

自己評価報告書

平成23年4月4日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390234

研究課題名(和文) 糖鎖不全 IgA に対する新規受容体の同定と解析による IgA 腎症発症機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenic mechanism of IgA nephropathy through identification and functional analysis of thereceptor for the insufficient glycosylated IgA molecules

研究代表者 成田 一衛

新潟大学 医歯学系 教授

研究者番号：20272817

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：IgA 腎症、糖鎖不全、慢性糸球体腎炎、メサンギウム細胞、受容体

1. 研究計画の概要

(1) 本研究の目的は、IgA 腎症の病因に直結していると考えられているヒンジ部糖鎖不全 IgA1 分子が、全身循環血中に存在するにもかかわらず、糸球体メサンギウム細胞に特異的に沈着する機序を明らかにすることである。

(2) 私共は、糖鎖不全 IgA に親和性を有するリガンドがメサンギウム細胞に発現することを予備実験において観察しており、この新規受容体の同定と発現調節機構の解析を行うことを計画した。

(3) 糖鎖不全 IgA1 プロープは正常血清から IgA を精製し、Neuraminidase 処理による脱シアル化と β -galactosidase 処理による脱ガラクトシル化を行い、さらに蛍光標識ラベルしてプロープとした。

2. 研究の進捗状況

(1) ヒトメサンギウム細胞は、TGF- β , TNF- α , アンジオテンシンなどで刺激を加えると、糖鎖不全 IgA 1 に対する親和性が亢進した。

(2) 糖鎖不全 IgA1 に親和性を示すメサンギウム細胞を Cell sorting にて濃縮し、決定された至適培養条件下で得られたメサンギウム細胞を、細胞表面を biotin 化した後に NP-40 を用いて可溶化し、セファロースビーズに共

有結合で結合させた糖鎖不全 IgA1 とともに反応させ、糖鎖不全 IgA1 と結合する可溶成分を吸収した。得られた IgA と可溶成分の複合体を SDS-PAGE にて展開し、PVDF 膜に転写した後、HPR 標識抗 biotin 抗体を用いて、糖鎖不全 IgA1 と結合したメサンギウム細胞膜蛋白を同定した。得られた蛋白質のアミノ酸シーケンスを行い、一部のアミノ酸配列を決定した。

(3) この新規受容体の一部は、 β インテグリン鎖と一致していた。

(4) ヒト IgA 腎症の腎生検検体では、 α 2/ β 1 インテグリンの発現が IgA 沈着と一致していた。培養液中にマンガンを加えると親和性が上昇し、このこともインテグリン分子の関与を支持する結果であった。

(5) IgA 1 を collagen IV と混和すると著しくメサンギウム細胞に対する親和性が上昇した。

(6) 以上の結果から、糖鎖不全 IgA1 が collagen IV と複合体を形成し、 α 2/ β 1 インテグリンを介してメサンギウム細胞に結合し、その結果細胞増殖刺激を惹起していると考えられた。

3. 現在までの達成度：② おおむね順調に進展している。

当初目的としていた、糖鎖不全 IgA 1 に対するメサンギウム細胞の親和性上昇のメカニズムの一端を、この 3 年間で明らかにすることができた。したがって、② おおむね順調に進展していると判断する。現在までの成果は論文として国際誌に投稿中である。

一方、さらにこの成果を治療・予防に繋げるには、糖鎖不全 IgA 1 分子に対する他の受容体分子の関与の可能性の検証と、モデル動物の確立が必要である。

4. 今後の研究の推進方策

残りの 1 年間の研究期間で、上記の点についての見通しを立てる。

ヒトメサンギウム細胞から mRNA を抽出して cDNA ライブラリーを作製し、糖鎖不全 IgA1 と結合する受容体の遺伝子配列を含む cDNA をクローニングする。同分子を過剰発現するトランスジェニック動物を作出して、新たな実験モデルの確立を行う。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕 (計 14 件)

1. Takeyama A, Sato H, Soma-Nagae T, Kabasawa H, Suzuki A, Yamamoto-Kabasawa K, Hosojima M, Kaneko R, Higuchi F, Kaseda R, Ogasawara S, Narita I, Saito A. Megalin is downregulated via LPS-TNF-alpha-ERK1/2 signaling pathway in proximal tubule cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011. in press
2. Miura T, Goto S, Iguchi S, Shimada H, Ueno M, Nishi S, Narita I. Membranoproliferative pattern of glomerular injury associated with complement component 9 deficiency due to Arg95Stop mutation. *Clin Exp Nephrol* 2011; **15**: 86-91.
3. Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Yamada T, Imai N, Narita I, Kawachi H, Polkinghorne KR, Nikolic-Paterson DJ, Uchiyama M. Identification of alternatively activated macrophages in new-onset paediatric and adult immunoglobulin A nephropathy: potential role in mesangial matrix expansion. *Histopathology* 2011; **58**: 198-210.
4. Saeki T, Nishi S, Imai N, Ito T, Yamazaki H, Kawano M, Yamamoto M, Takahashi H, Matsui S, Nakada S, Origuchi T, Hirabayashi A, Homma N, Tsubata Y, Takata T, Wada Y, Saito A, Fukase S, Ishioka K, Miyazaki K, Masaki Y, Umehara H, Sugai S, Narita I. Clinicopathological characteristics of patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 2010; **78**:

1016-1023.

5. Kazama JJ, Koda R, Yamamoto S, Narita I, Gejyo F, Tokumoto A. Cancellous bone volume is an indicator for trabecular bone connectivity in dialysis patients. *clin J Am Soc Nephrol* 2010; **5**: 292-298.

〔学会発表〕 (計 5 件)

- ① 後藤眞, 他、家族性 IgA 腎症の遺伝解析、第 53 回日本腎臓学会学術総会 2010 年 6 月、神戸
- ② 丸山弘樹, 他、CKD 関連合併症の出現時期と頻度、第 53 回日本腎臓学会学術総会 2010 年 6 月、神戸
- ③ 風間順一郎, 他、多臓器不全症候群における異常なビタミン D 代謝、第 53 回日本腎臓学会学術総会 2010 年 6 月、神戸
- ④ 成田一衛、特別講演 IgA 腎症の病態と治療、日本内科学会第 127 回信越地方会、2010 年 11 月、松本
- ⑤ Koda R, et.al., Novel expression of claudin-5 in glomerular podocytes, American Society of Nephrology Renal Week 2010, Nov. 2011, Denver, USA.

〔図書〕 (計 5 件)

- ① 小林大介、成田一衛、妊娠高血圧症候群/妊娠高血圧腎症の成因、中外医学社、Annual Review 腎臓、2010 年、134-141
- ② 金子佳賢、成田一衛、IgA 腎症、AKI と CKD のすべて 腎と透析 2010 vol.69 増刊号、東京医学社、2010 年、151-153
- ③ 後藤眞、成田一衛、感染症に感染した腎炎、腎臓内科レジデントマニュアル改訂第 5 版、診断と治療社、2010 年、217-221
- ④ 後藤眞、成田一衛、GWAS、中外医学社、Annual Review 腎臓、2011 年、46-51
- ⑤ 成田一衛、本年の動向、中外医学社、Annual Review 腎臓、2011 年、1

〔産業財産権〕

○取得状況 (計 1 件)

名称：遺伝子多型を用いた IgA 腎症診断および IgA 腎症診断用キット

発明者：下条文武、成田一衛

権利者：(株) 東洋紡ジーンアナリシス

種類：診断法

番号：特許第 4502570 号

取得年月日：平成 22 年 4 月 30 日

国内外の別：国内