

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08733

研究課題名(和文) IgA腎症における腎炎惹起性IgA1の糖鎖構造と粘膜免疫異常の解明

研究課題名(英文) Elucidation of glycosylation form of nephritogenic IgA1 and dysregulation of mucosal immunity in IgA nephropathy

研究代表者

武藤 正浩 (Muto, Masahiro)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：30790076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症の病因に糖鎖異常IgA1とそれに対する自己抗体産生の関与が報告され、糖鎖異常IgA1は粘膜由来である可能性が示唆されているが、その詳細は依然不明である。今回我々はIgA腎症患者血清中の糖鎖異常IgA1がSecretory component (SC)を伴うことを明らかにし、少なくとも一部の糖鎖異常IgA1が粘膜由来であることが示唆された。また、SCの腎系球体への沈着の程度と血尿の重症度に関連を認めたことから、SCの腎系球体への沈着が腎炎の発症・進展に関与している可能性が示唆された。現在、腎系球体におけるSCを介した腎炎惹起メカニズムの検証を進めているところである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回我々の実験結果より、糖鎖異常IgA1の少なくとも一部が粘膜由来であり、腎系球体へのSCの沈着の程度が血尿の重症度と関連していることが確認されており、粘膜由来の糖鎖異常IgA1が腎炎の発症・進展に関与していると考えられた。今回の結果は、糖鎖異常IgA1の産生源と考えられる粘膜をターゲットとした治療である口蓋扁桃摘出術や腸管免疫に特異的に作用するステロイド治療(Budesonide)の理論的根拠になると思われる。現在、腎系球体におけるSCを介した炎症惹起メカニズムについて検証を行っているところである。

研究成果の概要(英文)：Aberrantly glycosylated IgA1 and antibodies directed against aberrantly glycosylated IgA1 has been considered as key molecules in the pathogenesis of IgA nephropathy (IgAN). Mucosae have been speculated as one of the major synthesis sites of aberrantly glycosylated IgA1, whereas it remains uncertain. In this study, we demonstrated the presence of secretory component (SC) in aberrantly glycosylated IgA1 purified from serum of patients with IgAN, indicating that aberrantly glycosylated IgA1 originates from mucosae. Our experiments also revealed that the intensity of deposition of SC in glomerulus is associated with the severity of hematuria, suggesting the involvement of SC in the progression of glomerulonephritis. We are now investigating detailed inflammation mechanisms mediated SC in glomerulus.

研究分野：腎臓内科

キーワード：IgA腎症 分泌型IgA 糖鎖異常IgA1

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は世界で最も多い原発性糸球体腎炎であり、20年で約40%が末期腎不全に至る予後不良の疾患であるが、確立された治療は依然存在しない(1)。IgA 腎症の病因に糖鎖異常 IgA1 の産生とそれに対する自己抗体産生の関与が示唆され、糖鎖異常 IgA1 は粘膜由来である可能性が示唆されているが、その詳細は依然明らかにされていない。粘膜で分泌される Secretory IgA は、J chain により IgA が 2 量体を形成し、その周囲を Secretory component (SC) が覆うことで酵素による IgA の分解を防いでいる他、SC そのものに細菌の菌体外毒素の無毒化や、病原菌の粘膜への付着を防ぐ役割が報告されている (2)。

我々は IgA 腎症モデルマウスを用いた先行研究において、apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) が IgA 腎症の発症・進展に関与していることを確認してきたが、腎炎惹起に関するメカニズムの詳細は依然不明である(3)。

2. 研究の目的

本研究は、糖鎖異常 IgA1 産生をはじめとした IgA 腎症の病因解明のため、我々が近年開発した糖鎖異常 IgA1 を特異的に認識する抗体 (KM55, Rat anti human galactose-deficient IgA1) を用い腎炎惹起性 IgA1 の糖鎖修飾構造、産生源を明らかにし (4, 5)、更には口蓋扁桃摘出術、ステロイドパルス療法 (扁桃摘パルス) が治療効果をもたらすメカニズムの一部を明らかにすることにより、扁桃摘パルスの根拠を確立することを目的とする。また、腎糸球体における SC を介した腎炎惹起メカニズムを解明することも目的とする。

3. 研究の方法

KM55 を coupling させた Agarose beads と IgA 腎症患者の血清を反応させ、糖鎖異常 IgA1 を抽出後、SC を発現しているかを Western blot で検証する。

IgA 腎症患者血清中から Jacalin agarose を用いて IgA1 を抽出し、FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography) により Polymeric IgA1 と Monomeric IgA1 に分離し、抽出する。糖鎖異常 IgA1 は IgA1 が多量体を形成していることが報告されているが、分離・抽出した IgA1 の各 fraction (Polymeric IgA1 および Monomeric IgA1) の中で糖鎖異常 IgA1、SC の有無を Western blot で検証する。

IgA 腎症患者の腎生検組織において、IgA と SC の 2 重染色を行う他、腎糸球体における SC の染色強度と尿所見をはじめとした腎炎の活動性の関連を検証する。

4. 研究成果

我々は IgA 腎症患者血清中から KM55 を用いて糖鎖異常 IgA1 を抽出し、Western blot により糖鎖異常 IgA1 が SC を有することを確認し(図.1)、IgA 腎症患者血清中の糖鎖異常 IgA1 の少なくとも一部が粘膜由来であることを確認した。さらに、IgA 腎症患者は健常者と比較し、血清中の Secretory IgA の値が高い傾向にあり、扁桃摘後に血清中の Secretory IgA が低下傾向にあることが確認され、IgA 腎症患者において糖鎖異常 IgA1 の一部が口蓋扁桃由来である可能性が示唆された。また、IgA 患者血清を用い Jacalin agarose により IgA1 を抽出し、FPLC により抽出した Polymeric IgA1 と Monomeric IgA1 において、SC の多くが Polymeric IgA1 であることが確認された(図.2)。

IgA 腎症患者の腎糸球体において SC と IgA の沈着が確認され(図.3)、SC の沈着強度が高い症例において血尿の程度が重症である傾向にあり(図.4)、粘膜由来の IgA の沈着が腎症の進展に影響している可能性が示唆された。

また、腎糸球体における染色実験において SC と AIM の関連を示唆する所見を確認しており、今後更なる検証を進め、国際学会での発表や論文投稿を予定している。

図1. 糖鎖異常IgA1およびSCの western blot (non reducing)

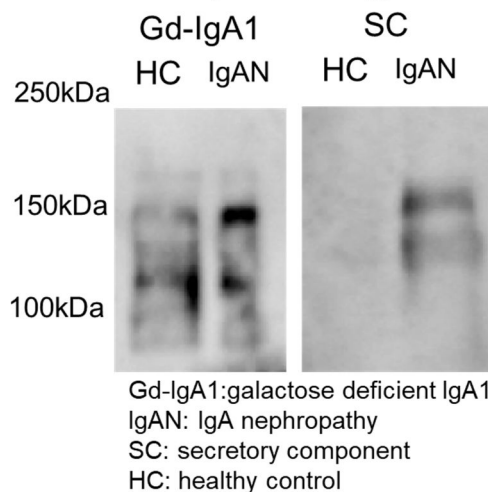


図2. IgA腎症患者血清中のPolymeric IgA1、monomeric IgA1における
Secretory IgA、糖鎖異常IA1の発現

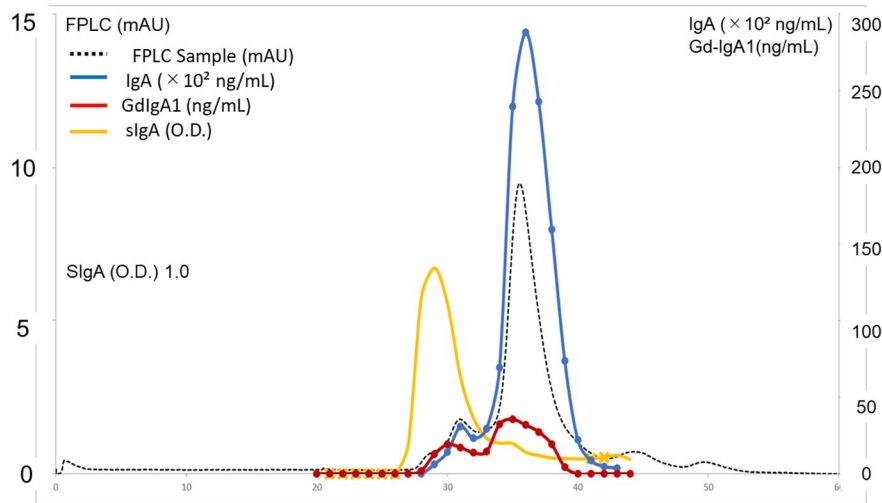


図3. IgA腎症患者腎糸球体の免疫蛍光染色

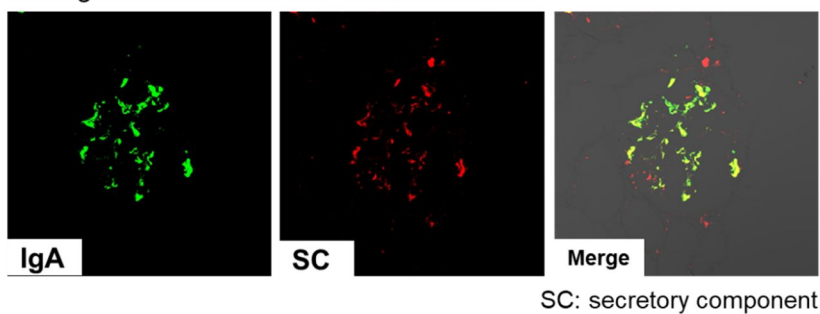
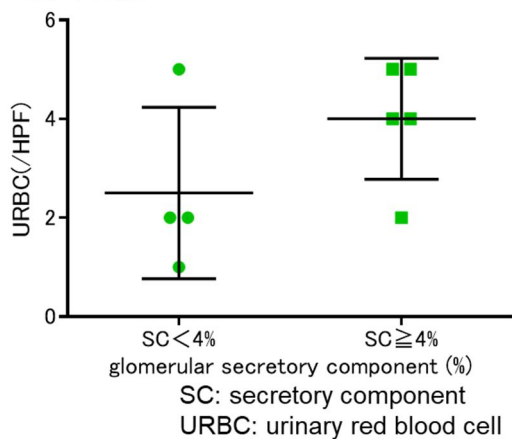


図4. 血尿の重症度とSecretory IgAの沈着の程度



引用文献

1. Wyatt RJ, Julian BA. IgA nephropathy. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2402-14.
2. Corthésy B. Multi-faceted functions of secretory IgA at mucosal surfaces. *Frontiers in immunology.* 2013;4:185.
3. Takahata A, Arai S, Hiramoto E, Kitada K, Kato R, Makita Y, et al. Crucial Role of AIM/CD5L in the Development of Glomerular Inflammation in IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2020;31(9):2013-24.
4. Yasutake J, Suzuki Y, Suzuki H, Hiura N, Yanagawa H, Makita Y, et al. Novel lectin-independent approach to detect galactose-deficient IgA1 in IgA nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* 2015.

5. Suzuki H, Yasutake J, Makita Y, Tanbo Y, Yamasaki K, Sofue T, et al. IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis have a shared feature involving galactose-deficient IgA1-oriented pathogenesis. *Kidney Int.* 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Philipp Gauckler, Jae Il Shin, Federico Alberici, Vincent Audard, Annette Bruchfeld, Martin Busch, Chee Kay Cheung, Masahiro Muto, Andreas Kronbichler et al, RITERM study group | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Rituximab in adult minimal change disease and focal segmental glomerulosclerosis - What is known and what is still unknown? | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Autoimmunity Reviews | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.autrev.2020.102671. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Philipp Gauckler, Jae Il Shin, Federico Alberici, Vincent Audard, Annette Bruchfeld, Martin Busch, Chee Kay Cheung, Masahiro Muto, Andreas Kronbichler et al, RITERM study group | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Rituximab in Membranous Nephropathy | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Kidney International Reports | 6. 最初と最後の頁 881-893 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ekir.2020.12.035. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Hitoshi Suzuki, Masao Kikuchi, Keiichi Matsuzaki, Kazuo Takahashi, Yoichi Miyazaki, Masahiro Muto, Hiroyuki Yanagawa, Yusuke Suzuki, Shoichi Fujimoto, Kengo Furuichi, Hirokazu Okada, Ichiei Narita et al | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 A digest from evidence-based clinical practice guideline for IgA nephropathy 2020 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology | 6. 最初と最後の頁 1269-1276 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10157-021-02095-8 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Masahiro Muto, Rina Kato, Hitoshi Suzuki, Yusuke Suzuki |
| 2. 発表標題 Serum levels of secretory IgA were not elevated in Japanese patients with IgA Nephropathy |
| 3. 学会等名 ISN Wourld Congress of Nephrology（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Molyneux M, Wimbury D, Bhachu J, Muto M, Stone A, Barratt J |
| 2. 発表標題 TRF-budesonide (Nefecon) selectively reduces circulating levels of chemokines critical to immune cell trafficking to Peyer's patches in IgA nephropathy. |
| 3. 学会等名 The ASN (American Society of Nephrology) 54th Annual Meeting (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 加藤莉那, 本間望, 李明峰, 中山麻衣子, 深尾勇輔, 二瓶義人, 武藤正浩, 新井郷子, 鈴木仁, 宮崎徹, 鈴木祐介 |
| 2. 発表標題 Apoptosis inhibitor of macrophage を介した腎系球体の炎症起点の解明 |
| 3. 学会等名 第45回IgA 腎症研究会学術集会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔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 祐介 (Suzuki Yusuke) (70372935) | 順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620) | |
| 研究分担者 | 鈴木 仁 (Suzuki Hitoshi) (10468572) | 順天堂大学・医学部・教授 (32620) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|