

令和 2 年 5 月 31 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15712

研究課題名（和文）ステロイド感受性ネフローゼ症候群の病態発症機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of pathogenesis of steroid-sensitive nephrotic syndrome

研究代表者

堀之内 智子（Horinouchi, Tomoko）

神戸大学・医学研究科・特命助教

研究者番号：30754593

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではこれまで発見されていない小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群の発症に關与する自己抗体の発見や単一遺伝子異常によりステロイド感受性ネフローゼ症候群を發症しうるの分子の発見を目的とし、最終的には、それらの発見に基づいて疾患特異的な治療の開発を行うことを目指す。我々は既に小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群の發症に關連する可能性のある分子をいくつか同定し得た。現在はその機能解析やそれらの分子のもたらす相互作用を明らかにする研究を進めているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児特發性ネフローゼ症候群（INS）は、最も發症頻度の高い小児慢性腎疾患であり、我が国で年間1000人程度が新規に發症するとされている。小児INSの80～90%はステロイド投与により寛解を得られるステロイド感受性ネフローゼ症候群（SSNS）であり、その約30%をしめる重症例では、頻回の再發のコントロールが難しく治療に難渋する。そのため、病態解明とそれに基づいた根本療法の開発が急務である。本研究では、SSNSに關連する分子が明らかとなり、その病態解明が進んだことで、根本療法の開発に近づいたといえる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to discover autoantibodies that are involved in the development of pediatric steroid-sensitive nephrotic syndrome and molecules that can cause steroid-sensitive nephrotic syndrome due to single gene abnormalities. We have already identified several molecules that may be associated with the development of pediatric steroid-sensitive nephrotic syndrome. At present, the research which clarifies the function analysis and the interaction which these molecules bring is being advanced.

研究分野：小児腎疾患

キーワード：小児特發性ネフローゼ症候群 自己抗体 疾患感受性遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

小児特発性ネフローゼ症候群 (INS) は、我が国で年間 1000 人程度新規発症し、小児慢性腎疾患のなかで最も頻度が高い。小児 INS は発症時期やステロイド治療への反応性などでいくつかの病型に分けられる。小児 INS の 80~90% はステロイド投与により寛解を得られるステロイド感受性ネフローゼ症候群 (SSNS) であるが、その約 50% は頻回の再発を認め、ステロイドや免疫抑制薬による持続的な治療を要する。また、成人期に移行する難治例も存在し、その場合 QOL の著しい低下を認める。先天性ネフローゼ症候群やステロイド抵抗性ネフローゼ症候群 (SRNS) 等の重症例においてはその多くが糸球体上皮細胞の機能に関する遺伝子異常を原因とすることが判明しているものの、SSNS の発症機序は未だ不明であり、その発症メカニズムに基づいた SSNS を根治に導く治療法はない。したがって、根治的治療法の開発が急務であり、そのためには SSNS の発症機序を解明する必要がある。我々は本邦の小児 SSNS 患者を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行い、HLA risk haplotype の存在を明らかにした (J Am Soc Nephrol, in revision)。HLA risk haplotype の存在は、SSNS の一部が ' 自己免疫性疾患 ' であり、疾患関連自己抗体が存在する可能性を示唆する。我々はプロテインアクティブアレイを用いた網羅的自己抗体探索を行うことで疾患関連自己抗体を同定することを目指していた。疾患関連自己抗体が同定されれば、その抗体をターゲットとした分子標的治療薬などの開発を可能にし、根本的治療の実現につながる。また、小児 INS には信頼できる疾患モデルが存在せず、病態解明研究や治療法開発の妨げとなっている。すでに我々は SSNS を呈する家族例 20 数家系のゲノム DNA を集積しており、Whole-exome sequencing (WES) を行うことで単一病因遺伝子を同定すれば、その学術的な意義と共に、in vitro 再現系、疾患モデル作成の足掛かりとなり、病態解明・治療法開発に大きく貢献することが可能となる。

## 2. 研究の目的

- (1) 小児 SSNS において、未知の疾患関連自己抗体を発見する
- (2) 小児 SSNS 家族例において、単一遺伝子異常を同定する

## 3. 研究の方法

研究開始後、我々のグループは日本人の小児 SSNS 患者のゲノムワイド関連解析 (GWAS) において、HLA の他、NPHS1 を疾患感受性遺伝子として同定した。それ以降、自己抗体探索に関しても網羅的に行うのではなく、HLA や NPHS1 等の分子に絞り、主に細胞に目的の plasmid を transfection

した in vitro の系を用いて行っている。

また、研究開始後、Whole-exome sequencing を用いて、他のグループから家族内発症 SSNS における単一遺伝子の報告があったため、我々のグループは GWAS のデータを用いた解析に変更した。

#### 4 . 研究成果

我々は既に小児ステロイド感受性ネフローゼ症候群の発症に関連する可能性のある分子をいくつか同定し得た。現在はその機能解析やそれらの分子のもたらす相互作用を明らかにする研究を進めているところである。現時点では自己抗体の同定には至っていないが、様々な分子を抗原とする自己抗体探索のための系を確立したため、引き続き研究を行っていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Xiaoyuan Jia, Tomoko Horinouchi, Katsushi Tokunaga, Kazumoto Iijima et al.  | 4. 巻<br>29              |
| 2. 論文標題<br>Strong Association of the HLA-DR/DQ Locus with Childhood Steroid-Sensitive Nephrotic Syndrome in the Japanese Population   | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>J Am Soc Nephrol  | 6. 最初と最後の頁<br>2189-2199 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1681/ASN.2017080859   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Rossanti R, Shono A, Miura K, Hattori M, Yamamura T, Nakanishi K, Minamikawa S, Fujimura J, Horinouchi T, Nagano C, Sakakibara N, Kaito H, Nagase H, Morisada N, Asanuma K, Matsuo M, Nozu K, Iijima K. | 4. 巻<br>64              |
| 2. 論文標題<br>Molecular assay for an intronic variant in NUP93 that causes steroid resistant nephrotic syndrome.   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Human genetics   | 6. 最初と最後の頁<br>673-679   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s10038-019-0606-4  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Nakanishi K, Okamoto T, Nozu K, Hara S, Sato Y, Hayashi A, Takahashi T, Nagano C, Sakakibara N, Horinouchi T, Fujimura J, Minamikawa S, Yamamura T, Rossanti R, Nagase H, Kaito H, Ariga T, Iijima K.   | 4. 巻<br>23              |
| 2. 論文標題<br>Pair Analysis and Custom Array CGH Can Detect a Small Copy Number Variation in COQ6 Gene   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Clin Exp Nephrol  | 6. 最初と最後の頁<br>669-675   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s10157-018-1682-z.   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Horinouchi T, Morisada N, Uemura H, Kobayashi D, Nozu K, Okamoto N, Iijima K.   | 4. 巻<br>179             |
| 2. 論文標題<br>Male CDPX2 patient with EBP mosaicism and asymmetrically lateralized skin lesions with strict midline demarcation.   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Am J Med Genet A.   | 6. 最初と最後の頁<br>1315-1318 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1002/ajmg.a.61159.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Horinouchi T, Nozu K, Yamamura T, Minamikawa S, Nagano C, Sakakibara N, Nakanishi K, Shima Y, Morisada N, Ishiko S, Aoto Y, Nagase H, Takeda H, Rossanti R, Kaito H, Matsuo M, Iijima K. | 4. 巻<br>9           |
| 2. 論文標題<br>Determination of the Pathogenicity of Known COL4A5 Intronic Variants by in Vitro Splicing Assay   | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>Sci Rep  | 6. 最初と最後の頁<br>12696 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-019-48990-9.  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-           |

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>堀之内智子                                       |
| 2. 発表標題<br>ゲノムワイド関連解析による小児特発性ネフローゼ症候群のrisk haplotype同定 |
| 3. 学会等名<br>第61回日本腎臓学会学術集会                              |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>堀之内智子                                       |
| 2. 発表標題<br>ゲノムワイド関連解析による小児特発性ネフローゼ症候群のrisk haplotype同定 |
| 3. 学会等名<br>第53回日本小児腎臓病学会学術集会                           |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Tomoko Horinouchi, Tomohiko Yamamura, Rasheed A. Gbadegesin, Matthew G. Sampson, China Nagano, Kandai Nozu, Kenji Ishikura, Pierre M. Ronco, Hae Il Cheong, Kazumoto Iijima |
| 2. 発表標題<br>Common risk variants in NPHS1 and TNFSF15 are associated with childhood steroid-sensitive nephrotic syndrome  |
| 3. 学会等名<br>American Society of Nephrology Kidney week 2019 (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|