

特集：難治性ネフローゼ症候群

遺伝子異常に起因するネフローゼ症候群

飯島一誠*¹ 塚口裕康*²

はじめに

近年のゲノム解析の急速な発展に伴い、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(steroid resistant nephrotic syndrome : SRNS)の原因遺伝子が次々に明らかになった。ポドサイトスリット膜の主たる構成成分と考えられているネフリン(NPHS1)やポドシン(NPHS2)の変異がその代表例である。これらの遺伝学的研究はSRNSの発症にポドサイトの構成蛋白異常や機能異常が重要であることを示し、SRNSを“podocytopathy”と捉える新たな疾患概念も提唱されて、ネフローゼ症候群の病因研究は新たな局面を迎えている。

本稿では、これまで報告されたSRNSの原因遺伝子について概説するとともに、現在われわれが行っている日本人(東アジア人)特有のSRNS疾患遺伝子研究についても紹介する。

SRNSの責任遺伝子のオーバービュー

4週間のプレドニゾロン初期治療にても蛋白尿が消失しないネフローゼ症例を、ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(SRNS)と呼ぶ。小児SRNSの組織像は、微小糸球体変化、巣状分節性糸球体硬化症(focal segmental glomerulosclerosis : FSGS)、びまん性メサンギウム増殖に分類される。なかでもFSGSは、予後不良で小児期腎不全の原因の20%を占めている。

1990年代後半から欧州を中心に行われた家族性SRNSの疾患遺伝子探査の結果、SRNSを起こす疾患遺伝子が次々と明らかになっている(図1, 表)¹⁾。小児期に発症するSRNSは一般に常染色体劣性遺伝で、早期発症で腎不全へ

の進行も速い重症型の臨床経過を示すことが特徴である。常染色体劣性遺伝のSRNS疾患遺伝子(括弧内：コードする蛋白)としては、NPHS1(nephrin), NPHS2(podocin), LAMB2(laminin β 2), PLCE1(phospholipase C epsilon-1)が代表である。欧州の1歳以下SRNS 80例の変異解析によると、NPHS1, NPHS2, WT1, LAMB2の変異が原因の2/3を占めることが報告されている(それぞれ23%, 37%, 4%, 3%)²⁾。

これに対し常染色体優性遺伝を示すSRNS遺伝子は、一般に成人発症で緩徐に進行する臨床像を呈し、FSGSの組織像を呈する。典型的な優性SRNS遺伝子としては、ACTN4(α actinin-4), CD2AP(CD2-associated protein), TRPC6(transient receptor potential channel 6; TRPC6), MYH9(myosin heavy chain 9), IFN-2(inverted formin 2)がある。また優性の遺伝子のなかに、小児期SRNSと腎外症状の合併を伴うものがあり、LMX1B(LMX1B, 骨軟骨形成異常を合併), WT1(WT1, 尿路生殖器系の分化異常)が知られている。

家族性ネフローゼの疾患遺伝子産物は、いずれも濾過障壁を構成するスリットの構造の維持にかかわるという共通点をもつ(図1)。スリット膜を構成する蛋白、ポドサイト骨格を構成する蛋白、ポドサイトの恒常性を保つ蛋白、糸球体あるいは糸球体基底膜の発育・形成に関与することが知られている。実際に遺伝性ネフローゼ症候群に遭遇した場合は、遺伝様式、腎病理、合併症、発症年齢を参考にして鑑別を行う(図2)。疾患遺伝子の遺伝子検査は診断のみならず、治療反応性や予後の予測に有用である。

劣性遺伝のSRNS遺伝子

1. NPHS1 ネフリン

糸球体が微小変化(尿細管の囊状拡張を伴うことがある)を示す先天性ネフローゼ症候群は、北米に比してフィンラ

Molecular basis of hereditary nephrotic syndromes

*¹神戸大学大学院医学研究科内科系講座 小児科学分野こども発育学部門

*²関西医科大学医療情報部

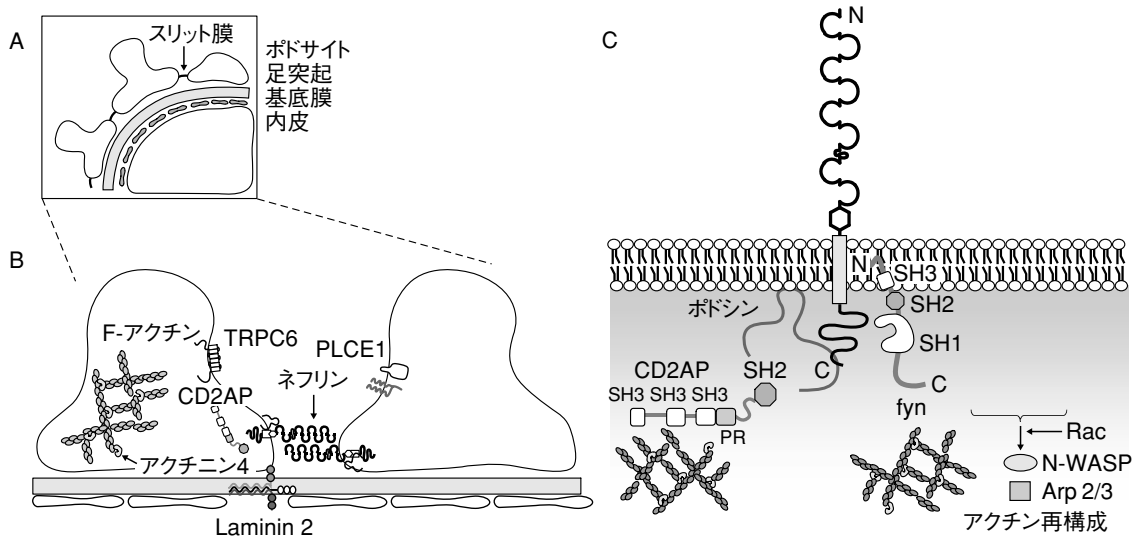


図 1 濾過障壁の構造とネフローゼ遺伝子

A, 糸球体の係蹄壁：血管内皮細胞, 基底膜 (GBM), 糸球体上皮細胞 (ポドサイト) の 3 要素より構成され, 血液濾過装置として機能する。血管内皮は有窓性構造をもつ。ポドサイトは細胞体から一次・二次突起を分岐し, さらに終末部は足突起 (foot process) となり, 近接するポドサイトの足突起が互いに陥入して特殊な濾過膜構造を構築する。また, 足突起は 25~50 nm の間隙にスリット膜と呼ばれる特殊な細胞間接着装置を形成し, 血中成分の濾過障壁として働く。

B, ネフローゼを起こす責任分子：ネフリンは, 8 つの免疫グロブリン (Ig) モチーフから成る免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子である。向かい合う双方の足突起から伸びる N 端側 6 つの Ig モチーフが互いに結合し, 足突起間のスリット (20~50 nm) を連結している。ポドシンは足突起でネフリンが挿入されるスリット膜基部の細胞質内において, アダプター蛋白やアクチン結合蛋白などの集積を促し, ネフリンの細胞接着装置の安定な足場を形成する。CD2AP はネフリンと会合して, 細胞接着やアクチン細胞骨格への連結を補助する以外に, エンドサイトーシスに関与する。TRPC6 はポドサイトに発現する TRP チャネルで, 働きは不明である。アクチニン 4 は, アクチン連結蛋白で, 足細胞の細胞質でアクチン束の安定化に働いている。成人の糸球体基底膜は, コラーゲン Col IV α 3,4,5 とラミニン 11 (α 5, β 2, γ 1) から構成される。

ポドサイトは神経細胞と同じく終末分化細胞であり, 再生しない。ポドサイト間の細胞接着あるいは, ポドサイトを支持する基底膜の異常はポドサイト傷害の引き金になるが, 一度細胞傷害を生じると修復されず, 糸球体から脱落し, 不可逆性の FSGS 病変を生じる。

C, ネフリンとスリット膜蛋白複合体：ネフリンの細胞質内領域には, ネフリンのチロシン残基のリン酸化に必要な, src family kinase Fyn が会合する。リン酸化されたネフリン細胞内領域には Nck アダプターが結合してアクチン制御因子をリクルートする。その結果, アクチン線維の再構築が促進され, ネフリン基部が足突起に安定に挿入されることにより, スリット膜の機能を維持する。CD2AP はポドシンを介して, ネフリン基部において蛋白複合体を形成し, ネフリンの足突起での構造安定性に寄与する。ポドシンは, ネフリンとネフリンに相互作用する分子群 (Fyn, CD2AP など) が効率良く会合するように足場を提供する。

ンドで約 5 倍の高頻度で多発することから, フィンランド型先天性ネフローゼ症候群と呼ばれる。フィンランド型先天性ネフローゼ症候群は, Alport 症候群と並んで最も古くから疾患遺伝子探索が行われてきた家族性糸球体疾患である。1998 年にフィンランド型先天性ネフローゼ症候群の疾患遺伝子 *NPHS1* が同定された。*NPHS1* がコードするネフリンは免疫グロブリン様構造をもつ 1241 アミノ酸から成る接着分子で, ポドサイト間のスリットを橋渡しする役目を有する (図 1)³⁾。ネフリンは, いわゆる濾過障壁のサイズバリアの構造基盤となる分子と考えられる。また, ネフリ

ンは単に細胞接着にかかわるだけでなく, リン酸化シグナルを介してポドサイトのアクチン細胞骨格を制御し, ポドサイトの発育や傷害後修復に関与することがわかっている。

ネフリン変異は北欧 SRNS のみでなく, 本邦を含めたアジア人でも見つかっている。ネフリン変異患者の典型例では, 出生前あるいは直後から重症のネフローゼを呈する。特にフィンランド人のネフリン変異の 70~80% を占める, truncation 型のネフリン変異^{注 1)}では重症型を示すことが多い。フィンランドでは地域の古い祖先にネフリン trunca-

表 遺伝性ネフローゼ症候群の分子病態と臨床所見

蛋白	遺伝子座	遺伝子	遺伝形式	障害される機能	臨床所見	OMIM
Nephrin	19q13.1	<i>NPHS1</i>	AR	スリット膜構造の破綻	フィンランド型先天性ネフローゼ症候群。生後 3 カ月以内に発症, 2~3 歳までに腎不全に進行	256300
Podocin	1q25-31	<i>NPHS2</i>	AR	同上	ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群 (SRNS)。組織像は巢状分節性糸球体硬化症 (FSGS) が多い。小児期に腎不全に進行。ヨーロッパでは AR 家族性 SRNS の 45 %, 散発例の 11 % を占める。	604766
CD2-associated protein	6p12	<i>CD2AP</i>	AD	同上	成人発症 FSGS	604241
TRPC6	11q21-22	<i>TRPC6</i>	AD	細胞内 Ca 調節障害によるポドサイト恒常性の破綻	遺伝性 FSGS。思春期, 成人期に蛋白尿出現。30 歳代以降に腎不全に進行	603652
α -actinin-4	19q13	<i>ACTN4</i>	AD	ポドサイト足突起の細胞骨格不安定	遺伝性 FSGS。思春期, 成人期に蛋白尿出現。40 歳代以降に腎不全に進行	604638
Formin	14q32	<i>IFN2</i>	AD	ポドサイト足突起の細胞骨格不安定	遺伝性 FSGS。思春期, 成人期に蛋白尿出現。40 歳代以降に腎不全に進行	613237
Myosin heavy chain 9	22q11.2	<i>MYH9</i>	AD	ポドサイト足突起の細胞骨格不安定	アフリカ系アメリカ人の FSGS の発症リスクに関与している。	
Laminin β 2	3p21	<i>LAMB2</i>	AR	糸球体基底膜構成成分の欠如	Pierson 症候群。生後すぐに発症し腎不全に進行。眼科的異常を伴うことが多い。	609049
WT1	11p13	<i>WT1</i>	a)	糸球体形成異常	Denys-Drash 症候群 (Wilms 腫瘍を伴う), Frasier 症候群, びまん性メサンギウム増殖 (DMS), あるいは FSGS の組織像	194080
LMX1B	9q34.1	<i>LMXB1</i>	AD	同上	Nail-patella 症候群。骨格と爪の形態異常を伴う。	161200
Phospholipase C epsilon-1 (PLCE1)	10q23.33	<i>PLCE1</i>	AR	同上	Truncating 変異は幼少児発症のネフローゼ症候群で組織型は DMS。ミスセンス変異は比較的発症年齢の高いネフローゼ症候群で, 腎不全への進行も比較的遅い。一部の患者は免疫抑制療法に反応する。	608414

AR: 常染色体劣性, AD: 常染色体優性, a): 大半の症例は散発例であるが, 常染色体優性遺伝形式のものもある。

注 1: ネフリンの遺伝子変異により蛋白の翻訳が早期に停止してしまい, 蛋白が短くなる。ネフリン変異 Fin-major では 90 アミノ酸, Fin-minor では 1109 アミノ酸となる。フィンランドのネフリン変異患者の 65 % は Fin-major のホモ接合体, 8 % は Fin-minor のホモ接合体, 残りは Fin-major/minor 間あるいは Fin-major/minor とミスセンス変異の複合ヘテロ接合体である。

tion 型遺伝子変異が起こり, それが子孫に受け継がれ集積してきた (創始者効果), フィンランド人には重症例の報告例が多いと考えられる。これに対しネフリン点突然変異患者のなかには, 微小変化群の病理組織像を呈して, 5~6 歳以降に発症する症例もみられる⁴⁾。また経過中に自然寛解

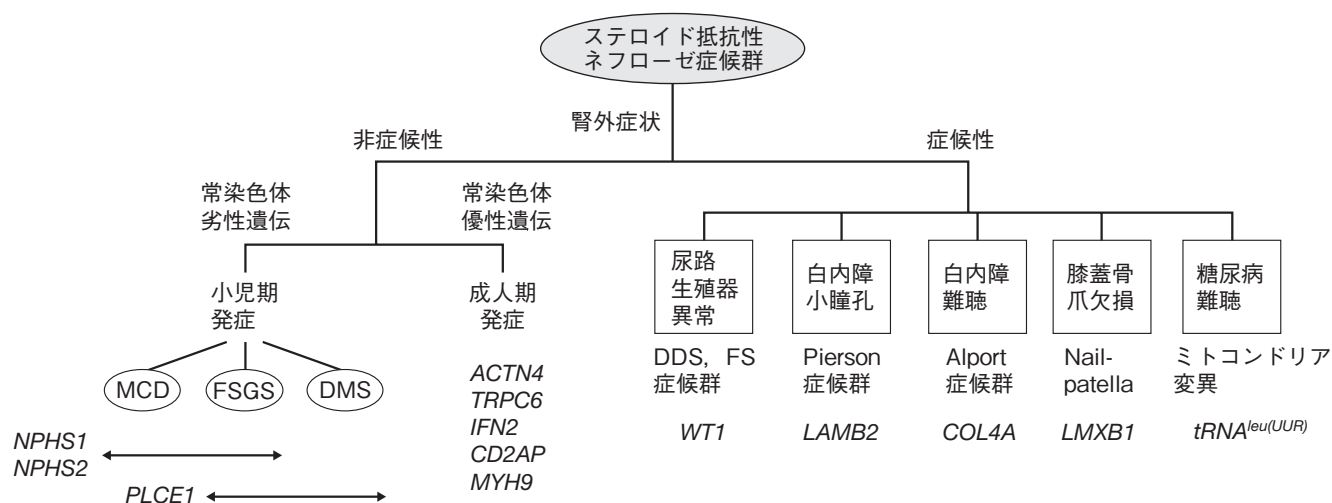


図 2 ステロイド抵抗性ネフローゼの遺伝診断フローチャート

腎外症状(腎尿路生殖器の異常, 眼症状, 難聴など, 骨症状など)の有無, 発症年齢, 遺伝様式(優性, 劣性), 組織像から疾患遺伝子を推測する。

したり, ACE 阻害薬やステロイド治療に反応する症例も報告されている⁵⁾。

2. NPFS2 ポドシン

NPFS2 は, 欧州, 北アフリカの劣性遺伝, 小児期 SRNS 症候群の疾患遺伝子として同定された⁶⁾。NPFS2 によりコードされるポドシンは 383 個のアミノ酸残基から成る細胞膜貫通型の蛋白である。発現はポドサイトに特異的で, スリット膜挿入部においてネフリンの基部に共局在している。

その機能は, ネフリンのシグナル伝達に必要な分子群の会合を助け, 複合体形成に基盤・足場を提供すると推測されている。線虫におけるポドシン相同性蛋白である mec-2 蛋白が, 触覚受容体を構成する Na チャネルの作用を増強する役割を果たしている現象と酷似している。ポドシン様蛋白は広く膜蛋白機能調整に重要であり, 進化の過程で多様な生体のニーズに対応するため機能分化を果たしたものと思われる。

その後の変異解析で, 小児のみならず, 成人の SRNS にも関与することが示されている。欧州では NPFS2 遺伝子変異は小児 SRNS の 25%, 成人 15% に関与し, FSGS の発症を規定する主遺伝子と位置づけられている^{7,8)}。しかし, 本邦の SRNS 症例では NPFS2 変異頻度が非常に少なく, われわれの自験例を含めて数症例程度ではないかと思われる⁹⁾。この明らかな SRNS 責任遺伝子の民族差は, 後述するアジア人の SRNS 家系の全ゲノムレベルでの疾患遺伝子探査を行う大きな動機づけとなった。

NPFS2 遺伝子変異を有する患者では, ステロイド療法や

種々の免疫抑制療法に抵抗性であり, さらに腎移植後の原病再発(ネフローゼ再発)も低頻度である(5%以下)ことから, ヨーロッパや米国では, ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の予後推定や治療法の選択をするうえで NPFS2 遺伝子診断が推奨されている^{7,8)}。

3. PLCE1 phospholipase C epsilon-1

びまん性メサンギウム硬化(diffuse mesangial sclerosis : DMS)や FSGS の組織像を示す小児期発症 SRNS 家系において, PLCE1 変異が報告された¹⁰⁾。その後, 平均 1 歳以下で発症する DMS 35 家系の追加変異解析で, 10 症例(29%)において truncating PLCE1 変異が同定されている¹¹⁾。早期発症の DMS 症例では WT1 と並んで有力な疾患候補遺伝子であると考えられる。phospholipase C e1 は, イノシトールシグナルを媒介する酵素であり, 糸球体発育に重要な役割を果たす可能性が示唆されるが, 腎における機能の詳細はまだ不明である。

PLCE1 変異には, 民族差と治療反応性の差異という 2 つの特徴がある。原著の症例¹⁰⁾や上記の DMS コホートの変異解析¹¹⁾をみると, 中東民族(トルコ, イスラエル, パキスタン)が圧倒的に多く, PLCE1 変異はすべて蛋白機能を廃絶する可能性の高い truncating 型変異であった。ヒスパニックで 2 つの PLCE1 変異が同定されているが, 今のところコーカシアンには報告がない。また一部の PLCE1 変異患者でステロイドやシクロスポリンに感受性を示すことが知られている¹⁰⁾。PLCE1 ミスセンス変異は軽症で, 治療反応性である可能性がある。

最近, PLCE1 のホモ接合体変異を有する患者が尿所見異

常を示さない事例も報告されている。また、phospholipase C e1 ノックアウトマウスは腎臓の異常を示さない。したがって、*PLCE1* 変異はネフローゼ症候群発症の責任遺伝子というより、感受性を規定する役割を果たしているとも考えられ¹²⁾、今後の症例の蓄積が待たれる。

4. *LAMB2* ラミニンβ2

早期発症の DMS と眼症状(小瞳孔、白内障・水晶体変形、網膜異常)を特徴とする劣性遺伝疾患群を Pierson 症候群と呼ぶ¹³⁾。Pierson 症候群は、ラミニンβ2 遺伝子 *LAMB2* 変異が原因である。ラミニンβ2 は、(α5, β2, γ1)の3つの鎖から成る細胞外基質糖蛋白で、基底膜コラーゲンとインテグリンやジストログリカン複合体と会合し、ポドサイト基底面を GBM に連結する。成人 GBM はラミニン 11 (α52, γ1)が主成分であり、*LAMB2* 変異により GBM の構造障害を生じると考えられる。

また、ラミニンβ2 は前眼房の虹彩の毛様体や乳頭筋・水晶体や、骨格筋の筋神経接合部に豊富にあるため、変異により眼症状や筋症状を合併する。早期終始コドンに伴う truncation 変異を有する Pierson 症候群は、小瞳孔や、それ以外にもなんらかの眼症状(斜視、眼振、低色素網膜)を示す。しかしミスセンス変異の場合は眼症状を伴わない場合がある¹⁴⁾。したがって *LAMB2* は、特徴的な眼病変を伴う先天性ネフローゼでは有力候補遺伝子であるが、たとえ眼病変がなくても鑑別候補遺伝子の一つとして考慮すべきである。

優性遺伝の SRNS 遺伝子

1. *ACTN4* アクチニン 4

米国とカナリー諸島の成人発症・優性遺伝 FSGS の大家系の解析で同定された¹⁵⁾。その後、欧米の FSGS 症例での変異の報告が散見されるが、アレル頻度は稀と考えられる。*ACTN4* は α-actinin-4 をコードするが、この α-actinin-4 は F-actin と架橋するポドサイトの細胞骨格蛋白の一つである。

Pollak ら¹⁵⁾は、FSGS 3 家系のミスセンス変異はアクチン結合領域(actin binding domain)から最初の桿状領域(first rod domain)をコードするエクソン 8 に集中しており、ホットスポットであると推測している。実際に発現実験で、エクソン 8 のミスセンス *ACTN4* 変異体は野生型より強固に F-actin と結合した。この事実は、アクチン結合領域近傍のアミノ酸置換が生物学的に細胞構造・機能に影響することを示唆している。

ACTN4 変異患者はなぜ成人発症で緩徐な臨床経過をとるのだろうか。おそらく *ACTN4* のミスセンス変異では糸球体構築に与える影響は比較的軽いために、成人になるまで症状が顕性化しないためと考えられる。このように *ACTN4* 優性ミスセンス変異は軽微な足突起構造異常を生じ、晩発性の FSGS の原因になると推測される。

2. *TRPC6* transient receptor potential (TRP) cation channel 6

Winn らは、成人発症ネフローゼ症候群の常染色体優性遺伝型のニュージーランドの大家系において陽イオンチャネル蛋白 *TRPC6* をコードする *TRPC6* 遺伝子の P112Q ミスセンス変異を同定した¹⁶⁾。同時に欧州・中米・アフリカ系米人優性遺伝 FSGS 5 家系、C 端 58 アミノ酸が欠失するナンセンス変異やミスセンス *TRPC6* 遺伝子変異が報告された¹⁷⁾。欧米における成人・優性 FSGS の原因としては、*TRPC6* 変異のほうが *ACTN4* 変異よりも多いと推測されている。10 歳以下の小児期発症 SRNS 患者を含む優性遺伝家系にも、*TRPC6* 変異が同定されている¹⁸⁾。小児アジア民族の SRNS では今のところ変異は見つかっていない。

TRPC6 は transient receptor potential (TRP) ファミリーに属する Ca 透過型・非特異的陽イオンチャネルである。*TRPC6* は肺や血管の平滑筋に豊富に発現しているが、腎においては糸球体(ポドサイト)と尿細管に発現している。ポドサイトスリット膜基部に局在し、ポドシンと会合することも示されている。

TRPC6 開口は、細胞膜のイノシトールリン酸代謝産物であるジアシルグリセロールにより活性化されるほか、細胞膜の伸展刺激によっても亢進し、機械刺激感知(mechanosensation)にも関与すると考えられる。ポドサイトにおいて、何を感知し、どのような効果をもたらすかについて、詳しい機序は不明である。*TRPC6* は Ca 流入シグナルを調節することにより足突起のアクチン再構築を制御しているのではないかという仮説が提唱されている。

TRPC6 変異体の発現実験では、健常対照に比し細胞表面へのチャネル発現が亢進し、アンジオテンシン II などのアゴニスト刺激によって Ca 流入シグナルは増強する、いわゆる機能亢進状態(gain of function)にあるという報告が多い²²⁾。これらの結果は、*TRPC6* 遺伝子変異によって過剰な陽イオン流入が生じ、ポドサイト傷害を引き起こす可能性を示唆している。ポドサイトにおける *TRPC6* の生理機能やポドシンの役割については、今後、検討を要する。

3. *MYH9* myosin heavy chain 9

従来からアフリカ系アメリカ人は白人に比較して腎硬化

症のリスクが約 2 倍高いことが知られていた。その人種特異的な疾患感受性は、アフリカ人特有のゲノム情報により規定されると考えられる。そこで米国の 2 グループは admixture linkage disequilibrium mapping (ALDM) と呼ばれる方法を用いて、アフリカ人 FSGS に特有の疾患感受性遺伝子マッピングを行った¹⁹⁾。

通常、家族例を用いた連鎖解析では候補領域は絞り込めども 20~30cM であり、その範囲にある遺伝数は膨大であり、責任遺伝子の同定は困難になる。一方、相関研究で得られる候補領域は 1~2cM と狭いが、スクリーニング時に用いるマーカー密度を高くしないと見逃しを生じる恐れがある。黒人がアメリカに移住して人類遺伝学的に 2 者のゲノム情報の混和が始まったのが比較的最近の 30~40 世代前といわれる。この結果、黒人特有のゲノム領域は 5~10cM の長さで、白人ゲノム領域に交互に散在している。この歴史的事実を黒人特有のゲノム領域の検出に利用したのが ALDM 法であり、少ないマーカー数で効率良く黒人特異的疾患遺伝子を検出できるという利点がある。

米国の 2 グループはともに、染色体 22 番のミオシン重鎖遺伝子 (nonmuscle myosin heavy chain 9) *MYH9* のイントロン SNP 多型 (アレル頻度 0.2~0.6 の common SNP) がアフリカ系アメリカ人の HIV に伴う FSGS および高血圧性末期腎不全の発症リスクを 2~4 倍高めることを見出した¹⁹⁾。*MYH9* は糸球体ポドサイトに発現している。疾患遺伝子多型はミオシン重鎖蛋白の凝集を促進するなどしてポドサイト細胞骨格の不安定化を引き起こし、FSGS のリスク因子となると考えられる。しかし *MYH9* 多型は糖尿病性腎症に伴う末期腎不全の発症には関与しておらず、原因疾患ごとに腎不全発症・進展にかかわる傷害機序が異なることが示唆される。

また *MYH9* 遺伝子の稀なエクソン部分の変異は、優性メンデル遺伝型の症候群である Epstein 症候群 (OMIM 153650; 巨大血小板減少症, 難聴, 腎症) の原因となることが知られている²⁰⁾。特に 702 番目のアルギニンコドンは変異のホットスポットである。腎症の発症機序は不明であったが、最近本邦の *MYH9* 遺伝子変異患者で幼少期から腎障害を呈した症例の腎病理レビューを行ったところ、FSGS 病変であることが報告された。この結果は *MYH9* の変異が多型が、ポドサイト傷害を介して FSGS 病変をきたすという仮説を支持するものである。

4. *INF2* フォルミン

Pollak らはカナダの成人発症・常染色体優性遺伝の FSGS 家系解析により、新規原因遺伝子 *INF2* (inverted

formin 2) を報告した²¹⁾。欧州、アフリカ系アメリカ人の FSGS 11 家系で、*INF2* ミスセンス変異が確認された。*INF2* 変異を有する患者はいずれも 10~20 歳で蛋白尿を発症し、30~50 歳で末期腎不全となっていた。蛋白尿はネフローゼレベルに至らない例が多く、また経過中、血尿や高血圧を合併する例もみられた点が特徴である。

INF2 はアクチン伸張末端のアクチンの核化 (nucleation) を制御し、細胞骨格の形成にかかわるフォルミンと呼ばれる蛋白ファミリーに属している。*INF2* は全身の臓器に発現しており、腎糸球体ではポドサイトにあり、スリット膜蛋白と共局在する。患者変異は *INF2* の diaphanous-inhibitory domain (DID 領域) をコードするエクソン 4 に集中していた。DID 領域は、フォルミンの自己機能調節や細胞内局在を司る重要な部分であるため、変異のホットスポットとなるものと考えられる。

これまで成人発症 FSGS には、アクチン細胞骨格の制御にかかわる分子 (α -actinin-4, ミオシン重鎖 9) の変異が関与することが示されてきた。足突起のアクチン細胞骨格が不安定になると、FSGS 発症のリスクが高まることを意味している。*INF2* 変異の発見は、糸球体係蹄構造の維持にアクチン細胞骨格が重要であるという見解を支持するものであり注目される。

5. *CD2AP* CD2 関連蛋白

CD2-associated protein (CD2AP) は元来 T リンパ球の表面受容体の細胞内アダプターとして単離され、免疫反応に重要と考えられていた。しかし *CD2AP* の欠損マウスが DMS を引き起こすことが報告され²²⁾、腎糸球体での機能が脚光を浴びる結果となった。

また、*CD2AP* ハプロ不全マウス (null アレルのヘテロ接合体マウス) では、ポドサイトのエンドサイトーシス活性と細胞内の小胞構造形成が低下していた²³⁾。6 週で大量の蛋白尿を呈して死亡する *CD2AP* 欠損マウスに比し、*CD2AP* ハプロ不全マウスは軽症であるが、9 カ月を超えるあたりから FSGS の前駆病変を思わせるメサンギウム細胞増殖、基質増生を認めた。電顕では、免疫沈着物が係蹄壁の内皮や上皮に出現しており、ポドサイトの細胞内への取り込み低下が沈着の原因ではないかと推測されている。非常に洞察力に富んだ仮説であるが、なぜ *CA2AP* の欠失でポドサイト傷害が起こるのか、その機序については不明な点が多く、いまだ推測の域を越えない。

小児発症のネフローゼ症例で *CD2AP* の早期終止コドン惹起変異のホモ接合体が同定された²⁴⁾。さらに成人 FSGS のイタリア人やアフリカ系アメリカ人の解析で *CD2AP* の

ミスセンス変異、アミノ酸欠失、イントロン部分の多型が報告されている。現在のところアジア人での *CD2AP* 変異の報告はない。ヒト FSGS における *CD2AP* の意義を明らかにするには更なる症例の蓄積が必要である。

6. *WT1* Wilms 腫瘍遺伝子

WT1 遺伝子変異による疾患には Denys-Drash 症候群と Fraiser 症候群の 2 つが知られている²⁵⁾、Denys-Drash 症候群は腎症 (DMS)、男性生殖器形成不全^{注2)}、および Wilms 腫瘍を 3 徴とし、*WT1* エクソン 8-9 のミスセンス変異 (R394W はホットスポット) によることが多い。変異 *WT1* は正常 *WT1* を抑制することにより (ドミナントネガティブ作用)、腎尿路・生殖器系の発育障害をきたすと考えられる。

一方、Denys-Drash 症候群に比して軽症の表現型、すなわち腎症は FSGS の組織像で、男性生殖器形成不全を伴うが Wilms 腫瘍は生じない一群があり、Fraiser 症候群と呼ばれる。Fraiser 症候群では、*WT1* イントロン 9 スプライスドナー部位の点変異が見つかることが多い。このスプライス変異は、生理的に存在する *WT1* スプライス亜型の量比の不均衡をきたす^{注3)}。明らかな *WT1* 変異蛋白の産生はなく、*WT1* の質的变化をきたすものではないため、軽症の表現型にとどまると思われる。

WT1 異常症は稀に 2~3 世代にわたる優性遺伝家系の報告もあるが、大部分が孤発性である。同じ *WT1* 変異を有する症例でも症状の程度にバリエーションがみられる。特に女性の Fraiser 症候群患者では、生殖器分化異常がなく孤発性の FSGS と区別のつかない例があり、診断に注意が必要である⁴⁾。

Hildebrandt ら²⁶⁾は、欧州小児腎研究グループで収集した孤発性 SRNS 115 例において 5~9% に *WT1* 遺伝子変異が検出されている、Niaudet らは孤発性 DMS の 17% に *WT1* 遺伝子変異を認めた、と報告している²⁷⁾。本邦においても、家族歴がなく腎形成や尿路異常を合併する DMS、FSGS の症例で比較的良好に経過される。*WT1* 異常症では経過中に Wilms 腫瘍を発症したり、腎摘時に前癌状態が見つかるこ

とがある。したがって、ステロイド治療の効果予測、腫瘍化リスク評価など、治療方針決定のために遺伝子診断の果たす役割は大きい。*WT1* 遺伝子は 10 個のエクソンから構成される。腎症を示す症例の遺伝子変異は C 端側の Zinc finger モチーフをコードするエクソン 8-9 に集中しているため、まずこの部分をスクリーニングすることが診断に有用である。

7. *LMX1B*

Nail-patella 症候群は爪形成不全と、膝蓋骨低・無形成、肘関節や腸骨の異形成などの骨関節障害を主徴とし、腎、眼症状を合併する優性遺伝疾患である (発症頻度は 1/50,000)²⁸⁾。膝蓋骨と肘関節症状はほぼ必発で、爪の変化も 80~90% に見られる。約 1/3 の症例に糸球体硬化をはじめとする糸球体病変を合併する。光顕レベルでは、疾患特異的な所見を欠くため、電顕の基底膜病変の観察が診断の有力な手がかりとなる。基底膜の虫食い像 (緻密層を横断する線維状コラーゲン束沈着を伴う不規則な菲薄化) が観察される。タンニン染色でコラーゲンの沈着はより明確となる。発症年齢は早期発症から晩発性のものまで幅が広いが、約 1/3 の症例が平均 30 歳前後に腎不全に至る。

LIM ホメオドメイン転写因子である *LMX1B* 遺伝子が本症の原因であり、本邦症例を含めて 80 を超える遺伝子変異が報告されている²⁹⁾。*LMX1B* は、体肢の形成制御に働くことに加え、腎糸球体においてはポドサイト蛋白 (ネフリン、ポドシン、*CD2AP*) や基底膜成分 Col IVa 3、4 の発現を調節する³⁰⁾。*LMX1B* ノックアウトマウスでは、ポドサイト足突起は未熟な立方形で、スリット膜もなく発育障害を生じており、さらに基底膜にも断裂が観察される。ヒト *LMX1B* 変異を有する患者では、ポドサイトや基底膜構造に必要な分子の発現調節に異常をきたし、濾過膜構築の乱れが糸球体硬化の原因になると考えられている。

その他の遺伝子変異

ミトコンドリア症 (mitochondriopathy)

ミトコンドリアの機能異常は、細胞のエネルギー産生が低下するために全身にさまざまな臓器症状が起こり、ミトコンドリア症と呼ばれている。ミトコンドリア症は、ミトコンドリア DNA やミトコンドリア蛋白をコードする核 DNA (細胞核内にある DNA) の異常のいずれでも起こる。ミトコンドリア症の最初の徴候が腎糸球体に起こり FSGS をきたすことが知られている。

ミトコンドリア DNA の *tRNA^{leu(UUR)}* 遺伝子 (ロイシンを

注 2: 46XY で精巣を有するが外生殖器が女性型であったり、男性化があっても不完全で停留睪丸や尿道下裂を伴う。

注 3: エクソン 9 の C 端側 3 アミノ酸 リジン-スレセオニン-リンの有無で、KTS+/- と略される 2 種類のスプライス亜型が存在し、正常では KTS+型が KTS-型より優位である (KTS+/KTS-比は > 2 に保たれている)。

Fraiser 型スプライス変異があると KTS+/KTS- < 2 となる。KTS-型が過剰になる。その結果、相対的に正常に存在する KTS+型のハプロ不全となり、*WT1* 機能障害を生じると考えられる。

ペプチドに付加する tRNA) の A3243G 変異は FSGS 病変をきたす³¹⁾。典型例では難聴, 糖尿病, てんかん, 筋症状, 尿細管障害 (Fanconi 症候群) などを合併し, いわゆる “syndromic FSGS” の場合はミトコンドリア症を疑う。母系遺伝形式であればさらにミトコンドリア症の疑いは濃厚となるが, 同じ遺伝子変異を有する家系メンバーでも臓器障害の分布や重症度には個体差があり, 注意を要する。しかし合併症のない “non-syndromic FSGS” でも *tRNA^{leu(UUR)}* 遺伝子変異が報告されているので注意を要する。

また最近, ミトコンドリア呼吸鎖の CoQ10 カスケードの酵素をコードする核 DNA, すなわち *COQ2* 遺伝子, *PDSS* (prenyl diphosphate synthetase subunit 2) 遺伝子の異常によって FSGS や collapsing glomerulopathy を起こすことが報告された³²⁾。これらの結果は, ミトコンドリア機能異常がポドサイト障害を起こし糸球体硬化に至ることを示唆している。

アジア民族の小児 SRNS 疾患遺伝子の探索

欧州多施設 SRNS コホートの変異解析では, 常染色体劣性遺伝の家族性 SRNS の約 40%, 非家族性の SRNS でも約 10% に *NPHS2* の遺伝子変異が検出されている。したがって欧州では, *NPHS2* の遺伝子変異はアレル頻度が高く, SRNS の主遺伝子と目されているため, SRNS の予後推定や治療法の選択をするうえで *NPHS2* 遺伝子診断が推奨されている^{7,8)}。

われわれ³³⁾は, 本邦の非家族性 FSGS 症例で, ①腎疾患の家族歴がない, ②16 歳未満の発症, ③SRNS あるいは高度蛋白尿で慢性腎不全を呈する, ④FSGS, 微小変化あるいはびまん性メサンギウム増殖のいずれかの腎生検所見を呈する, ⑤腎移植を受けた場合には, 移植後再発を認めない, を満たす 36 例について *NPHS2* 変異を検討した。しかし, 病因になりうる *NPHS2* 変異はなかった。

さらに, 日本, 韓国の家族性 FSGS 症例 ①3 カ月から 10 歳までに発症, ②15 歳までに末期腎不全に進行, ③常染色体劣性遺伝に矛盾しない複数の SRNS 患者が家系内に存在する, ④FSGS あるいは微小変化のいずれかの腎生検所見を呈す, ⑤移植例では移植後再発を認めない, という条件を満たす 15 家系を対象として *NPHS1*, *NPHS2*, *Neph1* の変異解析を行った。しかし, 3 遺伝子に変異はなかった³⁴⁾。

すなわち, アジア民族の SRNS では欧米の FSGS 病因遺伝子は関与していないと考えられる。なぜこのような民族

間差異を生じるのであろうか。欧州の症例で *NPHS2* 変異が多い理由として, 人類の歴史において, アジアとコーカシアン民族が分かれた後に, コーカシアン民族の祖先に *NPHS2* 変異が起こった可能性が考えられる。例えば, 同地区に在住のアラブ人 SRNS では *NPHS2* 遺伝子変異を高頻度に認めるが, ユダヤ人には変異がない³⁵⁾。イタリア, ドイツやイスラエルの症例にみられる *R138Q* や *R138X* 変異は, ハプロタイプ解析をすると共通した祖先に由来することがわかった³⁶⁾。

したがって, 共通の祖先を共有する民族グループ内には, いわゆる創始者効果によって患者間に共通した *NPHS2* 遺伝子異常が出現する可能性がある。その典型例が *R229Q* である。*R229Q* はブラジル人やコーカシアン健常人のなかに 1.6~3.6% のアレル頻度で存在している。孤発, 家族性 FSGS 家系で, *R229Q* との複合ヘテロ接合体が観察され, FSGS 発症のリスクを高める感受性遺伝子として機能すると推測されている³⁷⁾。しかし日本人健常対照では *R229Q* の頻度は <0.1% であり, アジア人はコーカシアンと異なる特有の疾患遺伝子を有すると思われる。

今後, わが国の SRNS の病因を突き止めるためには, (東アジア) 固有の SRNS 原因遺伝子を同定することが必要となる。筆者は, 上記の 16 家系を対象に, マイクロサテライトと SNP アレイを併用したゲノムワイド連鎖解析による疾患遺伝子探索を行った。その結果, いくつかの候補座位を同定した。その一つは, 孤発例を含めた解析で最大 LOD 値 >5.7 を示しており, 発症に主な役割を演じる遺伝子が存在すると推測される。候補領域 (約 3.5 Mb) には, 30~50 程度の既知の遺伝子が存在しており, 原因遺伝子を探索中である。

おわりに

ここ数年の SRNS および FSGS 責任遺伝子探索研究はヨーロッパ主導で行われてきた。しかしわれわれの検討では, わが国における FSGS 症例ではそのような既知の責任遺伝子変異が主たる病因ではなく, アジア特有の病因遺伝子あるいは病態関連遺伝子が存在する可能性が高い。欧州を中心とした家族性 SRNS の解析でも 60% は原因がいまだ不明である。今後, 遺伝子同定のために本邦の症例を臨床的, 遺伝学的に体系的に解析しスクリーニングすることが重要である。

また, FSGS 症例の 30~40% は移植後再発することが知られている³⁸⁾。このような症例では腎外の要因, 特に全身

性循環因子の存在が疑われ、その実体解明も重要な課題である。

謝 辞

アジア人の SRNS 症例の遺伝子解析は、ソウル小児病院 Hae Il Cheong 教授、徳島大学腎臓内科 土井俊夫教授、同小児科 香美祥二教授、北村明子博士ら、また日韓の患者、ご家族、および共同研究者の協力により行われたものです。ここに深謝申し上げます。

文 献

1. Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J. Hereditary proteinuria syndromes and metabolisms of proteinuria. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 1387-1401.
2. Hinkes BG, Mucha B, Vlangos CN, et al. Nephrotic syndrome in the first year of life : two thirds of cases are caused by mutations in 4 genes (*NPHS1*, *NPHS2*, *WT1*, and *LAMB2*). *Pediatrics* 2007 ; 119 : e907-914.
3. 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.
4. Philippe A, Nevo F, Esquivel EL, et al. Nephrin mutations can cause childhood-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2008 ; 19 : 1871-1878.
5. Shono A, Tsukaguchi H, Kitamura A, et al. Predisposition to relapsing nephrotic syndrome by a nephrin mutation that interferes with assembly of functioning microdomains. *Hum Mol Genet* 2009 ; 18 : 2943-2956.
6. Boute N, Gribouval O, Roselli S, et al. *NPHS2*, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000 ; 24 : 349-354.
7. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, et al. *NPHS2* mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004 ; 66 : 571-579.
8. 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.
9. Kitamura A, Tsukaguchi H, Maruyama K, et al. Steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 1209-1215.
10. Hinkes B, Wiggins RC, Gbadegesin R, et al. Positional cloning uncovers mutations in *PLCE1* responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nat Genet* 2006 ; 38 : 1397-1405.
11. Gbadegesin R, Hinkes BG, Hoskins BE, et al. Mutations in *PLCE1* are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23 : 1291-1291.
12. Gilbert RD, Turner CL, Gibson J, et al. Mutations in phospholipase C epsilon 1 are not sufficient to cause diffuse mesangial sclerosis. *Kidney Int* 2009 ; 75 : 415-419.
13. Zenker M, Tralau T, Lennert T, et al. Congenital nephrosis, mesangial sclerosis, and distinct eye abnormalities with microcoria : an autosomal recessive syndrome. *Am J Med Genet A* 2004 ; 130 : 138-145.
14. Hasselbacher K, Wiggins RC, Matejas V, et al. Recessive missense mutations in *LAMB2* expand the clinical spectrum of *LAMB2*-associated disorders. *Kidney Int* 2006 ; 70 : 1008-1012.
15. Kaplan JM, Kim SH, North KN, Pollak MR, et al. Mutations in *ACTN4*, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000 ; 24 : 251-256.
16. Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, et al. A mutation in the *TRPC6* cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 2005 ; 308 : 1801-1804.
17. Reiser J, Polu KR, Möller CC, et al. *TRPC6* is a glomerular slit diaphragm-associated channel required for normal renal function. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 739-744.
18. Heeringa SF, Möller CC, Du J, et al. A novel *TRPC6* mutation that causes childhood FSGS. *PLoS One* 2009 ; 4 : e7771.
19. Kopp JB, Smith MW, Nelson GW, et al. *MYH9* is a major-effect risk gene for focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2008 ; 40 : 1175-1184.
20. Arrondel C, Vodovar N, Knebelmann B, et al. Expression of the nonmuscle myosin heavy chain II A in the human kidney and screening for *MYH9* mutations in Epstein and Fechtner syndromes. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 65-74.
21. Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ, et al. Mutations in the formin gene *INF2* cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 72-76.
22. Shih NY, Li J, Karpitskii V, et al. Congenital nephrotic syndrome in mice lacking *CD2*-associated protein. *Science* 1999 ; 286 : 312-315.
23. Kim JM, Wu H, Green G, et al. *CD2*-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 2003 ; 300 : 1298-1300.
24. Löwik MM, Groenen PJTA, Pronk I, et al. Focal segmental glomerulosclerosis in a patient homozygous for a *CD2AP* mutation. *Kidney Int* 2007 ; 72 : 1198-1203.
25. Jeanpierre C, Denamur E, Henry I, et al. Identification of constitutional *WT1* mutations, in patients with isolated diffuse mesangial sclerosis, and analysis of genotype/phenotype correlations by use of a computerized mutation database. *Am J Hum Genet* 1998 ; 62 : 824-833.
26. Ruf RG, Schultheiss M, Lichtenberger A, Hildebrandt F ; APN study Group, 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.
27. Niaudet P, Gubler MC. *WT1* and glomerular diseases. *Pediatr Nephrol* 2006 ; 21 : 1653-1660.
28. Sweeney E, Fryer A, Mountford R, et al. Nail patella syndrome : a review of the phenotype aided by developmental biology. *J Med Genet* 2003 ; 40 : 153-162.

29. Sato U, Kitanaka S, Sekine T, et al. Functional characterization of LMX1B mutations associated with nail-patella syndrome. *Pediatr Res* 2005 ; 57 : 783-788.
30. Miner JH, Morello R, Andrews KL, et al. Transcriptional induction of slit diaphragm genes by Lmx1b is required in podocyte differentiation. *J Clin Invest* 2002 ; 109 : 1065-1072.
31. Jansen JJ, Maassen JA, van der Woude FJ, et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene associated with progressive kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 1997 ; 8 : 1118-1124.
32. Diomedes-Camassei F, Di Giandomenico S, Santorelli FM, et al. COQ2 nephropathy : a newly described inherited mitochondrialriopathy with primary renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 2773-2780.
33. Maruyama K, Iijima K, Ikeda M, et al. NPHS2 mutations in sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatr Nephrol* 2003 ; 18 : 412-416.
34. Kitamura A, Tsukaguchi H, Iijima K, et al. Genetics and clinical features of 15 Asian families with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2006 ; 21 : 3133-3138.
35. Frishberg Y, Rinat C, Megged O, et al. Mutations in NPHS2 encoding podocin are a prevalent cause of steroid-resistant nephrotic syndrome among Israeli-Arab children. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 400-405.
36. Karle SM, Uetz B, Ronner V, et al. Novel mutations in NPHS2 detected in both familial and sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13 : 388-393.
37. Tsukaguchi H, Sudhakar A, Le TC, et al. NPHS2 mutations in late-onset focal segmental glomerulosclerosis : R229Q is a common disease-associated allele. *J Clin Invest* 2002 ; 110 : 1659-1666.
38. Hattori M, Akioka Y, Chikamoto H, et al. Increase of integrin-linked kinase activity in cultured podocytes upon stimulation with plasma from patients with recurrent FSGS. *Am J Transplant* 2008 ; 8 : 1550-1556.