

論 文 要 旨

| | | | |
|--|-------|-----|-------|
| 博士課程 ①・乙 | 第434号 | 氏 名 | 此元 隆雄 |
| <p>[論文題名]</p> <p>Clinical and histological findings of autosomal dominant renal-limited disease with <i>LMX1B</i> mutation (Nephrology, accepted)</p> | | | |
| <p>[要 旨]</p> <p>【背景・目的】近年、多くの遺伝性疾患に対して次世代シーケンサーを用いた網羅的解析によって、原因遺伝子の同定が行われるようになった。我々は、3世代にわたる慢性腎不全を含む非症候群性家族性腎症の一家系6症例の原因遺伝子の同定を試み、全エクソーム解析によって<i>LMX1B</i>p. R246Qへテロ変異を同定した。<i>LMX1B</i>遺伝子は、常染色体優性遺伝形式をとる稀な疾患で爪や膝蓋骨、肘関節の異常を特徴とするNail-patella症候群 (NPS) の原因遺伝子として知られ、また、NPSの一部では腎症を合併する。2013年に腎症単独症例において<i>LMX1B</i>遺伝子変異が初めて報告され、<i>LMX1B</i>遺伝子は腎外症状を伴わない腎症 (<i>LMX1B</i>関連腎症) の原因遺伝子となることが示唆された。しかし、これまで<i>LMX1B</i>関連腎症の報告は3報のみであり、本疾患の詳細な臨床的および組織学的特徴は不明であった。本研究では、<i>LMX1B</i>関連腎症の臨床像および腎組織学的特徴を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】インフォームドコンセントを行い同意が得られた家族性腎症一家系、計7名 (患者5名、非罹患者2名) を対象とした。血液よりgenomic DNA (gDNA) を抽出し、常染色体優性遺伝ネフローゼ症候群の主要原因遺伝子 (<i>CD2AP</i>, <i>ACTN4</i>, <i>TRPC6</i>, <i>INF2</i>, <i>WT-1</i>) の遺伝子解析ならびに全エクソーム解析を行い原因遺伝子の探索を行った。臨床的特徴を明らかにするために、発症様式、尿所見、血清アルブミン値、腎機能について後方視的に検討した。また、腎生検での組織型、電子顕微鏡でのタンニン酸染色による糸球体基底膜 (GBM) のコラーゲン沈着、蛍光免疫染色でⅢ型コラーゲンおよびポドサイト関連蛋白の発現について検討した。</p> <p>【結果】発端者gDNAを用いて前述の主要原因遺伝子についてSanger法による変異解析を行ったが、変異は認められなかった。次いで、罹患者5名、非罹患者2名の計7名について全エクソーム解析を行った。得られた結果から、①coding領域多型の抽出、②患者間共通の一塩基多型 (SNV) /挿入欠失 (indel) の抽出、および非罹患者共通のSNV/indel</p> | | | |

の排除、③コモンSNV/indelの排除、④deleterious変異の抽出、⑤ヘテロ接合型変異を選択し、候補遺伝子を11遺伝子に絞り込んだ。さらにSanger法による変異確認、*in silico*での病原性予測 (Polyphen2, SIFT, PROVEAN) により、*LMX1B* p. R246Qヘテロ変異を原因遺伝子と同定した。

臨床的には、患者全例で腎外症状を認めず、全例が小児期の検診で蛋白尿あるいは血尿蛋白尿を指摘されていた (発症年齢：中央値 6歳、1~13歳)。蛋白尿は徐々に増加しネフローゼレベルとなるものの、浮腫を合併した症例は認めなかった (最終観察時 尿蛋白：中央値 3.7 g/g Cr、0.8~9.5 g/g Cr、血清アルブミン値：中央値 2.95 g/dL、2.4~3.43 g/dL)。腎機能は小児期では維持されるが、成人例では腎機能障害が進行し、2例が末期腎不全であった (最終観察時 推定GFR：小児中央値 161.1 ml/分、成人62.2 ml/分、末期腎不全到達年齢：38歳および40歳)。3例で腎生検を施行し、小児2例は微小変化、成人例は巣状分節性糸球体硬化であった。電子顕微鏡検査では、小児・成人例ともにNPS腎症に特徴的なGBMの虫食い像”moth-eaten appearance”は認められなかった。検討できた小児例では、電子顕微鏡コラーゲン染色でGBMに線維状構造を認め、また、Ⅲ型コラーゲン蛍光免疫染色では糸球体の一部に陽性所見を認めた。ポドサイト関連蛋白であるpodocinの蛍光免疫染色では、病初期からpodocinの発現が低下していた。

【結論】本研究では、*LMX1B*関連腎症の長期的観察によって臨床的および組織学的特徴を詳細に検討し、1) *LMX1B*遺伝子は、非症候群性家族性腎症の候補原因遺伝子となりうること、2) *LMX1B*関連腎症の発見に検診での尿検査が有用であり、また、*LMX1B*関連腎症は典型的NPS腎症に比べて腎予後は不良であること、3) 組織学的には、微小変化や巣状糸球体硬化など病期によって差異があること、4) *LMX1B* p. R246Q変異では、病初期よりpodocinの発現低下が認められ、ポドサイト障害 (podocytopathy) から糸球体硬化へ至る可能性があること、及び5) *LMX1B*関連腎症の診断には、遺伝子解析および電子顕微鏡でのタンニン酸染色やⅢ型コラーゲンの蛍光免疫染色が有用であることを明らかにした。

備考 論文要旨は1, 000字程度にまとめるものとする。