

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09712

研究課題名(和文) IgA腎症における腸管粘膜応答異常について

研究課題名(英文) Dysregulation of immune response in murine IgA nephropathy

研究代表者

木原 正夫 (Kihara, Masao)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：50512604

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：多量体IgAは主に粘膜免疫において産生され、糸球体に沈着しているものも多量体IgAが主であることから、IgA腎症と粘膜免疫応答との関連を疑わせる。しかし、その主な産生部位や機序は不明である。そこで、IgA腎症発症、非発症ddYマウスの血清、脾臓、腸間膜リンパ節(MLN)を用いて、各々のIgA、糖鎖異常IgA、IgA-IgG免疫複合体の比較検討を行った。その結果、IgA腎症発症ddYマウスの方が、血清、脾臓における糖鎖異常IgA、IgA-IgG免疫複合体が有意に高値であった一方、MLNにおいては両群に差がなかった。これらから、腸管由来のIgAは血清や脾臓とは糖鎖修飾パターンが異なると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特に本邦において、IgA腎症の扁桃摘出の有効性など、扁桃とIgA腎症の関連は多数報告されており、IgA腎症は扁桃病巣感染症の1つであると広く認識されている。その一方、現在欧州で行われているNEFIGAN TRIALで、腸管選択的ステロイドのIgA腎症に対する有効性が報告された。本研究においては腸管由来のIgAは血清や脾臓とは糖鎖修飾パターンが異なることで免疫複合体を作らないと考えられ、IgA腎症の発症に関与しない可能性が示された。しかし、IgA腎症と炎症性腸疾患との合併や腸炎によって尿所見の増悪を認める症例もあることから、腸管粘膜とIgA腎症において、さらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：Levels of aberrantly glycosylated IgA and IgA-IgG immune complexes (IC) in serum and supernatant from cultured MLN and splenocytes were measured using IgAN onset and quiescent ddY mice. Levels of aberrantly glycosylated IgA and IgA-IgG IC in IgAN onset ddY mice were significantly higher than those in quiescent ddY mice. However, there were no significant differences in the levels of aberrantly glycosylated IgA and IgA-IgG IC produced by MLN between IgAN onset and quiescent mice. Serum levels of aberrantly glycosylated IgA and IgA-IgG IC correlated with those in culture supernatant of splenocytes. However, the sugar component of IgA produced by MLN was different from those in circulation in IgAN onset ddY mice. Furthermore, serum IgA-IgG IC levels did not associate with those levels produced by cultured MLN. Thus, IgA originated from GALT did not form immune complexes with IgG due to the differentiated glycosylation pattern.

研究分野：腎臓

キーワード：粘膜免疫応答異常 糖鎖異常IgA IgG-IgA 免疫複合体 NALT GALT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は、IgA1 を含む免疫複合体の糸球体メサンギウム領域への沈着を特徴とする。これまでの研究により、本症患者の腎糸球体に沈着する IgA1 は、IgA1 ヒンジ部の O-結合型糖鎖修飾不全を呈した、いわゆる糖鎖異常 IgA1 (Gd-IgA1) が主体であり、血中に Gd-IgA1 が増加していることが明らかとなっている。しかし、多量体 IgA1 や IgA1-IgG 免疫複合体の形成の機序について未だに解明されていない。

本邦においては扁摘パルス療法が一定の効果を示していることから、扁桃粘膜免疫との関連が指摘される。しかし、治療後も寛解に至らない症例も多く、下痢や感染などの消化管疾患を契機に IgA 腎症の増悪する症例があり、食物、細菌、ウイルスなどの抗原を契機とした腸管粘膜免疫との関与が考えられる。特に欧米においてグルテンに対する不耐性により腸炎を発症する自己免疫疾患であるセリアック病と IgA 腎症との合併症例が多く報告されており、グルテンフリー食により gliadin に対する特異的 IgA や IgA 免疫複合体の低下を認めたという報告や、ヒト IgA1-CD89 表現型 IgA 腎症モデルマウスにおいて、グルテンフリー食により糸球体 IgA 沈着が抑制されたという報告もあることから、少なくとも欧米においては、IgA 腎症と腸管粘膜応答との強い関連が考えられる。

さらに、最近の知見では、感染を引き金とした自然免疫系の活性化が種々腎炎の発症・進展に関わることが、明らかになりつつある。すなわち、感染等を契機として Toll like receptor (TLR) などのパターン認識受容体などを通じて、自然免疫や獲得免疫の活性化が生じ、糸球体組織傷害を引き起こすと考えられている。特に、TLR9 が IgA 腎症の進展に深く関与し、CpG ODN によって TLR9 の発現を亢進させることで IgA-IgG 免疫複合体の産生亢進、腎症の増悪を惹起することが分かっている。

これらのことから、腸管における外来抗原により自然免疫の活性化が起こることが、IgA 腎症の発症・進展に関わる可能性が考えられる。TLR などの自然免疫の活性化は、感染防御においてきわめて重要な役割を演じる一方、制御機構が破綻すると、過剰な炎症による組織の損傷が進行し、自己免疫疾患を発症することが分かってきており、IgA 腎症の病態への関与が想定される。

2. 研究の目的

IgA 腎症の病態には糖鎖異常 IgA1 と糖鎖異常 IgA1 免疫複合体が深く関与しており、その産生には TLR などの Pattern recognition receptors (PRRs) を起点とした粘膜免疫応答異常が考えられる。本邦においては扁桃における TLR を介した粘膜応答異常に関して数多く報告されており扁摘パルス療法が一定の効果を示している一方で、欧米においては腸管選択的ステロイド薬が一定の効果を示しており、その議論が分かれている。本研究は、腸管における PRRs を介した糖鎖異常 IgA1 免疫複合体形成機序を検証することを目標とする。さらに、これらの基礎データを用いることで、将来的には腸管における治療の開発において非常に重要と考える。

3. 研究の方法

ヒト IgA 腎症の自然発症モデルである ddY マウスを用いて、血中・消化管関連リンパ組織 (GALT) における IgA、Gd-IgA、IgG-IgA 免疫複合体を測定することで、腸管粘膜応答異常が IgA 腎症の発症・増悪に寄与しているか検討を行った。GALT の中で、IgA 産生に重要な役割を担う腸間膜リンパ節 (MLN) を用いて評価した。IgA、IgG-IgA 免疫複合体は ELISA で測定し、糖鎖異常 IgA は我々が以前報告した、ガラクトースを認識する Ricinus communis agglutinin I (RCA) を用いた。ELISA 法で評価し、RCA の低下は IgA 中のガラクトースが欠損した、いわゆる糖鎖異常 IgA

と評価した。コントロールとして IgA 腎症非発症 ddY マウスである quiescent マウスを使用した。

続いて、IgA 腎症発症 ddY マウスに対して TLR9 のリガンドである CpG-ODN で脾臓、MLN、NALT 細胞を培養・刺激し、上清中の IgA, 糖鎖異常 IgA、IgG-IgA 免疫複合体を測定し、比較検討を行った。

4 . 研究成果

(1) IgA に関しては、血清、脾臓、MLN のいずれにおいても腎炎発症・非発症 ddY マウスで差はなかった。しかし、糖鎖異常 IgA、IgG-IgA 免疫複合体に関しては、IgA 腎症発症 ddY マウスの方が IgA 腎症非発症 ddY マウスに比較して、血清、脾臓において有意に高値であった一方、MLN においては両群に差がなかった。

(2) さらに、NALT、脾臓、MLN 細胞に対して CPG-ODN 刺激を行い、培養したところ、いずれの組織も IgA の産生増加を認めた。しかし、糖鎖異常 IgA、IgG-IgA 免疫複合体に関しては、NALT と脾臓において有意に産生増加をした一方で、MLN においては産生増加を認めなかった。Lamina propria(LP)も腸管粘膜において IgA 産生を行っているため、CPG-ODN で刺激を行ったが、糖鎖異常 IgA、IgG-IgA 免疫複合体の増加を認めなかった。

(1)(2) より、GALT 由来の IgA は血清や脾臓とは糖鎖修飾パターンが異なることで免疫複合体を作らず、また TLR9 の刺激では腎炎惹起性 IgA を誘導できないと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 狩野 俊樹、鈴木 仁、鈴木 祐介
2. 発表標題 IgA腎症の病態における粘膜免疫応答異常の解析
3. 学会等名 分子腎臓フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 狩野 俊樹、鈴木 仁、鈴木 祐介
2. 発表標題 粘膜免疫応答異常と糖鎖異常IgA産生機序の解明
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 狩野 俊樹、鈴木 仁、鈴木 祐介
2. 発表標題 IgA腎症における粘膜免疫応答異常
3. 学会等名 IgA腎症研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshiki Kano, Hitoshi Suzuki, Yusuke Suzuki
2. 発表標題 Nasal-associated lymphoid tissue is the major induction site for nephritogenic IgA in murine IgA nephropathy
3. 学会等名 International Symposium on IgA Nephropathy (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 狩野 俊樹、鈴木 仁、鈴木 祐介
2. 発表標題 IgA腎症における粘膜免疫応答異常
3. 学会等名 日本腎臓学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 狩野 俊樹、鈴木 仁、鈴木 祐介
2. 発表標題 IgA腎症における粘膜免疫応答異常
3. 学会等名 American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Toshiki Kano, Hitoshi Suzuki, Yusuke Suzuki
2. 発表標題 Dysregulation of mucosal immune response in IgA nephropathy
3. 学会等名 American Society of Nephrology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 狩野俊樹、鈴木仁、鈴木祐介	4. 発行年 2017年
2. 出版社 日本腎臓学会	5. 総ページ数 5
3. 書名 日本腎臓学会誌	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 仁 (Suzuki Hitoshi) (10468572)	順天堂大学・医学部・准教授 (32620)	
研究分担者	鈴木 祐介 (Suzuki Yusuke) (70372935)	順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (32620)	