

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06800

研究課題名(和文) 疾患糖鎖生物学に基づくIgA腎症の新規治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of new treatment of IgA nephropathy by the glycopathological approach

研究代表者

上村 和秀 (UEMURA, Kazuhide)

中部大学・生命健康科学部・准教授

研究者番号：20303844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症の発症および増悪機序は未だ不明な点が多い。血清マンナン結合タンパク質(MBP)はマンノースを末端に有する糖鎖と結合し異物を排除する自然免疫分子である。近年、MBPがIgA腎症の発症機序に関与することを示唆する臨床研究が報告されている。そこで、本研究ではMBPがオリゴマンノース型糖鎖修飾を有するIgAが腎糸球体に沈着し、補体活性化を介してIgA腎症の発症増悪に関与するという仮説を想定し、マウスを用いて検証した。その結果、オリゴマンノース型糖鎖修飾を有するIgAを投与したマウスにおいて、血尿の出現が増加する傾向が見出され、MBPがIgA腎症の発症増悪に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgA腎症は原発性糸球体腎炎の中で最も多い疾患で、多くが末期腎不全に至る。その作用機序は十分に解明されておらず、効果的な治療法も未だ確立されていない。本研究は糖鎖に着目してその発症メカニズムの一端を解明し、その治療薬の候補を見出したことから、今後、新規IgA腎症治療薬の開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of onset and exacerbation of IgA nephropathy has not been fully understood. Mannan-binding protein (MBP) is a molecule of innate immunity, excluding pathogen through the binding to oligosaccharides having mannose residue on their terminus. Several clinical findings that suggest MBP might be involved in the onset and exacerbation of IgA nephropathy have been reported. In this research, we tested the hypothesis that MBP plays a role in the onset and exacerbation of IgA nephropathy through the binding to oligomannose-type glycans of IgA and the activating complement. As a result, tendency of increasement of hematuria has been found in the mice after administration of IgA having oligomannose-type glycans. This result suggests MBP plays a role in the onset and exacerbation of IgA nephropathy.

研究分野：医療薬学

キーワード：IgA腎症 MBP 自然免疫 糖鎖 マンノース

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は原発性糸球体腎炎の中で最も多い疾患で 20 年の経過で約 40%が末期腎不全に陥ることが報告されている。IgA 腎症の病理組織学的特徴は糸球体メサンギウム領域への IgA と補体 C3 の顆粒状沈着およびメサンギウム細胞の増殖であるが、その発症および増悪機序は未だ不明な点が多い。血清マンナン結合タンパク質 (MBP) は補体レクチン経路の第一成分でマンノース等を末端に有する糖鎖に特異的に結合し、そのような糖鎖を表面に有する各種の病原微生物やがん細胞の排除に重要な役割を果たしている。我々は IgA 腎症モデルの HIGA マウスを用いて、腎症の増悪にともない、IgA の沈着とともに MBP の沈着が見られることを見出した。また臨床研究においては、IgA 腎症患者の糸球体に MBP の沈着が見られることや IgA 腎症の患者の血清 IgA は健常人のそれに比べて、MBP との結合性が高いことなどが報告されている。これらのことから、IgA 腎症において IgA の N 結合型糖鎖が通常はみられないオリゴマンノース型糖鎖に変化し、そのような糖鎖修飾異常型 IgA が糸球体に沈着し、補体活性化を介して腎炎増悪に関与するという仮説が想定された。

2. 研究の目的

本研究は、IgA の糖鎖修飾異常が IgA 腎症の発症増悪に関与するか否かを調べ、さらに、糖鎖修飾異常型 IgA と結合する MBP の結合を阻害する物質を探索して、IgA 腎症の進展を抑制する治療薬のプロトタイプを見出すことを目的とする。

3. 研究の方法

ジニトロフェノール (DNP) と結合する IgA を産生するマウス形質細胞種由来 MOPC315 細胞を糖鎖プロセッシング阻害剤であるデオキシマンノジリマイシン (DMM) の存在下で培養し、その培養上清からオリゴマンノース型糖鎖修飾を有する IgA を単離精製した。次に、DNP をウシ血清アルブミン (BSA) に結合させた抗原とともに単離精製した IgA をマウス尾静脈より投与した後、尿中ヘモグロビンを測定して血尿の出現を定量的に評価した。また、MBP をウサギ血清より精製してピオチン標識し、酵母マンナンとピオチン標識 MBP の結合をプレートバインディングアッセイ法により定量する実験系を確立して、オリゴマンノース型糖鎖と MBP の結合を阻害する物質の探索を行った。

4. 研究成果

(1) オリゴマンノース型を有する IgA の単離精製

マウス形質細胞種由来 MOPC315 細胞を糖鎖プロセッシング阻害剤であるデオキシマンノジリマイシン (DMM) の存在下で培養し、その培養上清からオリゴマンノース型糖鎖修飾を有する IgA を単離精製し、SDS-PAGE および MBP を用いたレクチンプロットを行った。その結果、DMM 存在下で培養した細胞の培養上清から単離した IgA においてのみ MBP との反応性が認められた (図 1)。また、糖鎖分析の結果からこの IgA の N 結合型糖鎖の主要な成分はマンノースを 6, 7, および 8 個含むオリゴマンノース型糖鎖であることが判明した (図 2)。

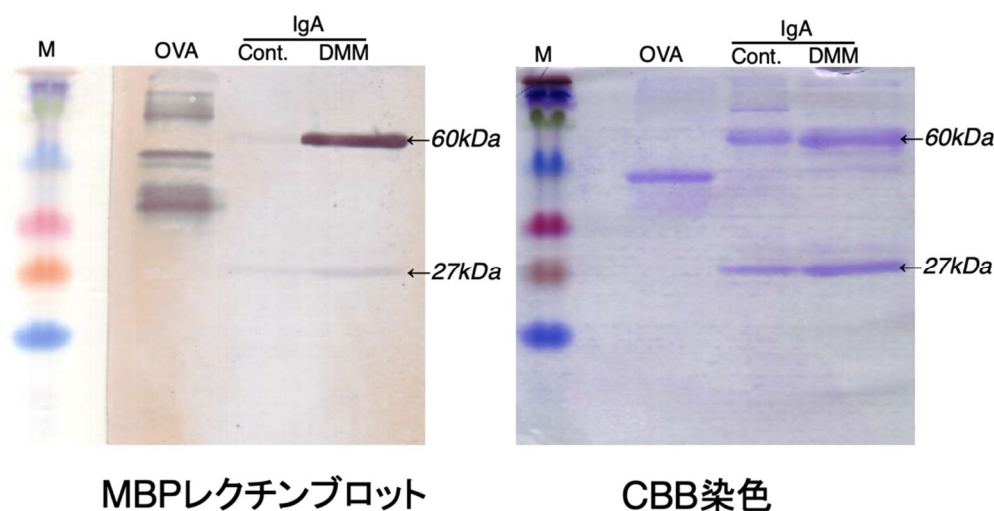


図 1 DMM 存在下で培養した細胞の培養上清から単離した IgA の MBP との反応性

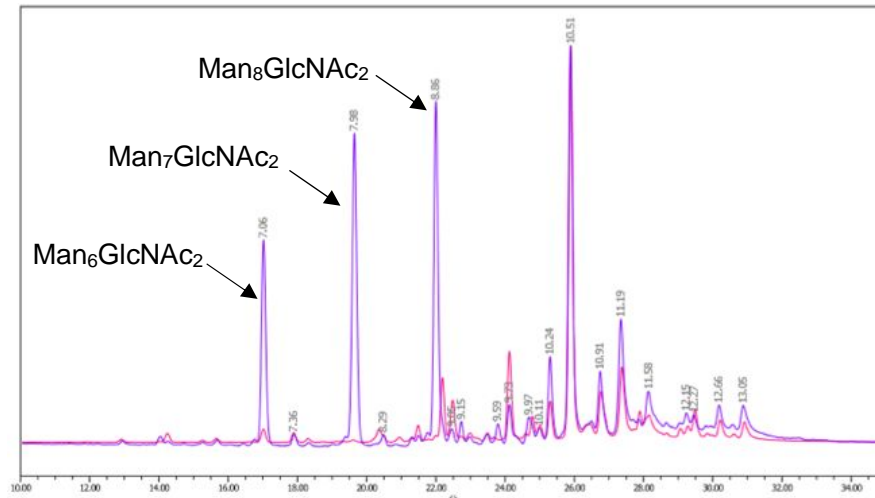
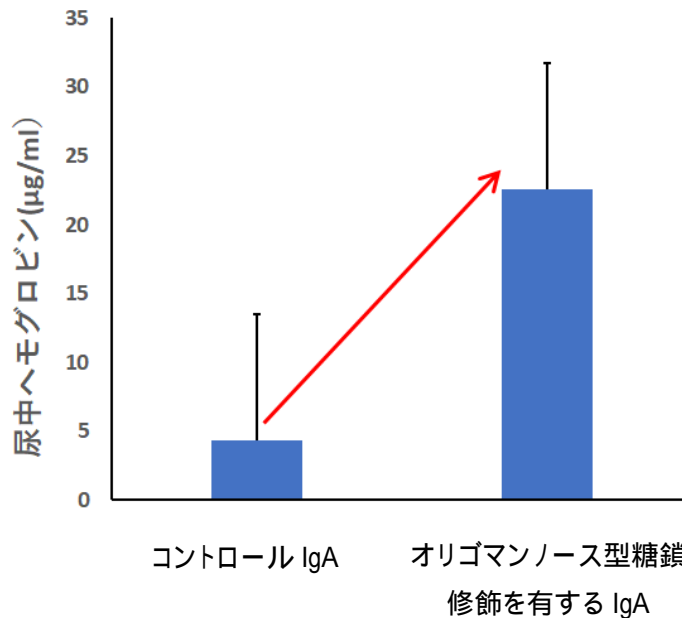


図2 DMM 存在下で培養した細胞の培養上清から単離した IgA の N 結合型糖鎖構造解析

(2) オリゴマンノース型糖鎖修飾を有する IgA 投与による糸球体腎炎の発症

DNP をウシ血清アルブミン (BSA) に結合させた抗原とともに単離精製した IgA を BALB/c マウス尾静脈より投与した後、尿中ヘモグロビンを測定して、血尿の出現を定量的に評価したところ、糖鎖正常型のコントロール IgA に比べて、尿中ヘモグロビンが増加する傾向が認められた ($p = 0.125$, Mann-Whitney test)。



(3) MBP とオリゴマンノース型糖鎖の結合を阻害する物質の探索

MBP をウサギ血清より精製してビオチン標識し、酵母マンナンとビオチン標識 MBP の結合をプレートバインディングアッセイ法により定量する実験系を確立して、オリゴマンノース型糖鎖と MBP の結合を阻害する物質の探索を行った。その結果、いくつかの N-アセチルグルコサミン誘導体が阻害活性を有することを見出した。これらの化合物は今後 MBP と糖鎖との結合阻害を介して、IgA 腎症の発症と進展を抑制する治療薬の開発におけるリード化合物の創出の出発点になることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北島 健・佐藤ちひろ・門松健治・加藤晃一 編	4. 発行年 2020年
2. 出版社 名古屋大学出版会	5. 総ページ数 306ページ
3. 書名 糖鎖生物学	

〔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
連携研究者	池田 潔 (Ikeda Kiyoshi) (40168125)	広島国際大学・薬学部・教授 (35413)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------