
運動後急性腎不全を合併症に持つ遺伝性腎性低尿酸血症患者の尿酸トランスポーター 1 の遺伝子解析

森 健介、涌井秀樹、布村 渉、富樫 賢*、小松田 敦*

秋田大学工学資源学部 生命化学科、

秋田大学医学部附属病院 血液・腎臓・膠原病内科*

Gene Analysis of Uric Acid Transporter 1 of a Patient with Hereditary Renal Hypouricemia Accompanied by Acute Renal Failure After Exercise

Kensuke Mori, Hideki Wakui, Wataru Nunomura

Masaru Togashi*, Atsushi Komatsuda*

Department of Life Science, Faculty of Engineering Science, Akita University

Department of Hematology, Nephrology, and Rheumatology

Akita University Hospital*

<緒言>

腎性低尿酸血症は、腎臓における尿酸の再吸収の低下や分泌の亢進など、尿酸排泄亢進に起因する遺伝性の尿酸輸送体病である。主要な尿酸輸送体である尿酸トランスポーター 1 (uric acid transporter 1 : 以下URAT 1) は、近位尿細管上皮細胞の管腔側膜内に発現し、機能が障害されると尿酸再吸収能が低下し、低尿酸血症を呈する¹⁾。日本での低尿酸血症の症例のほとんどは、このURAT 1 (*SLC22A12* 遺伝子) の変異に起因すると推測されている²⁾。

腎性低尿酸血症の重要な合併症として、稀に運動後急性腎不全や尿路結石をきたすことがある。前者は、運動後急性腎不全 (acute renal failure with loin pain and patchy renal ischemia after anaerobic exercise : 以下ALPE) と呼ばれる³⁾。短距離の全力疾走などの激しい無酸素運動の後に、一過性の分節性腎虚血をきたし、激しい腰背部痛や腹痛を伴って発症する急性腎不全である。通常の運動後急性腎不全との大きな違いは、ミオグロビン尿を呈しないため、血液透析の必要がないという点である。

今回、ALPEを合併した秋田県在住の低尿酸血症患者を経験し、*SLC22A12* 遺伝子の解析結果から、W258X点変異を同定した。また、この変異型URAT 1 の構造と、秋田県内の潜在患者数を予測した。

<症例>

患 者：15歳、男性（秋田県在住）

主 訴：腹痛、嘔気

既往歴：幼少期に、尿路感染症での入院歴がある。

家族歴：腎疾患の明らかな家族歴はない。

現病歴：野球の練習中に体調不良をきたし、同日夜間より腹痛、嘔気を生じ、県内某病院の救急外来を受診した。補液の投与にて、症状はやや改善をしたが、その後も腹痛が続いたため、翌日に小児科を受診した。経過より、ALPEが疑われ、腎臓内科へ紹介された。以前にも、運動時に同様の腹痛を3回程度きたしていた。

検査所見：血中尿酸値：0.9mg/dl（正常値3.9～6.8mg/dl）、尿酸排出値：46.2%（正常値10%以下）

以上の臨床的特徴から、URAT 1 に異常のある腎性低尿酸血症が強く疑われ、URAT 1 の遺伝子解析を行った。

＜方法＞

TaKaRa社「Genとるくん（血液用）」を用いて、患者の末梢血単核球よりゲノムDNAを抽出した。抽出したゲノムDNAを鋳型に、*SLC22A12* 遺伝子のExon 1 からExon10をPCR増幅した。PCR産物をBig-Dyeにて染色し、DNA sequencerにて解析を行った。PCRの際、primerは各exonに特異的なものを使用した（表1）。

表1 PCRに使用したprimer

| Primer | 配列(Fw) | 配列(Re) | Tm値 |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----|
| Exon1 | TTCTGGGCCCTTGAGTAG | TTTGAGTCTGACCCACCGTG | 62 |
| RH-2 (Exon2) | CCCTCACTGTTCCACAGGGTCTT GCTCT | CCAGCAAGTCGGCGCTTCTAGA CTTG | 58 |
| RH-3 (Exon3&4) | CATCGGGTGGGCTCTAGGTGTT CAGAG | GGAGAGTGGGCAGGATCTCCTCTG AGGA | 63 |
| Exon5 | GCCACAGGCAATGACCCC | GGGTCTGAGGGTCCGGG | 63 |
| Exon6 | AGTGCCAACAGCACCCACC | TCCAGGTTCCCCTGTGGAG | 60 |
| Exon7 | CCTGACTTCCCTGACCCC | TAGGGAAGTCTCTGGTGTAC | 60 |
| Exon8 | CACTAATCCCATCTCTACCC | ACATCTAGGTCTGGGAGAAG | 60 |
| Exon9 | ACAGACCAGGCGCTTATAGG | CCCTGTGCTAGGGTTCTCTG | 60 |
| Exon10 | TGGGATGGACACAGGTCAAG | GAAGTCTCTCCTCTGACCG | 60 |

＜結果＞

Exon 4 にW258X変異を確認した（図1）。本来であればTGGでWをコードするはずのコドンが、TGAの終止コドンに変化し、ナンセンス変異を起こしていた（図1の小さい丸と下線部）。

遺伝形式は、両親から遺伝するホモ型と、片方の親からのみ遺伝するヘテロ型が存在するが、本症例では単一の波形（図1の大きな楕円）であることから、両親から受け継いだホモ変異であった。

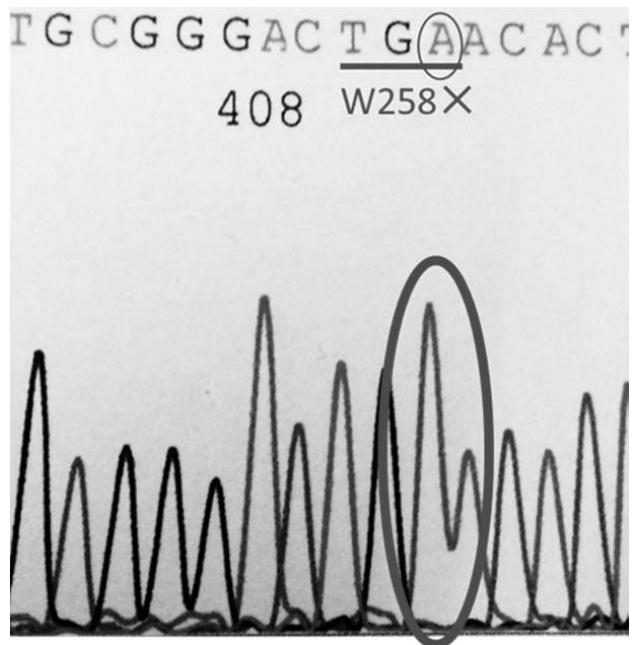


図1 患者のW258X変異

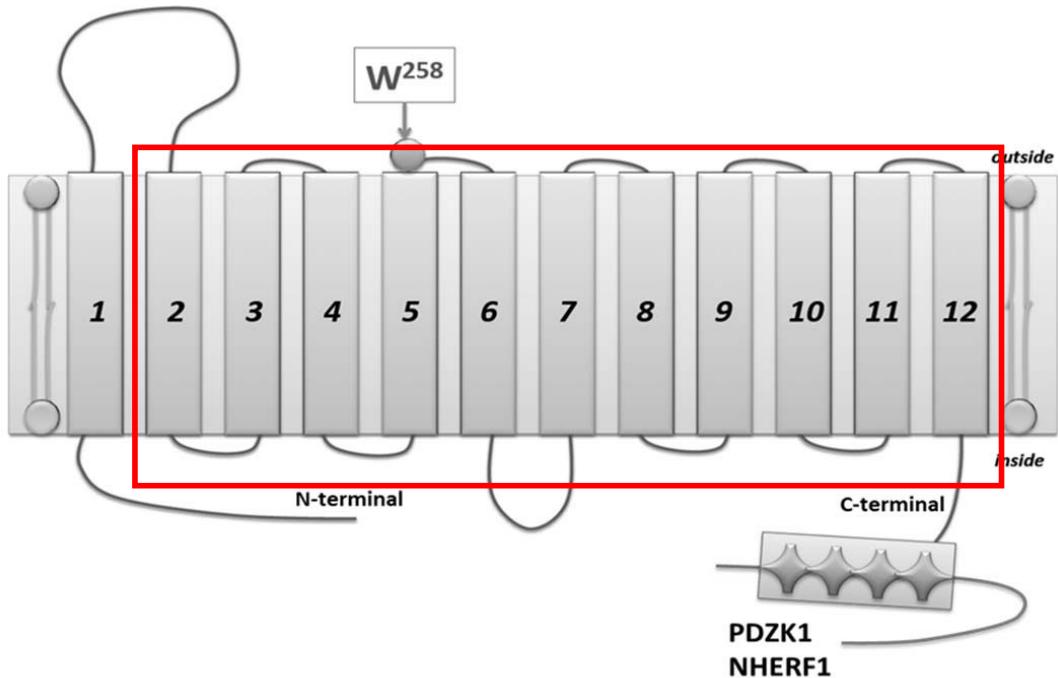


図2 URAT1の構造予測図（膜断面）

<考察>

今回の症例で確認されたW258X変異を持つURAT1の構造を、アミノ酸配列より、二次構造、疎水性の強さを考慮して、膜貫通分を示す膜トポロジーをTMHMMソフトにて予測した（図2）。

その結果、URAT 1 は12回膜貫通蛋白質であり、N末端とC末端は細胞内に存在すると予測された。W258X変異は、5番目の貫通部分の細胞外に存在する。URAT 1 のC末端は、足場蛋白質のPDZK 1 と結合することが知られており¹⁾、W258X変異は、PDZK 1 との結合ができなくなることを示している。

次に、図2の枠内に三次構造を予測した。三次構造予測は、予測された二次構造と、膜トポロジーを考慮して、モデリングによるファイル2と、スイスモデルの二つのソフトを用いて予測した。今回の構造予測では、単量体のURAT 1 を想定している。図3 Aには細胞膜の横断面、図3 Bには膜を上から見た構造を示した。図3中の5と8はヘリックス構造の番号である。予測可能だった部分で、ヘリックスの5番目と8番目が疎水結合を形成して、円筒形を形成しているという特徴を確認した。

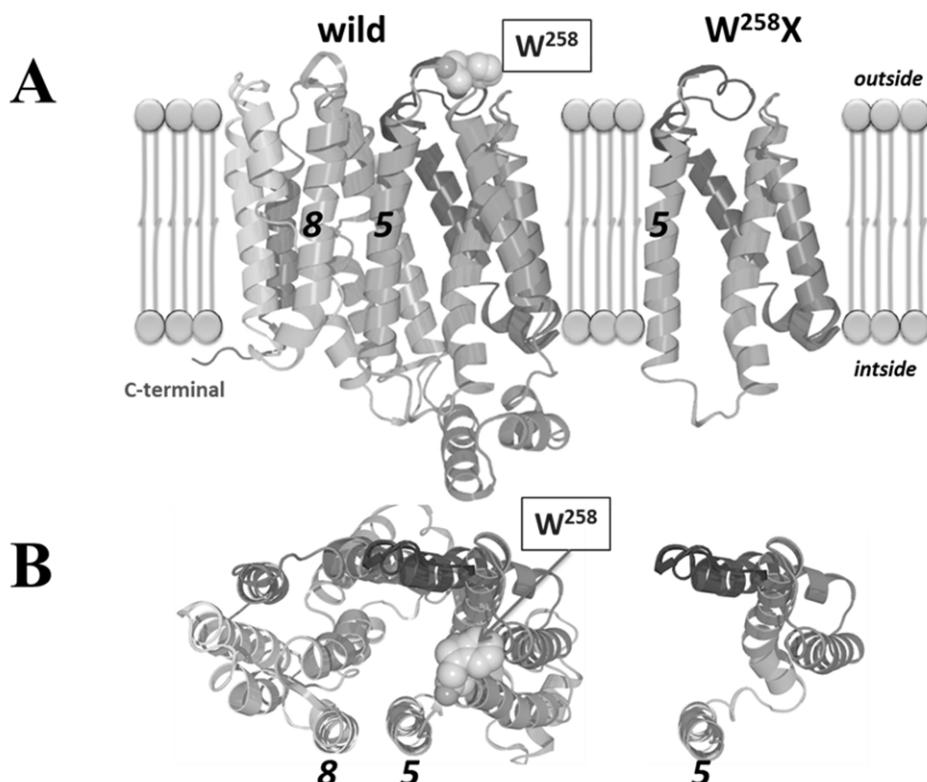


図3 URAT1の構造予測（正常状態とW258X変異状態）

W258X変異では、輸送機能を担うと考えられる円筒形構造は形成されないこと、C末端部の欠損により足場蛋白質PDZK 1との結合ができないことから、膜内に留まっているはず、排除されている可能が考えられる。しかし、URAT 1 は単量体なのか多量体なのか不明であり、さらに詳細な検討が必要と考えられる。

日本人におけるURAT 1 のW258X変異の頻度については、東海地区での大規模な研究報告がある⁴⁾。表2の上段に、W258Xヘテロ変異と、ホモ変異を有する男女別頻度を示した。このデータを基に、秋田県におけるW258Xヘテロ変異と、ホモ変異を有する人数を推測したところ、表2の

下段の通りとなった。実際に報告されている腎性低尿酸血症患者数は少ないが、ALPEを合併しうる潜在的なホモ変異患者は、男女合わせて約1,600人程度と考えられる。

表2 W258Xヘテロ変異とホモ変異を持つ人の割合（東海地区：上段）と秋田県における潜在的患者数の予想（下段）

| | 正常 | ヘテロ変異 | ホモ変異 |
|----|--------|-------|------|
| 男性 | 95.4% | 4.5% | 0.1% |
| 女性 | 95.5.% | 4.3% | 0.2% |

| | 秋田県の人口 | ヘテロ変異 | ホモ変異 |
|----|---------|--------|-------|
| 男性 | 486009人 | 21870人 | 486人 |
| 女性 | 550852人 | 23686人 | 1101人 |

＜結語＞

腎性低尿酸血症の明確な症状がない場合には、尿酸値を測定する機会はほとんどなく、測定する機会があったとしても、低値は見逃されがちである。多くの症例では、激しい運動の後にALPEの症状を示さない限り、腎性低尿酸血症であるとは気づかないため、潜在的な患者数は意外に多いと推測される。

腎性低尿酸血症の診断が確定すれば、患者自身がALPEを発症するリスクを認識し、予防に努めることで、日常生活に特別の支障はない。具体的な予防策としては、激しい運動が予見される場合、運動後の脱水に注意し、水分補給をしっかり行うことや、運動後の解熱鎮痛剤の服用の禁止（腎虚血の助長防止）などがある。

文 献

- 1) Enomoto A, Endou H: Roles of organic anion transporters (OATs) and a urate transporter (URAT1) in the pathophysiology of human disease. Clin Exp Nephrol 9 : 195–205, 2005.
- 2) Komatsuda A, Iwamoto K, Wakui H, et al.: Analysis of mutations in the urate transporter 1 (URAT1) gene of Japanese patients with hypouricemia in northern Japan and review of the literature. Ren Fail 28 : 223–7, 2006.
- 3) Ishikawa I: Acute renal failure with severe loin pain and patchy renal ischemia after anaerobic exercise in patients with or without renal hypouricemia. Nephron 91 : 559 –70, 2002.
- 4) Hamajima N, Naito M, Hishida A, et al.: Serum uric acid distribution according to SLC22A12 W258X genotype in a cross-sectional study of a general Japanese population. BMC Med Genet 12 : 33 (doi: 10.1186/1471-2350-12-33), 2011.