

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22590891

研究課題名（和文） IgA 腎症の扁桃特異的細菌叢の検討

研究課題名（英文） Analysis of flora specific to tonsils with IgA nephropathy patients

## 研究代表者

長澤 康行（NAGASAWA YASUYUKI）

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10379167

研究成果の概要（和文）：IgA 腎症患者の扁桃特異的細菌叢の同定を DDGE 法により行い *Treponema sp.*, *Haemophilus segnis*, *Campylobacter rectus* であることを同定した。IgA 腎症患者の扁桃特異的細菌叢と扁桃摘出＋ステロイドパルス療法の治療効果との関連性について検討を行い、このうち 2 種の細菌が治療効果と強い相関があり、この菌の検出により治療予測能があることを確認した。

研究成果の概要（英文）：The comprehensive analysis of flora specific to tonsils with IgA nephropathy patients has been performed, and *Treponema sp.*, *Haemophilus segnis*, *Campylobacter rectus* are identified as the bacteria specific to tonsils with IgA nephropathy patients. There was strong relationship between these bacteria and the treatment of tonsillectomy and steroid pulse, therefore the detection of these bacteria might predict the response of these therapies.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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、扁桃、細菌叢、*Treponema sp.*, *Haemophilus segnis*, *Campylobacter rectus*

## 1. 研究開始当初の背景

慢性腎不全により透析医療を要する新規患者の 29.1%、約一万人が慢性糸球体腎炎からであり、また透析導入後の生命予後が良いことから、透析を要する患者の 46.6% が慢性糸球体腎炎であり糖尿病を原疾患とするものの約 1.5 倍にもおよぶ。この慢性糸球体腎炎で最も頻度の高いものが IgA 腎症であり、

およそ半数を占める。このように IgA 腎症は、透析療法を要する慢性腎不全の主要な原因疾患である。また、この IgA 腎症は 10 年間の腎予後が良いことから予後の良い疾患であると考えられていた。しかしながら、20 年の経過で腎生検時の所見が軽度のもので 10% 強、腎生検時の所見が重度のもので 35% が腎不全に進展することが報告され、IgA 腎

症の腎予後は決して良くないことがわかってきた。わが国は、IgA 腎症の好発年齢である 10 代後半から 20 代での学校健診システムがあり IgA 腎症の発見は行えているが腎予後を良くする治療法に結びついていない現状がある。

近年、わが国から IgA 腎症の治療として扁桃摘出+ステロイドパルス療法が IgA 腎症の完全寛解に有効であり腎予後を改善することが報告された。しかしながら、本治療法は入院加療や全身麻酔を要し全例に施行し難く治療効果の予測や治療効果の機序の解明が待たれるところである。

IgA 腎症の患者の扁桃において *Haemophilus parainfluenzae* の構成成分の存在が証明され、IgA 腎症患者では咽頭粘膜より 91% に認めることが報告されている (Suzuki, et al. Lancet1994)。しかしながら、この菌と IgA 腎症の予後や治療効果との関連は報告されていない。

## 2. 研究の目的

細菌叢を網羅的に解析する遺伝子工学的な方法である DGGE 法を用い IgA 腎症の扁桃特異的な細菌叢を見出し、IgA 腎症発症との関連や治療効果との関連を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 扁桃における細菌叢の DDGE 法による検討

IgA 腎症患者において扁桃感染時に肉眼的血尿を呈し、扁桃摘出術およびステロイドパルス療法により寛解することが知られている。しかしながら、IgA 腎症の腎臓に着眼を置いた研究はなされてきているが、扁桃に着眼をおいた研究報告は非常に乏しい。本研究では、IgA 腎症の患者の扁桃の細菌叢を DDGE 法により網羅的に解析することで、IgA 腎症の病因を形成する因子を捉える事が可能になると考えられる。

### (2) IgA 腎症の治療効果と扁桃の細菌叢の関連の検討

IgA 腎症の患者の扁桃と IgA 腎症の発症・進展との関連性については、急性扁桃炎時に血尿が増悪することで従来より示唆されている。しかし、そこに明確な機序の説明はなく本研究により明らかにされることが期待される。

### (3) 扁桃における細菌叢の術前評価として扁桃ぬぐい液による検討

IgA 腎症の扁桃における細菌叢の特徴や、とりわけ扁桃摘出が有効である扁桃の細菌叢の特徴が本研究で明らかになると考えら

れる。この細菌叢を扁桃摘出の術前に扁桃ぬぐい液にて行うことにより、扁桃摘出術の有効性の術前評価が可能になると考えられる。また、IgA 腎症特異的な細菌叢の検出法を確立することで腎生検を経ずに IgA 腎症であることを診断することが可能になる。

## 4. 研究成果

まず、IgA 腎症患者の扁桃特異的な細菌叢の同定を行った。大阪大学腎臓内科にて腎生検を行い診断が確定し扁桃摘出ステロイドパルスを行った患者は 80 名、また、コントロールとして慢性扁桃炎にて扁桃摘出を行った患者の扁桃の組織は 25 名いた。これらの扁桃に特異的な細菌叢を DDGE 法を用いて検出した。さらに IgA 腎症群で有意に検出率の高い細菌に相当するバンドを切り出してシーケンスを行うことで菌種の同定を行い、*Treponema sp.*, *Haemophilus segnis*, *Campylobacter rectus* であった。これらの菌は歯周病菌としても知られており、口腔内および扁桃の細菌叢が IgA 腎症の発症・進展に関わる可能性が示唆された。IgA 腎症患者において、*Treponema sp.* は 20%、*Haemophilus segnis* は 53%、*Campylobacter rectus* は 43% 陽性であった。さらに、この細菌叢と扁桃摘出+ステロイドパルス療法の治療効果との関連の検討を行った。Cox 比例ハザード分析にて尿蛋白の陰性化には、*Treponema sp.* はハザード比 1.97 (p=0.09)、*Campylobacter rectus* はハザード比 1.94 (P<0.05)、*Treponema sp. or Campylobacter rectus* は 2.34 (P<0.05) と有意に相関を認めた。また、尿潜血の陰性化には、*Treponema sp.* はハザード比 4.14 (p<0.01)、*Campylobacter rectus* はハザード比 2.55 (P<0.05)、*Treponema sp. or Campylobacter rectus* は 4.49 (P0.001) と有意に相関を認めた。IgA 腎症の患者の扁桃に特異的な細菌は、扁桃摘出+ステロイドパルス療法の治療効果との相関を認めた。

## 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 20 件)

- 1) Nakanishi T, Hasuike Y, Nagasawa Y, Kuragano T. Opposite Extremes in Hepcidin Status between the US and Japan. *Am J Med.* 2013 May;126(5):e11, doi: 10.1016/j.amjmed.2012.10.029. 査読あり

- 2) Shinzawa M, Yamamoto R, Nagasawa Y, Oseto S, Mori D, Tomida K, Hayashi T, Izumi M, Fukunaga M, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. Age and prediction of remission and relapse of proteinuria and corticosteroid-related adverse events in adult-onset minimal-change disease: a retrospective cohort study. *Clin Exp Nephrol*. 2013 Mar 20. Epub, DOI:10.1007/s10157-013-0793-9 査読あり
- 3) Matsui I, Hamano T, Mikami S, Inoue K, Shimomura A, Nagasawa Y, Michigami T, Ohnishi T, Fujii N, Nakano C, Kusunoki Y, Kitamura H, Iwatani H, Takabatake Y, Kaimori JY, Matsuba G, Okoshi K, Kimura-Suda H, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. Retention of fetuin-A in renal tubular lumen protects the kidney from nephrocalcinosis in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013 Mar 15;304(6):F751-60. doi: 10.1152/ajprenal.00329.2012 査読あり
- 4) Nakanishi T, Kuragano T, Kaibe S, Nagasawa Y, Hasuike Y Should we reconsider iron administration based on prevailing ferritin and hepcidin concentrations? *Clin Exp Nephrol*. 2012 Dec;16(6):819-26 doi: 10.1007/s10157-012-0694-3. 査読あり
- 5) Hirotsugu Iwatani, Takahiro Inoue, Yoshinao Wada, Yasuyuki Nagasawa, Ryohei Yamamoto, Hideki Iijima, Tetsuo Takehara, Enyu Imai, Hiromi Rakugi, Yoshitaka Isaka Quantitative change of IgA hinge O-glycan composition is a novel marker of therapeutic responses of IgA Nephropathy *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Nov 23;428(3):339-42. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.10.049. 査読あり
- 6) Hasuike Y, Nagai T, Yorifuji S, Tanaka S, Matsumoto A, Yahiro M, Kaibe S, Kida A, Tokuyama M, Nagasawa Y, Otaki Y, Kuragano T, Nakanishi T. The mitochondrial protein frataxin is downregulated in hemodialysis patients. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Nov 23. 17: 424-430 DOI 10.1007/s10157-012-0737-9 査読あり
- 7) Shinzawa M, Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Obi Y, Namba T, Kitamura H, Kaneko T, Okada N, Iwatani H, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Isaka Y, Rakugi H. Gene polymorphisms contributing to hypertension in immunoglobulin A nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Apr;16(2):250-8. doi: 10.1007/s10157-011-0553-7. 査読あり
- 8) Yamamoto R, Nagasawa Y, Iwatani H, Shinzawa M, Obi Y, Teranishi J, Ishigami T, Yamauchi-Takahara K, Nishida M, Rakugi H, Isaka Y, Moriyama T Self-reported Sleep Duration and Prediction of Proteinuria: A Retrospective Cohort Study. *Am J Kidney Dis*. 2012 Mar;59(3):343-55. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.08.032. 査読あり
- 9) Nakano C, Hamano T, Fujii N, Obi Y, Matsui I, Tomida K, Mikami S, Inoue K, Shimomura A, Nagasawa Y, Okada N, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. Intact fibroblast growth factor 23 levels predict incident cardiovascular event before but not after the start of dialysis. *Bone*. 2012 Jun;50(6):1266-74. Epub 2012 Mar 6. doi: 10.1016/j.bone.2012.02.634. 査読あり
- 10) Nagasawa Y, Yamamoto R, Rakugi H, Isaka Y. Cigarette smoking and chronic kidney diseases. *Hypertens Res*. 2012 Mar;35(3):261-5. doi: 10.1038/hr.2011.205. 査読あり
- 11) Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Katakami N, Ohtoshi K, Hayaishi-Okano R, Yamasaki Y, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. A candidate gene approach to genetic contributors to the development of IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Mar;27(3):1020-30. doi: 10.1093/ndt/gfr369. 査読あり
- 12) Uehata T, Tomosugi N, Shoji T, Sakaguchi Y, Suzuki A, Kaneko T, Okada N, Yamamoto R, Nagasawa Y, Kato K, Isaka Y, Rakugi H, Tsubakihara Y. Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Mar;27(3):1076-83. doi: 10.1093/ndt/gfr431. 査読あり
- 13) Kawada N, Moriyama T, Kitamura H, Yamamoto R, Furumatsu Y, Matsui I, Takabatake Y, Nagasawa Y, Imai E, Wilcox CS, Rakugi H, Isaka Y. Towards developing new strategies to reduce the adverse side-effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Exp Nephrol*. 2012 Feb;16(1):25-9. doi: 10.1007/s10157-011-0492-3. 査読あり

- 14) Iwatani H, Iio K, Nagasawa Y, Yamamoto R, Horii A, Okuzaki D, Inohara H, Nojima H, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. Microarray analysis of tonsils of IgA nephropathy patients. *Adv Otorhinolaryngol.* 2011;72:75-8. doi: 10.1159/000324611. 査読あり
- 15) Kimura T, Kitamura H, Inoue K, Kawada N, Matsui I, Nagasawa Y, Obi Y, Shinzawa M, Sakata Y, Hamono T, Rakugi H, Isaka Y. Effects of nicorandil on the reduction of BNP levels in patients with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2011 Dec;15(6):854-60. doi: 10.1007/s10157-011-0522-1. 査読あり
- 16) Yamamoto R, Nagasawa Y. Pathology: Oxford IgA nephropathy classification: valid for children? *Nat Rev Nephrol.* 2010 Nov;6(11):638-9. doi: 10.1038/nrneph.2010.123. 査読あり
- 17) Nagasawa Y, Yamamoto R, Maruhashi Therapeutic Apheresis in Liver Transplantation *Transplantationsmedizin* 2010, 22. Jahrg., S. 339-343 査読なし
- 18) Obi Y, Kimura T, Nagasawa Y, Yamamoto R, Yasuda K, Sasaki K, Kitamura H, Imai E, Rakugi H, Isaka Y, Hayashi T. Impact of age and overt proteinuria on outcomes of stage 3-5 chronic kidney disease in a referred cohort *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 Sep;5(9):1558-65. doi: 10.2215/CJN.08061109 査読あり
- 19) Furumatsu Y, Nagasawa Y, Shoji T, Yamamoto R, Iio K, Matsui I, Takabatake Y, Kaimori JY, Iwatani H, Kaneko T, Tsubakihara Y, Imai E, Isaka Y, Rakugi H. Urinary Type IV Collagen in Nondiabetic Kidney Disease. *Nephron Clin Pract.* 2010 Aug 12;117(2):c160-c166. doi: 10.1093/ndt/gfp738. 査読あり
- 20) Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Iwatani H, Hamano T, Kawada N, Moriyama T, Horio M, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Isaka Y, Rakugi H. Cigarette Smoking and Progression of IgA Nephropathy *Am J Kidney Dis* 2010 Aug;56(2):313-24. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.02.351. 査読あり
- [学会発表] (計 17 件)
- 1) Shinzawa M, Yamamoto R, Nagasawa Y, Oseto S, Mori D, Niihata K, Tomida K, Izumi M, Fukunaga M, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. Intravenous methylprednisolone therapy accelerated complete remission of proteinuria in adult patients with minimal change nephrotic syndrome. American Society of Nephrology Kidney Week Annual Meeting 2012.11.02 San Diego, USA
- 2) Nagasawa Y, Iio K, Iwatani H, Yamamoto R, Shinzawa M, Imai E, Nakanishi T, Rakugi H, Isaka Y. Bacteria specific to tonsil in IgA nephropathy patients predicts the remission by the treatment of tonsillectomy and corticosteroid pulse. American Society of Nephrology Kidney Week 2012 Annual Meeting 2012.11.01 San Diego, USA
- 3) Teranishi J, Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji Y, Iwatani H, Okada N, Moriyama T, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. ACE Insertion/Deletion (I/D) polymorphism predicted renoprotective effectiveness of renin-angiotensin system (RAS) blockade in patients with IgA nephropathy. XLVIII ERA-EDTA congress 2012.5.26 Paris, France
- 4) Shinzawa M, Yamamoto R, Nagasawa Y, Oseto S, Mori D, Niihata K, Fukunaga M, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. Methylprednisolone pulse therapy accelerated complete remission of proteinuria in adult-onset minimal change nephrotic syndrome patients. XLVIII ERA-EDTA congress 2012.5.25 Paris, France
- 5) Iwatani H, Nagasawa Y, Inoue T, Ueda Y, Yamamoto R, Shinzawa M, Obi Y, Teranishi J, Ishigami T, Iijima H, Wada Y, Rakugi H, Isaka Y. Quantitative Analysis of O-Glycosylation of IgA Hinge Portion (HP) in IgA Nephropathy (IgAN) Patients and Its Responsiveness to the Therapy of Tonsillectomy Combined with Corticosteroid IV (TLX+S). American Society of Nephrology, 2011.11.12, Philadelphia, USA
- 6) Teranishi J, Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Uehata T, Okada N, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y. ACE Insertion/Deletion (I/D) Polymorphism Predicts Renoprotective Effectiveness of Renin-Angiotensin System Blockade (RASb), along with Progression, in IgA Nephropathy (IgAN). American Society of Nephrology, 2011.11.11, Philadelphia, USA
- 7) Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Katakami N, Ohtoshi K, Hayashi-Okano R, Yamasaki Y, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. A Candidate Gene Approach to Genetic Contributors to Development of IgA Nephropathy. American Society of Nephrology, 2011.11.11, Philadelphia, USA
- 8) Iwatani H, Nagasawa Y, Yamamoto R, Iio K, Mizui M, Horii A, Rakugi H, Isaka Y. Factor Responsible for Hematuria in IgA Nephropathy, American Society of Nephrology, 2010.11.18, Denver, USA
- 9) Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Kawada N,

Horio M, Moriyama T, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Rakugi H, Isaka Y., Cigarette Smoking Abrogates a Renoprotective Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) Blockade in Patients with IgA Nephropathy, American Society of Nephrology, 2010.11.18, Denver, USA

10) Takahashi A, Yamamoto R, Nagasawa Y, Iwatani H, Iio K, Shinzawa M, Horii A, Yamauchi A, Rakugi H, Isaka Y., Combination of Tonsillectomy and Corticosteroid Suppressed Recurrence of Urinary Protein and Occult Blood in Patients with IgA Nephropathy, Compared with Corticosteroid Alone, American Society of Nephrology, 2010.11.18, Denver, USA

11) Shinzawa M, Yamamoto R, Nagasawa Y, Shoji T, Okada T, Yamauchi A, Tsubakihara Y, Imai E, Rakugi H, Isaka Y., Gene Polymorphisms Contributing to Hypertension in IgA Nephropathy, American Society of Nephrology, 2010.11.17, Denver, USA

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

長澤 康行 (Nagasawa Yasuyuki )  
兵庫医科大学・医学部・講師  
研究者番号 : 10379167

### (2) 研究分担者 なし ( )

研究者番号 :

### (3) 連携研究者 なし ( )

研究者番号 :