

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20132

研究課題名(和文) 異常糖鎖IgA1構造解析から腎移植後IgA腎症の再発メカニズムを解明する

研究課題名(英文) Elucidation of recurrence mechanism of IgA nephropathy after kidney transplantation from structural analysis of IgA1 O-glycans

研究代表者

中澤 成晃 (Nakazawa, Shigeaki)

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80759530

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腎症患者、IgA沈着症ドナー、正常ドナーの3群間において、IgA1ヒンジ領域に結合している糖鎖数を質量分析を用いて解析した。IgA腎症患者では、GalNAcが3箇所負荷しているGalNAc3の割合が有意に上昇しており、逆に、GalNAc5,6の割合は有意に減少していた。つまりIgA腎症患者では他の2群に比べて有意に糖鎖結合数が少なかった。しかし、IgA沈着症ドナー、正常ドナーの間には結合数において有意差は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：In O-glycans analysis using MALDI-TOF-MS, GalNAc and Gal content in HR of IgAN recipients were significantly decreased than IgAD donors and healthy donors. However, in all patterns of O-glycans, there was no significant difference between IgAD donors and healthy donors.

研究分野：腎移植

キーワード：IgA腎症 腎移植

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は原発性糸球体腎炎の中で最も多く、20 年で約 40% が末期腎不全に至る予後不良疾患であり、平成 27 年 1 月 1 日より医療費助成対象疾病(指定難病)に認定された。IgA 腎症の患者に腎移植を施行した場合、移植腎への再発が 20-60% に認められ、移植腎廃絶の原因として慢性拒絶反応と並び 4.8% を占めると報告されている。免疫グロブリンの一種である IgA には IgA1 と IgA2 の 2 つのサブタイプがあり、このうち IgA1 が IgA 腎症発症に關与する。正常 IgA1 のヒンジ部分には 9 つのセリン、スレオニン残基があり、このうち 5 箇所に O 型結合糖鎖が付加する(図 1)。IgA 腎症では、いくつかの O 型結合糖鎖が欠損した異常糖鎖 IgA1 が産生され、異常糖鎖 IgA1 に対する免疫複合体が形成される。この異常糖鎖 IgA1 と免疫複合体が腎メサンギウム細胞に沈着し、補体経路が活性化されることで、IgA 腎症へと進展すると考えられている。しかし、この O 型結合糖鎖の欠損部位は 1 箇所だけではなく様々なパターンが存在する。

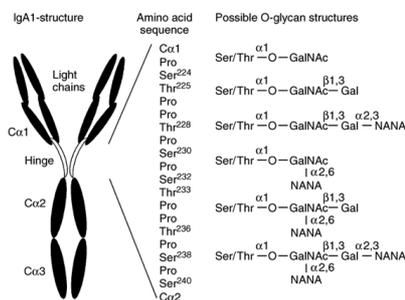


図 1. IgA1 O 型糖鎖構造

我々のグループでは 1999 年から 2014 年までの 15 年間に 777 例の腎移植を施行し、そのうち原疾患が IgA 腎症であった患者は 14.9% で、うち 23.3% に再発を認めている。昨年、IgA 腎症再発患者では移植時の血清 IgA 値が非再発患者に比べて有意に上昇していたが、移植後の IgA 量の増減と移植後 IgA 腎症再発との関連は否定的であると我々は報告した。(中澤, 今日の移植. 2014;5:226-228)。さらには、腎移植後 IgA 腎症再発に対して扁桃腺摘出術が有効であり、(Y.Wang, Transplant Proc. 2014;46:607-609。)扁桃腺摘出術により血清 IgA 量が低下し、異常糖鎖 IgA1 の構造が変化していたことを報告してきた(Iwatani H, Biochem Biophys Res Commun. 2012;428:339-342。)IgA 腎症患者では、健康人と比べて異常糖鎖 IgA1 量が増加していることが最近報告されたが(Berthelot L, Kidney Int. 2015 Epub Ahead)。IgA 腎症患者と血縁関係のある健康家族においては異常糖鎖 IgA1 量が増加しているが IgA 腎症を発症しないことも知られている(Gharavi A. G., J Am Soc Nephrol. 2008;19:1008-1014。)実際にレシピエントと血縁関係にある腎

移植ドナーにおいても 1~4% に IgA 沈着症を認めるが、IgA 腎症は発症していない(図 2)。

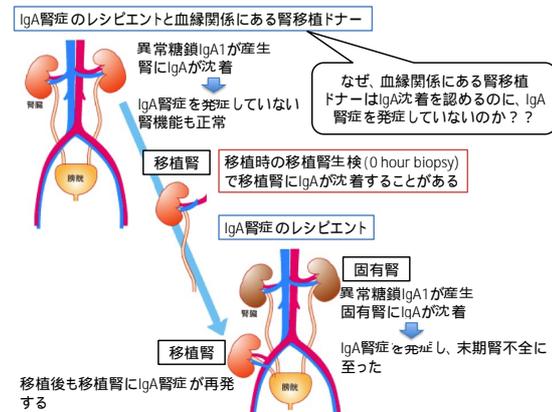


図 2. IgA 腎症レシピエントと IgA 沈着症ドナーの関係

以上より、異常糖鎖 IgA1 の産生だけでは、IgA 腎症を発症するわけではないと考えられ、構造パターンが重要であると推測される。これまで異常糖鎖 IgA1 量に関する研究は散見されるが、異常糖鎖 IgA1 の構造パターンそのものが、IgA 腎症再発に与える影響を検討した研究は過去にない。

2. 研究の目的

免疫抑制剤の進歩に伴い拒絶反応の発生率が低下した現在、移植腎への腎炎再発が重要な問題となっている。特に IgA 腎症は医療費助成対象疾病(指定難病)に認定された予後不良疾患で、移植腎に再発した場合も予後不良である。腎移植患者の原疾患の中で IgA 腎症が占める割合は多く、再発メカニズムを解明し、再発を抑制することは腎移植患者全体の成績改善に大きく貢献できると考えられる。IgA 腎症再発に血清 IgA 量の関連は少なく、IgA の構造パターンが再発の一因である可能性が示唆されているが過去に報告はない。本研究では異常糖鎖 IgA1 構造および異常糖鎖 IgA1 量と腎移植後 IgA 腎症再発との関連性を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

対象  
2008 年から 2017 年までに大阪大学医学部附属病院、兵庫県立西宮病院で生体腎移植を施行し、0hour biopsy が確認できた 161 例を対象とした。

解析方法  
血清 IgA 濃度  
血清 IgA 濃度は BETHYL Human IgA ELSIA kit を用いて測定した。

IgA1 O 型糖鎖構造解析  
HiTrap NHS-activated HP column に IgA 抗体を coupling させて、移植前保存

血清より IgA を抽出した。そして、DTT, IAA 処理したのち、LEP, trypsin 処理を行ったのちに、ヒンジ領域のみを sepharose CL4B を用いて抽出した。その後、MALDI-TOF-MS により解析をおこなった。

#### 4. 研究成果

169 例の生体腎移植レシピエントのうち 27 例 (21.7%) で原疾患が IgA 腎症であった。161 例の生体腎移植ドナーのうち 21 例 (13.0%) に IgA 沈着症を認めた。この 21 例のうち、8 例は IgA 腎症レシピエントと血縁関係にあったが、残りの 13 例は血縁関係になかった。つまり IgA 腎症レシピエントと血縁関係にあるドナーに有意に多く IgA 沈着症が確認された。

また IgA 腎症レシピエント、IgA 沈着症ドナー、IgA 非沈着健常ドナー (健常ドナー) の 3 群間において血清 IgA 濃度に有意差は認めなかった。

次に IgA1 O 型糖鎖構造解析を行った。

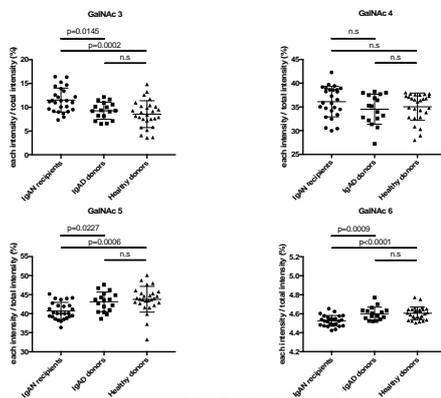


図 3.0 型糖鎖結合数別の比較

IgA 腎症では糖鎖結合数が 3 箇所である GalNAc 3 の割合が有意に増加していた。また逆に 5 箇所、6 箇所では結合している GalNAc 5, 6 の割合は有意に低下していた。

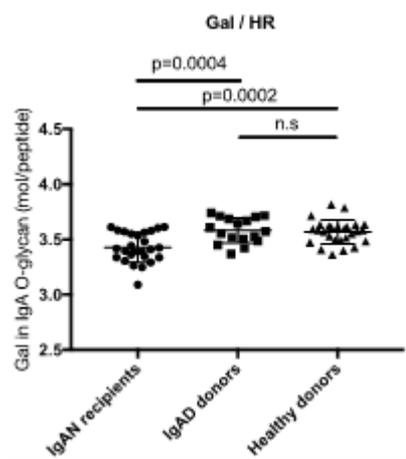
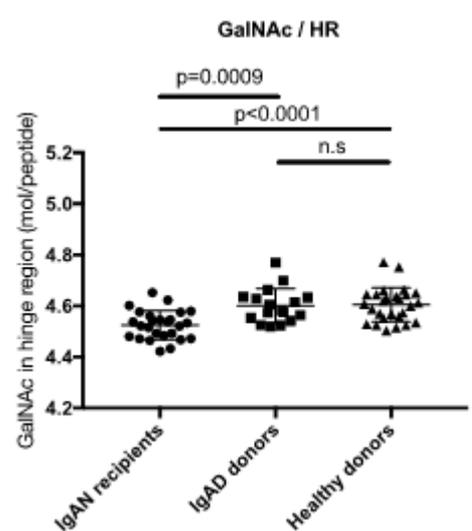


図 4 ヒンジ領域に結合している GalNAc, Gal の平均

IgA 腎症患者では、IgA 沈着症、正常患者に比べて IgA1 ヒンジ領域に結合している O 型糖鎖結合数が GalNAc, Gal は共に有意に減少していることがわかった。(図 4)

しかし、IgA 沈着症と正常人の間には O 型糖鎖結合数に差は認めなかった。

#### 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 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

第 105 回 日本泌尿器科学会総会

「IgA 腎症と IgA 沈着症では IgA ヒンジ領域 O 型糖鎖の結合数が異なる」

中澤成晃、今村亮一、角田洋一、阿部豊文、岩谷博次、田尻道子、山中和明、岸川英史、西村憲二、市丸直嗣、高原史郎、和田芳直、野々村祝夫

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中澤成晃 (NAKAZAWA, shigeaki)  
大阪大学・医学部附属病院・医員  
研究者番号：80759530

(2) 研究分担者

( )

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：

(4) 研究協力者

今村亮一 (IMAMURA, ryoichi)  
大阪大学・医学系研究科・准教授

和田芳直 (Wada, yoshinao)  
大阪府立母子保健総合医療センター 研究所 前所長

岩谷博次 (Iwatani, hirotsugu)  
国立大阪医療センター 腎臓内科 部長