

血清・尿メタボローム解析を行った 2,8-ジヒドロキシアデニン(2,8-DHA)結石症の 1 例

奥野綾子 米本佐代子 佐伯みずほ 林 大祐
藤井直彦

A case of 2,8-dihydroxyadenine urolithiasis diagnosed by metabolomic analyses of serum and urine samples

Ayako OKUNO, Sayoko YONEMOTO, Mizuho SAEKI, Daisuke HAYASHI, and Naohiko FUJII

Department of Nephrology, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Hyogo, Japan

要 旨

症例は 47 歳，女性。尿路結石(20 歳代に 3 回)の既往があり，姉が結石による腎後性腎不全から透析導入となっている。

2 型糖尿病に対し通院治療中であつたが，左腰部と左上腹部に腹痛を認め，徐々に増悪したため当院外来を受診。腹部超音波検査にて左尿管結石性水腎症を認め緊急入院となった。補液・安静にて入院翌日に排石があり，臨床症状改善にて第 3 病日に軽快退院した。結石の赤外線分光分析の結果は，2,8-ジヒドロキシアデニン(DHA)98% であつた。

2,8-DHA 結石症は常染色体劣性遺伝による代謝障害の一つで，アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(APRT)欠損症により尿中に難溶性の 2,8-DHA 結晶を生じる疾患である。APRT 欠損症の可能性を疑い，尿および血清でガスクロマトグラフィ-質量分析器によるメタボローム解析を行ったところ，尿中 2,8-DHA(6.6SD)および 8-ヒドロキシアデニン(6.4SD)の著増，血清でも 2,8-DHA の著増(7.5SD)，アデニン(3SD)の増加を認め，APRT 欠損症による 2,8-DHA 結石症と診断した。なお，尿酸代謝異常は認めなかつた。

また本症は遺伝性疾患であるため，本人の姉(長姉)の尿メタボローム解析を行ったところ，2,8-DHA(6.1SD)と 8-ヒドロキシアデニン(5.2SD)，アデニン(6.7SD)が著明に増加しており，APRT 欠損症と化学診断した。

なお APRT 欠損症の原因として，これまで遺伝子の点突然変異を起こした 2 つのタイプ(APRT*J 型，APRT*Q0 型)が報告されており，本症例は遺伝子検査の結果 JJ 型と判明した。

2,8-DHA 結石は X 線透過性で，分光分析パターンの類似性からも尿酸結石と間違われやすく，全尿路結石の 0.1 ~ 0.2% を占める。治療法は低プリン食とアロプリノール投与である。比較的稀少な疾患であり，若干の文献的考察を加えて報告する。

A 47-year-old female, who had been under treatment for type 2 diabetes mellitus, visited our hospital complaining of severe pain in the left loin and upper abdomen.

She was diagnosed by abdominal ultrasonography with left hydronephrosis due to left ureterolithiasis and was admitted to the hospital for treatment. However, the ureteral stone passed out the following day with hydration, and she was discharged without symptoms. Spectrophotometric analysis of the stone revealed a 98% content of 2,8-dihydroxyadenine (DHA). Considering the possibility of adenine phosphoribosyl transferase (APRT) deficiency, we performed metabolomic analyses of her urine and serum by gas-chromatography-mass-spectrometry (GC-MS), which revealed significantly high urine levels of 2,8-DHA and 8-hydroxyadenine, and high serum lev-

els of 2,8-DHA and adenine. Therefore, we diagnosed her as 2,8-DHA urolithiasis. It should be noted that she had no abnormality of uric acid metabolism.

Similarly, we performed metabolic analysis of her older sister's urine, which also revealed significantly high levels of 2,8-DHA, 8-hydroxyadenine, and adenine.

APRT *Q0 and *J have been identified and reported as responsible mutant alleles in APRT deficiency. In our case, polymerase chain reaction (PCR) analysis demonstrated the *J/*J homozygous APRT genotype.

2,8-DHA urolithiasis is a rare inherited metabolic disorder. APRT deficiency causes extremely insoluble 2,8-DHA crystals to form in the urine. The 2,8-DHA stone is radiolucent and often mistaken as uric acid urolithiasis due to the similarity in the infrared spectroscopy results. 2,8-DHA accounts for approximately 0.1 ~ 0.2% of all urinary stones. A low purine diet and allopurinol administration are effective.

We report here a rare case of 2,8-DHA urolithiasis with a summary and discussion of the previous case reports in the literature.

Jpn J Nephrol 2017 ; 59 : 1071-1077.

Key words : APRT deficiency, metabolomic analysis, metabolomics, 2,8-DHA, genetic urolithiasis

緒 言

2,8-ジヒドロキシアデニン(DHA)結石症は、核酸代謝酵素であるアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(APRT)の先天的な欠損によって生じる常染色体劣性遺伝の病態で、APRT欠損により尿中に難溶性の2,8-DHA結晶を生じることが知られている。

今回われわれは2,8-DHA結石症を発症した患者において、確定診断目的で血清・尿メタボローム解析を行い、分子レベルで2,8-DHAの著増を認め、次いで責任遺伝子の変異も同定したので、若干の文献的考察とともに報告する。

症 例

患 者 : 47歳, 女性

主 訴 : 左腰背部痛

既往歴 : 虫垂炎手術(小学生時), 尿路結石(20歳代に3回), 胆石症手術・膵炎(24歳頃), 脳ラクナ梗塞(1年前)

家族歴 : 姉(長姉); 高血圧。姉(次姉); 結石による腎後性腎不全から透析導入, 透析を約30年行い, 心不全で死去, 乳癌罹患あり。

現病歴 : 糖尿病, 高血圧, 喘息にて近医通院中(内服薬1日量: テルミサルタン40mg・アムロジピンベシル酸塩5mg配合錠1錠, アスピリン錠100mg1錠, アログリプチン安息香酸塩錠25mg1錠, メトホルミン塩酸塩錠250mg2錠, テオフィリン錠200mg2錠, フェノフィブラート錠80mg1錠, ランソプラゾールOD錠15mg1錠, プランルカスト水和物錠112.5mg4カプセル)。

X年X月9日に左腰部と左上腹部の疼痛を認め、徐々に

増悪したため当院外来を受診。腹部単純CTにて左尿管結石による水腎症を認めたため、加療目的で緊急入院となった。

身体所見 : 身長152cm, 体重59.8kg(BMI 25.9kg/m²), 体温36°C, 血圧159/71mmHg, 脈拍73bpm, 胸部; 呼吸音正, 左右差なし, 腹部; 左上腹部を最強点として心窩部, 左側腹~下腹部に圧痛あり, 左肋骨脊椎角(CVA)叩打痛(+), Murphy sign(-), McBurney sign(-)

入院時検査所見

血液および尿検査結果(Table 1) : WBC 12,000/ μ Lと高値であり, Cr 1.25mg/dLと腎機能障害を認めるほか, HbA1c 6.8%と高値であった。その他, 血尿および尿中白血球の増多, 無晶性尿酸塩を認めた。

腹部単純CT(Fig. 1) : 所見; 左腎盂尿管移行部に3~4mm大の結石あり。左腎盂, 腎実質は腫大し周囲のBridging septumの肥厚も目立ち, 尿管結石に伴う水腎症による変化を疑う。診断; 左尿管結石(水腎症の疑い, X線透過性結石)

入院後経過 : 補液を行い経過観察したところ, 入院翌日に排石が見られた。臨床症状およびデータの改善を認めたため, 第3病日に軽快退院となった。結石を回収し成分分析したところ, 2,8-DHA 98%であった。

退院後経過 : 後日, 日本疾患メタボローム解析研究所(<http://www.jc-metabolomics.com/>)でガスクロマトグラフ-質量分析法(GC/MS)を用いた尿メタボローム解析¹⁾を行った結果, 2,8-DHA(6.6SD; 1SD=対照群における対数変換後測定値の標準偏差)と8-ヒドロキシアデニン(6.4SD)の著明な高値を認め, 本症例は2,8-DHA結石症と化学診断された(Fig. 2, 3)。血清メタボローム解析も行った結果, 2,8-DHA

Table 1. Laboratory findings on admission

WBC	12,000/ μ L	Na	139 mEq/L	<Urinalysis>	
Hb	11.9g/dL	K	3.7 mEq/L	pH	5.5
Ht	36.1%	Cl	107 mEq/L	protein	-
Plt	22.1×10^4 / μ L	Ca	8.9 mg/dL	OB	1+
T-bil	0.2 mg/dL	CRP	0.21 mg/dL	glucose	\pm
AST	10 IU/L	HDL-C	48 mg/dL	WBC	3+
ALT	7 IU/L	LDL-C	102 mg/dL	RBC	20 ~ 29 /HPF
LDH	154 IU/L	HbA1c	6.8%	WBC	30 ~ 49 /HPF
TP	6.6 g/dL	FPG	148 mg/dL	amorphous urate	2+
Alb	3.9 g/dL				
BUN	25 mg/dL				
Cr	1.25 mg/dL				
UA	5.2 mg/dL				

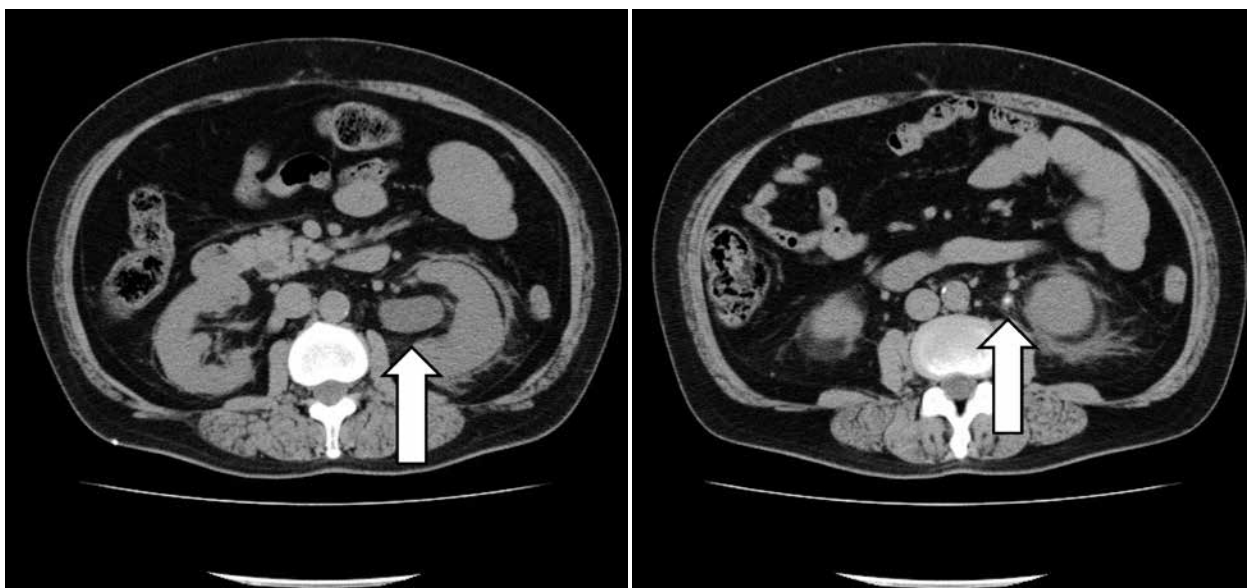


Fig. 1. Computed tomography revealed left hydronephrosis caused by a ureteral stone (3 ~ 4 mm, arrow on the right panel) with dilatation of the renal pelvis (arrow on the left panel), swelling of the renal parenchyma, and bridging septum thickening around the lesion.

(7.5SD), アデニン(3SD)の増加を認め、いずれも 2,8-DHA 結石症に矛盾しない所見であった。今後の尿路結石の再発予防の目的でアロプリノールの内服を開始した。その後現在まで、尿沈渣で DHA 結晶は時折見られるものの、尿路結石症の再発はみられていない。

なお、DHA 結石症の主因である APRT 欠損症の原因として、これまで遺伝子の点突然変異を起こした 2 つのタイプ (APRT*J 型, APRT*Q0 型) が報告されており、本症例は遺伝子検査の結果 J/J 型と判明した。

また、本症は遺伝性疾患であるため家族性発症の可能性

について精査する必要があると判断し、本人の姉(長姉)の尿メタボローム解析を行ったところ、2,8-DHA(6.1SD)と 8-ヒドロキシアデニン(5.2SD), アデニン(6,7SD)が著明に増加しており、姉も APRT 欠損症と化学診断された。

考 察

1. 2,8-DHA 結石症の概論

2,8-DHA 結石症は遺伝性の代謝障害であり、APRT の完全、または部分欠損によりプリン体の代謝が正常に行われ

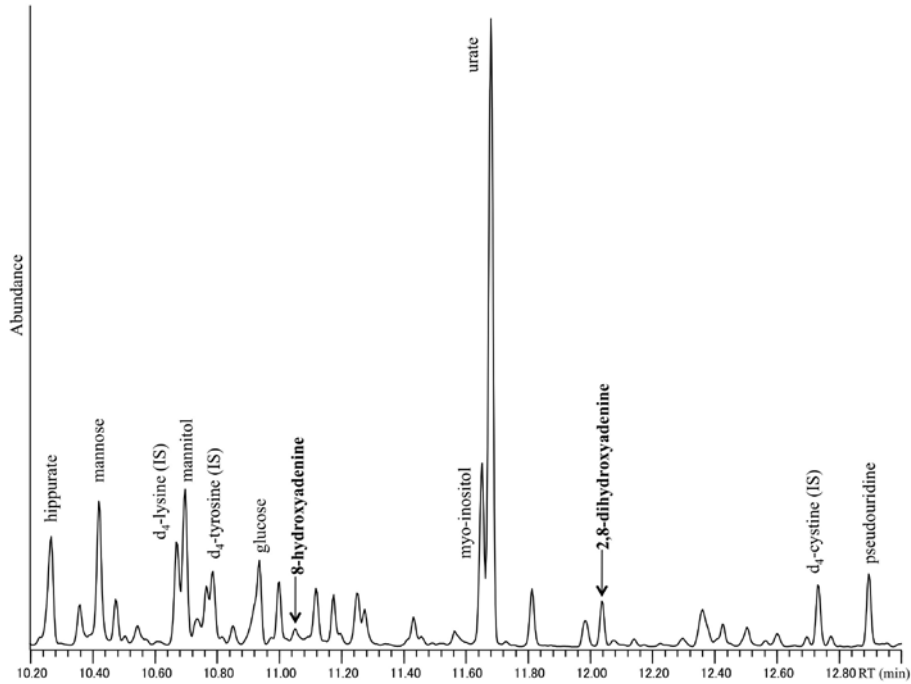


Fig. 2. Total ion current chromatogram of trimethylsilyl (TMS) derivatives of urinary metabolites of this case. The retention time of the authentic 8-hydroxyadenine-3TMS and 2, 8-DHA- 4TMS are indicated by the arrow. TIC : urine

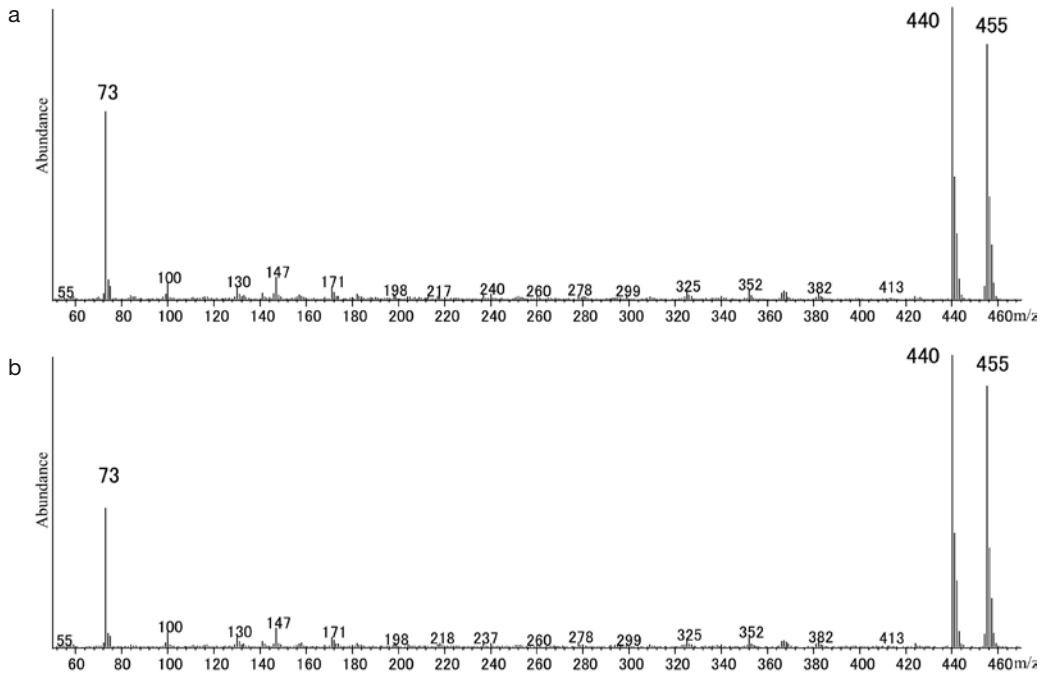


Fig. 3. Mass spectra at the retention time of 12.03 min in Fig 2 (Fig 3a) and the authentic 2, 8-DHA-4TMS (Fig 3b). Intensities of the ions at m/z (mass-to-charge ratio) = 440 and 455 in this patient and were both 6 SD above those of the age-matched control after logarithmic transformation. 8-Hydroxyadenine was evaluated based on the intensity of ions of m/z 352 and 367 at the retention time of 11.04.

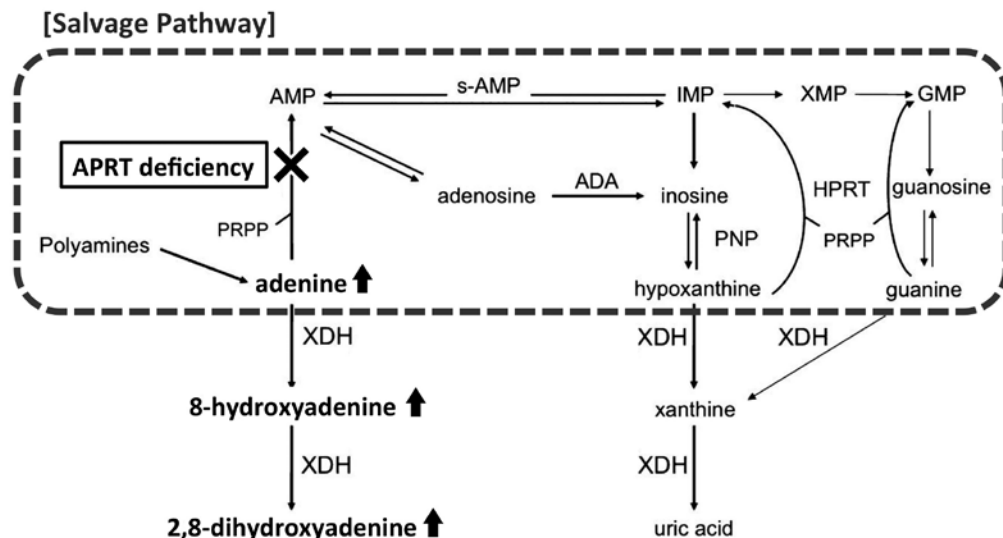


Fig. 4. In patients with 2,8-DHA urolithiasis, complete or partial deficiency of APRT causes inadequate removal of purine bodies, leading to accumulation of extremely insoluble 2,8-DHA crystals in the urine (文献2より引用)

ず、尿中に難溶性の2,8DHA結晶が生じることによって起こる(Fig. 4)²⁾。その頻度は本邦における全尿路結石の0.1~0.2%といわれており³⁾、世界的にはアイスランドか本邦およびフランスからの報告が多い⁴⁾。

31.4%の症例で腎機能低下もしくは腎不全の合併がみられたと報告されていることから⁵⁾、結石の再発予防および新規発症予防が重要となるが、pHによる結晶溶解度の変化が少ないため、尿のアルカリ化は一般に無効である。一方で、2,8-DHA自体に腎毒性があることも指摘されており⁶⁾、プリン体の摂取制限と、キサンチンオキシダーゼ阻害薬であるアロプリノールまたはフェブソキタットの投与が有効とされている^{4,7,8)}。なお、これらの薬剤によりアデニンが蓄積しても、比較的溶解度が高いため尿路結石は生じない。

また、APRT欠損症の臨床的特徴として、尿路結石よりも慢性腎臓病や急性腎障害(AKI)の発症頻度が高いことが近年報告されており、尿路結石のない、原因不明の腎障害症例にAPRT欠損症が潜在的に存在する可能性がある⁹⁾。今回の経験例でも、初診時にすでにeGFRが高度に低下しており、今後の腎予後は不良(治療介入のタイミングとしては遅い)と考えられた。

2. 2,8-DHA結石症の診断

2,8-DHA結石はX線透過性であるため、画像診断上尿酸結石との鑑別が困難である。本症例での尿中2,8-DHA結晶を図(×400, 無染色)に示す(Fig. 5)。本結晶は、褐色で円心状または放射状の球状結晶を形成し、水酸化カリウ

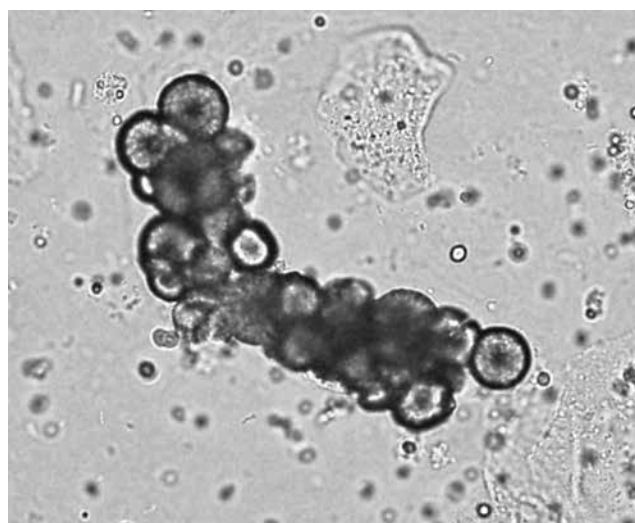


Fig. 5. The microscopic finding of 2,8-DHA crystals in urinary sediment of this case (no staining, ×400)

ムで溶解する。尿酸結晶との違いは、60°Cの加温や生食(または0.4%EDTA加生理食塩水)付加でも溶解されない点である¹⁰⁾。また、尿酸結石は一般に硬いが2,8-DHA結石は脆いため、体外衝撃波結石破碎術(ESWL)が有効とされている。

3. 本症例における診断

本症例では、結石分析にて2,8-DHAが検出されたことからAPRT欠損症が疑われた。

Table 2. Summary of various APRT deficiency (classified by genotype)

Phenotype	Urolithiasis	APRT activity	Resistance to adenine analog	Functionality	Genotype
Complete deficiency	Yes	0%	Resistant (> \times 100)	Non-functional	Q0/Q0
Family members	No	25%	Sensitive	Functional	1/Q0
Japanese-type deficiency	Yes	25%	Resistant (> \times 100)	Non-functional	J/J
Family members	No	25 ~ 100%	Sensitive	Functional	1/J
Wild type	No	100%	Sensitive	Functional	1/1

Formally, APRT deficiency had been diagnosed by the direct measurement of APRT activity in red blood cells or T lymphocytes.

APRT 欠損症は、プリン体合成系でのアデニンの再利用 (サルベージ経路) が障害される、稀な常染色体劣性遺伝疾患である。本邦では約 1% が APRT 遺伝子欠損の保因者と推定されており、最も頻度の高い遺伝病の一つとされている。1974 年に Carter が初めて報告して以来、本邦では 1995 年までに 75 例が報告されており¹¹⁾、一方、フランスでは 1978 年から 2009 年までの間に 53 例が報告されている¹²⁾。本症には特に好発年齢はなく、1 歳未満から 74 歳までの幅広い年代で報告されている¹³⁾。

APRT 欠損症では、代謝されずに蓄積したアデニンが酸化されて 2,8-DHA となり、これが尿管内で析出して尿酸結石性腎症と同様の臨床症状(腎痛、頻回感染、および診断が遅れた場合、腎不全)を引き起こす。本症の確定診断は、酵素定量(赤血球あるいは T 細胞内の APRT 活性の測定)によってなされる^{14,15)}が、APRT 活性の測定は、現在本邦では行われていない。そこで、われわれは日本疾患メタボローム解析研究所の協力を得て、メタボローム解析による化学診断を試みた。

メタボローム解析はオミックス解析(ゲノム解析など)の一つであり、数百種類以上の代謝物を網羅的に解析する研究手法である。標的酵素活性を逐一化学的に直接定量する従来法とは異なり、代謝経路内のさまざまな物質の増減関係から異常のあるプロセスを検出する手法であるため、代謝異常症の超早期診断、予後診断、治療効果などを予測するバイオマーカーの検索、薬物動態解析、薬剤毒性(副作用)解析などに幅広く用いられている。

本症例では尿検体で 2,8-DHA (6.6SD) と 8-ヒドロキシアデニン (6.4SD) の著明な高値を認め、2,8-DHA 結石症と化学診断した。同様に血清についても解析したところ、2,8-DHA (7.5SD)、アデニン (3SD) の増加を認め、いずれも 2,8-DHA 結石症に矛盾しない所見であった。同胞の姉についても尿

メタボローム解析を行ったところ、2,8-DHA (6.1SD) と 8-ヒドロキシアデニン (5.2SD)、アデニン (6.7SD) が著明に増加しており、APRT 欠損症と化学診断された。2 番目の姉は結石による腎後性腎不全から透析導入となり、すでに病死しているため詳細は不明であるが、同じ疾患による可能性が高いと思われた。

本邦では 1997 年に Suzuki らがメタボローム解析によって本症の一家系を¹⁶⁾、次いで 2009 年に Kimura らが 1 例を報告しており¹⁷⁾、本例がメタボローム解析を用いた 3 例目の報告と考えられた。

メタボローム解析の利点は、少量の検体で非侵襲的に高精度な生体情報を獲得し、稀な疾患であっても迅速で簡便に化学診断できる点である。今回用いたメタボローム解析はガスクロマトグラフィー-質量分析器を用いるもので、他のメタボローム解析法と比較して感度・特異度共に優れ、検査料も分子レベルの解析としては廉価であった。検査可能な施設は限られるものの、検体提出から結果報告まで数日と迅速で、実臨床に耐えうるものであった。

APRT 欠損症の原因として、これまで遺伝子の点突然変異を起こした 2 つのタイプ (APRT*J 型、APRT*Q0 型) が報告されてきた (Table 2)。約 80% が日本人特有の APRT*J 型で、残りの約 20% は欧米人型の APRT*Q0 型である。J 型ホモ接合型では酵素の部分欠損 (25%)、Q0 型ホモでは完全欠損 (0%) となり、結石を形成する¹⁸⁾。APRT*Q0 型は生体内でも試験管内(細胞抽出液)でも酵素の完全欠損を示す I 型に相当し、APRT*J 型は、生体内で完全欠損を示すが試験管内では部分欠損となる II 型に相当する¹²⁾。本症例は遺伝子検査の結果 J/J 型と判明した。なお、近年新たな APRT 遺伝子の突然変異も報告されている¹⁹⁾。

おわりに

2,8-DHA 結石症を発症した症例において、常染色体劣性遺伝である APRT 欠損症の診断に尿・血清メタボローム分析が有用であった1例を経験した。早期診断・治療により腎不全を未然に防ぐことができる可能性があり、他の同胞についても検査を行う必要があると考えられた。

なお、本稿の要旨については、第43回日本腎臓学会西部大会にて発表した。

謝 辞

本稿執筆にあたり、診療情報をご提供いただいた大阪暁明館病院内科 藤原正義先生と、検査にご協力いただいた兵庫県立西宮病院検査部 興梠 薫様にこの場をお借りして御礼申し上げます。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- Matsumoto I, Kuhara T. A new chemical diagnostic method for inborn errors of metabolism by mass spectrometry-rapid, practical, and simultaneous urinary metabolites analysis. *Mass Spectrom Rev* 1996; 15: 43-57.
- Bollee G, Harambat J, Bensman A, Knebelmann B, Daudon M, Ceballos-Picot I. Adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 1521-1527.
- 鎌谷直之, 西岡久寿樹. APRT 欠損症と DHA 結石-遺伝学的変異, 酵素欠損と結石症の関係. *西日本泌尿* 1986; 49: 479-485.
- Evardsson VO, Goldfarb DS, Lieske JC, Beara-Lasic L, Anglani F, Milliner DS, Palsson R. Hereditary causes of kidney stones and chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2013; 28: 1923-1942.
- 大井智教, 平野大作, 野垣譲二, 清滝修二, 岡田清己. 2,8-dihydroxyadenine 結石の1例. *泌尿外* 1994; 7: 727-730.
- 加藤晴朗, 山下俊郎, 平林直樹, 藤本 博, 田中正敏. 2,8 ジヒドロキシアデニン結晶による間質性腎炎. *臨泌* 1988; 42: 51-53.
- 町田竜也, 山田拓己, 鎌田成芳, 兵地信彦, 竹内信一, 斉藤博. 2,8 ジヒドロキシアデニン結石の一例. *臨泌* 1996; 50: 597-599.
- Hesse A, Tiselius H-G, Siener R, Hoppe B. 2,8-dihydroxyadenine stones. In: *Urinary Stones Diagnosis, Treatment, and Prevention of Recurrence*, 3rd ed. Karger, 2009: 142-151.
- Runolfsson HL, Palsson R, Agustsdottir IM, Indridason OS, Edvardsson VO. Kidney disease in adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Am J Kidney Dis* 2016; 67: 431-438.
- 宮地勇人, 浅井さとみ, 野崎 司. 尿沈渣アトラス. 東京: シスメックス, 2012.
- 曾我倫久人, 鈴木竜一, 米田勝紀, 金原弘幸. 2,8-ジヒドロキシアデニン結石症の1例. *臨泌* 1995; 49: 411-413.
- Bollee G, Dollinger C, Boutaud L, Guillemot D, Bensman A, Harambat J, Deteix P, Daudon M, Knebelmann B, Ceballos-Picot I. Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 679-688.
- Sahota AS, Tischfield JA, Kamatani N, Simmonds HA. Adenine phosphoribosyltransferase deficiency and 2,8-dihydroxyadenine lithiasis. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th Ed., edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. New York: McGraw-Hill Division, 2001: 2571-2584.
- Kamatani N, Takeuchi F, Nishida Y, Yamanaka H, Nishioka K, Tatara K, Fujimori S, Kaneko K, Akaoka I, Tofuku Y. Severe impairment in adenine metabolism with a partial deficiency of adenine phosphoribosyltransferase. *Metabolism* 1985; 34: 164-168.
- 鎌谷直之. 2,8-ジヒドロキシアデニン結石症. *Pharma Medica* 1988; 6: 39-42.
- Suzuki K, Kobayashi S, Kawamura K, Kuhara T, Tsugawa R. Family Study of 2,8-Dihydroxyadenine Stone Formation: Report of two cases of a compound heterozygote for adenine phosphoribosyltransferase deficiency (APRT*J/APRT*Qo). *Int J Urol* 1997; 4: 304-306.
- Kimura T, Yasuda K, Obi Y, Kobayashi K, Kuhara T, Isaka Y, Imai E, Rakugi H, Hayashi T. Quiz page June 2009: Worsening kidney function with a history of urolithiasis. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: A37-39.
- 吉越富久夫, 古田 希, 後藤博一, 大石幸彦. 2,8-ジヒドロキシアデニン結石症の1例. *臨泌* 1995; 49: 408-410.
- Valaperta R, Rizzo V, Lombardi F, Verdelli C, Piccoli M, Ghiroldi A, Creo P, Colombo A, Valisi M, Margiotta E, Panella R, Costa E. Adenine phosphoribosyltransferase (APRT) deficiency: identification of a novel nonsense mutation. *BMC Nephrology* 2014; 15: 102.