

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08230

研究課題名(和文) IgA腎症における尿中糖鎖異常と病態の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the relationship between changes in urinary glycans and the mechanism of IgA nephropathy

研究代表者

大西 康博 (Onishi, Yasuhiro)

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：70867506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまで腎生検症例コホートで尿レクチンアレイ解析による糖鎖の網羅的解析を行い、3種の尿レクチン結合シグナル(ACA, ABA, MAH)がIgA腎症診断マーカーとして有用であることを見出した。これらはいずれもT抗原(Gal 1-3GalNAc)を中心としたC1GALT1の生成物であるO型糖鎖の排泄低下を示している。ACAを用いたレクチンクロマトグラフィ・iTRAQ/TMTラベル法を用いた比較定量が可能な質量分析により、IgA腎症においてO型糖鎖修飾を介したプラスミノゲン/プラスミン制御系が病態に関与している可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgA腎症におけるプラスミノゲン/プラスミン制御系の分子機構の可能性が見出され、IgA腎症に対する新規治療法開発への足掛かりが得られた。

研究成果の概要(英文)：We performed a comprehensive analysis of glycans by urine lectin array analysis in a cohort of renal biopsy cases. We found three types of urine lectin binding signals (ACA, ABA, and MAH) useful as diagnostic markers for IgA nephropathy. The changes in these lectin-binding signals imply the decreased excretion of O-type glycans, which are products of C1GALT1, T antigen (Gal 1-3GalNAc). Lectin chromatography with ACA followed by mass spectrometry with iTRAQ-TMT labeling revealed the possibility that the plasminogen/plasmin regulatory system via O-glycosylation is involved in the pathogenesis in IgA nephropathy.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：IgA腎症 糖鎖 レクチン

1. 研究開始当初の背景

多くの腎疾患を包含する慢性腎臓病(CKD)の患者数は、1,330万人に達し我が国の成人の8人に一人はCKDであり国民病といえる。CKDが進行すると末期腎不全に至り腎代替療法が必要となるが、新規透析導入患者は2018年末時点で3万8千人にのぼる。原疾患として慢性糸球体腎炎は(15.6%)と漸減傾向ではあるが、各腎疾患に応じて確立した治療法があるため、依然として対策を要し重要な位置を占める。慢性糸球体腎炎のなかでIgA腎症は最も多い疾患であり、腎生検によって診断が確定される。しかし腎生検は侵襲的な検査であり、時にリスクの高い症例では腎生検の施行が困難である。また、IgA腎症においては多くの場合、尿所見が軽微・正常の時期が長く確定診断まで年余を要し、腎機能が低下した時点では治癒が望めない。よって、優れたバイオマーカーによる早期かつ確かな診断が望まれる。

IgA腎症の病態として、糖鎖不全IgA1の血清濃度上昇、免疫複合体沈着を契機とした、副経路ないしレクチン経路を介した補体活性化が関連しているとするマルチヒット仮説が提唱されている。我々はこの糖鎖不全について着目した。ヒトIgA1ヒンジ部にはO結合型糖鎖結合可能な部位が9か所存在し、IgA1分泌形質細胞のゴルジ体および小胞体内で各糖転移酵素群による段階的な糖鎖修飾が行われている。IgA腎症患者では-1,3-galactosyltransferase活性低下および-2,3-sialyltransferase活性亢進に伴い、ガラクトースが欠損し末端GalNAcが露出したガラクトース欠損IgA1が血清中に増加することが報告されている。プレジジョン・システム・サイエンス社は特定の糖鎖に結合する性質をもつたんぱく質であるレクチンをアレイ化したチップを開発し、我々はそれを応用して尿の糖鎖プロファイルを網羅的かつ簡便に定量することに成功した(PLoS ONE, 2013 8(10), e77118)。このレクチンアレイにおいて測定される糖鎖はIgAを含む種々の糖タンパク質に酵素的に結合しているものである。糖鎖の違いは180種類以上の糖鎖修飾酵素によりもたらされる。IgA腎症をはじめ糖鎖異常を伴う疾患においては、複数の糖鎖修飾酵素活性がそれぞれ変化するため、糖鎖プロファイル定量による網羅的解析は新規病態の解明につながる可能性が期待される。

2. 研究の目的

我々は腎生検症例コホートで尿レクチンアレイ解析による糖鎖の網羅的解析を行い、特定の尿レクチン結合シグナルがIgA腎症診断マーカーとして有用であることを新たに見出した。糖鎖の変化はO型ないしN型糖鎖のガラクトース修飾不全を示唆しているが、レクチンは修飾糖鎖を認識しているため、IgA腎症の病態形成に關与する糖蛋白はいまだ特定されていない。本研究では糖鎖プロファイルの変化の原因となる尿中糖タンパク質の同定、および糖鎖修飾異常のメカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1)岡山大学病院で腎生検を行ったCKD患者および腎移植ドナー493例(うち一次性IgA腎症157例)を対象に既存の臨床指標(尿タンパク、尿潜血、血清IgA)に糖鎖シグナルを加え、診断能を比較する。

(2)岡山大学病院で行った腎生検により得られたヒト腎組織について、レクチン蛍光染色を行い、糖タンパク質の局在を評価する。

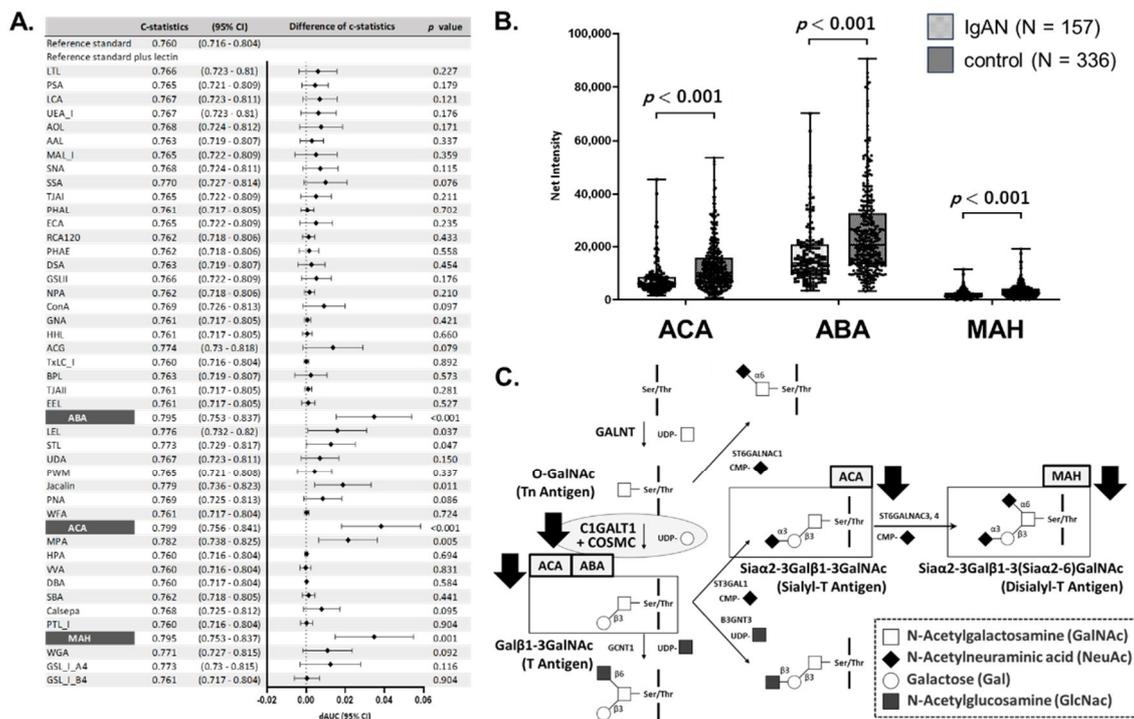
(3)上記で診断能を確認したレクチンについて、腎生検にて診断したIgA腎症および他腎疾患患者から前向きに収集した尿検体50mlの低速クロマトグラフィーを行う。抽出検体をiTRAQ/TMTラベル法を用いた比較定量が可能な質量分析に供し、尿中糖タンパク質の同定を行う。

4. 研究成果

(1)IgA腎症において、既存の臨床指標(尿タンパク、尿潜血、血清IgA)に糖鎖シグナルを加えた場合、3種類のレクチン(ACA、ABA、MAH)の糖鎖シグナルが減少した場合、AUROC、NRI、IDIの有意な改善がみられた(図1A、1B)。3種のレクチンはいず

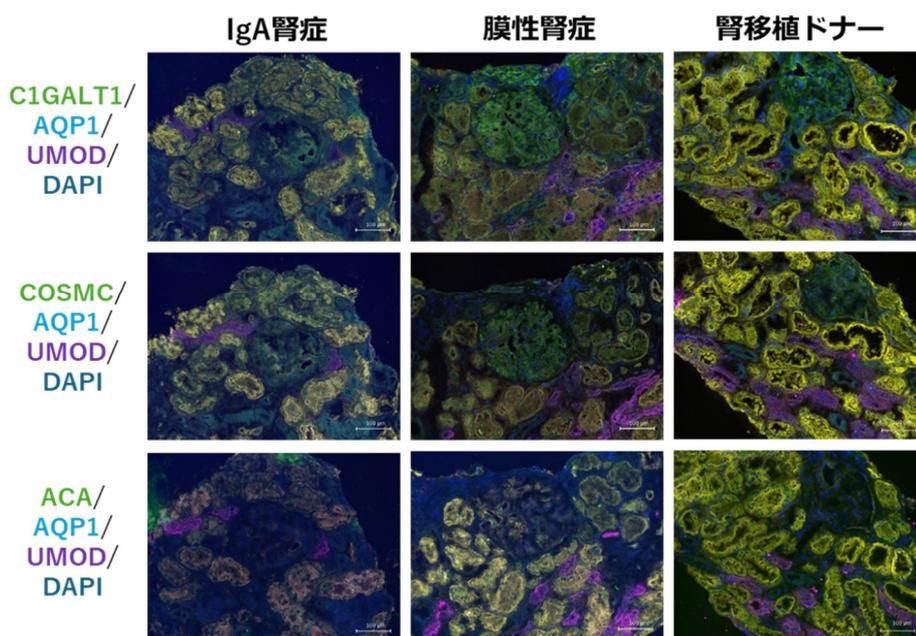
れも T 抗原(Gal 1-3GalNAc)を中心とした C1GALT1 の生成物である O 型糖鎖の排泄低下を示している(図 1C)。IgA 腎症では C1GALT1 の遺伝子変異が知られており、尿中の IgA1、あるいは未知の糖タンパク質における O 型糖鎖の疾患特異的な変化を表している可能性がある。この結果を Am J Nephrol. 53(1):10-20, 2022 にて報告した。

図1. O型糖鎖合成経路と特定のレクチンが認識する糖鎖の関連



(2) これらのレクチン、および C1GALT1 および COSMC を用いてヒト腎組織を蛍光染色したところ近位尿細管での陽性を認め、尿中糖鎖排泄量の変化は近位尿細管細胞から分泌される、あるいは切断された糖タンパク質を反映している可能性が示唆された(図 2)。

図2. 腎生検検体を用いたレクチン蛍光染色



(3) 最も診断能が良好かつ腎機能で補正・層別化しても結果が変わらない ACA を用いて、レクチンクロマトグラフィ・iTRAQ/TMT ラベル法を用いた比較定量が可能な質量分析を行ったところ、IgA 腎症において O 型糖鎖修飾異常を介したプラスミノーゲン/プラスミン制御系が病態に関与している可能性を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Onishi Yasuhiro, Mise Koki, Kawakita Chieko, Uchida Haruhito A., Sugiyama Hitoshi, Sugawara Ryosuke, Yamaguchi Satoshi, Yoshida Michihiro, Mitsuhashi Toshiharu, Yamada Masao, Hirabayashi Jun, Wada Jun | 4. 巻 53 |
| 2. 論文標題 Development of Urinary Diagnostic Biomarker for IgA Nephropathy by Lectin Microarray | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Nephrology | 6. 最初と最後の頁 10~20 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000520998 | 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 Yuka Sugawara, Yosuke Hirakawa, Koki Mise, Kosuke Kashiwabara, Ko Hanai, Satoshi Yamaguchi, Akihiro Katayama, Yasuhiro Onishi, Yui Yoshida, Naoki Kashihara, Yutaka Matsuyama, Tetsuya Babazono, Masaomi Nangaku, Jun Wada | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Analysis of inflammatory cytokines and estimated glomerular filtration rate decline in Japanese patients with diabetic kidney disease: a pilot study | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Biomarkers in Medicine | 6. 最初と最後の頁 759-770 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2217/bmm-2021-1104 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Keiko Tanaka, Hitoshi Sugiyama, Hiroshi Morinaga, Masashi Kitagawa, Yuzuki Kano, Yasuhiro Onishi, Koki Mise, Katsuyuki Tanabe, Haruhito A Uchida, Jun Wada | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 Serum sCD40L and IL-31 in Association with Early Phase of IgA Nephropathy | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine | 6. 最初と最後の頁 jcm12052023 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm12052023 | 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 Yasuhiro Onishi, Haruhito A Uchida, Yohei Maeshima, Yuka Okuyama, Nozomu Otaka, et al. | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 The Effect of Medical Cooperation in the CKD Patients: 10-Year Multicenter Cohort Study | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Personalized Medicine | 6. 最初と最後の頁 582 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jpm13040582 | 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 Tsuji Kenji, Nakanoh Hiroyuki, Takahashi Kensaku, Morita Takafumi, Sang Yizhen, Fukushima Kazuhiko, Matsuoka-Uchiyama Natsumi, Onishi Yasuhiro, Uchida Haruhito A., Kitamura Shinji, Wada Jun | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Kidney Veno-Muscular Characteristics and Kidney Disease Progression: A Native Kidney-Biopsy Study | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Kidney Medicine | 6. 最初と最後の頁 100733 ~ 100733 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xkme.2023.100733 | 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 大西康博, 和田淳 | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 糖尿病性腎臓病患者における糖鎖バイオロジー | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 腎臓内科 | 6. 最初と最後の頁 117-123 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 大西 康博, 和田 淳 | 4. 巻 15 |
| 2. 論文標題 糖尿病性腎臓病・腎硬化症のバイオマーカー | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 月刊糖尿病 | 6. 最初と最後の頁 56-62 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 大西康博, 和田淳 | 4. 巻 51 |
| 2. 論文標題 慢性腎臓病における糖鎖生物学とバイオマーカーへの応用 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 臨床化学 | 6. 最初と最後の頁 67-74 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 大西康博, 和田淳 | 4. 巻 65 |
| 2. 論文標題 糖鎖生物学からみた腸腎連関 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 日本腎臓学会誌 | 6. 最初と最後の頁 67-73 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Onishi Y, Mise K, Uchida HA, Sugiyama H, Wada J |
| 2. 発表標題 Identification of urinary diagnostic biomarker for IgA nephropathy by lectin microarray |
| 3. 学会等名 American Society of Nephrology, Kidney Week 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大西康博, 内田治仁, 木野村賢, 山口哲志, 中司敦子, 江口潤, 杉山齊, 和田淳 |
| 2. 発表標題 当院で腎生検により診断した肥満関連腎症に関する検討 |
| 3. 学会等名 第28回西日本肥満研究会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大西康博, 内田治仁, 竹内英実, 田中景子, 辻憲二, 田邊克幸, 森永裕士, 木野村賢, 喜多村真治, 前島洋平, 杉山齊, 太田康介, 丸山啓輔, 大城義之, 森岡茂, 瀧上慶一, 蒲生直幸, 和田淳 |
| 2. 発表標題 岡山市CKDネットワーク(OCKD-NET)におけるCKD病診連携11年後の追跡調査 |
| 3. 学会等名 第65回日本腎臓学会学術総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大西康博, 森永裕士, 杉山斉, 岡本修吾, 竹内英実, 田邊克幸, 内田治仁, 笠原由美子, 池田美世, 和田淳 |
| 2. 発表標題 腎不全療法選択説明と腹膜透析選択率・緊急導入の検討 |
| 3. 学会等名 第28回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大西康博, 森永裕士, 小林直哉, 田邊克幸, 内田治仁, 笠原由美子, 池田美世, 片山智恵, 齋藤信也, 和田淳 |
| 2. 発表標題 SDM-Q-9を用いた療法選択の質の評価と腹膜透析選択率の検討 |
| 3. 学会等名 第28回日本腹膜透析医学会学術集会・総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大西康博, 内田治仁, 田中景子, 岡本修吾, 竹内英実, 辻憲二, 田邊克幸, 森永裕士, 喜多村真治, 前島洋平, 太田康介, 丸山啓輔, 大城義之, 森岡茂 瀧上 慶一, 蒲生直幸, 杉山斉, 和田淳 |
| 2. 発表標題 岡山市CKDネットワーク(OCKD-NET)におけるCKD病診連携12年後の追跡調査 |
| 3. 学会等名 第66回日本腎臓学会学術総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 大西康博, 石原裕之, 森永裕士, 櫻武敬真, 小谷周平, 西田千夏, 小橋雄一, 和田淳, 小林直哉 |
| 2. 発表標題 高TG血症を呈する末期腎不全におけるペマフィブラートの安全性と有用性に関する検討 |
| 3. 学会等名 第68回日本透析医学会学術集会・総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大西康博 森永裕士 小林直哉 西田千夏 石原裕之 横山智久 小橋雄一 田邊克幸 内田治仁 杉山齊 池田美世 笠原由美子 齋藤信也 和田淳 |
| 2. 発表標題 SDM-Q-9を用いた療法選択の質の評価と維持透析期QOLに関する検討 |
| 3. 学会等名 第68回日本透析医学会学術集会・総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Onishi Y, Uchida HA, Sakurabu Y, Asakawa T, Katayama K, Hada Y, Takeuchi H, Tanaka K, Umebayashi R, Wada J |
| 2. 発表標題 Bub1 is a potential mediator of TGF β -induced renal fibrosis |
| 3. 学会等名 ASN Kidney Week 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Onishi Y, Nagasu H, Tsuji K, Tanabe K, Morinaga H, Uchida HA, Yano Y, Kashihara N, Wada J |
| 2. 発表標題 Greater variability in eGFR is associated with CKD progression: a retrospective Japanese nationwide database study |
| 3. 学会等名 ASN Kidney Week 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 大西康博 森永裕士 小林直哉 阿賀由侑子 小橋佑子 石原裕之 横山智久 御船朋代 野島一郎 園井教裕 中田憲一 内田治仁 和田淳 |
| 2. 発表標題 療養型病棟入院中に銅性貧血を呈した維持透析患者の2例 |
| 3. 学会等名 第27回日本病態栄養学会年次学術集会 |
| 4. 発表年 2024年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 大西康博, 和田淳 | 4. 発行年 2021年 |
| 2. 出版社 中外医学社 | 5. 総ページ数 308 |
| 3. 書名 腎臓内科Controversy 分担「糖尿病性腎臓病における有用なバイオマーカーは何ですか？」 | |

〔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 |
|-------|---------------------------|--------------------------------------|----|
| 研究協力者 | 和田 淳 (Wada Jun) | 岡山大学・腎・免疫・内分泌代謝内科学・教授 (15301) | |
| 研究協力者 | 三瀬 広記 (Mise Koki) | 岡山大学・腎・免疫・内分泌代謝内科学・助教 (15301) | |

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