

平成21年5月22日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791231
 研究課題名（和文）扁桃における糖鎖不全 IgA 産生メカニズムの解明
 研究課題名（英文）Analysis of the producing mechanism of deglycosylated IgA in tonsil

研究代表者
 伊藤 昭彦（ITOHI AKIHIKO）
 北里大学・医学部・講師
 研究者番号：10317026

研究成果の概要：IgA 腎症や Henoch-Schönlein 紫斑病（HSP）の患者血清中の IgA1、あるいは扁桃から産生される IgA1 には糖鎖不全が多いことを報告されている。これらの抗体と反応する他の抗原がないか検索したところ、 κ -カゼインに反応性があることを認めた。また、血清型糖鎖の解析を行ったところ、異常 IgA1 と扁桃 IgA1 ではムチン型糖鎖だけでなく血清型糖鎖にも通常とは組成が異なるものが認められた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	0	1,600,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	420,000	3,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：扁桃 IgA 腎症 糖鎖不全

1. 研究開始当初の背景

(1) 血清糖タンパクの中でムチン型糖鎖を持つタンパクは稀であり、この中で IgA1 はそのヒンジ部に5か所のムチン型糖鎖を持つことが分かってきた。この IgA1 という構造は哺乳類の中でも霊長類にしかなく、何らかの進化の過程で血中に安定して存在するためにムチン型糖鎖が組み込まれてきたものと考えられる。ここで、1980年代よりこのムチン型糖鎖の異常が IgA 腎症の発症に何らかの関わりを持つのではないかといわれ始めてきた。しかし、今のところはっきりとした結論は出していない。

(2) 1968年の IgA 腎症の報告以前から扁桃を摘出すると腎機能の改善する症例が報告されてきた。今は、扁桃摘出術が IgA 腎症の患

者の予後を改善し、腎保護に貢献していることが分かってきた。しかし、そのメカニズムもいまだ不明である。

(3) ムチン型糖鎖だけではなく血清型糖鎖についてもガラクトース転移酵素をノックアウトしたマウスで IgA 腎症様の症状を認める報告がある。

2. 研究の目的

(1) 我々は、今までに糖鎖不全 IgA1 を人工的に作成したところ、自己凝集を起こすことや、他のタンパクと結合能を有したりすることがわかってきた。また、人工的に糖鎖不全を起こした IgA1 をマウスに投与すると腎臓への沈着を認めることもわかった。そこで、IgA 腎症患者の血清中の異常 IgA を検出するのに有効な血清診断法を検索している。この糖鎖不全 IgA1 に結合する他のタンパクを検索していたところ κ -カゼインが特異的に結合しており、カゼインとの反応性について検討した。

(2) 扁桃で産生される IgA1 も糖鎖不全が多いことを報告した。そこで、扁桃でなぜ糖鎖不全を起こすのかを検討している。

(3) 血清型糖鎖については、ムチン型糖鎖に比べ技術的に分析しやすいため、今回、血清型糖鎖の分析も行った。

3. 研究の方法

(1) IgA 腎症と診断された患者から摘出した扁桃と慢性扁桃炎患者から摘出した扁桃より抽出液を作成した。これに加え、IgA 腎症患者血清、他の腎疾患患者の血清 (ORD)、HSP 患者の血清からじゃカリンカラムを用いて IgA1 (IgA1-Fr) を、プロテインGカラムを用いて IgG (IgG-Fr) を抽出した。どちらにも結合しなかったものをその他のタンパク (OP-Fr) とした。

分離した IgA1-Fr、IgG-Fr、OP-Fr を用いて κ カゼインに反応する IgA、IgG、IgM、IgE の量を測定した。

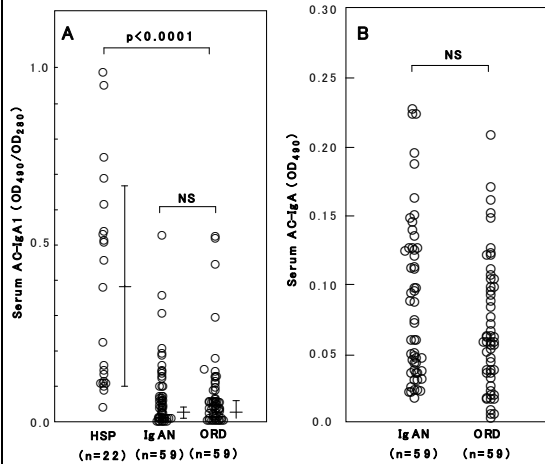
抗 κ -カゼイン抗体活性と異常 IgA1 の相関を抗ヒンジ抗体を用いて測定した。

(2) 健常者血清 (購入したもの)、健常者血清より回収した異常 IgA1、扁桃炎患者 2 例の摘出扁桃から抽出した IgA1 を用いた。方法は、N-結合型糖鎖を酵素的に IgA1 から切り離し、糖鎖の還元末端を 2-アミノピリジンで蛍光ラベルした。この PA 糖鎖を、3 種類の分離モードの HPLC カラムを用いて連続的に分離すると同時に、その溶出位置から既存の 3 次元マップと照合し構造を同定した。

4. 研究成果

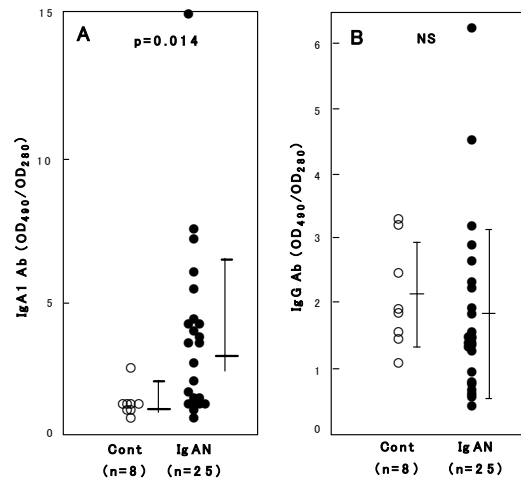
(1) 扁桃中の抗 κ カゼインの活性を比較した。IgA 腎症ではコントロールに比べて IgA では抗 κ カゼイン活性強く有意差を認めた。

しかし、IgG では差を認めなかった。IgM や

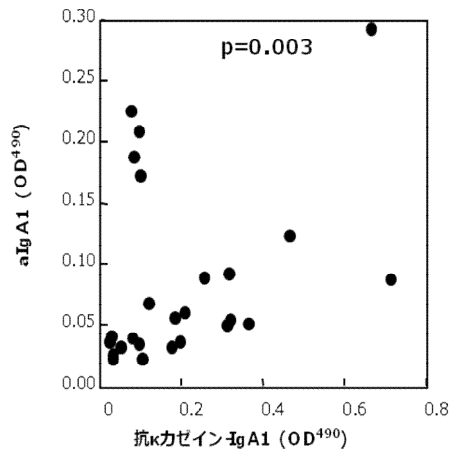


IgE でも同様の方法で検討したが、ほとんど検出されなかった。

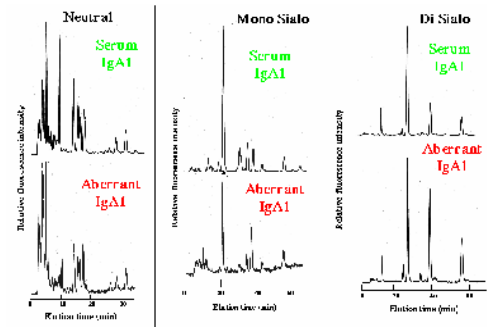
(2) 血清の比較では IgA では、HSP と IgA、ORD の間で有意差を認めた。



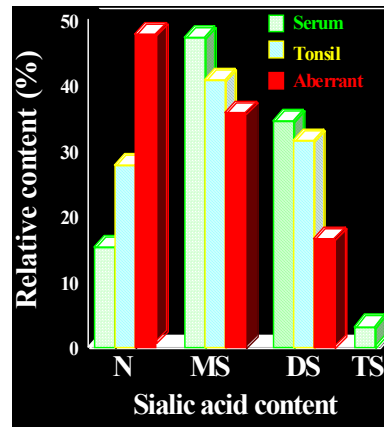
(3)扁桃における抗 κ カゼインと抗ヒンジ抗体を用いた異常 IgA1 の相関を見たところ、相関を認め κ カゼイン抗体活性が高いほど糖鎖不全度も高いということがわかった。



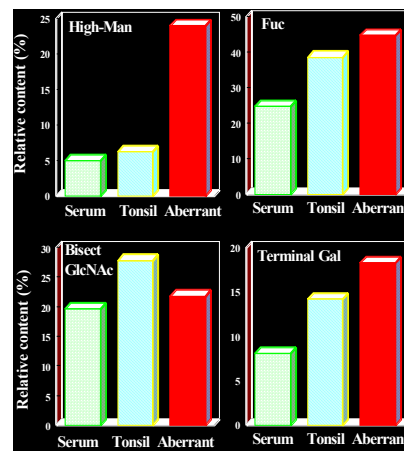
(4) N-結合型糖鎖の基本的な組成は3つの検体においてほとんど同じであったが、異常 IgA1 では、中性型の N-結合型糖鎖が血清や扁桃に比べ増加していた。すなわち、では高マンノース型が血清や扁桃では5-6%であったのに対し異常 IgA1 は25%に認めた。また、異常 IgA1 と扁桃 IgA1 ではフコースを多く含む混成型を多く認めた。



血清 IgA1 と aberrant IgA1 の血清型糖鎖の HPLC プロファイルの比較



血清 IgA1, 扁桃 IgA1, aberrant IgA1 のシアル酸含量の違い



血清 IgA1, 扁桃 IgA1, aberrant IgA1 の血清型糖鎖に認められるその他の特徴

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2件)

① A. Itoh, H. Iwase, T. Yamakawa, N. Iwanami, E. Nagata, K. Nakamura, Y. Kobayashi, H. Odani, Y. Hiki, M. Okamoto “ Possibility of the participation of foreign antigenic structure with aberrantly glycosylated IgA1 to the onset of IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura ” :Kitasato Med J. 38, 152-160, 2008 査読あり

② N. Iwanami, H. Iwase, N. Takahashi, K. Kato, A. Itoh, T. Takatani, S. Makita, Y. Kobayashi, M. Okamoto, S. Nakamura, Y. Hiki, M. Ishii. “ Similarities between N-glycan glycoform of tonsillar IgA1 and that of aberrant IgA1 abundant in IgA

nephropathy patient serum. ” : J Nephrol.
21, 18-26, 2008 査読あり

〔学会発表〕(計2件)

① 伊藤昭彦・岩瀬仁勇・岡本牧人：扁桃 IgA
1、血清 IgA1 と異常 IgA1 の N-結合型糖鎖
の類似性について．第21回口腔咽頭科学会
2008. 9 鹿児島

② 伊藤昭彦・岩瀬仁勇・岡本牧人：IgA 腎
症患者扁桃の抗 κ カゼイン抗体活性につい
て 第20回口腔咽頭科学会 2007. 9
名古屋

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 昭彦 (ITOHI AKIHIKO)
北里大学・医学部・講師
研究者番号：10317026