

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20263

研究課題名(和文) IgA腎症における口蓋扁桃の免疫応答と新たなバイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Analysis of immune response of palatine tonsils in IgA nephropathy and development of new biomarkers

研究代表者

地村 友宏 (JIMURA, Tomohiro)

鹿児島大学・附属病院・医員

研究者番号：10709596

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症におけるホスホリルコリン(PC)特異的免疫応答の関与を検討するため、扁桃リンパ球を分離し、PC特異的免疫グロブリン産生細胞数を測定した。また、血清中のPC特異的免疫グロブリン濃度を定量し、臨床検査所見と比較した。その結果、IgA腎症では扁桃におけるPC特異的IgA産生細胞数が増加し、透析導入リスクが高い群で有意に多かった。一方、血清中のPC特異的IgM濃度は透析導入リスクが低い群で有意に高値を示した。以上の結果から、扁桃および末梢血中のPC特異的免疫応答が、IgA腎症の病態や重症化に関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the involvement of phosphorylcholine (PC) -specific immune response in IgA nephropathy, we isolated lymphocytes in palatine tonsils and measured the number of PC-specific immunoglobulin-producing cells. Also, we quantified PC-specific immunoglobulin concentrations in serum and compared with clinical laboratory findings. As a result, in IgA nephropathy, the number of PC-specific IgA-producing cells in tonsils is increased in the group with high risk of dialysis introduction. On the other hand, PC-specific IgM concentration in serum was higher in the group with low risk of dialysis introduction. Based on the above results, PC specific immunity in tonsils and peripheral blood. It was suggested that PC-specific immune responses in tonsils and peripheral blood are related to the pathology and severity of IgA nephropathy.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：IgA腎症 ホスホリルコリン(PC) PC特異的IgM CRP

1. 研究開始当初の背景

IgA腎症は1968年にBergerらが最初に報告し、慢性糸球体腎炎の約30%を占め、発症からおよそ20年の経過中に30~40%の症例が末期腎不全に陥る予後不良な疾患である。本症では、腎糸球体メサンギウム領域に口蓋扁桃(扁桃)などの粘膜系の免疫臓器で産生されるIgAと同じくJ鎖を有する多量体IgA1の沈着を認める。また、扁桃摘出術とステロイドパルス療法の併用が有効であることから⁴⁾、扁桃における免疫応答がその病態に関与していると考えられている。

扁桃のIgA腎症における免疫学的関与を示唆する報告として、IgA腎症患者の腎糸球体メサンギウム領域にはパラインフルエンザ菌の外膜抗原が高頻度に沈着し、さらにIgA腎症患者の扁桃リンパ球をこの抗原で刺激すると、慢性扁桃炎と比較して抗原特異的IgAの産生が有意に亢進していることが示されている。こうした獲得免疫系を介したT細胞依存性のIgA産生に加えて、自然免疫系による免疫応答も関与し、TLR9のリガンドであるCpG-ODN刺激によってもIgA腎症の扁桃リンパ球はIgAを過剰産生する。また、IgA腎症の扁桃胚中心では、T細胞非依存性に免疫グロブリンを産生し自然免疫系の細胞と考えられているB1細胞が有意に増加している。

IgA腎症の病態を解明するため、動物モデルを用いた研究も進められ、その一つとして、ホスホリルコリン(PC)特異的IgAとPCを構成成分とする肺炎球菌のC多糖体を連日投与することで本症のモデルが作成できることが報告されている。PCはグラム陽性および陰性菌など様々な微生物の細胞膜上に存在する因子であり、炎症反応の指標であるC反応性蛋白(C-reactive protein:CRP)の標的因子としても知られている。また、B1細胞によって産生されるPC特異的IgMは自然抗体として生体防御に働き、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE)患者

の中でPC特異的IgMが高値な症例は臓器障害が少なく、腎透析患者でPC特異的IgMが低値な症例は予後が不良なことが報告されている。しかし、IgA腎症におけるPC特異的免疫グロブリンの関与については未だ検討がなされていない。

そこで、本研究では、扁桃におけるPC特異的免疫グロブリン産生細胞数ならびに血清中PC特異的免疫グロブリン濃度を測定し、IgA腎症の重症度や腎機能と比較し、PCに対する免疫応答とIgA腎症の病態との関連性について検討した。

2. 研究の目的

IgA腎症の扁桃でのPC特異的免疫応答の解析を行うことは、扁桃局所の免疫応答とIgA腎症の進行との関連を検討することを意味し、離れた臓器である腎と扁桃という多臓器間での発病、進行メカニズムの解明を可能とする。また血清中のPC特異的IgMの働きに着目することで、全身の自然抗体の働きの強さがIgA腎症発症、進行と深く関連していることが明らかになれば、PC粘膜ワクチンの投与によりIgA腎症を予防できる可能性が開ける。PCは微生物やさまざまな生物の細胞膜上に存在するという点においてワクチン療法の観点からは、急性感染症から慢性炎症までカバーするbroadな感染症予防ワクチンになりうるという特徴がある。

3. 研究の方法

当科で扁桃摘出術を行ったIgA腎症および慢性扁桃炎症例それぞれ26例、計52例を対象とした。

摘出された扁桃および末梢血から比重遠心法でリンパ球を分離し、PC特異的免疫グロブリン産生細胞数をELISPOT法により測定した。簡単に記すと、リンパ球をPC結合牛血清アルブミン(PC-BSA)でコーティングした96穴ニトロセルロース膜プレート(Millipore)上に細胞を分注し、HRP標識抗ヒトIgM、IgG、IgA

を添加し、基質を加えて発色した細胞数を実顕微鏡下に算定した。

PC特異的免疫グロブリンはELISA法で測定した。まず、PC-BSAでコーティングしたプレートに段階希釈した患者血清を添加し、HRP標識抗ヒト血清IgM、IgG、IgAを加えた後に発色させた。対照として段階希釈したマウスPC特異的IgA (TEPC-15) を添加して反応させ、その吸光度で標準曲線を作成し、これに血清の吸光度を対比させて血清中PC特異的免疫グロブリンそれぞれの濃度を算出した。

IgA腎症患者の臨床所見として、CRP、白血球数、血清中クレアチニンを鹿児島大学病院臨床検査部で測定した。また、IgA腎症診療指針（第3版）に基づき、透析導入リスクを低リスク群、中等リスク群、高リスク群、超高リスク群の4群に分類した。

4. 研究成果

(1) 対象症例の背景

IgA腎症26例中男性は15例、女性11例で、平均年齢は30.6歳であった。対照とした慢性扁桃炎26例は男女とも13例で、平均年齢は24歳とIgA腎症よりも若干若かったが、性別、年齢に有意差はなかった。IgA腎症の透析導入リスクは、低リスク群6例、中等リスク群2例、高リスク群8例、超高リスク群10例で、超高リスク群は男性が多く、平均年齢も他の群と比較して有意に高かった（低リスク群 vs 超高リスク群： $p < 0.01$ 、中等リスク群 vs 超高リスク群： $p < 0.05$ ）

(2) 扁桃および末梢血中のPC特異的免疫グロブリン産生細胞数

扁桃におけるPC特異的免疫グロブリン産生細胞数は慢性扁桃炎と比較してIgA腎症で高値を示し、IgA産生細胞数は有意に高かった。末梢血中のPC特異的免疫グロブリン産生細胞数は扁桃と比較して著しく少なく、有意差はみられなかったが、IgA腎症よりも慢性扁桃炎で高値であった。

IgA腎症の透析導入リスクの低リスク群と中等リスク群をまとめ、高リスク群、超高リスク群の3群でPC特異的免疫グロブリン産生細胞数を比較すると、超高リスク群では、低・中等リスク群、高リスク群よりも扁桃におけるPC特異的IgGおよびIgA産生細胞数が有意に高値であった。一方、末梢血中のPC特異的免疫グロブリン産生細胞数には有意な差はみられなかった。

(3) IgA腎症の臨床所見とPC特異的免疫グロブリン産生細胞数の比較

IgA腎症の透析導入リスクと血液生化学的検査成績を比較すると、超高リスク群では他の群と比較して、血清クレアチニン値が有意に高値であった。CRP値もリスクが増すにつれて高値を示したが有意差はなかった。そこで、血清クレアチニン値を扁桃におけるPC特異的免疫グロブリン産生細胞数と比較したところ、PC特異的IgA産生細胞数との間に有意な正の相関が認められた。

(4) 血清中PC特異的免疫グロブリンと臨床所見

血清中のPC特異的免疫グロブリン濃度をIgA腎症と慢性扁桃炎で比較すると、PC特異的IgGは慢性扁桃炎で有意に高く、IgMとIgAには有意な差はみられなかった。しかし、IgA腎症における血清中PC特異的免疫グロブリン濃度を透析導入リスク群別に比較したところ、PC特異的IgMは低・中等リスク群と比較して超高リスク群で有意に低値であった。

超高リスク群では血清クレアチニンが有意に上昇していたため、血清クレアチニン値と血清中のPC特異的免疫グロブリン濃度との相関を検討した。その結果、いずれの免疫グロブリンにおいても有意な相関は認められなかったが、PC特異的IgGとIgAは血清クレアチニンと正の相関を示すのに対して、PC特異的IgMとは負の相関を示した。血清CRP値もリスクが増すにつれて上昇していること、PC特異的IgMがCRPと同様に自然免疫系

の因子として作用することから、PC 特異的 IgM と CRP の相関を観察した。その結果、有意な相関はなかったが、血清クレアチニンと同様に PC 特異的 IgM 濃度は CRP 値と負の相関を示した。

(5) 血清中 PC 特異的免疫グロブリンの男女差

透析導入リスクの超高リスク群に男性が多かったことから、CRP 値と血清クレアチニン値を男女で比較すると、両者とも男性が高値で、血清クレアチニンは男女間で有意差がみられた。そこでさらに、血清中 PC 特異的免疫グロブリン濃度を男女で比較すると、有意差はないが、PC 特異的 IgM そして IgG も女性がやや高値であった。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

地村 友宏 (JIMURA Tomohiro)
鹿児島大学病院・感覚器センター耳鼻咽喉科・頭頸部外科・医員

研究者番号：10709596