

機関番号：32607

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21791640

研究課題名（和文）扁桃リンパ球産生の糖鎖不全 IgA 1 と糸球体沈着メカニズムの解明

研究課題名（英文）Analysis of mechanism deglycosilated IgA1 produced by tonsillar lymphocyte deposits in the renal mesangium

研究代表者

伊藤 昭彦（ITOHI AKIHIKO）

北里大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：10317026

研究成果の概要（和文）：最近、酵素処理により IgA 腎症の糖鎖不全 IgA 1 を検出する方法が開発され用いられている。そこで、我々は血清タンパクからシアル酸を取り除くために酸処理を行った。これを用いると、血清での異常 IgA1 の感度がおよそ 100 倍に上昇した。扁桃では異常 IgA1 の割合が多く、血清中の aIgA の供給源になっている可能性があると考えられる。シアル酸の除去が反応性を上げるのではなく、異常 IgA の複合体が異常 IgA の感度上昇に最も関わっていると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Recently, improved detection method of the de-galactosylated IgA1 by enzymatic removal of sialic acid was developed and applied for the detection of the aberrant IgA1 (aIgA) in IgA nephropathy. The removal of sialic acid from serum proteins was carried out by weak acid treatment. Consequently, sensitivity of the detection of aIgA was increased about hundred times. A tonsil may produce aIgA1 in serum because of overproduction of tonsillar aIgA1. Complete removal of sialic acid, did not increase sensitivity any more. Polymerization of aIgA must be most important factor for the sensitive detection of aIgA

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	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：扁桃 IgA 腎症 糖鎖不全

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は腎糸球体に IgA 1 が選択的に沈着する疾患であり、この選択的沈着から IgA 1 の構造異常が IgA 腎症の発症に関わっていると考えられてきている。IgA には IgA 1 と IgA 2 のサブクラスがある。IgA 1 と IgA 2 の

違いはそのヒンジ部に多く、IgA 1 はそのヒンジ部にムチン型糖鎖を持っている。血清タンパクの中ではムチン型糖鎖を持つタンパクはまれであり、哺乳類の中でも霊長類だけがこの構造をもっている。また、血清中の IgA はほとんどが IgA 1 であり、血清中で安定して存在するのにムチン型糖鎖が新たに獲得

されたと考えられている。最近、IgA 腎症の発症のメカニズムとして、このムチン型糖鎖の異常が報告され注目されている。しかし、様々な糖鎖解析法が發明されたにもかかわらず、このムチン型糖鎖をいまだ詳細に解析することは困難とされている。

2. 研究の目的

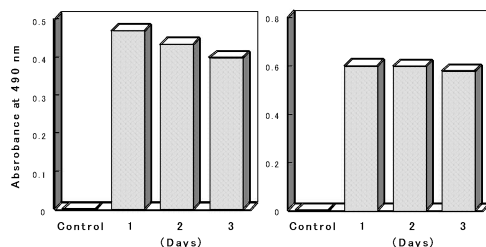
IgA 腎症と扁桃の関係についても未だ不明なことが多い。以前、我々は等電電気泳動や抗ヒンジ抗体を用いて扁桃の IgA 1 の構造が血清中のものとは異なり、糖鎖不全型が多いのではないかと報告してきた。しかし、我々含めて今までの検討では、IgA 腎症患者と、コントロール群では有意差はあるものの臨床応用できるほどの指標は未だ認めない。異常 IgA は微量であり検出が困難であることが一因として考えられる。そこで、何らかの処理をすることで異常分子を検出できないかと考えた。

3. 研究の方法

対象は健常者血清、IgA 腎症患者血清、その他の腎疾患患者血清 (ORD)、Henoch-Schönlein 紫斑病患者血清 (HSP)、IgA 腎症患者扁桃抽出液を用いた。方法は検体を 0.1 M の硫酸で処理し、常温で 1 日置いたのち中和した。これらの検体を抗 IgA 抗体、concanavalin A (ConA)、*Helix aspersa* agglutinin (HAA)、抗ヒンジ抗体、抗 J-chain 抗体を用いて ELISA 法で測定した。従来の測定法による測定値を (False aIgA, FaIgA)、酸処理後の測定値を (Real aIgA, RIgA) とした。FaIgA の解析のためゲル濾過法により分離も行った。

4. 研究成果

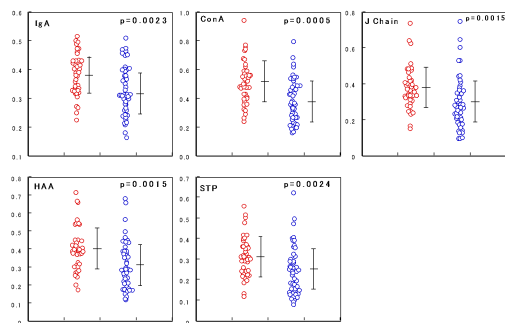
(1) 酸処理により反応感度は約 100 倍に上昇した。



(2) IgA 腎症血清と ORD 血清を比較すると異常 IgA 1 は ConA と HAA では有意差を認め IgA 腎症で高値を示した。

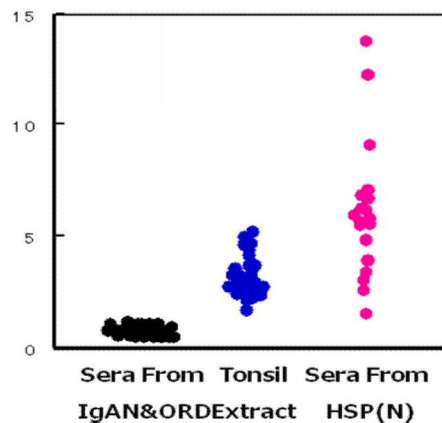
Probe	Aberrant IgA		Aberrant IgA/IgA	
	ORD (n=47)	IgAN (n=41)	t-test	t-test
Anti-alpha antibody	1.041 ± 0.253	1.219 ± 0.225	p=0.0009	-
HAA	1.530 ± 0.605	1.981 ± 0.646	p=0.0011	p=0.0414
Anti-STP antibody	1.519 ± 0.625	1.923 ± 0.652	p=0.0041	NS (p=0.1554)
ConA	1.441 ± 0.551	1.983 ± 0.666	p<0.0001	p=0.001
Anti-J chain antibody	1.456 ± 0.595	1.855 ± 0.526	p=0.0014	NS (p=0.0726)

(3) 扁桃や HSP では FaIgA/RIgA の割合が高かった。

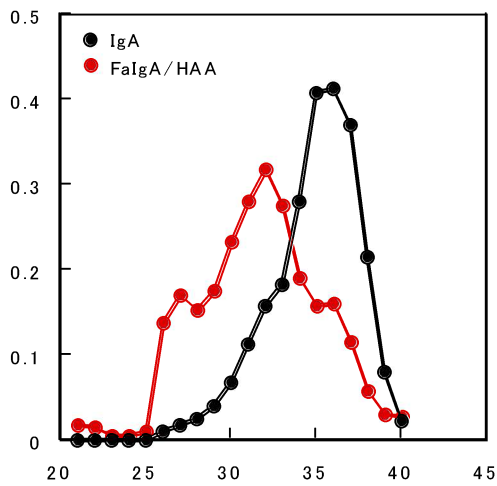


(4) 紫斑病患者と扁桃と腎疾患患者の FaIgA/RaIgA の比較

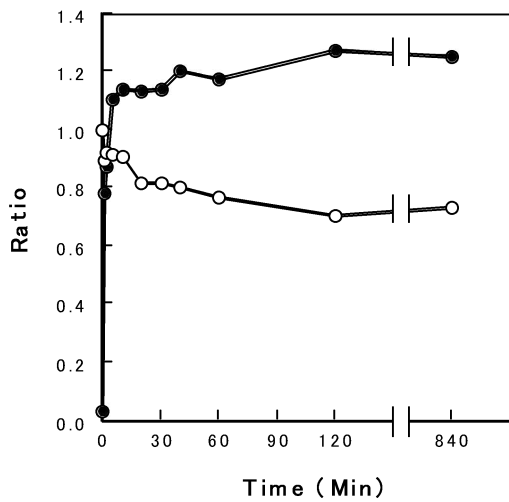
扁桃や紫斑病患者血清では高値を示した。



(4) FaIgA のゲル濾過での分析では高分子成分を多く認めた。

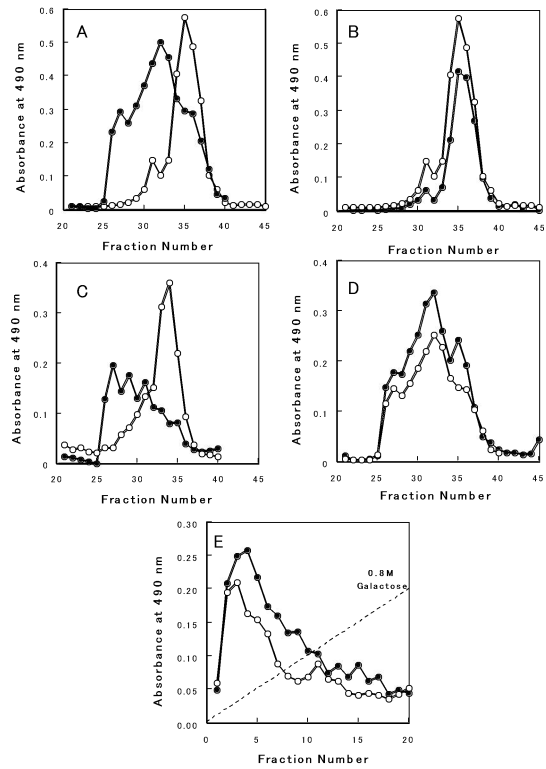


(5) 0.1M 硫酸にて血清処理した溶出パターンでは酸処理により、短時間で反応性の増大を認めた。

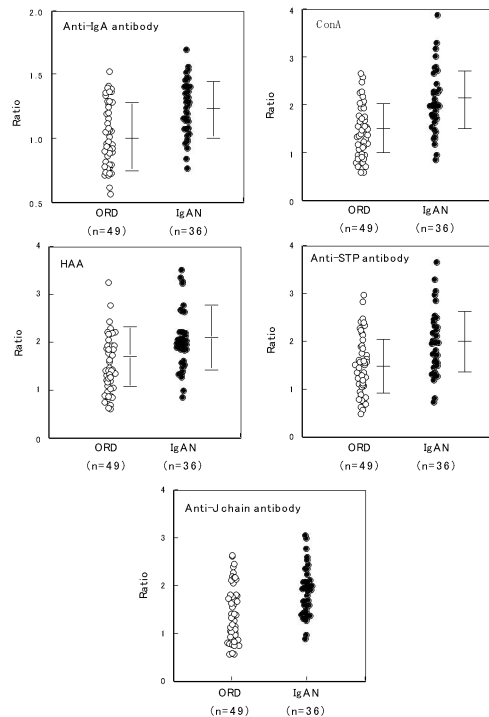


(6) 血清と酸処理血清をセファクリル s-300 によるクロマトグラフィーまたはジャカリンアガロースカラムによるクロマトグラフィーを行った

A は HAA プレートを用いて FaIgA と IgA を比較したもので B は酸処理を行った IgA である。C は酸処理血清を分画し HAA で検出した。D は FaIgA と FaIgA と RaIgA の混合したものを比較したものである。E はジャカリンアガロースゲルで IgA と RaIgA を溶出したものである。



(7) 種々のプローブを用いて血清中の RaIgA を測定した結果。



これらのことから扁桃やHSP患者血清では異常IgAは遊離体で存在するが、一般に血清では異常IgAは何らかのタンパクと複合体として存在しているのではないかと考えられた。酸処理をすることにより、シアル酸がはがれるため反応感度が上昇すると考えていたが、複合体を形成しマスクされるために検出率が落ちるのではないかと考えた。

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)

[学会発表] (計2件)

- ①伊藤昭彦・岩瀬仁勇・岡本牧人：扁桃における糖鎖不全IgA1の産生機序 第23日本口腔咽頭科学会 2010. 9. 17 東京
- ②伊藤昭彦・岩瀬仁勇・岡本牧人：IgA腎症患者の扁桃、血清中の糖鎖不全IgA1の検出法について 第22回日本口腔咽頭科学会 2009. 9.10 和歌山

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 昭彦 (ITOHI AKIHIKO)

北里大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：10317026