

機関番号：37111

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790964

研究課題名(和文) ウイルス感染後の自然免疫と獲得免疫の総合作用による IgA 腎症の発症機序の解析

研究課題名(英文) Analysis of the pathogenesis of the IgA nephropathy by the interaction of the innate and acquired immunity in post-viral infection

研究代表者

三宅 勝久 (MIYAKE KATSUHISA)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：50448411

研究成果の概要(和文)：早期の IgA 腎症は、検診で血尿、蛋白尿で偶然発見される無症候性の腎臓病である。本研究では、早期 IgA 腎症、ANCA 関連腎炎、膜性腎症の腎生検組織を用いて、Toll like receptor (TLR) と炎症性サイトカインの mRNA の発現解析を行った。その結果、早期 IgA 腎症では、他の腎疾患に比して TLR9 の発現が優位に高く、サイトカイン解析では、IFN α の発現が著明に亢進していることが明らかとなった。これらの結果から、早期の IgA 腎症では自然免疫が亢進した状態であることが明らかとなった。TLR9 シグナルや IFN α を抑制することが IgA 腎症の新しい治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：IgA nephropathy (IgAN) in early stage is an asymptomatic kidney disease detected by chance proteinuria and/or hematuria. In this study, we analyzed mRNA expressions of toll like receptors (TLRs) and inflammatory cytokines in the renal biopsy tissues from IgAN in early stage, ANCA-related nephritis and membranous nephropathy patients. As a result the expressions of transcripts for TLR9 and IFN α in IgAN in early stage were significantly higher than those for others. These results suggested that the innate immunity may play a central role for development of IgAN in the early stage. Therefore TLR 9 signal and IFN α will be new candidates for new treatment for IgAN.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・感染症内科学

キーワード：自然免疫, 獲得免疫

1. 研究開始当初の背景

他に類を見ない普及率を誇る検診制度の下で我が国の IgA 腎症 (IgAN) は、尿所見異常 (chance proteinuria and/or hematuria) で 70%以上が発見されている。非常に早期に発見され、腎生検を行い診断しているところが、欧米の IgAN の疫学、症候、予後と我が国のそれとが大きく異なる理由であると考えられる。早期に発見された IgAN に対しては、堀田修氏によって提唱された、扁桃摘出術とステロイドパルス療法を組み合わせる「扁桃摘出術」が効果を発揮し、5年以上で 80%以上の寛解率を得ているが、従来のステロイド療法では 50%程度にとどまっている。その結果、非常に早期から発見されているにもかかわらず、我が国の IgAN 患者の 10 年後腎生存率は 85%にとどまっている。小児の IgAN の 10 年生存率が 90%を超えていることを考慮すると、成人での実際の腎予後は、よりもっと低いと考えられる。一方北米では高度蛋白尿または腎機能障害を示す患者のみが腎生検の適応となり、10 年腎生存率が 60%前後である。これらのことを考慮すると、我が国では早期に診断しているのにも関わらず、治療がそれほど奏功していないと考えられることができる。IgAN に対する標準的治療の確立が望まれているところである。

IgA 腎症は、糸球体メサンギウム領域に IgA が優位に沈着するメサンギウム増殖性腎炎である。IgA 腎症の病因は腎既存細胞の応答性か、全身性の免疫反応や幹細胞レベルの問題であるかは、長く討議されてきており、4 半世紀を越えた病態解明を目指す研究が数多く続けられているが、未だ病因の解明には至っていない。私は IgAN は、上気道に起こったウイルス感染症のもと、ウイルスに対する自然免疫の反応と同時に獲得免疫反応が起こった結果、創りだされる病態ではないかと考えている。つまりウイルスが腎臓糸球体のメサンギウム細胞を直接障害する事象とウイルス感染に起因する免疫反応の異常が起こった事象が組み合わさって構成された病態を想定している。

自然免疫を誘導する Toll like receptor 3 (TLR3) は、ウイルスの二本鎖 RNA の受容体であり、腎臓糸球体の支持細胞であるメサンギウム細胞に多数発現している。感染後のウイルス血症の結果、この受容体にウイルスが直接的に作用し、アダプター蛋白の MyD88 を介することなく、シグナルを伝えることで、炎症性サイトカインの産生は高まり、糸球体に増殖性の変化が起こることは十分に考えられる。また、上気道に感染したウイルスは、Plasmacytoid 樹状細胞 (DC) に認識され、この細胞から大量の Type I Interferon (Type I IFN) が産生される。分泌された Type I IFN は、Monocyte を Myeloid DC に分化させ、この Myeloid DC は周囲の環境によって、Naïve T 細胞の分化の方向を決定する。CpG DNA や IL-40L と協調した場合は Th1 分化を惹起するが、IL-3 の刺激がある場合は、Th2 分化を促進する。C 型肝炎に対する IFN 治療において、

様々な免疫異常が惹起されることが知られているが、感染時の扁桃では、Type I IFN により免疫異常を来しやすい状況であると考えられる。扁桃では、侵入したウイルスを捉えた B 細胞は、リンパ濾胞に入り、DC や T 細胞との接触後、IgM からクラススイッチを行った後、IgA を産生する memory B 細胞、形質細胞へ分化する。このクラススイッチには、TGF- β が大きく関与している。TGF- β は IL-6 と協調して、Naïve T 細胞を Th17 細胞へ分化させる。IL-17 は、リンパ濾胞内での B 細胞が DC や T 細胞に接触する機会を増加させ、B 細胞-T 細胞間の作用を高めることがマウスの系で実証され、この停滞が B 細胞の遺伝子変異をより起こしやすくしている可能性も示唆されている (Hsu H, et al. *Nature Immunol*, 2008)。感染時の扁桃では、TGF- β による B 細胞での IgA へのクラススイッチや体細胞突然変異が高頻度に行われている状況で、Th17 細胞による IL-17 産生下での B 細胞-T 細胞間の連携強化が行われる結果、正常とは異なる IgA を産生する B 細胞の分化が促される可能性が考えられる。

IgA を産生する形質細胞と Th17 細胞、そしてウイルス DNA の存在下で分化した Th1 細胞が、糸球体腎炎の場で会合して IgA 腎症の病態を形成している可能性がある。IgA 腎症に対する治療として、扁桃摘出とステロイドパルス療法が行われている。IgA 産生 B 細胞に分化する場所は扁桃であるが、扁桃摘出それだけでは、IgA 腎症の予後を変えない。その理由としては Memory B 細胞に分化した細胞が扁桃以外に多数残存する結果だと考えることができる。扁桃摘出後のステロイドパルス療法では、予後の改善が見られるという報告があり、ステロイドパルスの結果、T 細胞で産生されるサイトカインが激減し、炎症の沈静化とともに B 細胞-T 細胞間の連携を減弱させる機序も考えることができる。IgA 腎症の病態の中心に Naïve T 細胞の分化とその分化した T 細胞が産生するサイトカインが存在すると考えると、TGF- β と協調して作用することで Th17 細胞へ分化させる IL-6 に治療標的を定める選択肢があると思われる。

2. 研究の目的

今回の研究では、ヒト IgAN 生検腎組織を用いて、実際に TLR の発現と病像を作りだしているサイトカインパターンを明らかにすることを目的とした。検診において尿所見異常で発見、腎生検で診断された早期発見症例であり、長期臨床的経過記録がある 100 名を対象に、腎生検標本組織での TLR, サイトカインの発現を評価する。

3. 研究の方法

検診において尿所見異常で発見され、腎生検で診断された早期発見症例であり、長期臨床的経過記録がある 100 名を対象に、腎生検標本組織ブロックを選別する。我々の施設の臨床審査委員会で承認を受けた手順に従い、組織ブロックからの RNA の抽出を行う。

この資料を用いて、Th1 細胞由来サイトカインとしては IFN γ 、IL-2、IL-12 を、Th2 細胞由来サイトカインとしては IL-4、IL-5、IL-13 を、Th17 細胞由来サイトカインとしては IL-6、IL-17 を制御性 T 細胞(Treg)由来のサイトカインとしては、IL-10、TGF β 、そして転写因子 Foxp3 発現を評価する。TLR3、TLR 4、TLR 7、TLR 9 とともに、IFN α 、TNF α の発現も評価する。

4. 研究成果

1) IgAN で著明に発現が亢進しているのは、TLR9 であった(図 1)。TLR3、4、7、9 の発現を比較すると、TLR9 の発現が有意に高く、この現象は、他の腎疾患では認められなかった。

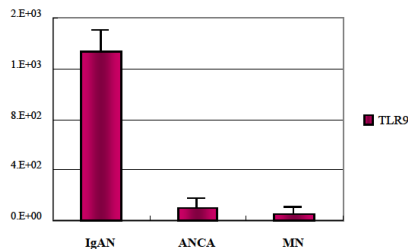


図1. IgA腎症、ANCA関連腎炎、膜性腎症におけるTLR9の発現

2) 獲得免疫の解析結果。

対象疾患として、ANCA 関連半月体形成性腎炎と膜性腎症を解析した。T 細胞分化とサイトカイン産生の図を図 2 に示す。ANCA 関連腎炎は、Th1+Th17 の反応が有意であるのに対し膜性腎症は、Th2+Treg の反応が有意であることがわかった(図 3)。IgAN で同様の解析を行ったが、Th1/Th2/Th17/Treg 系のサイトカインはほとんど検出されなかった。自然免疫活性化に伴う IFN α 、TNF α 、IL-6 の発現解析では、IFN α の発現が著明に亢進していることが明らかとなった(図 4, 5)。

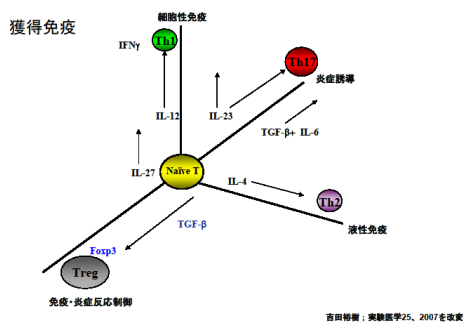


図2. Th1, Th2, Th17とTregの位置づけ

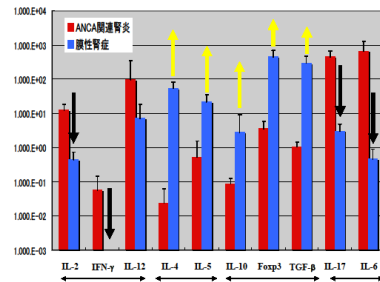


図3. ANCA関連腎炎と膜性腎症におけるサイトカインの発現

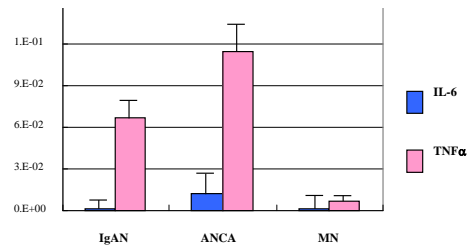


図4. IgA腎症、ANCA関連腎炎、膜性腎症におけるIL-6,TNF α の発現

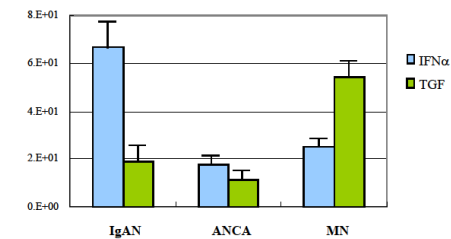


図5. IgA腎症、ANCA関連腎炎、膜性腎症におけるIFN α ,TGF β の発現

以上の結果から、検診において尿所見異常で発見され、腎生検で診断された早期発見症例では、自然免疫亢進の状態であり、TLR9の活性化が誘発され、IFN α が産生されていることが示唆された。IFN α が中心的にこの病態に関与しているサイトカインであれば、このサイトカインを制御することが新規の治療になり得ると思われる。

自然免疫の活性化はTh1への分化を促進することにより、獲得免疫の活性化に繋がる。今回の早期のIgAN症例ではなく、さらに腎障害が進んでいる症例では、獲得免疫が活性化され、IFN γ 、IL-17等のサイトカインが産生され、病態をさらに増殖性の変化へ導くことが予想される。早期に診断された症例で、IFN α を制御できれば、増殖性変化の増悪は阻止できる可能性が高いと考えられる。

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6件)

- ① Watanabe M, Nakashima H, Ito K, Miyake K, Saito T. Improvement of dyslipidemia in

- OLETf rats by the prostaglandin I(2) analog beraprost sodium. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 93, 14-19, 2010. 査読 (有)
- ② Nakashima H, Miyake K, Moriyama M, Tanaka A, Watanabe M, Abe Y, Sato H, Nakamura S, Saito T. An amplification of IL-10 and TGF-beta in patients with IgG4-related tubulointerstitial nephritis. Clin Nephrol. 73(5):385-91, 2010. 査読 (有)
- ③ Ishimura A, Watanabe M, Nakashima H, Ito K, Miyake K, Mochizuki S, Ishigaki Y, Saito T. Lipoprotein glomerulopathy induced by ApoE-Sendai is different from glomerular lesions in aged apoE-deficient mice. 13(5):430-7. 2009. Clin Exp Nephrol. 査読 (有)
- ④ Watanabe M, Nakashima H, Mochizuki S, Abe Y, Ishimura A, Ito K, Fukushima T, Miyake K, Ogahara S, Saito T. Amelioration of diabetic nephropathy in OLETf rats by prostaglandin I(2) analog, beraprost sodium. (1):1-11. 2009. Am J Nephrol. 査読 (有)
- ⑤ Kurabe N, Arai S, Nishijima A, Kubota N, Suizu F, Mori M, Kurokawa J, Kondo-Miyazaki M, Ide T, Murakami K, Miyake K, Ueki K, Koga H, Yatomi Y, Tashiro F, Noguchi M, Kadowaki T, Miyazaki T. The death effector domain-containing DEDD supports S6K1 activity via preventing Cdk1-dependent inhibitory phosphorylation. 284(8):5050-5. 2009. J Biol Chem. 査読 (有)
- ⑥ Igawa T, Nakashima H, Sadanaga A, Masutani K, Miyake K, Shimizu S, Takeda A, Hamano S, Yoshida H. Deficiency in EBV-induced gene 3 (EBI3) in MRL/lpr mice results in pathological alteration of autoimmune glomerulonephritis and sialadenitis. 19(1):33-41. 2009. Mod Rheumatol. 査読 (有)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 三宅勝久, 前山彰, 城島宏, 齊藤喬雄, 中島衡. Adalimumab により, 重症血小板減少を発症した関節リウマチの一例, 第 41 回九州リウマチ学会, 2011 年 3 月 19 日, 宮崎.
- ② 三宅勝久, 中島裕子, 安野哲彦, 安部泰弘, 齊藤喬雄, 中島衡. 難治性中枢神経性ループスに対し血漿二重膜濾過法 (DFPP) を施行し病勢をコントロールし得た一例: 第 40 回九州リウマチ学会, 2010 年 9 月 5 日, 鹿児島.
- ③ 三宅勝久, 中島衡, 城島宏, 齊藤喬雄. 高ガンマグロブリン血症を呈した間質性腎炎の 2 例: 第 39 回九州リウマチ学会, 2010 年 3 月 7 日, 福岡.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宅 勝久 (MIYAKE KATSUHISA)
福岡大学・医学部・講師
研究者番号: 50448411