不全や重度の精神発達遅滞を呈する症例まで、多彩な症候を呈する。これらの疾患は診断基準が確立しておらず、世界的にも患者数の把握はされておらず、長期予後も不明な部分が多い。本研究は、全国アンケート調査を行うことにより、患者数および臨床像を明確にし、診断基準の策定につなげることを目的とする。

B. 研究方法

全国の 200 床以上の病院に勤務する小児科医、内科医、および日本小児腎臓病学会、

日本小児内分泌学会、先天代謝異常学会の評議員（代議員）に一次アンケート調査票を送付し、診療ありと回答した施設（医師）に対して、二次調査票を送付する。二次調査のアンケート内容は、患者の生年月、性別、遺伝子解析の有無、臨床情報等である。

C. 研究結果

平成 27 年度はアンケート調査票の作成を行った。一次調査票および、それぞれの疾患についての二次調査票を添付する。これと並行して、Lowe 症候群・Dent 病の遺伝子解析を行っている。臨床的に Lowe 症候群と診断された患者とその家族 5 家系（家族を含めて 9 名）、Dent 病と診断された患者とその家族 12 家系（家族を含めて 25 名）を対象に直接 DNA シークエンス法で CLCN5, OCRL 遺伝子を解析した。Lowe 症候群 5 家系のうち全家系で OCRL に変異を認め、フレームシフト変異（1-2 塩基欠失または挿入）<sup>3</sup>、ミスセンス変異 2 であった。

母親の解析が可能であった 3 家系において、2 家系では同一の変異を認め、1 家系では母親に変異を認めず de novo 変異と考えられた。Dent 病 11 家系のうち、6 家系に CLCN5 遺伝子異常を認め（ミスセンス変異 3、ナンセンス変異 1、フレームシフト変異 1、全欠失 1）、1 家系で OCRL 遺伝子に変異を認めた（フレームシフト変異）。4 家系では両方の遺伝子とも異常を認めなかった。また、Dent 病と Lowe 症候群の中間的な症候を呈する（白内障を認めるが精神発達遅滞が軽度）3 家系も解析し、OCRL 遺伝子に変異を認めた（ミスセンス変異 3）。以上から、非典型的な症候を呈する患者を含んだ解析においても、既報と同等の検出率で CLCN5/OCRL 異常を同定した。

#### D. 考察

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患のアンケート調査票を作成した。本邦では、欧米で行われていない学校検尿システムによって、尿細管性蛋白尿をスクリーニングできる素地がある。このことは欧米に比してより多くの、あるいはより軽症の患者をも発見できることを意味している。本研究でそのような患者を含めた多彩な臨床像および長期予後を明らかにできれば、尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患の臨床像の幅広いスペクトラムを世界に向けて発信できる可能性がある。Dent 病をはじめ、尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患は指定難病に登録されておらず、本研究によって得られたデータをもとに患者数や臨床像を明確にすれば、診断基準の策定につなげることができ、指定難病を含めた厚生労働行政施策に資するものとなる。また、これら希少疾患の認

知度が高まることにより、これまで未診断であった患者も確定診断される可能性が高まり、患者の利益に寄与すると考えられる。Dent 病と Lowe 症候群の原因遺伝子である CLCN5/OCRL 遺伝子解析に関しては、既報では Dent 病では CLCN5 異常を 60%に、OCRL 異常を 15%に認めるとされるが、本研究でも同様の結果であった。本研究の対象患者には Dent 病として頻度の低い症候（若年での腎機能障害、骨病変）を呈する者も含まれており、1 名の女性患者も含まれていたが、遺伝子変異の検出率は既報とほぼ同等であった。また、OCRL 異常を有する Dent 病と Lowe 症候群は臨床症候として一つのスペクトラムを呈することを確認した。

#### E. 結論

尿細管性蛋白尿を呈する遺伝性疾患のアンケート調査により、患者数把握、診断基準策定につなげることができ、今後の厚生労働行政施策および日常診療における確定診断の一助となることが期待される。また、一部の Dent 病・Lowe 症候群患者家系について、確定診断を行い臨床像のスペクトラムを解析することができた。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tsurumi H, Kurihara H, Miura K, Tanego A, Ohta Y, Igarashi T, Oka A, Horita S, Hattori M, Harita Y. Afadin is localized at cell-cell contact sites in

- mesangial cells and regulates migratory polarity. *Lab Invest* 96: 49-59, 2016
- 2) 眞下秀明、三浦健一郎、高梨さやか、井上茉南、張田豊、竹内正人、磯島豪、荒木聡、植田千里、遠藤明史、川村眞智子、水口雅、岡明：急速な下痢の進行により循環血流量減少性ショックを呈し、RT-PCR 法でロタウイルス感染症と診断された 1 例．*小児科臨床* 68: 59-64, 2015
  - 3) 三浦健一郎：初期輸液はどうすればよいか．*小児内科* 47: 687-689, 2015
  - 4) 三浦健一郎：腎尿細管性アシドーシス．今日の小児治療指針第 16 版( 総編集 水口雅、市橋光、崎山弘 )pp.627-629, 医学書院，東京，2015
  - 5) 三浦健一郎：Dent 病．*小児内科* 47 増：568-571, 2015
2. 学会発表
- 1) Miura K, Igarashi T, Harita Y, Tsurumi H, Morisada N, Iijima K, Oka A. A nation-wide survey of primary renal tubular acidosis. The 11th Congress of Asian Society for Pediatric Research, Osaka, April 16, 2015
  - 2) Udagawa T, Miura K, Saito A, Harita Y. Defect of interdependent membrane targeting and endocytosis of cubilin and amnionless leads to Imerslund-Gräsbeck syndrome. American Society of Nephrology Kidney Week 2015, San Diego, USA, November 5, 2015
  - 3) 安藤友久，張田豊，森田進，梅沢裕美，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．第 118 回日本小児科学会学術集会，大阪，2015 年 4 月 18 日
  - 4) 平野瑤子，糸永宇慧，安戸裕貴，磯島豪，三浦健一郎，張田豊，関口 昌央，加藤元博，滝田順子，岡明：重症の自己免疫性溶血性貧血を契機に診断された全身性エリテマトーデスの 1 例．第 118 回日本小児科学会学術集会，大阪，2015 年 4 月 19 日
  - 5) 三浦健一郎，張田豊，鶴見晴子，藤澤佑介，設楽佳彦，西村力，土田晋也，高橋尚人，岡明：Angiotensinogen 欠損による renal tubular dysgenesis における レニン・アンギオテンシン系動態解析．第 50 回日本小児腎臓病学会学術集会，神戸，2015 年 6 月 19 日
  - 6) 宇田川智宏，三浦健一郎，鶴見晴子，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．第 50 回日本小児腎臓病学会学術集会，神戸，2015 年 6 月 18 日
  - 7) 三浦健一郎，張田豊，鶴見晴子，藤澤佑介，設楽佳彦，西村力，土田晋也，高橋尚人，岡明：新鮮凍結血漿投与により透析を回避した angiotensinogen 欠損による renal tubular dysgenesis の 1 例．第 37 回日本小児腎不全学会学術集会，石川県加賀市，2015 年 11 月 26 日
  - 8) 小川陽介，三浦健一郎，榊真一郎，伊藤佳永，張田豊，磯島豪，安戸裕貴，宿谷賢一，新谷裕加子，服部元史，山口裕，岡明：トスフロキサシンによる急性腎障害の原因として血管内皮障害が疑われ

た 1 例 . 第 37 回日本小児腎不全学会学  
術集会 , 石川県加賀市 , 2015 年 11 月  
26 日

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし



## 本調査の対象疾患

### ●Dent 病

表 わが国での Dent 病の診断基準

- 
- 1 著しい低分子蛋白尿の存在
  - 2 男性である（極めて稀に女性例が存在する）
  - 3 他の疾患による Fanconi 症候群を否定できる
  - 4 診断をより確実にする症状、検査
    - a 高カルシウム尿症、腎石灰化の存在
    - b *CLCN5*, *OCRL1* のいずれかに変異を認める
- 

1～4a を満たせば臨床的に Dent 病と考えてよい。

4-b の遺伝子診断で変異があれば確定。

### ●Lowe 症候群

典型的には以下の 3 つすべてを呈する

1. 先天性白内障
2. 中枢神経症状（精神運動発達遅滞）
3. Fanconi 症候群（尿中  $\beta_2$ MG の著明高値、代謝性アシドーシスなど）

### ●シスチン症

シスチンの蓄積により、角膜混濁、Fanconi 症候群、肝腫大、甲状腺機能低下症などを呈する常染色体劣性遺伝疾患。シスチンをライソゾームから細胞質へ輸送するのに必要な cystinosin をコードする *CTNS* 遺伝子の異常による。典型的な腎型では 10 歳以前に末期腎不全に至る。

シスチン尿症（腎尿路結石を呈する）とは異なる疾患。

### ●特発性 Fanconi 症候群

原因不明の Fanconi 症候群。ミトコンドリア異常や薬剤性、シェーグレン症候群など二次性のものを除く。

### ●Imerslund-Gräsbeck 症候群

ビタミン B12 吸収不良による巨赤芽球性貧血および低分子蛋白尿を呈する。マルチリガンド受容体である cubilin または amnionless の変異によって生じる常染色体劣性遺伝疾患である。

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

脳梁欠損、大泉門開大、両眼間解離、近視、低分子蛋白尿、発達遅滞を呈する症候群。Megalyn をコードする *LRP2* 遺伝子の異常による。横隔膜ヘルニア、臍帯ヘルニア、小頭症、虹彩欠損、先天性心疾患、肋骨/椎体骨異常をともなう場合もある。

### **本調査の対象外の疾患（病態）**

- ・ 上記（Dent 病、Lowe 症候群、シスチン症）以外の続発性 Fanconi 症候群
- ・ ミトコンドリア異常症
- ・ 代謝疾患によるもの（シスチン症以外）
- ・ 薬剤によるもの
- ・ 尿細管性アシドーシス
- ・ 間質性腎炎
- ・ 尿路感染症
- ・ 急性腎障害
- ・ 腎形成異常、低形成/異形成腎、逆流性腎症
- ・ 腎移植後
- ・ 他の慢性腎臓病によると考えられるもの

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)

Dent 病/Lowe 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きます場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
診断名	
生年月	西暦      年      月
性別	男      女
血族婚	あり      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)	あり      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)	施行      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(最近のもの、西暦 年 月)						
血液	TP	g/dL				
	Alb	g/dL				
	AST	IU/L				
	ALT	IU/L				
	LDH	IU/L				
	CK	IU/L				
	ALP	IU/L				
	Cr	mg/dL				
	カルシウム	mg/dL				
	リン	mg/dL				
	尿酸	mg/dL				
	HCO3	mmol/L				
	<b>アシドーシスに対する</b> アルカリ療法 法の必要性	あり	なし			
尿/尿細管機能	蛋白	mg/dL				
	潜血	-	±	+	2+	3+
	赤血球	個/hpf				
	2MG	µg/L				
	1MG	mg/L				
	Ca	mg/dL				
	Cr	mg/dL				
	TRP	%				
	FEUA	%				
	糖尿	あり	なし	不明		
	汎アミノ酸尿	あり	なし	不明		
腎石灰化	あり	なし	不明			
腎・尿路結石	あり	なし	不明			
くる病/骨軟化症を示唆する骨所見	あり	なし	不明			
白内障	あり	なし	不明			

	ありの場合、手術	施行	未施行
緑内障	あり	なし	不明
歯列異常	あり	なし	不明
精神発達遅滞	あり	なし	不明
行動異常	あり	なし	不明 ありの場合、具体的に記載してください。
透析導入		施行	未施行 施行の場合、その時期 西暦( )年( )月
腎移植		施行	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)

シスチン症

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	男 女
血族婚	あり 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)	あり 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)	施行 未施行

発症時(診断時)について  
 (生後1か月以上は「日」の記載は不要)  
 注)

発症年齢	歳	ヶ月	日
診断年齢	歳	ヶ月	日
発見理由			
発症時身長	cm(	歳	ヶ月 日)
発症時体重	kg(	歳	ヶ月 日)
診断時身長	cm(	歳	ヶ月 日)
診断時体重	kg(	歳	ヶ月 日)
検査所見(西暦 年 月)			
血液	pH		
	HCO <sub>3</sub>		mmol/L
	TP		g/dL
	Alb		g/dL
	Cr		mg/dL
	ALP		IU/L
	Na		mEq/L
	K		mEq/L
	Cl		mEq/L
	Ca		mg/dL
	P		mg/dL
	UA		mg/dL
ホルモン	TSH		μU/mL
	fT <sub>3</sub>		ng/dL
	fT <sub>4</sub>		pg/mL
尿	蛋白		mg/dL
	Cr		mg/dL
	1MG		mg/L
	2MG		μg/L
	%TRP		%

	FEUA			%
	糖尿	あり	なし	不明
	汎アミノ酸 尿	あり	なし	不明
アシドーシス補正後の重炭酸排泄分画 (FE HCO <sub>3</sub> ) *				%
白血球シスチン定量				nmol half-cystine/mg

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

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

または

尿中  $HCO_3^-$  (mmol/L) =  $\text{尿 } PCO_2 - 1.2 \text{ mmol/L}$

経過中について

角膜混濁(シスチン結晶)	あり	なし	不明
羞明	あり	なし	不明
くる病	あり	なし	不明
肝腫大	あり	なし	不明
脾腫	あり	なし	不明
甲状腺機能低下症	あり	なし	不明
糖尿病	あり	なし	不明
	ありの場合、診断時期(西暦 年 月)		
二次性徴の遅れ	あり	なし	不明
筋力低下	あり	なし	不明
中枢神経障害	あり	なし	不明
歩行障害	あり	なし	不明
嚥下障害	あり	なし	不明
知能障害	あり	なし	不明
けいれん	あり	なし	不明
他の合併症	あり( ) なし		
維持透析	施行	未施行	
	施行の場合、導入時期:西暦 年 月		
腎移植	施行	未施行	
	施行の場合、その時期:西暦 年 月		
cysteamine 内服	あり	なし	
	「あり」の場合、 西暦( )年( )月~西暦( )年( )月		

現在について

年齢	歳	ヶ月
身長		cm
体重		kg
血算	WBC	/μL
	Hb	g/dL
	Plt	万/μL
血液ガス	pH	
	HCO <sub>3</sub>	mmol/L

生化学	Cr	mg/dL
	ALP	IU/L
	Na	mEq/L
	K	mEq/L
	Cl	mEq/L
	Ca	mg/dL
	P	mg/dL
	UA	mg/dL
ホルモン	TSH	$\mu$ U/mL
	fT3	ng/dL
	fT4	pg/mL

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)

特発性 Fanconi 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きます場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
生年月	西暦 年 月
性別	男 女
血族婚	あり 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)	あり 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)	施行 未施行

発症時(診断時)について  
 (生後1か月以上は「日」の記載は不要)  
 注)

発症年齢		歳	ヶ月	日
診断年齢		歳	ヶ月	日
発見理由				
発症時身長	cm(	歳	ヶ月	日)
発症時体重	kg(	歳	ヶ月	日)
診断時身長	cm(	歳	ヶ月	日)
診断時体重	kg(	歳	ヶ月	日)
検査所見(西暦	年	月)		
血液	pH			
	HCO <sub>3</sub>		mmol/L	
	TP		g/dL	
	Alb		g/dL	
	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/尿細管機能	pH		
蛋白			mg/dL	
Na			mEq/L	
K			mEq/L	
Cl			mEq/L	
%TRP			%	
FEUA			%	
Ca			mg/dL	
Cr			mg/dL	
2MG			μg/L	
1MG			mg/L	
尿糖		あり	なし	不明

	汎アミノ酸尿	あり	なし	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> ) *				%

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

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

または

尿中  $HCO_3^-$  (mmol/L) =  $\text{尿 } PCO_2 - 1.2$  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	あり	なし	不明	西暦	年	月
腎石灰化/結石	あり	なし	不明	西暦	年	月
腎嚢胞	あり	なし	不明	西暦	年	月
腎性尿崩症	あり	なし	不明	西暦	年	月
他の合併症	あり( ) なし			西暦	年	月
維持透析	施行 未施行 施行の場合、導入時期:西暦 年 月					
腎移植	施行 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	あり なし 薬剤名 使用時期 ( )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きます場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
生年月	西暦 年 月
性別	男 女
血族婚	あり 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)	あり 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)	施行 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	- $\pm$ +    2+    3+
	赤血球	個/hpf
	Cr	mg/dL
	2MG	$\mu$ g/L
	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		あり    なし
尿	蛋白	mg/dL
	潜血	- $\pm$ +    2+    3+

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

透析導入	施行      未施行 施行の場合、その時期 西暦(      )年(      )月
腎移植	施行      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きます場合があります)	
患者家系/番号(例: A1)	
生年月	西暦 年 月
性別	男 女
血族婚	あり 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)	あり 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)	施行 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
2MG	μg/L
1MG	mg/L
尿糖	あり なし 不明
汎アミノ酸尿	あり なし 不明

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

心奇形	あり      なし      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	あり      なし      不明
omphalocele/臍帯ヘルニア	あり      なし      不明
肋骨/椎体異常	あり      なし      不明
他の合併症	あり      なし      不明 ありの場合、内容を記載してください

透析導入	施行      未施行 施行の場合、その時期 西暦(      )年(      )月
腎移植	施行      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

Imlerslund-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クエ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量を定量化し、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 巨大臍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 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
- 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