

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：32620  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2015～2016  
課題番号：15K19468  
研究課題名(和文) IgA腎症における扁桃摘出術の適応基準の確立  
  
研究課題名(英文) Criteria of tonsillectomy in IgA nephropathy  
  
研究代表者  
毎熊 政行(MAIGUMA, Masayuki)  
  
順天堂大学・医学部・助教  
  
研究者番号：50748564  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症は、多因子疾患であり、その病態が複雑であるため、複数のバイオマーカー(血中糖鎖異常IgA1・糖鎖異常IgA1特異的IgG抗体価およびIgA抗体価、IgG-IgA免疫複合体などのバイオマーカー)を組み合わせることで、診断・疾患活動性の評価に有用であることが基礎データとして示された。血清バイオマーカーに加えて、扁桃細胞培養液中の糖鎖異常IgA1・糖鎖異常IgA1特異的IgG抗体価およびIgG-IgA免疫複合体などのバイオマーカーを測定し、解析することで、扁桃摘出術の適応を決定する上で有用なマーカーとなりうることを示唆される。

研究成果の概要(英文)：Serum levels of galactose-deficient IgA1 (Gd-IgA1) and Gd-IgA1-containing immune complexes are important for the pathogenesis of IgA nephropathy. Our observations suggested that a panel of serum biomarkers may be helpful in differentiating IgAN from other glomerular diseases. The biomarkers of tonsillar cells supernatant might be useful for criteria of tonsillectomy in IgA nephropathy.

研究分野：腎臓

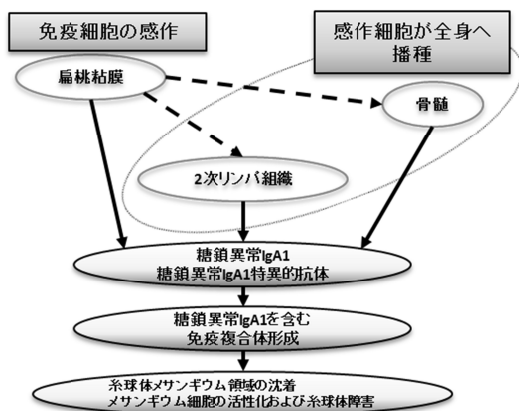
キーワード：IgA腎症 糖鎖異常IgA1 糖鎖異常IgA1特異的抗体 免疫複合体 TLR9 扁桃

1. 研究開始当初の背景

【糖鎖異常IgA1および糖鎖異常IgA1免疫複合体の診断的意義】

●IgA 腎症患者の糸球体にはIgA1 ヒンジ部の O-結合型糖鎖の Gal が欠損した糖鎖異常 IgA1(GdIgA1)が沈着しており(Hiki Y, et al: Kidney Int, 2001、Alice AC, et al: Kidney Int, 2001)、腎炎惹起性を有すると考えられている。そして、IgA 腎症患者の血中には GdIgA1 が増加し(Moldveau Z et al, Kidney Int, 2007) 糖鎖異常 IgA1 免疫複合体が増加していることが報告されている(Tomana M, et al: J Clin Invest, 1999)。

●IgA 腎症患者において糖鎖異常 IgA1 と IgA-IgG 免疫複合体が血尿・尿蛋白量に相関し、治療後にそれらのバイオマーカーが減少する症例ほど臨床所見の改善を認め、疾患活動性の評価に有用であることが報告された(Suzuki Y et al, Clin Exp Nephrol, 2014)



【IgA 腎症における扁桃粘膜免疫応答異常の関与】

●IgA 腎症では扁桃を主体とした粘膜免疫応答異常の関与が示唆されており、扁桃摘出術にステロイド療法を組み合わせた扁桃摘出療法がステロイド療法単独よりも有効なこと (Komatsu H et al, Clin J Am Soc Nephrol, 2008) 扁桃摘出療法は扁桃あるいはステロイド療法単独よりも有効であることが報告されている(Hotta O et al. Am J Kidney Dis 2001)。過去の RCT では扁桃摘出療法には否定的な報告が多く (Rasche FM et al. Clin Nephrol 1999) 本邦における扁桃摘出療法とステロイド療法単独の RCT では扁桃摘出療法の方が尿蛋白は減少するが、12 ヶ月間の観察期間においては血尿および臨床的寛解率に有意な差は認められず、今後長期的な腎予後を評価した報告が待たれている (Kawamura T, Nephrol Dial Transplant, 2014)。

●扁桃での TLR9 の発現が高い群では扁桃摘後

に血清 IgA 値の低下、尿所見異常が改善する症例を多く認め (Sato D et al, Nephrol Dial Transplant 2011)、扁桃摘後に血清糖鎖異常 IgA1 が有意に低下した群と変化が得られなかった群を比較したものは、有意に低下した群では扁桃摘のみで血尿の減少を認め、扁桃における TLR9 の発現が亢進していることが報告され(Nakata J, Plos One, 2014)、扁桃における TLR9 の発現が腎炎惹起性 IgA 産生に関与していることが示唆されている。

●IgA 腎症患者の TLR9 遺伝子の rs352140 における塩基多型(TT)は他の塩基多型(CC,CT)と比較し組織学的重症度が異なり (Suzuki H et al, J Am Soc Nephrol 2008)、TLR9 遺伝子における塩基多型は、IgA 腎症の heterogeneity を規定する重要な因子である可能性がある。しかし、扁桃における TLR9 の発現と塩基多型の相関を検討した研究は行われていない。

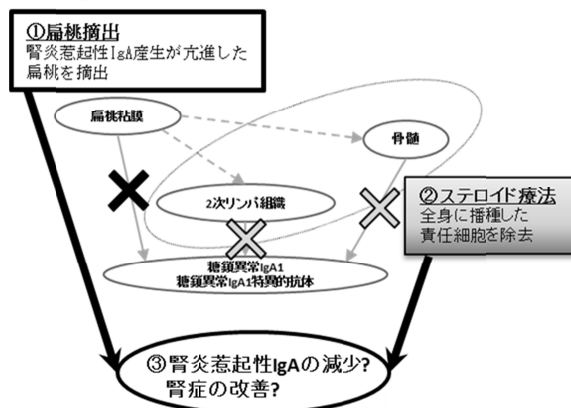
【IgA 腎症における Mucosa – bone marrow axis の異常】

●IgA 腎症患者の骨髄形質細胞の異常 (Harper SJ et al. J Clin Patol 1996) や骨髄細胞の産生する IgA に糖鎖異常が存在すること (Barrat J et al. Semin Nephrol 2004) IgA 腎症患者に正常人からの骨髄を移植すると腎症が消失することが報告されている (Sakai K, Nephrology, 1997) IgA 腎症が粘膜免疫において感作された免疫細胞が骨髄や全身のリンパ組織に播種し、腎炎惹起性 IgA が産生されることが考えられている (Suzuki Y, Contrib Nephrol, 2007)。

2. 研究の目的

IgA 腎症患者において扁桃における TLR9 の発現亢進、免疫細胞の活性化、サイトカイン産生上昇が IgA 腎症の発症・進展に関与することが示唆されているが、腎炎惹起性 IgA と考えられる糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体の産生部位の一つとして扁桃が考えられる。

仮説



本研究では、扁桃における糖鎖異常 IgA1・糖鎖異常 IgA1 特異的抗体産生と血清バイオマーカーおよび扁桃 TLR9 の発現と臨床所見を検討し、扁桃摘出の適応基準を明確にすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### 【扁桃における腎炎惹起性 IgA 産生の検証】

扁桃細胞培養上清の糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体を測定する。

扁桃摘前後およびステロイドパルス療法前後の血清バイオマーカーを測定し、臨床データの収集を行う。

順天堂大学腎臓内科では 2012 年度より扁桃摘出術を行った患者の扁桃細胞を培養し、その上清を保存しており、2014 年 10 月現在 IgA 腎症患者約 85 症例、非 IgA 腎症患者 45 症例を保有している。

1. ELISA 法により扁桃上清の糖鎖異常 IgA1・糖鎖異常 IgA1 特異的抗体を測定する。

2. IgA 腎症患者群と非 IgA 腎症患者群における抗体産生能を比較検討する。

3. ELISA 法による治療前後の血中バイオマーカー（糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体、IgA-IgG 免疫複合体）の測定。

#### 4. 臨床データの収集

当院診療録から、開始時からの経時的な臨床検査所見（血清クレアチニン値、尿蛋白定性、尿蛋白定量、尿潜血反応、尿沈渣など）、治療内容（扁桃摘出の有無、ステロイドパルスの回数、ステロイド内服量および期間、抗血小板薬、抗凝固薬、ACE-I/ARB 内服の有無など）についてのデータ収集を行う。

5. 扁桃における糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体産生量により下記 4 群に分類する。

- ① GdIgA1・GdIgA1Ab 共に上昇
- ② GdIgA1 のみ上昇
- ③ GdIgA1Ab のみ上昇
- ④ GdIgA1・GdIgA1Ab 共に上昇を認めない

6. 扁桃摘後と扁桃ステロイドパルス療法後の 2 点における血尿・蛋白尿の臨床的寛解率を 4 群で比較検討し、扁桃上清における GdIgA1 と GdIgA1Ab 産生能と腎炎惹起性 IgA 産生部位（扁桃由来または、扁桃以外の骨髓や 2 次リンパ組織由来）の相関性を検討する。

次いで、血中バイオマーカー（糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体、免疫複合体）と上記 4 群との相関を検討し、扁桃摘の適応を決定する新たな指標を確立する。

#### 【扁桃摘の適応を決定する新たな指標を確立】

扁桃における糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 特異的抗体産生と血清バイオマーカーの相関を検討し、血清バイオマーカーによる扁桃摘の適応を決定する新たな指標を確立する。扁桃 TLR9 と TLR9 遺伝子の塩基多型との相関を検証し、塩基多型による扁桃摘の適応基準を明確にする。

1. 扁桃における TLR9 発現を Real-Time PCR により測定する。そして、患者の保存 DNA について Applied Biosystem 社より購入したプローブ(rs352140)を用い、TaqMan genotyping PCR Master Mix(Applied Biosystem 社)と 7500 Real-time PCR system (Applied Biosystem 社)を用いて genotyping を行う。

2. 扁桃 TLR9 の発現と TLR9 遺伝子の塩基多型との相関を検証し、塩基多型による扁桃摘の適応基準を明確にする。

### 4. 研究成果

我々は、これまでに IgA 腎症患者の発症・進展に扁桃における TLR9 の発現が関与していることが考えられ、IgA 腎症患者の TLR9 遺伝子の rs352140 における一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) TT は他の塩基多型 (CT, CC) と比較し組織学的重症度が異なることを報告し、TLR9 遺伝子の rs35210 における一塩基多型は IgA 腎症の heterogeneity を規定する重要な因子であることを報告している。腎生検時点の血清クレアチニン、蛋白尿、腎組織所見などは TT と CT・CC の間で有意な差は認められないが、腎機能低下速度をアウトカムとした多変量解析においては、TT は CT・CC よりも腎機能低下速度が速い傾向があり、予後予測因子の一つである可能性が示唆される。SNP は生来不変であるため、予後予測因子として確立されれば、IgA 腎症と診断された際に測定し治療方針の決定に用いることが可能である。組織学的所見だけでなく、早期における SNP の測定が治療方針の決定に際して有用である可能性が示唆される。

IgA 腎症の診断および活動性を評価する非侵襲的な方法として、血中糖鎖異常 IgA1・糖鎖異常 IgA1 特異的 IgG 抗体価および IgA 抗体価、IgG-IgA 免疫複合体などのバイオマーカー測定系を樹立した。これらを用いて、IgA 腎症患者、IgA 腎症以外の腎症患者、健康人の血清サンプルを収集し、上述したバイオマーカーを測定した。IgA 腎症は、多因子疾患であり、その病態が複雑であるため、複数のバイオマーカーを組み合わせることで、診断・疾患活動性の評価に有用であることが基礎データとして示された。血清バイオマーカーに加えて、扁桃細胞培養液中の糖鎖異常 IgA1・糖鎖異常 IgA1 特異的 IgG 抗体価および IgG-IgA 免疫複合体などのバイオマーカーを測定し、解析することで、扁桃摘出術の

適応を決定する上で有用なマーカーとなり  
うると考えられた。しかしながら、扁桃細胞  
培養液中の抗体価はばらつきが大きいこと  
が明らかとなった。培養細胞数、細胞採取時  
間、培養時間など様々な要因が考えられ、今  
後、補正に用いる因子を検討する必要がある。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に  
は下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

毎熊 政行 (MAIGUMA, Masayuki)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：50748564

##### (2)研究協力者

鈴木 祐介 (SUZUKI, Yusuke)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：70372935

鈴木 仁 (SUZUKI, Hitoshi)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10468572