

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17293

研究課題名(和文) IgA腎症における粘膜免疫応答異常の解明

研究課題名(英文) Dysregulation of mucosal immune response in IgA nephropathy

研究代表者

狩野 俊樹 (Kano, Toshiki)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：00866733

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)：IgA腎症の病態には糖鎖異常IgA1とその免疫複合体が深く関与しており、上気道あるいは消化管感染により増悪することから、外来抗原を介した粘膜免疫応答異常が考えられる。本研究では、IgA腎症モデルマウスを無菌環境で飼育することにより、腎糸球体へのIgAの沈着が抑えられた一方で、通常環境に移行することにより、IgA腎症の再構築が可能であったことから、IgA腎症の発症には外来抗原が必要であることを証明した。さらには、上気道あるいは消化管から産生されるIgAの比較検討を行うことで、糖鎖異常IgAの産生系は、上気道関連リンパ組織における自然免疫系の活性化が深く関わっていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgA腎症は原発性糸球体腎炎のなかで最も頻度が高いが、有効な治療法が確立されておらず予後不良である。上気道あるいは消化管感染により増悪することから、外来抗原を介した粘膜免疫応答異常が考えられる。また、本邦を中心にIgA腎症に対する扁桃摘出の効果が報告されている一方で、欧州では腸管選択的ステロイドのIgA腎症に対する有効性が報告され、IgA腎症の粘膜免疫応答異常の主座は分かっていない。本研究は上気道関連リンパ組織(NALT)が主座である可能性を示すものであり、NALTをターゲットに据えた副作用の少ない治療法が確立できれば、IgA腎症による透析導入を減らすことができると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Dysregulation of mucosal immunity may play a role in the pathogenesis of IgA nephropathy (IgAN). However, it is unclear whether the nasal-associated lymphoid tissue(NALT) or gut-associated lymphatic tissue is the major induction site of nephritogenic IgA synthesis. To examine whether exogenous mucosal antigens exacerbate the pathogenesis of IgAN, we assessed the disease phenotypes of IgAN-onset ddY mice housed germ-free. Although the germ-free IgAN-onset ddY mice did not develop IgAN, they showed aggravation of kidney injury with mesangial IgA deposition after transfer to the specific pathogen-free state. The NALT cells produced more aberrantly glycosylated IgA than those from the mesenteric lymph node and Peyer's patch, resulting in induction of IgG-IgA immune complexes formation. Thus, NALT is the major induction site of the production of aberrantly glycosylated IgA in murine IgAN.

研究分野：IgA腎症

キーワード：IgA腎症 粘膜免疫応答異常 糖鎖異常IgA 上気道関連リンパ組織 腸管関連リンパ組織

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は原発性糸球体腎炎のなかで最も頻度が高いが有効な治療法が確立されておらず予後不良である。IgA1 を含む免疫複合体の糸球体メサンギウム領域への沈着を特徴とし、本症患者の腎糸球体に沈着する IgA1 は、IgA1 ヒンジ部の O-結合型糖鎖修飾不全を呈したいわゆる糖鎖異常 IgA1 が主体であり、血中に糖鎖異常 IgA1 が増加している。糖鎖異常 IgA1 が抗原として認識され、IgA や IgG と高分子の免疫複合体を形成することにより、糸球体に沈着すると考えられる。本症では上気道炎や消化管感染後に肉眼的血尿を認め、自然免疫において細菌やウイルスなど共通した抗原構造を認識する Toll like receptor9(TLR9)が、IgA 腎症の進展に関与することも報告されていることから、外来抗原に対する異常粘膜免疫応答の病態への関与を疑わせる。本邦を中心に、扁桃を中心とした上気道関連リンパ組織(NALT)と IgA 腎症の関連が多数報告され、大規模臨床研究でも扁桃摘出の効果が報告されている。その一方で、欧州で行われている NEFIGAN TRIAL では、腸管選択的ステロイドの IgA 腎症に対する有効性から腸管関連リンパ組織(GALT)との関連を報告しており、IgA 腎症の粘膜免疫応答異常の主座は分かっていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、IgA 腎症発症モデルマウスを無菌環境で飼育することで、IgA 腎症と外来抗原との関連を調べる。続いて、外来抗原を暴露し、粘膜免疫応答異常を誘発させ、各粘膜組織から産生される IgA の糖鎖修飾の比較により、「糖鎖異常 IgA1 の産生機序」ならびに「主たる粘膜免疫応答部位」を解明することを目的とする。

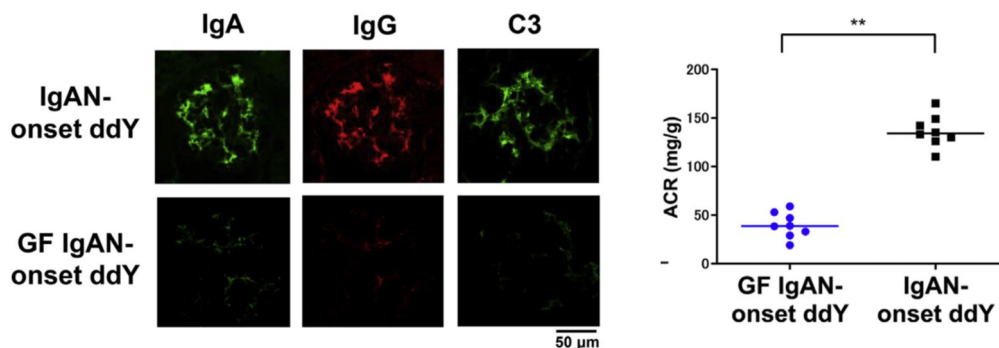
### 3. 研究の方法

IgA 腎症発症モデルマウスを無菌環境で飼育することで、血清学的あるいは組織学的変化の観察を行い、その後、無菌環境から通常環境である Specific Pathogen Free(SPF)に移し、観察を行った。

IgA 腎症発症と非発症 ddY マウスを用いて、血中および NALT・腸管膜リンパ節(MLN)・粘膜固有層(LP)から分離された細胞の培養上澄における、IgA、糖鎖異常 IgA、IgG-IgA 免疫複合体を ELISA で測定し、各臓器による差や、IgA 腎症発症・非発症マウスでの違いについて解析した。続いて、TLR9 の ligand である CPG-ODN を用いて NALT・MLN・LP から分離された細胞へ刺激を加え、どの組織が TLR9 過剰刺激により糖鎖異常 IgA を産生するかを検証した。

### 4. 研究成果

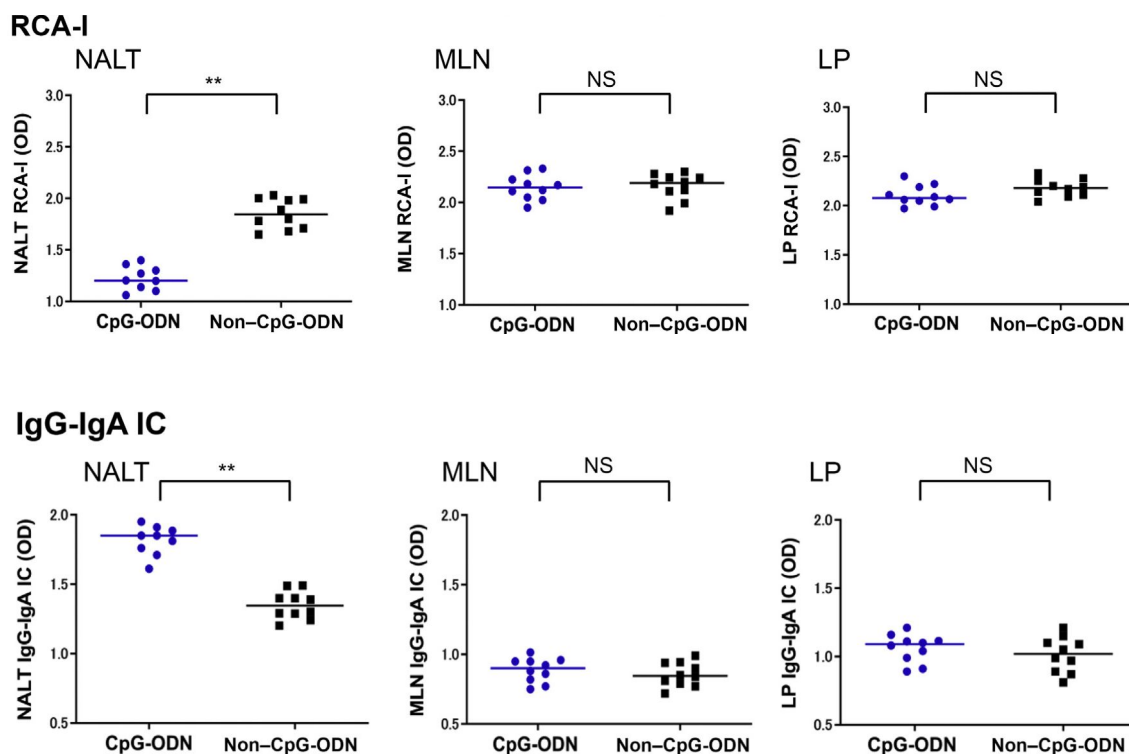
(1)無菌化(GF)ddY マウスでは、SPF 環境に比較して糖鎖異常 IgA や IgG-IgA 免疫複合体が有意に低下し、腎組織の IgA 沈着や尿蛋白(ACR)の低下も認めた(図1)。続いて、無菌環境から SPF 環境へ移行したところ、糖鎖異常 IgA や IgG-IgA 免疫複合体(IC)が有意に増加し、また IgA 沈着や尿蛋白が増悪を認め、IgA 腎症の再構築が確認された。



(\*\*<0.01)

(図1)

(2) IgA に関しては、血清、NALT、MLN、LP のいずれにおいても腎炎発症・非発症 ddY マウスで差はなかった。しかし、糖鎖異常 IgA、IgG-IgA IC に関しては、IgA 腎症発症 ddY マウスの方が IgA 腎症非発症 ddY マウスに比較して、血清、NALT において有意に高値であった一方、MLN や LP においては両群に差がなかった。続いて、NALT、MLN、LP 細胞に対して CPG-ODN 刺激を行い、培養したところ、いずれの組織も IgA の産生増加を認めた。しかし、糖鎖異常 IgA (RCA-I の低下)、IgG-IgA IC に関しては、NALT において有意に産生増加をした一方で、MLN や LP においては産生増加を認めなかった(図 2)。



(\*\*<0.01)  
(図 2)

(1)(2)より、IgA 腎症の発症には外来抗原を介する NALT を中心とした粘膜免疫応答異常が必須であると確認され、GALT 由来の IgA は血清や NALT で産生される IgA とは糖鎖修飾パターンが異なり、IgG-IgA IC を形成しないと考えられた。IgA 腎症において、糖鎖異常 IgA の産生系は、NALT における TLR9 を介した自然免疫系の活性化が深く関わっていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kano T, Suzuki H, Makita Y, Fukao Y, Suzuki Y	4. 巻 100
2. 論文標題 Nasal-associated lymphoid tissue is the major induction site for nephritogenic IgA in murine IgA nephropathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Kidney International	6. 最初と最後の頁 364-376
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2021.04.026. Epub 2021 May 5.	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 Makita Y, Suzuki H, Kano T, Takahata A, Julian BA, Novak J, Suzuki Y.	4. 巻 97
2. 論文標題 TLR9 activation induces aberrant IgA glycosylation via APRIL- and IL-6-mediated pathways in IgA nephropathy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney international	6. 最初と最後の頁 340-349
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.kint.2019.08.022. Epub 2019 Sep 5.	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Toshiki Kano, Hitoshi Suzuki, Yuko Makita, Yoshihito Nihei, Yusuke Fukao, Yusuke Suzuki
2. 発表標題 TLR9 signaling pathways in nasal-associated lymphoid tissue have a crucial role in the pathogenesis of IgAN
3. 学会等名 American society of nephrology（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toshiki Kano, Hitoshi Suzuki, Yuko Makita, Yoshihito Nihei, Yusuke Fukao, Yusuke Suzuki
2. 発表標題 Nasal-associated lymphoid tissue is the major production site of the nephritogenic IgA in murine IgA nephropathy
3. 学会等名 CKD frontier meeting
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------