

腎病理診断における遺伝子検索

長田 道夫

はじめに

腎臓病の発症原因の多くは、後天的な、環境や生活習慣、免疫系の異常などによるものである。一方、最近のテクノロジーは、腎疾患の責任遺伝子を次々と明らかにしている。この責任遺伝子の発見は、これまで発症機序が全く不明であった腎疾患の発症と進展機序に多くの知見をもたらすものであり、臨床応用され診療に意義あるものも少なくない。

腎生検病理診断は、病理診断学のなかでも特殊であり、臨床所見と病理所見との相関の蓄積による、いわゆる臨床病理学的分類を基盤としている。しかし実際には、臨床的にはある疾患を強く示唆していても、病理所見はその典型とは異なる場合も多い。また、多くは炎症あるいは変性など、形態学的には特異性が少ないため観察者間での診断不一致がしばしば起こる。この形態学を主体とした腎生検病理診断のアナログ的作業に、遺伝子診断という客観性あるいはデジタル的要素を加えることで病理診断はより正確になると思われる。

現在のところ、同定された腎疾患の原因遺伝子が病理診断に応用されることは限られており、学問の趨勢はどちらかと言えば、疾患原因 (genotype-phenotype correlation) の解明に向けられているが、いくつかの成功例が用いた方法論は、将来遺伝子診断が病理診断に介入できる方向性を示唆している。実際には、1) 責任遺伝子の発見により診断マーカーが開発された Alport 症候群と、2) 疾患概念が臨床的であり、形態診断のみでは診断困難な先天性ネフローゼ症候群の鑑別に必要な遺伝子解析、3) 病理診断がきわめて難しいネフロン癆に対する遺伝子診断などが、実際に臨床現場で役立っている例である。

腎生検病理診断の問題点

腎病理診断は、これまで形態分類、特に WHO 分類に従って行われてきた。この分類は、年余にわたる臨床病理学的研究の蓄積によって、国際会議で決定されたものである。WHO 分類は、原著としてではなく一部の教科書に掲載されたこと、さらに、最近増加した疾患群には十分に対応していないことなどの問題はあつたものの、腎臓病理の基本的な考え方を比較的明確に示しているという意味では、腎病理の重要な基盤となっている¹⁾。

一方で、WHO 分類が記載されているテキストが絶版になったことに加えて、ループス腎炎や ANCA 関連腎炎など、個々の疾患について国際腎臓学会と腎病理協会が主導となり、分類や定義が議論されるに至り²⁾、腎病理による疾患概念についてのアップデートは進んでいないのが現状である。腎病理標準化を推進する意義のひとつもこのあたりにある。

疾患概念は、時代やテクノロジーの進歩によって変遷をたどるものである。このわかりやすい例として、リンパ腫の病理分類があげられよう。詳細は避けるが、リンパ球の集簇を個々の細胞の形態によってその特徴を記載した時代から、リンパ球マーカーの発見によって、細胞形質による分類、さらには発症に関連する遺伝子による疾患分類も一部では行われている。

腫瘍と腎生検病理診断は、基本的には新生物と炎症・変性という病理学の基本概念が異なるため同様にはできないが、観察者間の不一致が避けられない形態診断の pit fall を補うための客観的な指標が必要であり、遺伝子診断はそのひとつとして期待される。腫瘍の遺伝子変異の多くは体細胞変異であり、形態診断に加味して総合的に判断することが比較的容易であるという特性があるが、腎疾患では異なる。

腎病理診断における遺伝子検索のメリット

腎生検病理診断に遺伝子診断を含めるメリットは、正確に鑑別診断をすることと適切な治療法の選択にある。ここで重要なことは、疾患そのものの診断と病理組織診断が、腎疾患の種類によって意味するところが異なることであろう。例えば、Bartter 症候群や Gitelman 症候群は、以前は腎生検を行いその違いを記載することで疾患の診断に役立てようとする考えがあった。しかし現在では、遺伝子診断により疾患名が明らかになれば、腎生検診断は基本的には必要ない。治療の介入へのメリットという点では、先天性ネフローゼ症候群(CNS)があげられる。CNS に対して、腎生検を行っても確定診断には至らず、根拠なくわずかな期待を持ちながらステロイドを投与することもしばしばある。このような場合、例えばネフリン、ポドシン、WT1 などの変異がある場合には、ステロイド治療は行う必要がない、という決定ができる。

もう一つのメリットは、概念的ではあるが疾患分類の再構成が可能となる点である。例えば、Alport 症候群(AS)、CNS などは、最初の報告の記載が、原因分子の特定がなされないまま解釈を変えて広く適用されたという経緯がある。例えば、3 主徴が揃って臨床診断すべきものを、一部が不十分でも診断せざるをえないことがあり、その都度疾患のクライテリアの曖昧さが指摘されながらも、都合よく解釈され、病理診断がなされてきた。これらの疾患では、原因遺伝子が同定されて以来、疾患の概念と分類が変化している。

責任遺伝子が明らかな腎疾患はまだ少なく、多くが germline 変異を基盤とした先天性疾患であるため、責任遺伝子を病理診断に応用できる場合は限られている一方で、少しでも病理診断に客観性を持たせるために、現在臨床応用されているいくつかの例から、その方向性を考えることが必要である³⁾。

Alport 症候群の疾患概念と遺伝子診断

AS は、1927 年に Alport によって hereditary familial congenital hemorrhage nephritis として報告された、遺伝性進行性腎疾患である⁴⁾。その報告では、イギリスの 1 家系において、罹患男性は全例腎炎と難聴を認め、例外なく死に至った。一方、女性は難聴と血尿はあるものの、高齢になるまで生存した。この臨床的疾患概念は、Flinter らによって診断基準として、以下の 4 つのうち 3 つを満たすものとして

提唱された⁵⁾。

- 1) 血尿または慢性腎不全の家族歴があり、
- 2) 電子顕微鏡で糸球体基底膜に Alport 変化(基底膜の多層化 lamination)を認め、
- 3) 進行性の、高音域を中心とした難聴があり、
- 4) 眼の症状がある。

これらの診断基準は、家族歴の明らかな典型例であれば比較的容易に満たすと考えられる一方で、男性でも孤発例や、女性患者においては、診断項目を満足しないことも多く、AS と診断することは容易ではなかった。さらに、AS であっても、遺伝形式が異なると予後も異なることもわかり、遺伝子を軸として疾患を再分類する必要が出てきた。

Alport 症候群の原因遺伝子の発見

1970 年代に、4 型コラーゲンが腎臓、特に糸球体基底膜の構成成分であり、機能的にも重要な役割を果たすことが示され、次いで 4 型コラーゲンには $\alpha 1 \sim \alpha 6$ までであることがわかった。1990 年に、Hostikka は、 $\alpha 5$ 鎖は腎糸球体に強く限局し、その責任遺伝子 COL4A5 は X 染色体長腕に存在すること、X 染色体連鎖型(XLAS)患者では、糸球体膜に $\alpha 5$ 鎖が発現していないことを証明した⁶⁾。また同年に、XLAS は COL4A5 の変異により発症することが明らかになった。その後、常染色体劣性および優性の AS の責任遺伝子が 4 型コラーゲン $\alpha 3$ 鎖または 4 鎖をコードする遺伝子 COL4A3 または COL4A4 であることが、相次いで明らかにされた。

AS では、腎生検病理組織所見において、光学顕微鏡的には糸球体の虚脱、ボウマン嚢の肥厚やメサンギウム増殖、さらに癒着などとして認められる。電子顕微鏡的には、糸球体基底膜は、典型的な層状構造(basket weave, reticulation, splitting)を認める。また、間質には泡沫細胞浸潤を認めるという特徴があるが、これらは、疾患特異性がそれほど高くないことに加え、サンプリングに大きく依存するため、病理診断で AS と確定できないことも多い。現在では、遺伝子変異が蛋白の欠損であるということを利用し、4 型コラーゲンの各鎖に対する抗体が作製され、糸球体あるいは皮膚の蛍光抗体法による 4 型コラーゲンの染色態度が AS 病理診断に多大な貢献をしている^{7~9)}。

Alport 症候群の遺伝形式と病理診断

現在、遺伝形式に従って 3 つのタイプの AS が存在する

ことが知られている^{10~12)}。XLAS は全体の 85 % を占め、4 型コラーゲン $\alpha 5$ 鎖をコードする遺伝子 COL4A5 の異常で発症する。男性では 90 %、女性では 12 % が 40 歳までに腎不全に至る。常染色体劣性型 (ARAS) は約 15 % を占め、4 型コラーゲン $\alpha 3$ 鎖または $\alpha 4$ 鎖をコードする遺伝子 COL4A3 または COL4A4 のホモまたは複合ヘテロ接合体変異を有する場合に発症する。男女ともに重症であり、20 歳代には腎不全になる。常染色体優性型 (ADAS) は非常に稀であり、COL4A3 または COL4A4 のヘテロ接合体変異で発症する。この遺伝形式の違いは、蛍光抗体法によってある程度判別可能である。特に孤発例の場合には診断の手がかりとなる。XLAS では、 $\alpha 5$ 鎖、ARAS では $\alpha 3$ あるいは $\alpha 4$ 鎖を含む triple helix が形成されていないため、蛍光抗体で腎臓と皮膚に $\alpha 5$ 染色を行った場合、典型例においては、男性 XLAS の場合糸球体基底膜、ボウマン嚢、皮膚基底膜ともに陰性であり、女性 XLAS では、すべてにおいてモザイク状に染まる。しかし、典型的な染色性を呈さない場合もあることから、 $\alpha 5$ 鎖が男性で陰性または女性でモザイク状発現のある場合には XLAS との診断は可能であるが、陽性であっても否定することにはならない。

AS が疑われる男性患者で $\alpha 5$ 鎖の発現を認め、電顕で特徴的な基底膜の構造異常を認めない場合には、遺伝子検索を行うことで診断の補助になりうる。さらに、遺伝形式による臨床経過の違いは、遺伝子変異と疾患重症度との関連 (genotype-phenotype correlation) を解明する重要な糸口となり、今後、AS の疾患分類が遺伝子診断によりさらに詳細に規定される可能性が考えられる¹³⁾。このように、AS は、病理診断のなかに遺伝子変異に基づいた診断法が組み入れられたという意味で、成功した例である。

先天性ネフローゼ症候群の遺伝子診断

生後 1 年以内に発症したネフローゼ症候群 (NS) を乳児ネフローゼ症候群 (INS) といい、特に生後 3 カ月以内に発症したものを先天性ネフローゼ症候群 (CNS) と呼ぶ。CNS は、その原因から一般に原発性と二次性に分けられる。CNS には胎内で発症する場合と生後発症する場合があり、臨床所見や病理所見が異なる。

CNS には多くの疾患が含まれるが、腎生検病理所見は NS の発症年齢に大きく依存し疾患特異性は少ないため、形態診断のみでは正確に診断できない場合も多い。臨床的には、フィンランド型 (CNF) とフレンチ型 (DMS) の 2 つがよく知られており、責任遺伝子もそれぞれ同定されている。

一方で、CNS には、感染症に伴うものや微小変化型ネフローゼ症候群、巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS) など多くの原因があり、疾患により予後も経過も異なり、必ずしも臨床・病理ともに典型例ばかりでないこと、また、治療が奏効する疾患が含まれていることから、臨床病理学的所見以外の客観的な診断方法が必要である。

1. フィンランド型先天性ネフローゼ症候群 (CNF)

フィンランド型先天性ネフローゼ症候群 (CNF) は、フィンランドの家系にみられる CNS であり、ネフリンを原因遺伝子としている。ネフリンが同定されるまでは、巨大胎盤や羊水中の AFP 上昇、出生早期に NS となり、低ガンマグロブリン血症の結果として感染症を繰り返し腎機能は 4~5 年後に低下する、という特徴的な臨床所見から診断されていた。病理組織学的には、尿細管の嚢胞様拡張が特徴とされたが、NS に伴う二次性の特異性のない所見であることがわかり、CNF の診断はネフリン遺伝子異常によってなされるようになった。

ネフリンは 1998 年に Tryggvason らによって発見された NPHS1 遺伝子から翻訳されるタンパク質である¹⁴⁾。ヒト NPHS1 は、第 19 染色体 19q13.1 にある 29 のエクソンから構成される。現在まで、この遺伝子に欠失や挿入、ナンセンス、ミスセンス、スプライストサイト、プロモーター変異を含む、約 70 以上の NPHS1 遺伝子変異が報告されている。フィンランド人の CNF 症例では、Fin-major (エクソン 2 の 2 塩基欠損による終始コドン) か Fin-minor (エクソン 26 のナンセンス変異 R1109X) のどちらかを示す。一方、非フィンランド人の CNF では、ミスセンス変異を示す場合が多い¹⁵⁾。いずれにしても、現在では CNF と診断するためには (特にフィンランド以外では)、NPHS1 遺伝子変異を同定することが必要になっているわが国でも遺伝子検索が行われ数例発見されている^{16,17)}。NPHS1 の遺伝子変異がない場合には NPHS2 (ポドシン) に変異をみることもある。これらの遺伝子異常が判明した場合には、保存的治療あるいは腎移植の選択を考え、不要な免疫抑制薬投与は行わない。したがって出生直後に CNF と遺伝子診断された場合には、腎生検の必要がなくなる可能性もある。

2. びまん性メサンギウム硬化症 (DMS)

CNS あるいは INS の範疇の病気で、CNF と鑑別を要する疾患の代表は、びまん性メサンギウム硬化症 (diffuse mesangial sclerosis : DMS) である。DMS は、臨床的に CNF より遅れて発症し、発症時点ですでに腎機能低下を認め、速やかに腎不全に至るといった特徴がある。DMS には特徴的病理所見があるとされているが、進行性であるため、病変

には腎生検のタイミングなどが影響し、典型的所見を呈する場合は実際には少ない。したがって、形態学的には FSGS と鑑別できない場合もある。さらに、新生児期発症であっても典型的ではない発症様式を呈する症例もあり、また、月例や年齢が高くなるほど、鑑別に有用とされてきた病理像も修飾されて診断困難となる場合も少なくないため、疾患自体の診断に客観的指標が必要な疾患群である。

DMS は、Ruf らにより同定された WT1 (Wilms 腫瘍抑制遺伝子) が責任遺伝子である¹⁸⁾。WT1 遺伝子は染色体 11p13 に存在し、4 つの zinc finger 構造をもつ転写因子をコードし、DNA のプロモーター領域と結合して標的となる遺伝子発現を制御している。WT1 遺伝子産物の構造上の特徴は、alternative splicing によって第 3 と第 4 のフィンガー間に Lys-Thr-Ser (KTS) の 3 アミノ酸があるもの (+KTS) とないもの (-KTS) が存在し、それぞれの細胞内での機能は異なると考えられている。

WT1 の異常が関連する疾患を WT1 関連腎症と呼ぶが、Denys-Drash 症候群 (DDS)、Frasier 症候群、孤発性 DMS の 3 つのカテゴリーから成る。これらの診断は合併症を含む臨床情報と腎生検病理所見からなされるが、最近では WT1 遺伝子変異との関連が検討されており、将来的には疾患の診断に有力になると期待される。

1) Denys-Drash 症候群 (DDS)

DDS は、1) 乳児期発症の急性腎不全に進行する腎症、2) 男性仮性半陰陽などの性分化異常、3) Wilms 腫瘍、を 3 徴候とする症候群であり、病理学的には DMS を呈する。メサンギウム細胞の増加を伴わない網状のメサンギウム基質の増加を特徴とし、虚脱した係蹄の硬化を肥大したポドサイトが覆い、半月体は 20% に認められる。胎児期に腎形成が停止したことを示す未熟糸球体も認められる。DDS のほぼ全例に germline での WT1 遺伝子変異を認め、なかでも 2 番目と 3 番目の zinc finger をコードするエクソン 8、9 の領域がホットスポットとして知られ、ヘテロ接合体のミスセンス変異が報告されている。この変異蛋白は dominant negative に機能し、病態に関与すると考えられ、DDS の遺伝子診断は、まずこのホットスポットの解析が重要である。

2) Frasier 症候群 (FS)

FS は、進行性の腎症と男性仮性半陰陽を呈し、Wilms 腫瘍は合併しないと定義されている。腎症は DDS と比較して発症が遅く、進行も緩徐で、組織所見は FSGS を呈することが多いが、実際には DMS との鑑別は難しい。通常 2~6 歳に蛋白尿で発症し、治療抵抗性であり 20~30 代で腎不

全に至る。本疾患は WT1 遺伝子イントロン 9 の splicing donor site のヘテロ接合体変異による splicing 異常により、+KTS 産物/-KTS 産物の比の有意な減少が病態に関与すると考えられる。したがって、遺伝子診断に際してはこの領域も含めて検索する必要がある。

3) 孤発性 DMS

DDS と同様の腎症を呈するが、Wilms 腫瘍や性分化異常を伴わない症例のなかに WT1 遺伝子異常が検出される例がある。多くは核型 46XX であるが、DDS や FS との鑑別ができない。このような場合には、比較的広範な遺伝子検索が疾患の診断および DMS の病理診断にも意義を持つと考えられる。

DMS の責任遺伝子 WT1 は、ポドサイトにおけるネフリンの発現を制御していると考えられており、WT1 のヘテロ接合体のミスセンス変異を示す CNS 症例も存在する¹²⁾。

CNS に関しては、これ以外にラミニン $\beta 2$ 遺伝子異常が DMS を起こすことが報告されている¹⁹⁾。

WT1 遺伝子変異の検索は、乳幼児発症ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群で、腎病理所見が DMS や FSGS を呈する場合には、WT1 遺伝子を検索し異常が発見された場合には、大量のステロイド投与を回避できる。さらに、性分化異常の合併のスクリーニングや、Wilms 腫瘍の発症リスクの予見など、臨床的に意義が大きく、積極的に遺伝子解析を導入する必要がある。

現在わが国でも数施設で WT1 の遺伝子検索が行われており、いくつかの知見が得られている^{17,20~22)}。

若年性ネフロン癆の遺伝子検索

病理診断がきわめて難しい疾患の代表としてあげられるのがネフロン癆である。ネフロン癆は小児に多いとされるが、稀には成人にみられることもある。小児例では比較的わかりやすい臨床経過を示すが、成人例ではまず診断にたどり着くことは少ない。本症はおそらくヘテロな疾患の集団であり、腎髄質の嚢胞形成を特徴とする。組織学的には、尿細管の比較的大きな拡張と、不規則な budding や基底膜の消失などを特徴とするが、一方で嚢胞がみられず糸球体硬化と間質尿管炎を呈するだけの症例もある。すなわち、本症は、形態所見のみで診断するのは難しい場合が多く、また、遺伝子検索で診断に至った場合には、現状(腎病理組織の傷害度)がわからなくても、保存的治療は腎機能を参考にして行いうることから、客観的診断の根拠としての遺伝子検索に大きな意味がある。欧米では、この疾患を疑った

場合には、まず遺伝子検索を行い、確定できればメリットのない腎生検は行わない。

ネフロン癆の原因遺伝子には、乳児期に腎不全になる乳児ネフロン癆(NPH2)、それよりも遅く発症する若年性ネフロン癆(NPH1)、さらに遅く発症する思春期ネフロン癆(NPH3)があり、最近ではNPH4、NPH5なども同定されている^{23~26}。わが国においてもNPHP遺伝子変異を確認できたネフロン癆例の報告があるが²⁷、変異を調べる遺伝子の領域に限りがあるため、その部位に異常なしとされてもネフロン癆を否定することにはならない。またマウスでは、NPH以外にも、*inversin*などいくつかの遺伝子異常によりネフロン癆としての表現型を持つことから、ネフロン癆を強く疑っても、NPHに変異を認めない場合も多いと思われる²⁸。このような多様な遺伝子が類似した病態(病変)を呈する場合には、遺伝子検索も難しくなる。今後、各遺伝子異常のホットスポットの解析が進み、遺伝子変異と蛋白合成と病変の形成の相互関連が明らかになることで、この病理診断が困難な疾患の病理診断精度が向上するものと期待される。

おわりに

腎生検病理診断は、疾患自体の診断と疾患活動性の評価のために大変意義がある。これに対して、腎疾患での遺伝子変異は *germline* 変異、すなわち先天性であり、治療介入は難しいという特徴がある。この特徴は、疾患活動性を腎生検で評価する必要がない場合が少なくないことを示唆している。例えば、責任遺伝子が明らかになった *Bartter* 症候群や *Gitelman* 症候群などでは、腎生検診断をすることはむしろ稀であり、遺伝子診断が主流となっている。一方で、上記の *AS* や *CNS* などでは、先天性であったとしても家族性ではなく孤発例でも遺伝子変異で診断される場合もあるため、病理診断と遺伝子検索を行い、より診断の精度を高めることは意義があるものと考えられる。現状の組織評価による予後推定と、保存的治療の適応に腎病理診断は意義があると考えられる。また、*CNS* などに遺伝子診断を行うことは、その効果を望めない免疫抑制薬の投与を回避するなど、適切に患者を管理するうえで有用である。今後、腎生検の適応が見直されるとともに、臨床病理学的所見に加えて遺伝子検索を行い、これを集積することで一部の疾患においては形態による疾患概念が再編成される可能性も考えられる。

文献

1. Renal Disease : Classification and Atlas of the Glomerular Diseases, (ed) Churg and Sobin, Tokyo : Igakushoin, 1995.
2. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 204 15 : 241-250.
3. 長田道夫, 野津寛大, 中山真紀子, 飯島一誠. 小児腎疾患の遺伝子異常と病理 : Alport 症候群と WT1 関連腎症を例として. *病理と臨床* 2008 ; 26 : 898-903.
4. Alport AC. Hereditary familial congenital haemorrhage nephritis. *Br Med J* 1927 ; 1 : 504-506.
5. Flinter FA, Cameron JS, Chantler C, et al. Genetic of classical Alport's syndrome. *Lancet* 1988 ; 2 : 1005-1007.
6. Hostikka SL, Eddy RL, Byers MG, et al. Identification of a distinct type IV collagen alpha chain with restricted kidney distribution and assignment of its gene to the locus of X chromosome-linked Alport syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 1606-1610.
7. Yoshioka K, Hino S, Takemura T, et al. Type IV collagen alpha 5 chain. Normal distribution and abnormalities in X-linked Alport syndrome revealed by monoclonal antibody. *Am J Pathol* 1994 ; 144 : 986-996.
8. Nakanishi K, Yoshikawa N, Iijima K, et al. Immunohistochemical study of alpha 1-5 chains of type IV collagen in hereditary nephritis. *Kidney Int* 1994 ; 46 : 1413-1421.
9. Naito I, Kawai S, Nomura S, et al. Relationship between COL4A5 gene mutation and distribution of type IV collagen in male X-linked Alport syndrome. Japanese Alport Network. *Kidney Int* 1996 ; 50 : 304-311.
10. Jais JP, Knebelmann B, Giatras I, et al. X-linked Alport syndrome : natural history and genotype-phenotype correlations in girls and women belonging to 195 families : a "European Community Alport Syndrome Concerted Action" study. *J Am Soc Nephrol* 2003 ; 14 : 2603-2610.
11. Kashtan CE. Alport syndrome : phenotypic heterogeneity of progressive hereditary nephritis. *Pediatr Nephrol* 2000 ; 14 : 502-512.
12. Pescucci C, Mari F, Longo I, et al. Autosomal-dominant Alport syndrome : natural history of a disease due to COL4A3 or COL4A4 gene. *Kidney Int* 2004 ; 65 : 1598-1603.
13. Nozu K, Przybylski Krol R, Ohtsuka Y, et al. Detection of large deletion mutations in the COL4A5 gene of female Alport syndrome patients. *Pediatr Nephrol* 2008 ; 23 : 2085-2090.
14. Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998 ; 1 : 575-582.
15. Koziell A, Grech V, Hussain S, et al. Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Hum Mol Genet* 2002 15 ; 11 : 379-388.
16. Liu L, Aya K, Tanaka H, et al. Novel mutation in the nephrin gene of a Japanese patient with congenital nephrotic syndrome

- of the Finnish type. *Kidney Int* 2000 ; 57 : 401-404.
17. Sako M, Nakanishi K, Obana M, et al. Analysis of NPHS1, NPHS2, ACTN4, and WT1 in Japanese patients with congenital nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2005 ; 67 : 1248-1255.
 18. Ruf RG, Schultheiss M, Lichtenberger A, et al. Prevalence of WT1 mutations in a large cohort of patients with steroid-resistant and steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 564-570.
 19. Zenker M, Aigner T, Wendler O, et al. Human laminin beta2 deficiency causes congenital nephrosis with mesangial sclerosis and distinct eye abnormalities. *Hum Mol Genet* 2004 ; 13 : 2625-2632.
 20. Haruta M, Arai Y, Sugawara W, et al. Duplication of paternal IGF2 or loss of maternal IGF2 imprinting occurs in half of Wilms tumors with various structural WT1 abnormalities. *Genes Chromosomes Cancer* 2008 ; 47 : 712-727.
 21. Kanemoto K, Ishikura K, Ariyasu D, et al. WT1 intron 9 splice acceptor site mutation in a 46, XY male with focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol* 2007 ; 22 : 454-458.
 22. Tajima T, Sasaki S, Tanaka Y, et al. 46, XY phenotypic male with focal segmental glomerulosclerosis caused by the WT1 splice site mutation. *Horm Res* 2003 ; 60 : 302-305.
 23. Antignac C, Arduy CH, Beckmann JS, et al. A gene for familial juvenile nephronophthisis (recessive medullary cystic kidney disease) maps to chromosome 2p. *Nat Genet* 1993 ; 3 : 342-345.
 24. Haber DA, Buckler AJ, Glaser T, et al. An internal deletion within an 11p13 zinc finger gene contributes to the development of Wilms' tumor. *Cell* 1990 29 ; 61 : 1257-1269.
 25. Omran H, Fernandez C, Jung M, et al. Identification of a new gene locus for adolescent nephronophthisis, on chromosome 3q22 in a large Venezuelan pedigree. *Am J Hum Genet* 2000 ; 66 : 118-127.
 26. Mollet G, Salomon R, Gribouval O, et al. The gene mutated in juvenile nephronophthisis type 4 encodes a novel protein that interacts with nephrocystin. *Nat Genet* 2002 ; 32 : 300-305.
 27. Komatsuda A, Masai R, Wakui H, et al. Analysis of the NPHP genes in two Japanese patients with suspected sporadic juvenile or adolescent nephronophthisis. *Clin Nephrol* 2006 ; 65 : 364-369.
 28. Otto EA, Schermer B, Obara T, et al. Mutations in INVS encoding inversin cause nephronophthisis type 2, linking renal cystic disease to the function of primary cilia and left-right axis determination. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 413-420.