

特集：遺伝性腎疾患

# ネフローゼ症候群と遺伝子異常

The genetic basis of nephrotic syndrome

塚口裕康

Hiroyasu TSUKAGUCHI

## 要旨

進行性腎疾患の早期発見，治療，および予防策の推進は，国民の健康向上の柱となる重要課題である。しかし難治性腎疾患の多くの原因が不明であり，根本的治療法の開発は遅れている現状にある。疾患を克服し原因分子に標的を絞った治療や予防方策を実現するには，まず病因となる分子の実体を明らかにする必要がある。このような観点から，われわれは難治性腎疾患のなかでもステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(steroid-resistant nephrotic syndrome : SRNS，組織病名は主として巣状分節性糸球体硬化症 focal segmental glomerulosclerosis : FSGS)に焦点を当て，原因疾患遺伝子の探索と分子機序の解明に取り組んでいる。

本稿では最近の知見と動向について概説する。

## はじめに

原発性ネフローゼ症候群の約20% (小児発症10～20%，成人発症35%)がステロイド治療に抵抗し，約50%は腎不全に進行する。これらの一群は臨床的にステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(SRNS)と呼ばれている。SRNSの主な腎組織病理像は，巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)である。FSGSはさまざまな傷害因子が糸球体毛細血管係蹄構造に加わった結果，共通に生じる非可逆的な最終病変と考えられる。遺伝子異常以外にも，感染，免疫異常，薬剤，腎血行動態，肥満など，多種多様な要因がFSGS発症に関与している<sup>1)</sup>。したがって大部分のFSGSは多因子性疾患であり，家族歴を認めない孤発性の発症パターンを

示す。しかし1～2割のFSGSは遺伝子異常が原因で発症する。臨床的に優性遺伝，劣性遺伝，X連鎖の3つの様式に従う家系内疾患集積が観察される症例は，単一遺伝(メンデル遺伝)型SRNSあるいはFSGSと呼ばれる。

メンデル遺伝型SRNSで見られる腎組織病変は，日常診療で遭遇する，いわゆる多因子が関与して発症するFSGSと外見上区別がつかない。したがってメンデル遺伝型SRNSの頻度は稀であるが，複雑なFSGS病態を単純化する貴重な疾患モデルといえる。実際にそのベースにある単一遺伝異常の発見を契機にして，糸球体硬化の発症進展にかかわる新たなメカニズムが明らかにされつつある。特に，最近数年間で次世代シーケンズ技術とヒトゲノムデータベースが飛躍的に進歩し，単一遺伝病型・家族性SRNSの原因遺伝子の解明は一気に加速している<sup>2)</sup>。本稿では，このようなゲノム医学を駆使して得られた最近のSRNS研究の知見について概説する。

## SRNS 遺伝子の分子病態

メンデル遺伝型SRNSの家系解析の結果，29個以上のSRNS疾患遺伝子が同定されている(表)。疾患遺伝子産物の機能から分類すると，①スリット膜を構成する分子群，②足突起アクチン細胞骨格，③核膜構造あるいは核内転写因子，④ミトコンドリア呼吸鎖，⑤足突起・基底膜間の連結，に分類できる(図1)。ポドサイトは腎濾過装置の中で常に濾過圧ストレスに曝される特殊な環境下におかれた細胞である(図1a)。そのうえに再生しない終末分化細胞であるため，細胞機能・構造を傷害する遺伝子変異を生じれば，補修が効かずFSGS病変に進展する。実際にFSGS疾患遺伝子産物の多くが，ポドサイトの細胞間接着装置(スリット膜)や細胞骨格に集中していることは，ポドサイト

表 ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の原因遺伝子群の機能別分類

遺伝子名	蛋白質	OMIM	遺伝様式	発症年齢	特徴
I スリット膜 関連					
<i>NPHS1</i>	Nephrin	256300	AR	1歳未満～5歳	フィンランドに多いが、本邦の先天性ネフローゼ症候群の主因である。
<i>NPHS2</i>	Podocin	600995	AR	3カ月～10歳	欧米の家族例の3～4割の原因となるが、日本には稀
<i>PLCE1</i>	Phospholipase E1	610725	AR	1歳未満～5歳	DMSを呈する。軽症変異では免疫抑制薬に反応
<i>CD2AP</i>	CD2-associated protein	600995	AR(AD)	1歳～成人	KOマウスの腎障害から偶然に見つかった。ヒト家系は稀
<i>PTPRO</i>	Protein tyrosine phosphatase receptor-O	600579	AR	5～15歳	Glomerular epithelial protein-1(GLEPP1), トルコ2家系のみ
<i>TRPC6</i>	Transient receptor potential cationic channel	603965	AD	1歳～成人	優性遺伝子としては <i>INF2</i> に次いで頻度が高い。
II アクチン 細胞骨格					
<i>ACTN4</i>	$\alpha$ -actinin-4	600995	AD	3歳～成人	欧米では優性遺伝子としては <i>INF2</i> , <i>TRPC6</i> に次いで多い。
<i>INF2</i>	Inverted formin 2	613237	AD	10～50歳	欧米では優性遺伝子の10～15%を占め、原因のトップである。末梢神経症 CMTDIE(OMIM 614455)の合併あり。
<i>ARHGDI1A</i>	Rho-GDP dissociation inhibitor	615244	AR	1歳未満～2歳	2家系に報告あり。KOホモ接合マウス FSGS
<i>ARHGAP24</i>	Rho GTPase activating protein 24	610586	AD	10～20歳	欧州の症例で複数の塩基多型が見つかっている。
<i>MYH9</i>	Non-muscle myosin heavy chain 9	153650	AD	20～40歳	巨大血小板, 難聴, (白内障, 白血球封体)
<i>MYO1E</i>	Non-muscle myosin 1E	614131	AR	1～10歳	2家系に報告あり。KOホモ接合マウス FSGS
<i>ANLN</i>	Anillin, actin binding protein	616032	AD	10～70歳	2家系に報告あり。
III 転写因子					
<i>WT1</i>	WT suppressor gene 1	194080	AD	1歳未満～青年	Denys-Drash syndrome [MIM 194080] (Wilms腫瘍)
<i>PAX2</i>	Paired box gene 2	616002	AD	1歳未満～成人	Fraiser syndrome [MIM 136680] (Gonadoblastoma)
<i>LMX1B</i>	LIM homebox transcriptional factor 1B	161200	AD	10～30歳	Papillorenal syndrome, 腎低形成・CAKUTからFSGSまで幅が広い
<i>SMARCA1</i>	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a-like 1	606622	AD	1歳未満～青年	Nail patella syndrome (爪異形成), 膝蓋骨欠損
<i>NXF5</i>	Nuclear RNA export factor 5	300319	XR	1歳未満～学童	Schimke immunosseous dystrophy, T細胞免疫不全, 脊椎骨異形成
<i>LMNA</i>	Lamin A/C	151660	AD	1歳未満～学童	1家系のみ 心伝導障害を合併
IV 基底膜連結					
<i>LAMB2</i>	Laminin beta 2	609049	AR	1歳未満	Partial lipodystrophy を示す患者の一部に FSGS
<i>CD151</i>	Tetraspanin	609057	AR	1歳未満	Pierson syndrome, 小瞳孔, 網膜変性, 剥離
<i>ITGA3</i>	Integrin alpha 3	614748	AR	1歳未満	表皮水疱症, 幽門狭窄合併1例のみ
V ミトコン ドリア					
<i>COQ2</i>	p-hydroxybenzoate-polyphenyltransferase	607426	AR	1歳未満～学童	間質性肺障害, 表皮水疱症
<i>COQ6</i>	Coenzyme Q10 biosynthesis monooxygenase 6	614650	AR	1歳未満～10歳	てんかん, 神経発達遅滞の合併あり。
<i>PDSS2</i>	Prenyl(decaprenyl) diphosphate synthetase subunit 2	607429	AR	1歳未満～学童	難聴, 神経発達遅滞の合併あり。
<i>MTTL1</i>	Mitochondrial tRNA encoding tRNA leucine 1	590050	Maternal	幼児～	Leigh脳症(大脳, 脳幹の壊死性病変)との合併
VI その他					
<i>ADCK4</i>	aarF domain containing kinase 4	615573	AR	10～30歳	FSGSのみの症例から、神経(MELAS), 糖尿病, 難聴, 心筋症などの全身合併症まで多彩な表現型
<i>SCARB2</i>	Scavenger receptor class B 2	254900	AR	15～25歳	神経症状の合併はない。
<i>APOL1</i>	Apolipoprotein L1	612551	AR	成人	ライソゾーム膜蛋白の異常によりミオクロームアスターを合併

AD : autosomal dominant (常染色体優性遺伝), AR : autosomal recessive (常染色体劣性遺伝), XR : X-linked recessive (X染色体劣性), Maternal : 母系遺伝  
CAKUT : congenital anomalies of kidney and urinary tract

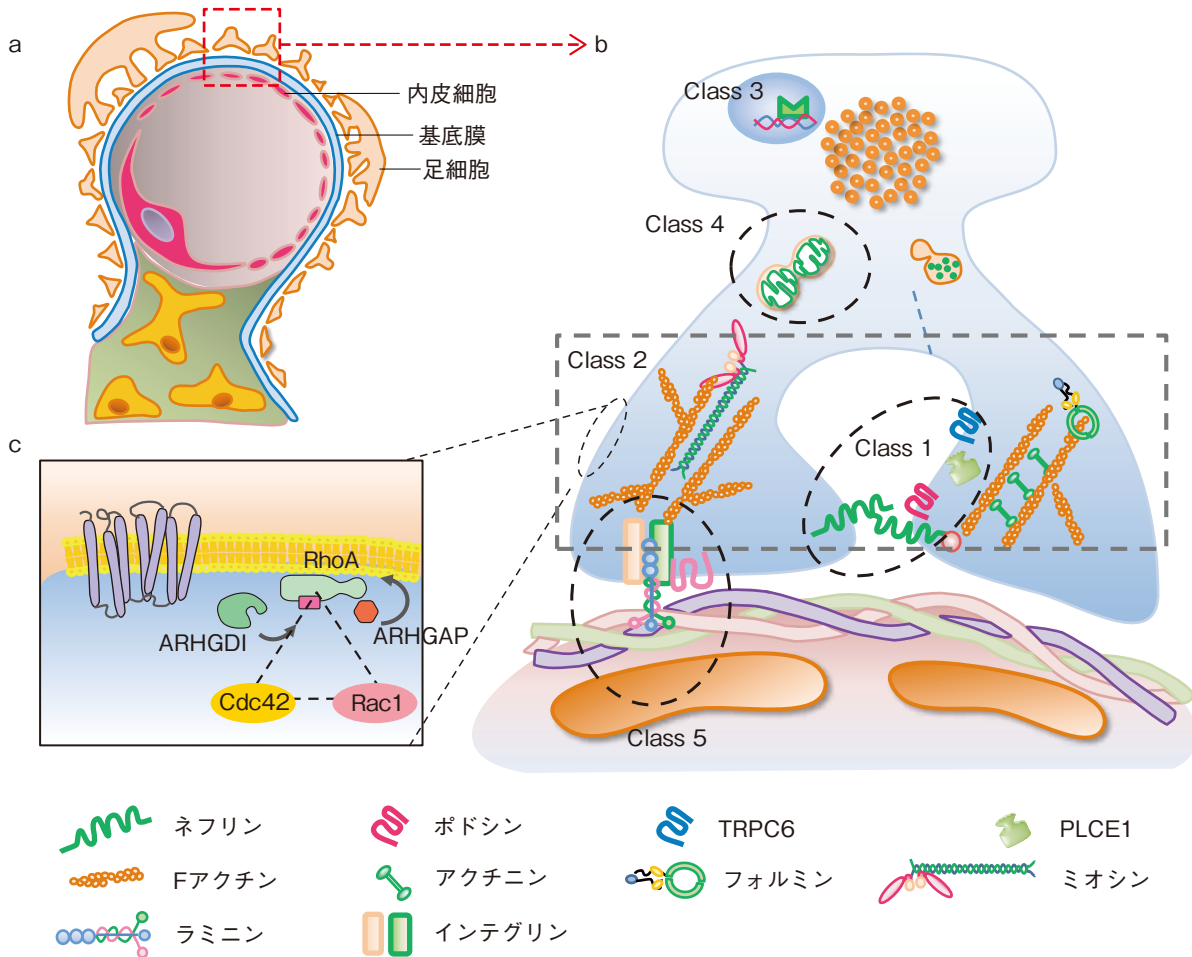


図 1 濾過障壁の構造とネフローゼ遺伝子

- 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 要素より濾過膜が構成され，血液フィルターとして機能する。点線で囲んだ部分の拡大を b に示す。
- b. 足突起間を結ぶスリット膜の構造と SRNS を起こす責任分子：疾患分子を機能別に Class 1～5 に分類して示している。  
**Class 1** スリット膜構造安定化にかかわる分子群 近接するポドサイト足突起 (foot process) は互いに嵌入して，足突起間に見える 25～50 nm の間隙がスリット膜と呼ばれる濾過障壁となる。ネフリンは，免疫グロブリン様の接着分子で，対面する足突起から伸びる N 端同士が head to head に結合し，足突起間を連結する。ポドシンはネフリンが挿入されるスリット膜基部の足突起細胞質内において，アクチンとの連結を強固にするために必要なシグナル分子を集積し，ネフリンに安定な足場を提供する。CD2AP (接着分子アダプター)，TRPC6 (非特異的陽イオンチャネル) はネフリンと会合して，ネフリンのアクチン細胞骨格への連結を補助するために必要なシグナル伝達を媒介する。  
**Class 2** 足突起細胞骨格の補強と形態制御 ポドサイト細胞体から一次，二次突起が分岐し，その終末部は足突起となる。アクチン線維束により一次突起の内部は頑強に補強されている。一方，収縮性に富む足突起内のアクチン骨格は低分子 GTPase の働きにより，動的に改変と再構築が繰り返されている。 $\alpha$ アクチニン 4 は足細胞骨格であるアクチン束を架橋し安定化に働く。フォルミン (*INF2*) はアクチン線維の伸張を調節する。  
**Class 3** 核膜構造安定化と核内転写因子  
**Class 4** ミトコンドリア呼吸鎖  
**Class 5** 足突起と基底膜との連結 IV型コラーゲン ( $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ) で構成される糸球体基底膜は，ラミニン-521 ( $\alpha 5$ ,  $\beta 2$ ,  $\gamma 1$ ) とインテグリンの会合により，足突起基底面と結合する。(文献 3 より引用，一部改変)
- c. 足突起のアクチン細胞骨格の制御：低分子量 GTPase である RhoA，およびそれに拮抗する Cdc42, Rac1 のバランスによりアクチン線維が再構成され足突起形態が制御されている。ARHGAP と ARHGDI は，RhoA を「スイッチ off 状態」(GDP 結合型) に維持する役割を担う。

が濾過膜機能に不可欠であることを意味している。このように，家族性 SRNS の多くが糸球体上皮細胞の異常に起因

しており，“podocytopathy” という視点から病態を捉える概念が提唱されている<sup>1,4～6)</sup>。

## 疾患分子の特徴について

### 1. スリット膜を構成する分子群

FSGS の分子病態解明の先駆けとなったのは、フィンランド型先天性ネフローゼ症候群 (congenital nephrotic syndrome : CNS) の原因遺伝子 *NPHS1* (ネフリン) の発見である<sup>4)</sup>。この研究によって、足突起を連結するスリット膜の骨格分子は長い間謎であったがネフリンであることが判明し、足突起構造がいわゆる濾過障壁のサイズバリアの中心であることが証明された。続いて別の家族性 SRNS 症例において、ネフリンを足突起アクチン細胞骨格に連結するため分子群 (ポドシン, CD2AP) の変異が同定され、スリット膜を支える安定な足場の構築がポドサイト構造維持に必須であることがわかってきた (図 1b)<sup>4)</sup>。 *TRPC6*, *PLCE1* は、直接スリット膜構造を支持するものではないが、おそらくスリット膜複合体の形成に必要な膜脂質組成・細胞骨格シグナルを調整する役割を果たすと考えられる<sup>4~7)</sup>。

*NPHS1* 変異はフィンランドに多い (8,000 例中 1 例) が、フィンランド以外においても CNS の原因の 4 割を占める。一方、同じ小児 SRNS でも発症年齢が 3 カ月を超えると、*NPHS2* 変異の頻度が高くなる。欧米の小児 SRNS 全体で見ると、家族性の 30~40%、散発性の 10% の症例が *NPHS2* 変異である<sup>6,8)</sup>。 *NPHS1* 変異比率は欧米とアジアで大差がないが、*NPHS2* 変異はアジアではきわめて少なく<sup>9~13)</sup>、明らかな民族差が存在する。

欧州において *NPHS2* アレル頻度が高いという背景には、特定のアレル、例えば R138Q (患者変異アレルの 30% を占める)、あるいは R229Q (健常 Caucasian 中 3~13% に検出) が存在するという事実がある<sup>12)</sup>。 R229Q はヘテロ接合体の場合は無症候性保因者で、たとえホモ接合体となっても FSGS を発症しない。ただし R229Q が、もう片方のアレルのミスセンス変異 (R229Q より 3' 側、すなわち C 端側に位置する) との複合ヘテロ接合体となった際には、R229Q のポドサイト膜表面の発現を低下させ、糸球体傷害をきたすという仮説が提唱されている (変異特異的ドミナントネガティブモデル)<sup>14)</sup>。

### 2. 足突起アクチン細胞骨格

FSGS における足突起アクチン細胞骨格異常の関与を最初に示した研究は、Pollak らの成人発症優性遺伝 FSGS 大家系における *ACTN4* 変異の同定である<sup>15)</sup>。 *ACTN4* ( $\alpha$ -actinin-4) は、縦に走る線維状アクチンを格子状に横方向に架橋することによりアクチン細胞骨格を補強する。さらにカナダの成人発症優性遺伝 FSGS 大家系の解析におい

て、アクチンの伸長・短縮を制御する分子であるフォルミン (inverted formin2 : *INF2*) の変異が同定された<sup>16)</sup>。 *INF2* 変異は優性遺伝 FSGS の原因の 15% を占め、遺伝子頻度としては、他の優性 FSGS 遺伝子 (*TRPC6* 6%, *ACTN4* 4%) を抜いて首位である。

アクチン骨格を架橋、伸長させる優性遺伝子産物には変異が集中するホットスポットが観察され、これらの蛋白は部位特異的に自己および複数の他分子と相互作用を有し、機能を発揮すると考えられる。例えば *ACTN4* のミスセンス変異はアクチン結合領域 (actin binding domain) から最初の杆状領域 (first rod domain) をコードするエクソン 8 に集中する<sup>16)</sup>。同様に、*INF2* 変異は N 端の diaphanous inhibitory domain (DID) 領域をコードするエクソン 2, 3, 4 に集中するという現象が認められる<sup>16)</sup>。最近、*INF2* のヘテロ接合体ミスセンス変異で、FSGS に加えて末梢神経変性 (Charcot-Marie-Tooth disease dominant intermediate E : CMTDIE, OMIM 614455) を合併することが報告された<sup>17)</sup>。 FSGS 単独型患者群に見つかる *INF2* 変異は、DID 領域内でも C 端 (エクソン 3, 4) に集中しているのに対し、FSGS と CMT 合併症例では、N 端 (エクソン 2) に分布する傾向があった。このように、*INF2* 変異は変異を生じる蛋白領域によって会合する蛋白相互作用が変化し、臓器障害パターンの違った多彩な臨床スペクトラムを呈することがわかった (ドメイン特異的変異効果 : domain-specific mutation effects)。

また頻度としては稀であるが、家族性 SRNS においてアクチン線維の伸縮を媒介する分子モーター分子であるミオシン (*MYO1E*, *MYH9*) の変異も同定されている<sup>18,19)</sup>。これらの成果は、足突起のアクチン細胞骨格の安定性、伸縮性の障害が FSGS 発症の引き金となることを意味している。さらに遺伝子改変マウスの研究で、アクチン骨格を制御する低分子量 GTPase 活性バランスの乱れ (RhoA 活性化変異, *cdc42* 欠失, *arhgdia* 欠失) で FSGS を生じることがわかっている<sup>20)</sup>。最近、ヒト FSGS 家系でも Rho A 活性調節因子 (*ARHGAP24*, *ARHGDI1*) の変異が報告されている (表, 図 1c)<sup>21,22)</sup>。これらの結果は、RhoA とそれに拮抗する Cdc42, Rac1 の相対的な活性化調節がネフローゼをきたす足突起アクチン構造の変化 (retraction, effacement と表現される) を引き起こす原因となりうる可能性を示唆している。

### 3. 糸球体発達を調節する核内転写因子

転写因子異常による SRNS のなかで、Wilms 腫瘍抑制遺伝子 *WT1* 変異が、頻度、腎・生殖器腫瘍化という合併症の点からみて最も重要である<sup>23)</sup>。 *WT1* 変異の大部分は *de novo* で、散発性 SRNS の原因の約 10% を占め、人種差はない。

稀に母親の *WT1* 変異が児に伝授される優性遺伝例がある。先天性から2歳までのびまん性メサンギウム硬化症 (diffuse mesangial sclerosis : DMS), 10歳までの FSGS では、まず *WT1* を鑑別にあげる必要がある<sup>6,8,23)</sup>。*WT1* は腫瘍抑制に働くのみならず、糸球体・尿路生殖器系分化発達に重要な役割を演じている。*WT1* 遺伝子変異はその部位により Denys-Drash 症候群と Fraiser 症候群という2群の臨床像を呈する<sup>6,8,23)</sup>。

Denys-Drash 症候群は、DMS, 男性生殖器形成不全(男性仮性半陰陽), および Wilms 腫瘍を3徴とし、DNA 結合ドメインをコードするエクソン8~9 のミスセンス変異によることが多い。*WT1* の早期終始コドン変異は腫瘍発生の高リスクを生じるが、SRNS の発症は遅いことが知られている。したがって腎尿路・生殖器系の発育障害は、変異 *WT1* は正常 *WT1* を抑制することにより生じると考えられる(ドミナントネガティブ作用)。一方、Denys-Drash 症候群に比して軽症の表現型、すなわち糸球体障害は FSGS の組織像で、男性生殖器形成不全, gonadoblastoma を特徴とし、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。本来存在する亜型の量的な問題であり、軽症の表現型にとどまると思われる。

#### 4. ミトコンドリア呼吸鎖

ミトコンドリアは電子伝達系により ATP を産生するオルガネラで、生命活動に必要なエネルギー産生を担う。ミトコンドリア機能異常は、細胞エネルギー産生低下に起因する全身のさまざまな臓器障害の原因となり、ミトコンドリア症と呼ばれている<sup>24)</sup>。ミトコンドリア異常により、腎障害(糸球体硬化, 尿細管障害)が生じることは古くから知られていた。しかしその分子病態の解明には困難が多く、未解決の問題が多く残されている。その理由の一つが、ミトコンドリアを構成する蛋白群は、核とミトコンドリア固有ゲノムの二重支配を受けていることである。核内ゲノムにコードされるミトコンドリア機能遺伝子は1,500個あり、通常は劣性様式で機能している。もう一つの理由は、ミトコンドリア DNA の不均一性(ヘテロプラスミー)である。ミトコンドリア内膜には全長16Kb 環状構造のミトコンドリア(固有)遺伝子が存在する。その遺伝様式は母系遺伝である。ミトコンドリア(固有)遺伝子は、酸化ストレスに曝される環境下にあるため、核ゲノムより100倍変異を起こしやすく、その変異頻度も加齢とともに高くなる。ま

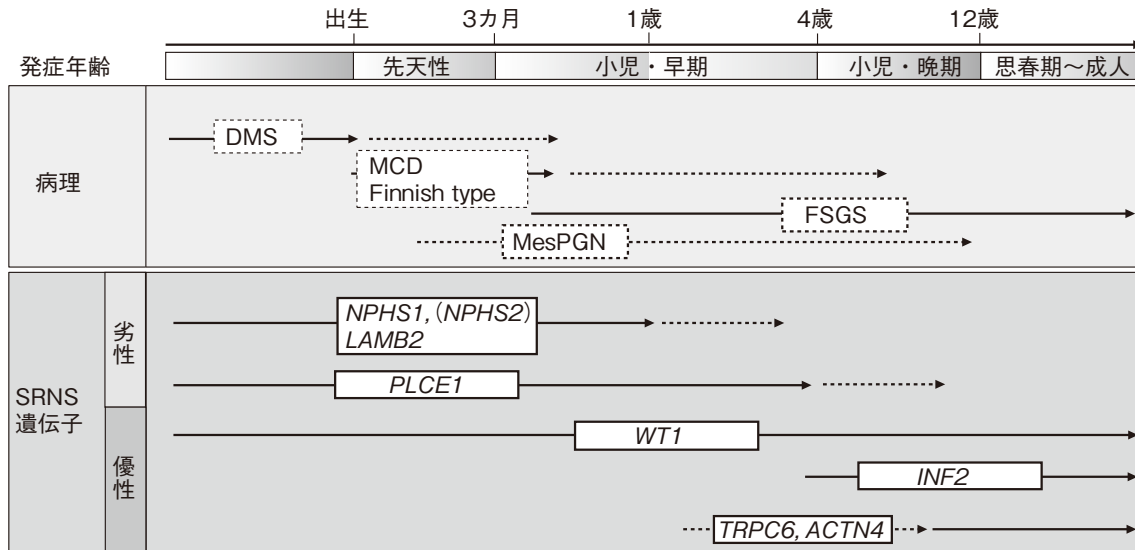
たミトコンドリア変異の存在頻度は、ミトコンドリア自身の分裂、さらに細胞分裂を積み重ねる過程で、細胞内でもまた臓器単位でも異なってくる。したがってミトコンドリア変異の診断は、通常の血球由来ゲノムの検査では見逃される可能性があり、また変異が検出された場合でも(厳密に言えば)核ゲノムのミトコンドリア遺伝子異常の有無の確認が必要になる。

腎障害をきたすミトコンドリア変異の最も有名な例として、tRNA<sup>leu (UUR)</sup> 遺伝子(ロイシンをペプチドに付加する tRNA, R は adenine あるいは guanine) の A3243G 変異がある<sup>25)</sup>。A3243G 変異は FSGS を特徴とする糸球体障害のみを呈する場合もあるし、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、いわゆる症候性 SRNS の像を呈することもある。このように多彩な臓器障害を生じる原因は、腎および神経, 心・骨格筋はエネルギー需要が大きく、ミトコンドリア障害の感受性が高いためと考えられている。母系遺伝が明確であれば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(ヘテロプラスミー)があり、注意を要する。

また最近、ミトコンドリア電子伝達系を構成する補酵素 Q<sub>10</sub>(*CoQ10*) の合成にかかわる酵素群の核ゲノム遺伝子、例えば *COQ2* 遺伝子<sup>24,26)</sup>, *PDSS2* (decaprenyl diphosphate synthetase subunit 2)<sup>24)</sup>, *ADCK4*<sup>27)</sup> の変異によって非特異型あるいは collapsing 型 FSGS が起こることが報告された。これらの結果は、ミトコンドリア機能異常による酸化ストレス増大はポドサイト障害をきたす重要な因子であることを示唆している。これらの呼吸鎖変異は SRNS 症例のうちわずか1%にすぎないが、*CoQ10* の経口補充療法の有効性も報告されており、今後、治療介入の観点からの研究の発展が待たれる。

#### 5. 足突起と糸球体基底膜(glomerular basement membrane : GBM)との連結

GBM 構造が異常で FSGS を生じる例としては、基底膜を構成するIV型コラーゲン( $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$  鎖サブユニット)の変異による Alport 症候群がある<sup>4)</sup>。Alport 症候群は本邦でも比較的良好にみられ、ネフローゼを呈する前にまず血尿が先行していることが特徴である。稀であるが基底膜構造異常で早期発症 SRNS の原因となる例として、ラミニン  $\beta 2$  をコードする *LAMB2* 変異による Pierson 症候群がある。通常1歳未満でネフローゼを発症し(DMS), 眼症状(小瞳孔, 白内障・水晶体変形, 網膜異常)の合併を特徴とする<sup>28)</sup>。ラミニン  $\beta 2$  は GBM を構成する細胞外基質ラミニ



DMS : diffuse mesangial sclerosis MCD : minimal change disease  
MesPGN : mesangial proliferative glomerulonephritis FSGS : focal segmental glomerulosclerosis

図 2 SRNS 遺伝子変異で生じる発症年齢、腎組織像のスペクトラム

SRNS 遺伝子の遺伝様式および変異の性状によって、ネフローゼ症候群の発症年齢、組織像が異なる。劣性遺伝子群は足突起間を連結するスリット膜蛋白複合体の構造・維持に働く。その異常はサイズバリアの破綻をきたし、ネフローゼになる。重症型変異(早期終始コドン変異など機能喪失を伴うもの)は、先天性ネフローゼをきたす。病理像はネフロンの発達障害を意味する DMS, あるいは Finnish type が特徴である。一方軽症のミスセンス変異は、出生後しばらくしてネフローゼを発症し FSGS の組織像を示す。欧米では 1 歳を超えると *LAMB2*, *NPHS1* の頻度は低くなり、*NPHS2* 変異の相対比率が高まるが<sup>29~31)</sup>、わが国では *NPHS2* 変異は稀である<sup>10,11)</sup>。優性遺伝子群の多くが、足突起細胞体を支えるアクチン細胞骨格の安定性の維持に働く。*ACTN4* や *INF2* のミスセンス変異により生じるポドサイト細胞骨格の異常は軽微なため、幼児期は無症状である。しかし学童から成人期にかけて経年的に受傷ストレスが蓄積し、許容閾値を超えるとポドサイトの基底面から剝離が起こり始め、その結果、糸球体係蹄構造が崩壊し FSGS 病変をきたす。*TRPC6*, *ACTN4* 変異は元々成人家系で発見されたが、1~10 歳での発症例も報告されている。また *WT1* は、糸球体の発達障害の重症度によって、生後から小児~成人期まで幅広い年齢層において SRNS を発症しうる<sup>30,31)</sup>。(文献 32 より引用, 改変)

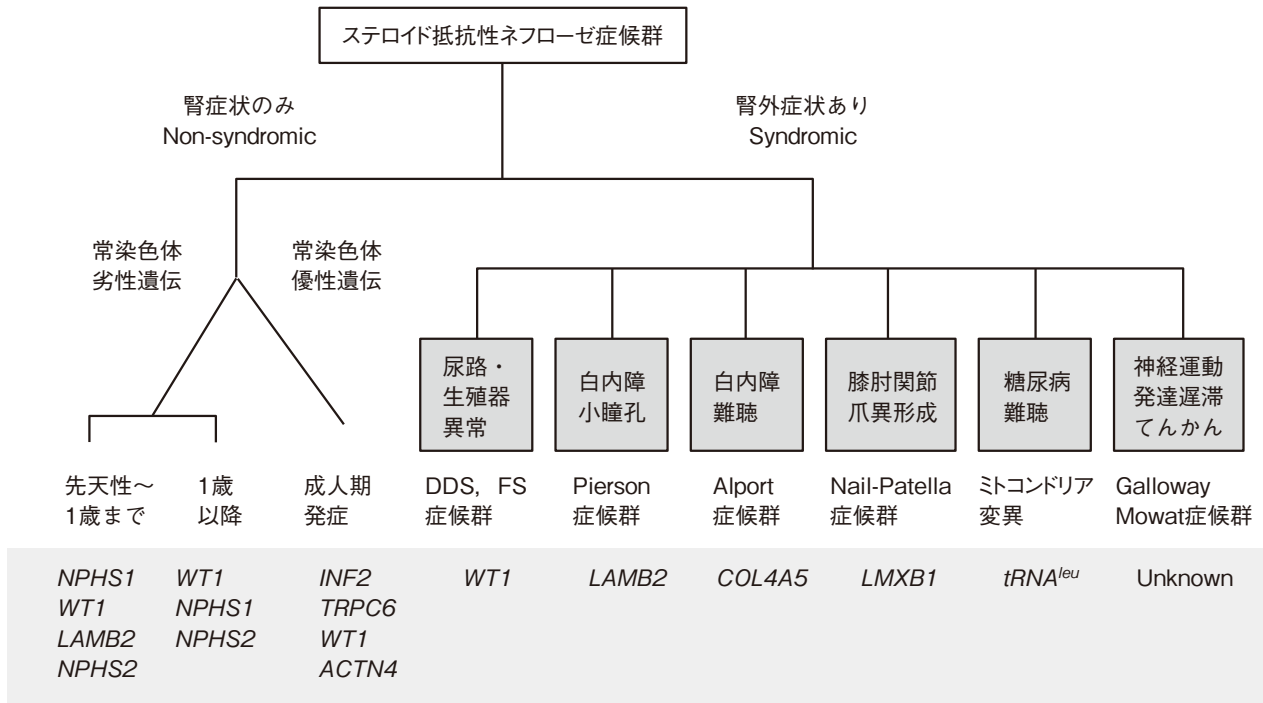
ン-521( $\alpha 5$ ,  $\beta 2$ ,  $\gamma 1$  の 3 つの鎖から成る)のサブユニットである。ラミニン-521 は GBM コラーゲンとインテグリン、ジストログリカン複合体と会合し、ポドサイト基底面を GBM に連結する役目を担う。*LAMB2* 変異によりポドサイトと GBM との連結が不十分となり濾過膜の形成不全をきたすと考えられる。また、ラミニン  $\beta 2$  は、前眼房の虹彩の毛様体や乳頭筋・水晶体や、骨格筋の筋神経接合部に豊富に発現しているため、変異により眼症状や筋症状を合併することが特徴である。

### 遺伝性 SRNS の臨床遺伝と疫学

欧米に加え、中東アジアとラテンアメリカを含む小児~成人 25 歳までの SRNS 症例について、臨床および遺伝疫学的側面を調べる大規模コホート研究(PodoNet consor-

tium<sup>29,30)</sup> n=1,655, SRNS study group<sup>31)</sup> n=1,783) の結果が報告されている。

発症年齢は、5 歳以下の患児が過半数(6~7 割)を占め、優性と劣性遺伝の割合は 1:4~1:5 程度で、劣性遺伝が多い。また、優性遺伝の発症年齢が 36 カ月であったのに対し劣性では 12 カ月と、劣性遺伝のほうが早期発症の傾向を示した。腎病理組織診断は、12 歳以下では 5~7 割が FSGS を呈し、さらに低年齢ほど微小変化型ネフローゼ症候群(minimal change nephrotic syndrome: MCNS), DMS, メサングウム増殖性腎炎(MesPGN)が加わり、それぞれ 1 割程度を占めていた(図 2)。一方、12 歳以上ではほとんど全例が FSGS と診断されていた。また、遺伝診断率は全年齢層の SRNS でみると 24~30%であった<sup>29,31)</sup>。しかし低年齢ほど遺伝子診断率は高く、先天性では 6~7 割、3~12 カ月では 3~5 割、それ以降は 1~2 割であっ



DDS : Denys-Drash syndrome, FS : Fraiser syndrome

図 3 ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の遺伝子診断フローチャート

わが国の症例で変異が確認されている、疾患遺伝子とその鑑別点を示した。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。腎症状のみの単臓器障害型(非症候性)のネフローゼ症候群の場合、1歳以下であれば *NPHS1*, *WT1*, *LAMB2* の可能性が高い。特に巨大胎盤があればネフリン変異の可能性を考える。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)の有無は疾患分子の推測に役立つ。

た。成人に達する年齢層の1割以上の診断は可能であったが、1歳以上の症例の8割程度は原因が不明である。

### 日常診療における遺伝診断アプローチ

発症年齢と遺伝様式から原因遺伝子を絞り込むことができる(図2)。またSRNSの10～20%に腎以外の神経、骨格、眼などの多臓器の症状を合併し、症候性ネフローゼの臨床像を呈する<sup>29)</sup>。このようなケースでは、腎外症状の特徴からある程度疾患遺伝子を推定できる場合があり、診断に役立つ(図3)。

#### 1. 1歳までに発症するSRNS

欧米のコホート研究によると、*NPHS2*(38%), *NPHS1*(23%), *LAMB2*(4%), *WT1*(3%)の4個の遺伝子で全体の70%を占めることが報告されている<sup>8,29,31)</sup>。また発症年齢を先天性(生後3カ月以内に発症)に絞ると、*NPHS1*の頻度は40%まで増加し、*NPHS2*とほぼ同頻度で、両者が二大遺伝子と位置づけられる<sup>8,29,31)</sup>。

日本人CNS18例の原因は、*NPHS1*が12例を占め、*WT1*は3例、*LAMB2*が1例で、*NPHS2*変異はなかった<sup>33)</sup>。韓国の1歳未満発症ネフローゼ症候群30例の解析では、変異を有する17例中、*WT1*が8例(生後3カ月以内の発症なら6例)と最も多く、次に*NPHS1*が6例(生後3カ月以内の発症なら6例)を占め、*LAMB2*が1例、*NPHS2*が1例となっている<sup>13)</sup>。このように日韓のCNS調査では、*NPHS1*変異の比率は欧米と同程度であるが*NPHS2*変異はきわめて少ない。以上のことから、わが国の1歳以下のネフローゼ症候群であれば、まず*NPHS1*, *WT1*, *LAMB2*の変異を調べることが効率的なスクリーニングと言える(図2, 3)。

#### 2. 1歳以降の小児期から学童・成人期に発症するSRNS

優性遺伝を示す家族性FSGSの調査では、*INF2*(10～20%)が最も多く、*TRPC6*, *ACTN4*が5%前後に検出されている(n=215)<sup>30,34)</sup>。これらの遺伝子は濾過障壁を構成する足突起の細胞骨格の維持に関与している。その変異はミスセンスであることが特徴で、足突起構造は脆弱となるが傷害は軽微にとどまり、通常、小児期には問題をきたさない。

経年的に濾過圧ストレス負荷が積み重なることによって成人期以降にネフローゼが顕性化する。しかしながら、1～3歳でSRNSを呈する *TRPC6*, *ACTN4* 変異も報告されており、鑑別候補の一つとして、念頭におく必要がある。

遺伝的には優性型式で発症するが、新生変異が多いために臨床的には孤発性SRNSを呈する重要な遺伝子として、*WT1*がある。欧米では孤発性SRNSの10%に*WT1*が検出され、ネフローゼの発症年齢は4～12カ月、18歳以上の2峰性を示している<sup>31)</sup>。したがって、早期発症のDMSから12歳以上のFSGSまで、幅広い年齢層においてエクソン8, 9のスクリーニングが推奨される<sup>30)</sup>。

劣性SRNS遺伝としては、欧州を中心とした大規模変異調査において *NPHS1*, *NPHS2* が最も多く検出されている(10～20%)<sup>29～31)</sup>。それ以外に、*PLCE1*, *SMARCAL1*, *COQ6*, *PTPRO* が比較的高頻度で報告されているが、現在のところわが国のSRNSでの報告は稀である<sup>9,10)</sup>。劣性の全機能喪失(loss of function, 例えばナンセンス, フレームシフト変異)型重症変異は、新生児, 幼少早期から重篤な濾過障壁の機能・構造異常を引き起こし、重症SRNSとなる。これに対しミスセンス変異の場合は、思春期～成人発症で、シクロスポリンなど免疫抑制薬に部分的に反応することがある。

## 今後の研究課題

### 1. 日本人SRNS疾患遺伝子：民族多様性について

欧米のSRNSにおける遺伝子検査スクリーニングでは、2歳以下発症で60%以上、5歳以下では10～20%で原因変異を検出できたと報告されている<sup>29～31)</sup>。これに対し日韓の小児SRNSでは、欧米の1～18歳層の症例で最も高頻度(6～12%)に検出される *NPHS2* 変異が少ない。特に3カ月以降に発症する例の大部分が原因不明である<sup>9～13)</sup>。その第一の理由として、おそらく原因遺伝子が複数あり、症例ごとに疾患遺伝子が異なる可能性が考えられる。もう一つの可能性は、アジア人に頻度の高い、民族特異的なSRNS疾患遺伝子が存在するかもしれないことである。民族特異的なSRNSリスクアレルの例として、アフリカ系黒人における *APOLI* 多型アレル G1, G2 がある。健常アフリカ系黒人の約50%がG1あるいはG2アレルを保有している。G1, G2アレルのヘテロ接合保因者は熱帯の疫病であるトリパノソーマを排除する免疫能を獲得するため、生存に有利となり選択された(positive selection)と推測されている<sup>35)</sup>。ところがその一方で、ホモまたは複合ヘテロ接合体

(G1/G1, G2/G2, or G1/G2)となる10～15%のアフリカ系黒人はFSGS発症のハイリスクを背負うことが明らかとなった(慢性腎臓病の相対リスク2倍, 高血圧腎障害10倍, HIV腎症30倍)。現在、わが国ではこのような環境と遺伝的な相互作用によりFSGS発症リスクが高まる事例は知られていないが、今後の研究が期待される。

### 2. SRNS 遺伝子診断の有用性：免疫抑制薬の効果予測と移植後再発

SRNS 遺伝子検査をどのように実地臨床に還元できるのだろうか。まず第一の有用性として免疫抑制薬の効果予測がある。遺伝子変異を有するSRNSは、一般に腎不全への進展が速く、シクロスポリン(CyA)を用いた場合の部分的寛解率でもせいぜい10%台と反応性は低い<sup>36)</sup>。これに対し遺伝子が検出されない原発性SRNSでは、CyA投与により約70%に寛解が得られている。*TRPC6*, *PLCE1*, *WT1*, *MYOIE* 変異でも免疫抑制薬が有効であったという報告があり、遺伝性SRNSであってもマイルドな遺伝子変異の場合は、免疫抑制薬に反応しうることを念頭におく必要がある<sup>6,30)</sup>。

第二の有用性としては、移植後再発の予測である。移植後再発は遺伝子診断確定群で全体の28%、未確定群で4.5%で、事前に遺伝子診断できている例では移植後再発が少ない。FSGSの腎移植後30～50%にネフローゼ症候群が再発する。これらの症例では腎外性の因子、例えば循環血液中の液性因子が再発に関与すると推測されている。一方、もし腎固有のポドサイト蛋白変異(*NPHS1*, *NPHS2*, *ACTN4*, *WT1*)を有する患児では、理論的には再発は起こらないと推測されるが、実際にはこれらの患者においても再発が報告されている<sup>6,30,31)</sup>。その代表例が *NPHS1* 変異患者の移植後、平均1年後に25%でネフローゼ症候群が再発する。これらの再発患者すべてがFin-majorと呼ばれる truncation 変異(N端90アミノ酸で翻訳停止)を有しており、移植後には1,000アミノ酸を超える細胞外領域の配列が新たな抗原として提示され、自己ネフリン抗体産生の誘導を促すと推測されている。一方、細胞膜部分が少ない、あるいは細胞内に局在する *NPHS2*, *ACTN4*, *WT1* ではどのような機序で再発が起こるのか不明である。このような例では、1) 患児に検出した塩基変異が真の原因ではなく(non-pathogenic benign variant), ほかに隠れた病的因子が存在する, 2) ドナーとなる親が変異保因者である場合、移植後の片腎状態で尿蛋白が出やすくなる, などの可能性が考えられる。したがって、再発リスクを予測するには、患児の真の原因変異の見極め、ドナーの変異の有無



についての検索も必要と考えられる。

## おわりに

現在の次世代シーケンスの診断率は30%程度であり、SRNSにおける疾患遺伝子も70%以上が不明である。今後SRNS病態を解明し、新たな治療開発を進めるには、下記の点が重要と思われる。第一に、症例の収集である。SRNS遺伝子には多様性と民族特異性があり、わが国の症例の遺伝子背景は欧米と異なる可能性がある。アジア諸国をはじめとする国際的な連携が重要と考える。第二は、最新ゲノム解析技術(次世代シーケンス、マイクロアレイなど)導入と公共データベースの整備・共有化を進め、解析効率化を高めることである。第三は、液性ネフローゼ惹起因子の実体解明である。これまでにわかってきた遺伝性SRNSの原因は、腎固有の因子の異常であり、原則として臨床的に腎移植後再発をきたさない。これに対し移植後再発をきたす症例における病因分子の本態はまだ解明されていない。謎に包まれている液性因子の解明は、患者数の多いステロイド反応性のネフローゼ症候群の新規治療法の開発にもつながる重要な課題と考える。

## 謝辞

本研究は、多くの施設の主治医の先生方のご指導、ご協力によって行われたもので、誌面をお借りし感謝申し上げます。

また、厚生労働科学研究費・難治性疾患克服事業「腎・泌尿器系の希少難治性疾患群に関する調査研究」(H24-難治等(難)-一般-041)の補助を受けて行われたものです。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

## 文献

- D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 2011 ; 365(25) : 2398–2411.
- Biesecker LG1, Green RC. Diagnostic clinical genome and exome sequencing. *N Engl J Med* 2014 ; 370(25) : 2418–2425. PMID : 24941179
- 上田啓子, 塚口裕康. ネフローゼ症候群：病因・病態と治療に関する最新の知見[ネフローゼ症候群の病因]遺伝子異常. *腎と透析* 2014 ; 76(6) : 801–810.
- Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J. Hereditary proteinuria syndromes and metabolisms of proteinuria. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 1387–1401.
- Pollak MR. Inherited podocytopathies : FSGS and nephrotic syndrome from a genetic viewpoint. *J Am Soc Nephrol* 2002 ; 13(12) : 3016–3023.
- Benoit G, Machuca E, Antignac C. Hereditary nephrotic syndrome : a systematic approach for genetic testing and a review of associated podocyte gene mutations. *Pediatr Nephrol* 2010 ; 25(9) : 1621–1632.
- 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.
- 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.
- Kitamura A, Tsukaguchi H, Maruyama K, et al. Steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2008 ; 74 : 1209–1215.
- 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.
- 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.
- 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.
- Lee JH, Han KH, Lee H, et al. Genetic basis of congenital and infantile nephrotic syndromes. *Am J Kidney Dis* 2011 ; 58(6) : 1042–1043.
- Tory K, Menyhárd DK, Woerner S, et al. Mutation-dependent recessive inheritance of *NPHS2*-associated steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2014 ; 46(3) : 299–304.
- Kaplan JM, Kim SH, North KN, et al. Mutations in *ACTN4*, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000 ; 24 : 251–256.
- Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ, et al. Mutations in the formin gene *INF2* cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2010 ; 42(1) : 72–76.
- Boyer O, Nevo F, Plaisier E, et al. *INF2* mutations in Charcot-Marie-Tooth disease with glomerulopathy. *N Engl J Med* 2011 ; 365(25) : 2377–2388.
- Mele C, Iatropoulos P, Donadelli R. *MYOIE* mutations and childhood familial focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 2011 ; 365(4) : 295–306.
- Sekine T, Konno M, Sasaki S, et al. Patients with Epstein-Fechtner syndromes owing to *MYH9* R702 mutations develop progressive proteinuric renal disease. *Kidney Int* 2010 ; 78(2) : 207–214.
- Kistler AD, Altintas MM, Reiser J. Podocyte GTPases regulate kidney filter dynamics. *Kidney Int* 2012 ; 81(11) : 1053–1055.
- Akilesh S, Suleiman H, Yu H, Stander MC, Lavin P, Gbadegesin R, Antignac C, Pollak M, Kopp JB, Winn MP, Shaw AS. Arhgap24 inactivates Rac1 in mouse podocytes, and a mutant form is associated with familial focal segmental glomerulosclerosis. *J*

- Clin Invest 2011 ; 121(10) : 4127–4137.
22. Gee HY, Saisawat P, Ashraf S, et al. *ARHGDI* mutations cause nephrotic syndrome via defective RHO GTPase signaling. *J Clin Invest* 2013 ; 123(8) : 3243–3253.
  23. Lipska BS, Ranchin B, Iatropoulos P. PodoNet Consortium. Genotype-phenotype associations in *WT1* glomerulopathy. *Kidney Int* 2014 ; 85(5) : 1169–1178. PMID : 24402088
  24. Koopman WJ, Willems PH, Smeitink JA. Monogenic mitochondrial disorders. *N Engl J Med* 2012 ; 366(12) : 1132–1141.
  25. 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.
  26. Diomedes-Camassei F, Di Giandomenico S, Santorelli FM, et al. *COQ2* nephropathy : a newly described inherited mitochondrial disease with primary renal involvement. *J Am Soc Nephrol* 2007 ; 18 : 2773–2780.
  27. Ashraf S, Gee HY, Woerner S, et al. *ADCK4* mutations promote steroid-resistant nephrotic syndrome through CoQ10 biosynthesis disruption. *J Clin Invest* 2013 ; 123(12) : 5179–5189.
  28. 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(6) : 1008–1012.
  29. Trautmann A, Bodria M, Ozaltin F, et al. Spectrum of steroid-resistant and congenital nephrotic syndrome in children : the PodoNet Registry Cohort. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015. pii : CJN. 06260614. [Epub ahead of print] PMID : 25635037
  30. Lipska BS, Iatropoulos P, Maranta R, et al. Genetic screening in adolescents with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2013 ; 84(1) : 206–213. PMID : 23515051
  31. Sadowski CE, Lovric S, Ashraf S, et al. A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2014. pii : ASN. 2014050489. PMID : 25349199
  32. Hildebrandt F, Heeringa SF. Specific podocin mutations determine age of onset of nephrotic syndrome all the way into adult life. *Kidney Int* 2009 ; 75(7) : 669–671.
  33. 向山弘展, 中西浩一, 戸川寛子, 浜 武継, 島 友子, 飯島一誠, 吉川徳茂. 日本人先天性ネフローゼ症候群における原因遺伝子検索(会議録). *日腎会誌* 2012 ; 54(3) : 282.
  34. Barua M, Brown EJ, Charoonratana VT. Mutations in the *INF2* gene account for a significant proportion of familial but not sporadic focal and segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2013 ; 83(2) : 316–322. doi : 10. 1038/ki. 2012. 349. Epub 2012 Sep 26.
  35. Genovese G, Friedman DJ, Pollak MR. *APOLI*. variants and kidney disease in people of recent African ancestry. *Nat Rev Nephrol* 2013 ; 9(4) : 240–244.
  36. Büscher AK, Kranz B, Büscher R. Immunosuppression and renal outcome in congenital and pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ; 5(11) : 2075–2084.