

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659441

研究課題名(和文) 新たな解析システムによる IgA 腎症の原因探索

研究課題名(英文) Identifying the genetic causality of familial IgAN by a new analysis system

研究代表者

成田 一衛 (Narita, Ichiei)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：20272817

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000 円、(間接経費) 810,000 円

研究成果の概要(和文)：家族性IgA腎症の遺伝子解析を行った。GWASによる連鎖解析とエクソーム解析で、IgA腎症のみに共通する13個のvariantが選別した。それらうち、EEA1(Early endosome antigen-1)遺伝子 p.F161Yは、連鎖解析でLODが最も高い領域内にあった。他の27家系のうち同遺伝子内に変異を6家系に認めた。日本人データと比較し、EEA1遺伝子変異は本症に有意に多く(オッズ比 2.9)、家族性IgA腎症の原因遺伝子の一つである可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：To identify the genetic causality of familial IgAN, we applied exome sequencing to a family comprising four biopsy-proven IgAN patients. Genome-wide linkage analysis was concurrently carried out. Thirteen variants which were shared only by affected individuals in the family were selected as candidate genes for familial IgAN. Linkage analysis of the family revealed linkage signals at nine loci, and among the candidates, a novel missense variant F161Y in EEA1, encoding Early Endosome Antigen 1. Furthermore, the F161Y variant completely co-segregated in the family and this variant is existed in the highly conserved region across zebrafish to human. Resequencing analysis of EEA1 revealed that among additional 27 familial IgAN, six families carried the other three variants within EEA1. Frequencies of these EEA1 variants in familial IgAN was significantly higher than those in The Human Genetic Variation Database, indicating that EEA1 gene is a susceptibility gene for Japanese familial IgAN.

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 ゲノム 連鎖解析

1. 研究開始当初の背景

糸球体メサンギウム領域への免疫グロブリン A (IgA) 沈着を特徴とする IgA 腎症は、最も頻度の高い原発性糸球体腎炎であり、末期慢性腎不全の主要な原疾患でもある。その発症には、環境因子とともに何らかの遺伝的背景の関与が想定されており、申請者らを含む多くの研究により IgA 腎症の疾患感受性遺伝子ならびに進行にかかわる遺伝的背景は明らかになってきた。しかし、未だ発症責任遺伝子の特定には至らず、現在のところ特異的な予防法・治療法はない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、家族性 IgA 腎症の疾患感受性遺伝子を同定し、それが孤発性 IgA 腎症患者においても疾患感受性および進行に関与する遺伝子として作用しているかどうかを検証することである。近年開発され、他の領域では多くの知見を生み出している Genome-wide SNP (single nucleotide polymorphism) typing を、case-control study ではなく、連鎖解析に応用することで、新たな本症発症責任遺伝子を同定する。新たなデータ解析システムを用いたこの手法自体が斬新なアプローチである。従来 Gene chip による SNP データは、関連解析でしか使われてこなかったが、本研究では新たに開発された解析システム SNP-HiTLink を使用して、家系データをゲノムワイド SNP 解析に活かすことにより責任遺伝子同定の感度を飛躍的に上げる。孤発性 IgA 腎症や他の腎臓病の新たな治療標的分子の特定に繋がることが期待される。

3. 研究の方法

腎生検で IgA 腎症と確定診断された症例が 4 名存在する 1 家系 (11 名の末梢血から DNA を抽出) を対象とした。ゲノムワイド SNP アレイにより SNP タイピングを行い、SNP HitLink を用いて全ゲノム領域の連鎖解析を行った。

さらに、研究期間中に可能となったエクソーム解析も行った。IgA 腎症 4 名を含む 8 名のゲノムから全エクソン領域を濃縮し、高速シーケンサーを用いて全エクソン領域の塩基配列を決定した。得られた配列情報からフィルタリングを行い、IgA 腎症の発症に関連する 12 の variant を選別した。

4. 研究成果

パラメトリック解析では、LOD スコア > 1.0 を示す複数の領域が検出された。エクソーム解析では IgA 腎症の発症に関連する 12 の variant を選別した。中でも *EEAI* 遺伝子における変異は連鎖解析の結果と一致した。他の

家族性 IgA 腎症 27 家系における *EEAI* 遺伝子変異スクリーニングでは、4 家系に R1262W、1 家系に N1072K、1 家系に E1010G を認めた。日本人エクソームデータベース: HGVD と比較し、*EEAI* 変異は家族性 IgA 腎症で有意に多く認められた (オッズ比 2.9)。

遺伝学的アプローチから家族性 IgA 腎症の発症に関わる効果サイズの大きいリスク遺伝子が同定され、IgA 腎症の発症メカニズムの解明につながると期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 38 件)

1. Koda R, Yoshino A, manishi Y, Kawamoto S, Ueda Y, Yaoita E, Kazama JJ, Narita I, Takeda T. Expression of tight junction protein claudin-1 in human crescentic glomerulonephritis, *Intern J Nephrol*, 2014. Epub 2014 Apr 27 (査読有り)
2. Watanabe H, Goto S, Miyashita A, Maruyama H, Wakasugi M, Yokoseki A, Kuwano R, Narita I. Role of the p.E66Q variant of *GLA* in the progression of chronic kidney disease, *Clin Exp Nephrol*, 2014. Epub 2014 Apr 27 (査読有り)
3. Wakasugi M, Kazama JJ, Narita I. High rates of death and hospitalization follow bone fracture among hemodialysis patients. *Kidney Int* 2014 in press (査読有り)
4. Wakasugi M, Kazama JJ, Narita I, et al. (15 名中 15 番目) Association of warfarin use and incidence of ischemic stroke in Japanese hemodialysis patients with chronic sustained atrial fibrillation: A prospective cohort study. *Clin Exp Nephrol* 2014. Epub ahead of print (査読有り)
5. Tsuchida Y, Kaneko Y, Otsuka T, Goto K, Saito A, Yamamoto K, Yamamoto T, Narita I. Upregulation of prolactin receptor in proximal tubular cells was induced in cardiac dysfunction model mice. *Clin Exp Nephrol* 2014; **18**: 65-74. (査読有り)
6. Tasaki M, Saito K, Nakagawa Y, Ikeda M, Imai N, Narita I, Takahashi K. Effect of donor-recipient age difference on long-term graft survival in living kidney transplantation. *International Urology and Nephrology* 2014. Epub ahead of print (査読有り)
7. Kondo M, Yamagata K, Hoshi SL, Saito C, Asahi K, Moriyama T, Tsuruya K, Konta T, Fujimoto S, Narita I, Kimura K, Iseki K, Watanabe T. Budget impact analysis of chronic kidney disease mass screening test in Japan. *Clin Exp Nephrol* 2014. Epub ahead of print (査読有り)
8. Kobayashi T, Okada M, Ito S, Kobayashi D, Ishida K, Kojima A, Narita I, Murasawa A, Yoshie H. Assessment of interleukin-6 receptor inhibition therapy on periodontal condition in patients with rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. *J Periodontol* 2014; **85**: 57-67. (査読有り)

9. Kazama JJ, Yamamoto S, Wakasugi M, [Narita I](#). A hip fracture in a dialysis patient with Abeta2M amyloidosis. *Kidney Int* 2014; **85**: 214-5. (査読有り)
10. Wakasugi M, Kazama JJ, Yamamoto S, Kawamura K, [Narita I](#). A combination of healthy lifestyle factors is associated with a decreased incidence of chronic kidney disease: a population-based cohort study. *Hypertens Res* 2013; **36**: 328-33. (査読有り)
11. Wakasugi M, Kazama JJ, Yamamoto S, Kawamura K, [Narita I](#). Cause-specific excess mortality among dialysis patients: comparison with the general population in Japan. *Ther Apher Dial* 2013; **17**: 298-304. (査読有り)
12. Wakasugi M, Kazama JJ, Taniguchi M, Wada A, Iseki K, Tsubakihara Y, [Narita I](#). Increased risk of hip fracture among Japanese hemodialysis patients. *J Bone Miner Metab* 2013; **31**: 315-21. (査読有り)
13. Terao C, Yoshifuji H, Kimura A, Matsumura T, Ohmura K, Takahashi M, Shimizu M, Kawaguchi T, Chen Z, Naruse TK, Sato-Otsubo A, Ebana Y, Maejima Y, Kinoshita H, Murakami K, Kawabata D, Wada Y, [Narita I](#), Tazaki J, Kawaguchi Y, Yamanaka H, Yurugi K, Miura Y, Maekawa T, Ogawa S, Komuro I, Nagai R, Yamada R, Tabara Y, Isobe M, Mimori T, Matsuda F. Two Susceptibility Loci to Takayasu Arteritis Reveal a Synergistic Role of the IL12B and HLA-B Regions in a Japanese Population. *Am J Hum Genet* 2013. **93**: 289-97. (査読有り)
14. Saeki T, Kawano M, Mizushima I, Yamamoto M, Wada Y, Nakashima H, Homma N, Tsubata Y, Takahashi H, Ito T, Yamazaki H, Saito T, [Narita I](#). The clinical course of patients with IgG4-related kidney disease. *Kidney Int* 2013; **84**: 826-33. (査読有り)
15. Maruyama H, Takata T, Tsubata Y, Tazawa R, Goto K, Tohyama J, [Narita I](#), Yoshioka H, Ishii S. Screening of male dialysis patients for fabry disease by plasma globotriaosylsphingosine. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; **8**: 629-36. (査読有り)
16. Kuroda T, Tanabe N, Sato H, Nakatsue T, Wada Y, Murakami S, Nakano M, [Narita I](#). Distribution of amyloid deposits in the kidneys of a patient with reactive amyloidosis associated with rheumatoid arthritis. *BMC research notes* 2013; **6**: 231. (査読有り)
17. Koshio J, Kagamu H, Nozaki K, Saida Y, Tanaka T, Shoji S, Igarashi N, Miura S, Okajima M, Watanabe S, Yoshizawa H, [Narita I](#). DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) box polypeptide 3, X-linked is an immunogenic target of cancer stem cells. *Cancer Immunol Immunother* 2013; **62**: 1619-28. (査読有り)
18. Wada Y, Kojima M, Yoshita K, Yamazaki M, Kobayashi D, Murakami S, Nishi S, Nakano M, [Narita I](#). A case of Epstein-Barr virus-related lymphadenopathy mimicking the clinical features of IgG4-related disease. *Mod Rheumatol* 2013; **23**: 597-603. (査読有り)
19. Ogasawara S, Hosojima M, Kaseda R, Kabasawa H, Yamamoto-Kabasawa K, Kurosawa H, Sato H, Iino N, Takeda T, Suzuki Y, [Narita I](#), Yamagata K, Tomino Y, Gejyo F, Hirayama Y, Sekine S, Saito A. Significance of urinary full-length and ectodomain forms of megalin in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2012; **35**: 1112-8. (査読有り)
20. Kaneko Y, Otsuka T, Tsuchida Y, Gejyo F, [Narita I](#). Integrin alpha1/beta1 and alpha2/beta1 as a receptor for IgA1 in human glomerular mesangial cells in IgA nephropathy. *Int Immunol* 2012; **24**: 219-32. (査読有り)
21. Kiryluk K, Li Y, Sanna-Cherchi S, Rohanizadegan M, Suzuki H, Eitner F, Snyder HJ, [Narita I](#), Berthoux F, Floege J, Stengel B, Zhang H, Lifton RP, Gharavi AG (48 名中 42 番目) . Geographic Differences in Genetic Susceptibility to IgA Nephropathy: GWAS Replication Study and Geospatial Risk Analysis. *PLoS Genet* 2012; **8**: e1002765. (査読有り)
22. Wakasugi M, Kazama JJ, [Narita I](#). Differences in the local and national prevalences of chronic kidney disease based on annual health check program data. *Clinl Exp Nephrol* 2012. **16**: 749-54. (査読有り)
23. Baba J, Watanabe S, Saida Y, Tanaka T, Miyabayashi T, Koshio J, Ichikawa K, Nozaki K, Koya T, Deguchi K, Tan C, Miura S, Tanaka H, Tanaka J, Kagamu H, Yoshizawa H, Nakata K, [Narita I](#). Depletion of radio-resistant regulatory T cells enhances antitumor immunity during recovery from lymphopenia. *Blood* 2012. **120** : 2417-27 . (査読有り)
24. Wakasugi M, Kazama JJ, [Narita I](#). Use of Japanese Society for Dialysis Therapy dialysis tables to compare the local and national incidence of dialysis. *Ther Apher Dial* 2012; **16**: 63-7. (査読有り)
25. Yoshita K, Kawano M, Mizushima I, Hara S, Ito Y, Imai N, Ueno M, Nishi S, Nomura H, [Narita I](#), Saeki T. Light-microscopic characteristics of IgG4-related tubulointerstitial nephritis: distinction from non-IgG4-related tubulointerstitial nephritis. *Nephrol Dial Transpl* 2012; **27**: 2755-61. (査読有り)
26. Wang X, Sakatsume M, Sakamaki Y, Inomata S, Yamamoto T, [Narita I](#). Quantitative Histological Analysis of SM22alpha (Transgelin) in an Adriamycin-Induced Focal Segmental Glomerulosclerosis Model. *Nephron Exp Nephrol* 2012; **120**: e1-e11. (査読有り)
27. Nozawa Y, Sato A, Piao H, Morioka T, [Narita I](#), Oite T. The effect of renal administration of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor or stable

- prostaglandin I(2) analog on the progression of sclerotic glomerulonephritis in rats. *Clin Exp Nephrol* 2012; 16: 221-230. (査読有り)
28. Wakasugi M, Narita I, Iseki K, Moriyama T, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Fujimoto S, Asahi K, Kurahashi I, Ohashi Y, Watanabe T. Weight gain after 20 years of age is associated with prevalence of chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2012; 16: 259-68. (査読有り)
 29. Sakamaki Y, Sakatsume M, Wang X, Inomata S, Yamamoto T, Gejyo F, Narita I. Injured kidney cells express SM22alpha (transgelin): Unique features distinct from alpha-smooth muscle actin (alphaSMA). *Nephrology* 2011; 16: 211-8. (査読有り)
 30. Miura T, Goto S, Iguchi S, Shimada H, Ueno M, Nishi S, Narita I. Membranoproliferative pattern of glomerular injury associated with complement component 9 deficiency due to Arg95Stop mutation. *Clin Exp Nephrol* 2011; 15: 86-91. (査読有り)
 31. Takeyama A, Sato H, Soma-Nagae T, Kabasawa H, Suzuki A, Yamamoto-Kabasawa K, Hosojima M, Kaneko R, Higuchi F, Kaseda R, Ogasawara S, Narita I, Saito A. Megalin is downregulated via LPS-TNF-alpha-ERK1/2 signaling pathway in proximal tubule cells. *Biochem Biophys Res Com* 2011; 407: 108-12. (査読有り)
 32. Koda R, Zhao L, Yaoita E, Yoshida Y, Tsukita S, Tamura A, Nameta M, Zhang Y, Fujinaka H, Magdeldin S, Xu B, Narita I, Yamamoto T. Novel expression of claudin-5 in glomerular podocytes. *Cell Tissue Res* 2011; 343: 637-48. (査読有り)
 33. Kazama JJ, Yamamoto S, Narita I, Kurihara S. Nuclear chromatin-concentrated osteoblasts in renal bone diseases. *Ther Apher Dial* 2011; 15 Suppl 1: 9-13. (査読有り)
 34. Kazama JJ, Narita I. Earthquake in Japan. *Lancet* 2011; 377: 1652-3. (査読有り)
 35. Ito Y, Nishi S, Imai N, Yoshita K, Saito K, Nakagawa Y, Takahashi K, Narita I. The case of BK virus infection in which it was difficult to differentiate from acute rejection. *Clin Transpl* 2011; 25 Suppl 23: 44-8. (査読有り)
 36. Inomata S, Sakatsume M, Sakamaki Y, Wang X, Goto S, Yamamoto T, Gejyo F, Narita I. Expression of SM22alpha (transgelin) in glomerular and interstitial renal injury. *Nephron Exp Nephrol* 2011; 117: e104-13. (査読有り)
 37. Ikezumi Y, Suzuki T, Karasawa T, Hasegawa H, Yamada T, Imai N, Narita I, Kawachi H, Polkinghorne KR, Nikolic-Paterson DJ, Uchiyama M. Identification of alternatively activated macrophages in new-onset paediatric and adult immunoglobulin A nephropathy: potential role in mesangial matrix expansion. *Histopathology* 2011; 58: 198-210. (査読有り)
 38. Saeki T, Ito T, Youkou A, Ishiguro H, Sato N,

Yamazaki H, Koike T, Kourakata H, Ferrari S, Scheiflinger F, Narita I. Thrombotic thrombocytopenic purpura in IgG4-related disease with severe deficiency of ADAMTS-13 activity and IgG4 autoantibody against ADAMTS-13. *Arthritis Care Res* 2011; 63: 1209-12. (査読有り)

〔学会発表〕(計 7 件)

1. Watanabe H, Goto S, Maruyama H, Narita I: p.E66Q Variant of α -Galactosidase A Does Not Affect the Progression of Chronic Kidney Disease. American Society of Nephrology Kidney Week 2013, Atlanta, USA, Nov 5~10, 2013
2. Hosojima M, Kuwahara S, Kabasawa H, Aoki H, Kaneko R, Narita I, Saito A: Megalin-Mediated Mechanism of High Fat Diet-Induced Kidney Disease. American Society of Nephrology Kidney Week 2013, Atlanta, USA, Nov 5~10, 2013.
3. Goto S, Hosomichi K, Tsukaguchi H, Narita I: Exome Sequencing Identifies a Novel EEA1 Variant in Japanese Familial IgA Nephropathy, American Society of Nephrology Kidney Week 2012, San Diego, USA, Oct 30~Nov 4, 2012
4. Hosojima M, Kabasawa H, Suzuki Y, Narita I, Saito A: Irbesartan decreases serum and urinary MCP-1 levels in patients with metabolic syndrome-related nephropathy. ISN FOREFRONTS 2012, Melbourne, Australia, Oct 4~7, 2012.
5. Wakasugi W, Kazama JJ, Narita I: A methodology for evaluating local care and preventing the progression of CKD, The 1st Chronic Kidney Disease Frontier in Nagoya, Japan, Feb 18, 2012
6. Goto S, Tsukaguchi H, Wada M, Narita I: Genome-wide linkage scan of Japanese families with IgA nephropathy, American Society of Nephrology Kidney Week 2011, Philadelphia, USA, Nov 8~13, 2011
7. Tsuchida Y, Kaneko Y, Saito A, Yamamoto T, Narita I: Prolactin receptor was up-regulated in the proximal tubules of the kidney in the cardio-renal syndrome model mice, American Society of Nephrology Kidney Week 2011, Philadelphia, USA, Nov 8~13, 2011

〔図書〕(計 5 件)

1. 後藤 眞、細道一善、成田一衛 次世代シークエンサー、Annual Review腎臓 2013 (富野康日己、柏原直樹、成田一衛 編), 中外医学社, 2013. 95-100
2. 金子佳賢、成田一衛 糖鎖不全IgAに対する新規受容体とIgA腎症発症機序 Annual Review腎臓 2012(富野康日己、柏原直樹、成田一衛 編), 中外医学社, 2012. 36-42
3. 成田一衛 尿管管性アシドーシスとその他の尿管管疾患 今日の治療指針2011 (山口 徹、北原 光夫、福井 次矢編) 医学書院 2011、543-545

4. 後藤 眞、成田一衛 GWAS Annual Review腎臓
2011(富野康日己、柏原直樹、成田一衛 編) 中
外医学社 2011, 176-182
5. 後藤 眞、成田一衛 IgA腎症の発症・進展メカ
ニズム-エビデンスに基づいた診断と治療, Ig A
腎症診療マニュアル改訂第3版 (富野康日己
編)、南江堂,2011, 18-24

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

成田 一衛 (NARITA ICHIEI)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：20272817

(2)研究分担者

後藤 眞 (GOTO SHIN)

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：00463969