
Kongenital nefros av finländsk typ (CNF, NPHS1) – en nyckel till mekanismen vid proteinuri

CHRISTER HOLMBERG

Den finländska typen av kongenital nefros är en av de recessivt nedärvda sällsynta sjukdomar som är vanligare i Finland än annanstans i världen. Finländska forskare har beskrivit sjukdomsbilden, forskat kring dess patofysiologi och isolerat den defekta genen, kallad NPHS1. Dess genprodukt nefrin utgör stommen i det s.k. slitmembranet som håller samman podocyternas fotprocesser i våra glomeruli. Vid Fin-major och -minor mutationer i NPHS1 bildas inget slitmembran, och bl.a. albumin läcker igenom till urinen, vilket leder till svullnad, proteinbrist, infektioner och död. I dag kan patienterna skötas med njurtransplantation, och upptäckten av nefrin har lett till en global forskningsaktivitet som visar att tillståndet vid många njursjukdomar med nefros (kongenital nefros, steroidresistent nefrotiskt syndrom) orsakas av en defekt i någon av de podocytgener som i dag har beskrivits. Beroende på gendefektens art uppträder sjukdomarna i olika ålder och har en varierande patologi. Yttre faktorer kan även vara utlösande faktorer. Ofta reagerar de här ärftliga sjukdomarna inte på någon medicinering. De nya forskningsrönen har medfört en mera mångsidig klassificering av njursjukdomar baserad på både sjukdomsbild, gendefekt och patologi.

Inledning

Den finländska typen av kongenital nefros rapporterades först av Niilo Hallmans forskargrupp som utgående från 8 patienter beskrev den kliniska bilden i detalj (1). Reijo Norio visade i sin avhandling att sjukdomen är recessivt nedärvd, och CNF (Congenital Nephrosis of the Finnish type) är den första av mer än 30 sjukdomar som ingår i det så kallade finländska sjukdomsarvet (2). Dessa sjukdomar är vanligare hos oss än någon annanstans i världen. Finländska forskare har karakteriserat sjukdomarna, klarlagt patogenesen vid de flesta och tillsammans med våra genetiker isolerat generna. Därigenom har vi bidragit till att klarlägga många normala skeenden och hur de regleras i vår organism. CNF är exempel på en sådan sjukdom.

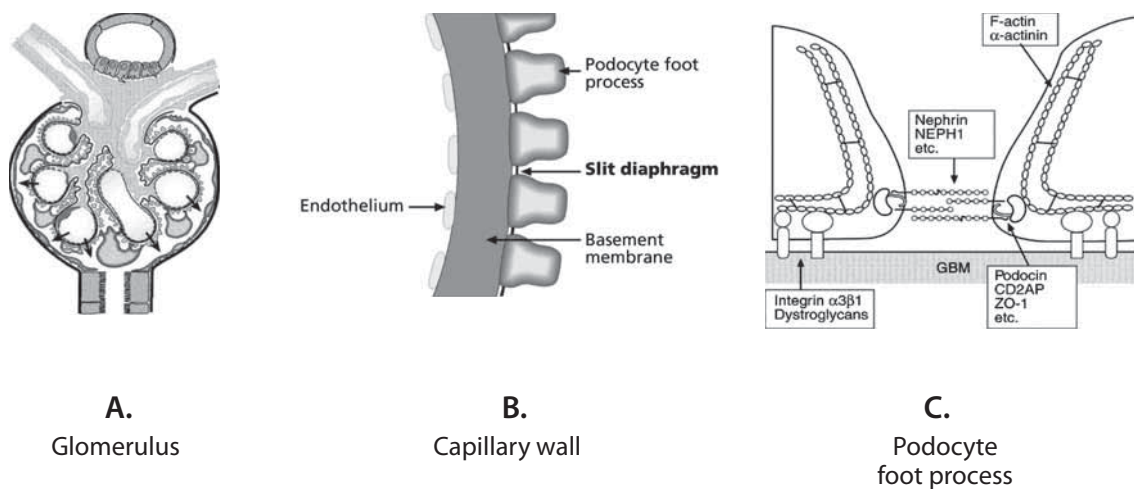
Sjukdomsbilden

Från och med födseln förlorar barnen rikligt med äggvita till urinen. Vid CNF uppgår albuminkoncentrationen i urinen alltid till

mer än 20 g/l om albuminhalten i serum korrigeras till över 15 g/l. Som ett tecken på att sjukdomen börjar redan intrauterint är fostervattnets α -fetoproteinkoncentration alltid förhöjd och moderkakan är över 30 procent av barnets födelsevikt (troligen svullen på grund av hypoproteinemi). Eftersom barnen förlorar rikligt med albumin i urinen sjunker albuminhalten i serum, det onkotiska trycket avtar och vatten överförs till vävnaderna från blodcirkulationen: patienterna får svullnader (= ödem), de blir nefrotiska. På grund av proteinbristen blir bl.a. skallbenen mjukare, och patienterna har en prominent panna och uppdriven buk samt svullnader (1).

FÖRFATTAREN

Christer Holmberg är professor i pediatrik vid Helsingfors universitet samt överläkare vid HUCS, Barn- och ungdomssjukhuset.



Figur 1.
A. Glomerulus. Vatten och små molekyler filtreras genom kapillärväggen (små pilar). Podocyterna är komplexa celler som omger kapillärernas basalmembran. B. Kapillärväggens struktur/byggnad. Slitmembranet hindrar proteiner från att läcka igenom till urinen. C. Några komponenter i podocyternas fotprocesser.

Eftersom nefros är ett vanligt symtom vid många njursjukdomar, försökte man till en början sköta barnen med bl.a. kortison och annan medicinering, men proteinförlusten reagerade inte på någon medicinering. Barnen avled i allmänhet under de första sex månaderna i infektioner (barnen förlorar även antikroppar i urinen och är således infektionskänsliga) eller elektrolytstörningar. Otaliga forskare i Finland och utomlands försökte under många år klarlägga grunddefekten vid denna medfödda njursjukdom. Det var redan tidigt uppenbart att när CNF-sjukdomens patogenes klarläggs, kommer vi att lära oss vilken del av filtret i våra glomeruli som är viktigast för att behålla äggvita i blodcirkulationen.

Urin bildas genom att ca 200 liter primärurin filtreras genom glomeruli i två miljoner nefroner i våra njurar. Merparten av vätskan uppsugs sedan i den så kallade tubulusdelen, och den dagliga urinmängden är ca 1,5 liter. I våra glomeruli, som är inneslutna i Bowmans kapsel, har vi ett kapillärnätverk som omsluts av ett basalmembran och epitelceller, de så kallade podocyterna (Figur 1). Man antog länge att basalmembranet är det avgörande skiktet som hindrar röda blodkroppar och större proteinmolekyler att sköljas ut i urinen. Vi vet att olika kollagener, laminin och andra molekyler bildar basalmembranets nätverk

med små öppningar. Dessa är beklädda med negativt laddade proteoglykaner, och man utgick från att det avgörande för filtratet var öppningarnas storlek. De motsvarar albuminets storlek, men eftersom de är beklädda med negativt laddade proteoglykaner, stannar t.ex. det negativt laddade albuminet kvar i blodcirkulationen. Vid njursjukdomar med proteinförlust antogs nätverket vara defekt, som vid den nedärvda sjukdomen Alports syndrom som orsakas av en defekt i kollagen IV-molekylens α -5-kedja. Emellertid kunde man inte vid CNF hitta ett primärt fel i något av basalmembranets beståndsdelar eller i de gener som kodar för dem (3).

Hur sköts barn med CNF i dag?

Under 1980-talet utvecklades transplantationsverksamheten främst på grund av ciklosporinet som effektivt förhindrar tidiga avstöttningsreaktioner, och allt yngre njursjuka barn kunde behandlas framgångsrikt. På 1970-talet i bl.a. Minnesota och i mitten av 1980-talet i Finland började man behandla CNF-patienter, tidigare hade alla avlidit i tidig ålder. Efter födseln sätter man in en kateter och tillför albumin med dagliga infusioner. Man ser till att barnen får tillräckligt med kalorier och profylaktisk behandling mot

tromboser, tillför thyroxin samt åtgärdar alla infektioner tills barnen uppnått en vikt på ca 7 kg, vanligtvis vid ca 6 månaders ålder. I det här skedet nefrektomeras de för att albuminförlusten ska upphöra och proteinstatus normaliseras. Efter 6–9 månader i peritonealdialys och när barnen har uppnått en vikt på över 9 kg, får de en ny njure (4). Efter lyckad transplantation lever de ett helt normalt liv som vilken annan njurtransplanterad patient som helst. I dag har 67 CNF-barn fått en ny njure, patientöverlevnaden efter 7 år är 95 procent och över 80 procent av njurarna fungerar; tillväxt och utveckling är normala utan tidiga komplikationer. Överallt i världen följer man i dag våra riktlinjer vid behandlingen av kongenital nefros (5).

Etiologin vid CNF

Samtidigt som vi 1984 började utveckla vården av CNF-patienterna, påbörjade vi tillsammans med professor Karl Tryggvason, numera verksam vid Karolinska Institutet i Stockholm, och hans grupp en studie i syfte att finna gendefekten vid CNF. Efter många år, under vilka vi kunde utesluta ett otal kandidatgener, lyckades Marjo Kestilä, som disputerade för doktorsgraden 1998 (6), hitta genen som fick namnet *NPHS1* (Nephrotic Syndrome 1) på kromosom 19q13,1. Päivi Ljungberg lokaliserade i sin doktorsavhandling 1999 (7) dess produkt (nefrinet) till epitelcellernas (podocyternas) s.k. slitmembran, den tunna hinna som sammanbinder podocyternas fotprocesser med varandra. Nefrinet består av 1 241 aminosyror och är ett transmembranprotein som hör till immunglobulinfamiljens adhesionsmolekyler. De finländska barnen har till ca 90 procent antingen en Fin-major eller Fin-minormutation, vilka vardera leder till total avsaknad av nefrin och slitmembran. Med andra ord utgör nefrinet slitmembranets viktigaste beståndsdel och är den viktigaste komponenten i glomerulusfiltret. Om slitmembranet saknas, läcker små äggviteämnen fritt ut i urinen och tillståndet reagerar inte på någon medicinering. Man insåg plötsligt att inte basalmembranen utan podocyterna är den viktigaste filtrationsbarriären i våra glomeruli. Senare har studier av podocyterna, andra podocytgener och deras proteiner samt funktion ökat överallt i världen. Vår uppfattning om njurarnas filtration förändrades radikalt, och nefrinet valdes till "molecule of the year". Ett otal *NPHS1*-mutationer har

beskrivits, och några orsakar en så liten förändring i nefrinmolekylen att patienterna har en lindrigare sjukdomsbild (t.ex. den på Malta vanligaste mutationen). Ett fåtal patienter kan troligen även reagera på medicinering med ACE-inhibitorer (5).

Andra gendefekter i podocyterna

Kort efter det att nefrinet hade beskrivits, upptäckte Corinne Antignac grupp i Paris en annan viktig podocytgen *NPHS2*. Mutationer i den leder till patologiskt podocin och orsakar FSGS-förändringar i glomeruli (fokal segmentell glomeruloskleros) (8). Vid defekter i nefrinet får man till en början mesangial hypercellularitet, sedan dilaterade glomeruli och slutligen fibrotiska förändringar. Trots att histologin är olika, kan vardera i början leda till en kliniskt likadan kongenital nefros. Senare har många andra gener beskrivits, och mutationer i dem leder även till nefros, d.v.s. svår proteinförlust men i olika ålder. Många mutationer (*CD2AP*-, *Neph1*-, *α-actinin*- och *TRPC6*-mutationer) orsakar en FSGS-liknande patologi, medan t.ex. mutationer i lamininβ2- och WT1-generna orsakar DMS-patologi (diffus mesangial skleros). För att ytterligare komplicera bilden har Anna Koziell visat att patienter som är homozygota för *NPHS1*- och heterozygota för *NPHS2*-mutationer har en *NPHS1*-liknande sjukdomsbild men en FSGS-patologi (9). I djurförsök har man även visat att heterozygota *synaptopodin* och *CD2AP*-djur har en fusion av fotprocesserna och proteinuri. Det innebär att den som har en mutation i några av podocytgenerna, eventuellt i bägge kromosomerna, eller är heterozygot för två mutationer, kan utveckla en likadan klinisk bild men med olika patologi och i olika ålder. Troligen påverkar även yttre faktorer sjukdomsbilden och dess förlopp.

Betydelse vid andra njursjukdomar

Eftersom många, kanske t.o.m. de flesta njursjukdomar orsakar proteinuri, började man genast undersöka om patienter med t.ex. diabetisk nefropati, steroidresistent nefrotiskt syndrom etc. hade mutationer i nefrinet eller övriga podocytgener och i vilken utsträckning de olika genprodukterna förekom i patienternas njurar. Avvikande expression har närmast uppstått sekundärt efter njurskadan, och ett samband med t.ex. diabetesnefropati har inte kunnat påvisas. CNF-patienterna har ju inte

heller diabetes eller avvikande sockerämnesomsättning. När patienter med steroidresistent nefrotiskt syndrom undersökts, har man emellertid kunnat visa att 30 procent av patienterna har en mutation i podocingenen (10). De reagerar inte på någon medicinerings, men i motsats till läget för andra steroidresistenta patienter recidiverar sjukdomen inte efter njurtransplantation. Patologin kan variera allt från mesangial hypercellularitet, minimal change till fokal segmental skleros, men säger alltså inget om själva sjukdomsbilden. Man kan emellertid i dag bättre definiera till vilka patienter det lönar sig att ge starka cytostatika och stora mängder kortison, och man kan bättre förutsäga om sjukdomen kommer att uppträda i den transplanterade njuren.

Konklusion

Proteinuri är ett av de viktigaste tecknen på en glomerulär njurskada. CNF har länge betraktats som en modellsjukdom med tanke på proteinurins mekanismer (11). Eftersom NPHS1-genen och dess produkt nefrinet lokaliserades till podocyternas slitmembran samt hos människan påvisats enbart i njurarna, betraktade man podocyterna som den viktigaste komponenten i det glomerulära filtret. I dag har emellertid de senaste undersökningarna visat att en fullständigt fungerande filtration förutsätter ett ostört samspel mellan å ena sidan podocyterna och de gener som reglerar slitmembranets funktion, basalmembranet och endotelcellerna. Dessa kommunicerar med varandra, och podocyterna utsöndrar ämnen som VEGF-A, vilket är en förutsättning för endotelets utveckling och funktion (12).

Upptäckten av de olika podocytgenerna och insikten om att medfödda mutationer i dessa dels kan orsaka liknande sjukdomsbilder med olika patologi, dels som heterozygota predisponera för liknande sjukdomsbilder delvis till följd av yttre omständigheter, har lett till att vi troligen inom de närmaste åren står inför en ny klassifikation av vissa njursjukdomar. Till exempel kongenital nefros och steroidresistent nefrotiskt syndrom bör troligen klassificeras utifrån sjukdomsbilden, de genetiska förändringarna och patologin, inte som nu främst på basis av njurpatologin. Den nya klassificeringen kommer att hjälpa oss att bättre rikta vår behandling och bidra till utvecklandet av nya mediciner.

Vi har här ett exempel på hur isoleringen av en monogen sjukdoms gendefekt och karakteriseringen av dess genprodukt kan ändra vår uppfattning om normala skeenden och klassificeringen av många sjukdomar.

Prof. Christer Holmberg

Barn- och ungdomssjukhuset

PB 280

00029 HNS

christer.holmberg@hus.fi

Referenser

1. Ahvenainen EK, Hallman N, Hjelt L. Nephrotic syndrome in newborn and young infants. *Ann Paediatr Fenn* 1956;2(3):227-41.
2. Norio R, Nevanlinna HR, Perheentupa J. Hereditary diseases in Finland; rare flora in rare soil. *Ann Clin Res* 1973;5(3):109-41.
3. Avner ED, Harmon WE, Niaudet P. *Pediatric Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
4. Antikainen M, Holmberg C, Taskinen MR. Growth, serum lipoproteins and apoproteins in infants with congenital nephrosis. *Clin Nephrol* 1992;38(5):254-63.
5. Holmberg C, Tryggvason K, Kestila M, Jalanko H. Congenital Nephrotic Syndrome. In: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, editors. *Pediatric Nephrology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2004.
6. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998;1(4):575-582.
7. Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, Lenkkeri U, Kestila M, Jalanko H, et al. Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(14):7962-7.
8. Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benassy F, Lee H, Fuchshuber A, et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000;24(4):349-354.
9. Koziell A, Grech V, Hussain S, Lee G, Lenkkeri U, Tryggvason K, et al. Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Hum Mol Genet* 2002;11(4):379-388.
10. Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, Haas JP, Anacleto FE, Schultheiss M, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(3):722-732.
11. Kuusniemi AM, Merenmies J, Lahdenkari AT, Holmberg C, Salmela K, Karikoski R, et al. Glomerular sclerosis in kidneys with congenital nephrotic syndrome (NPHS1). *Kidney Int* 2006;70(8):1423-31.
12. Dandapani SV, Pollak MR. The glomerular filter: Biologic and genetic complexity. *Kidney Int* 2006;70(6):980-982.