

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 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21790972

研究課題名（和文） WAS 腎症をモデルとした IgA 腎症の発症機構に関する分子免疫学的解析

研究課題名（英文） Molecular immunological analysis of the pathogenesis of Wiskott Aldrich syndrome associated IgA nephropathy

研究代表者

清水 正樹（MASAKI SHIMIZU）

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：10401902

研究成果の概要（和文）：Wiskott-Aldrich syndrome protein（WAS）症例 26 例について、血清 IgA 分子の糖鎖異常、血清 IgG-IgA 免疫複合体量の解析を行った。その結果、1.WAS 症例では、糖鎖異常 IgA および IgG-IgA 免疫複合体量が年齢依存性に、また、自己免疫疾患を合併している症例で有意に増加していること、2.骨髄移植により、糖鎖異常 IgA の量は減少し、糸球体沈着 IgA の程度および腎組織障害が改善することが判明した。これらの結果から、IgA 糖鎖異常は、WAS に合併する自己免疫疾患の病態に深く関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the role of aberrant IgA production in the development of autoimmunity and glomerulonephritis in 26 patients with WAS. We found that serum galactose-deficient IgA levels and the levels of CIC containing IgA and IgG increased in WAS patients as an age dependent manner. Interestingly, these levels significantly increased in WAS patients with autoimmune manifestations. Furthermore, IgA-dominant immune deposits in the renal mesangium and glomerular injury in an XLT patient were significantly reduced after BMT. Galactose-deficient IgA levels were also markedly decreased after BMT. These findings indicate that mutations in WAS may be associated with aberrant IgA production and the development of autoimmune diseases including IgAN. Furthermore, immune reconstitution by BMT could correct aberrant IgA induced autoimmune diseases. These findings indicate that aberrant IgA production due to mutations in the WAS gene may be critically involved in the development of autoimmune diseases and glomerulonephritis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：臨床免疫学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：Wiskott-Aldrich 症候群、IgA 腎症、糖鎖不全

## 1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症の発症機構はいまだに不明であるが、その病理像や治療反応性等から個体における何らかの免疫学的異常が深く関与していることが予想されている。特に最近 IgA 分子における糖鎖異常との関連を示唆する報告が数多くなされており (Novak J et al. *Semin Nephrol* 2008; 28: 78-87, Coppo R et al. *Kidney Int* 2004; 65: 1544-1547, Kobayashi I et al. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2108-2116)、一次的、二次的要因による IgA 分子の糖鎖結合異常に関する研究が注目されている。ヒトの IgA 分子はヒンジ部に O-glycan を有し、O-glycan の糖鎖異常が IgA 腎症の病態に関与している。実際に糖鎖異常をもつ IgA 分子は自己凝集能が高く、IgG 分子と免疫複合体を形成し、これらが免疫複合体としてメサンギウム領域に沈着し、メサンギウム細胞に作用し、炎症を惹起すると考えられている。

WAS は、サイズの減少を伴う血小板減少、湿疹、反復する細菌性、日和見感染症を三主徴とし、悪性腫瘍や自己免疫疾患を合併する原発性免疫不全症である (Ochs HD et al. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 725-738)。責任遺伝子は wasp (Wiskott-Aldrich syndrome protein) 遺伝子で、Xp11.22-p11.23 に存在する。自己免疫疾患は WAS 症例の 40-70% に発生し、自己免疫性溶血性貧血、全身性血管炎、腎症、炎症性腸疾患などの症状を認める。近年治療法の進歩により長期生存が可能となった一方で、自己免疫疾患の発生とその治療が大きな課題となってきた。その中で腎症は 19% と比較的高頻度に認め、慢性腎不全にいたり腎移植を要した症例も報告されている (Andrews PA et al. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 524-525、

Fischer A et al. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 2077-2079)。今後さらに透析治療や腎移植を要する症例が増加し、臨床上問題となることが予想されるが、WAS 症例では血小板減少を認めることから腎生検を施行できない症例が多く、その詳細は明らかではない。

そこで我々はヒトと同様の phenotype を有する 129SvEvWASP ノックアウトマウスにおける腎病変について解析し、その発生メカニズムに関する検討を行った。WASP ノックアウトマウスではメサンギウム増殖性腎炎を呈し、組織障害の程度は月齢と共に増悪し、蛋白尿も認めた。蛍光抗体法ではメサンギウム領域に IgG, IgA, IgM, C3 の沈着を認め、電子顕微鏡ではメサンギウムおよびパラメサンギウム領域、一部糸球体基底膜に免疫複合体の沈着が観察された。血清 C3 値は正常であったが、血清 IgA 値は有意に高値であり、IgA 含有免疫複合体も有意に高値を示した。In vitro において、マウスの脾臓より B リンパ球を分離し、TGF- $\beta$ +IL-4+IL-5 の存在下で LPS 刺激による IgA 産生能を検討したところ、WASP ノックアウトマウスでは有意に IgA 産生の増加を認めた。興味深い所見として古くから WAS 症例では CD43 を代表とする O-glycan を有する分子の糖鎖異常が報告されている (Piller F et al. *J Exp Med* 1991; 173: 1501-1510, Park JK et al. *Nature* 1991; 350: 706-709)。また IgA 腎症のモデルマウスである HIGA マウスにおいて、シアル酸やガラクトースが欠落した糖鎖異常を持つ IgA 分子が増加し、IgA 腎症の病態に深く関わっていることが報告されている。

そこで、Lectin binding assay を用いて WASP ノックアウトマウスにおける IgA 分子のシアル酸およびガラクトース含量を

検討したところ、月齢 6 ヶ月以上の WASPKO マウスでは有意にシアル酸およびガラクトースの欠落した糖鎖異常を有する IgA 分子が増加していることが判明した。以上の結果から WASP ノックアウトマウスでは免疫複合体を介する糸球体腎炎が起こり、病理像は IgA 腎症に類似すること、そのメカニズムとして、B 細胞の内因性の異常による IgA 分子の産生の増加と IgA 分子の糖鎖異常が腎症の発生に関与している可能性が推測された。

## 2. 研究の目的

WAS における腎症の報告例は少ないが、報告例のうち一番多いものは IgA 腎症であり (Imai K et al. Blood 2004; 103; 456-464)、WAS における腎症の病態は我々のマウスでの検討結果と共通していることが予想される。そこで今回我々はマウスでの検討を基礎として、WAS 症例のヒト IgA 分子の糖鎖異常に注目し、本症における腎症のメカニズムの解明およびその臨床応用をめざし、WAS 症例における血清中の糖鎖異常 IgA の定量、IgG-IgA 免疫複合体量を測定し、臨床像と比較検討した。

## 3. 研究の方法

WAS 症例 26 例について、レクチンを用いた ELISA 法を利用して、WAS 症例における血清中 IgA 分子の糖鎖異常の解析を行った。また、血清中の IgA IgG 免疫複合体を ELISA 法により定量した。

## 4. 研究成果

本研究により以下のことが判明した。

- (1) WASP ノックアウトマウスと同様、WAS 症例では糖鎖異常を持つ IgA が増加していた。
- (2) 糖鎖異常 IgA は自己免疫疾患を合併している症例で有意に増加していた。
- (3) IgA-IgG 免疫複合体は糖鎖異常 IgA と有意な相関を示し、WAS 症例において増加していた。
- (4) IgA-IgG 免疫複合体は、WAS 症例の中でも自己免疫疾患を合併する症例において有意に増加していた。
- (5) 糖鎖異常 IgA、IgA-IgG 免疫複合体とも年齢依存性に増加していた。
- (6) 骨髄移植により、糖鎖異常 IgA の量は減少するとともに、糸球体沈着 IgA も消失し、腎組織障害も改善していた。

これらの結果から、WAS 症例において、IgA 糖鎖異常は、WAS に合併する自己免疫疾患の病態に深く関与している可能性が示唆された。また、IgA 糖鎖異常量は、WAS 症例に合併する IgA 腎症の病勢モニタリングに有用であると考えられた。

## 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 1 件)

Shimizu M, Nikolov NP, Ueno K, Ohta K, Siegel RM, Yachie A, Candotti F. Clin Immunol. 142(2011),160-166. (査読あり)

〔学会発表〕（計 3 件）

- ① 清水正樹, Candotti F. WASP 欠損による IgA 糖鎖不全と糸球体腎炎に関する解析. 第 53 回日本腎臓学会学術集会, 2010 年 6 月 16 日, 神戸国際会議場（兵庫県）
- ② Shimizu M. Increased aberrant IgA production and development of immune-complex mediated glomerulonephritis in wiskott-aldrich syndrome protein deficiency. 15th Congress of the International Pediatric Nephrology Association. 2010.8.29. Hilton New York.
- ③ 清水正樹, 金兼弘和, 元吉八重子, 森尾友宏, Fabio Candotti, 谷内江昭宏. Wiskott-Aldrich 症候群における IgA 糖鎖不全と免疫複合体形成. 第 115 回日本小児科学会学術集会, 2012 年 4 月 20 日, 福岡国際会議場（福岡県）

〔その他〕

ホームページ等

<http://web.kanazawa-u.ac.jp/~med21/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

清水 正樹 (Masaki Shimizu)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：10401902