

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 1 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461247

研究課題名(和文) IgA腎症発症に関わる口腔内免疫応答の解明

研究課題名(英文) Oral Immunological response related to incidence of IgA nephropathy

研究代表者

長澤 康行 (Nagasawa, Yasuyuki)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：10379167

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、*Treponema denticola*と *Campylobacter rectus*がIgA腎症患者で特異的であることを見出し、この菌と扁桃の免疫応答の違いを明らかにしていくことを目的とした。*Treponema denticola*と *Campylobacter rectus*をC57B6マウスに対して週1回の経鼻投与を4か月間継続し、*Campylobacter rectus*投与群の腎臓の糸球体に置いてIgAの沈着を確認した。また、IgA腎症患者の末梢血白血球の遺伝子発現検討し、IFI27がIgA腎症患者で発現が低下しており、持続的感染に対する免疫応答と考えられ論文として報告を行った。

研究成果の概要(英文)：Aim is to reveal relationship between immunological response and *Treponema denticola* or *Campylobacter rectus*, because we identified these bacteria specific to IgA nephropathy. C57BLmice were treated with these bacteria during 4months, and *Campylobacter rectus* induced IgA deposition. And We also revealed IFI27 in peripheral white blood cells decreased in IgA nephropathy patients, which was reported as article.

研究分野：腎臓内科

キーワード：IgA腎症 歯周病菌 *Treponema denticola* *Campylobacter rectus* IFI27

1. 研究開始当初の背景

IgA 腎症は、維持透析患者の腎不全の原疾患で最も多い慢性糸球体腎炎のおよそ半数を占め非常に頻度が多く、かつ重要な疾患である。この IgA 腎症において扁桃炎直後に血尿を呈することや、IgA 腎症患者で扁桃の摘出を行うと腎生存率が上昇することなどから (Hotta-O et al, Am J Kid Dis, 2001, Xie-Y et al, 2003) 扁桃が重要な要因となっていると予想されていた。IgA 腎症患者の扁桃の組織学的特徴 (Xie-Y, Kidney Int, 2004) や遺伝子発現 (Ii0-K, Nagasawa-Y et al, BBRC, 2010) の特徴が報告されている。扁桃の細菌としては培養法を用いて *Hemophilus parainfluenzae* が高率に分離されることが報告されていたが (Suzuki-S, Lancet, 1994) 扁桃陰窩が嫌気環境であるため培養法では検討できない細菌が多数あることなど問題があった。我々は、前研究で IgA 腎症患者と慢性扁桃炎患者の扁桃の細菌叢を培養を用いずに網羅的に検討できる DGGE 法を用いて、細菌叢の検討・比較を行い、*Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* が IgA 腎症患者で特異的であることを見出した。また、この 2 種の菌が陽性の場合、扁桃摘出およびステロイドパルス療法による治療感受性と強く関連していることを見出した (Nagasawa-Y et al, Plos One, 2014)。この 2 種の細菌が IgA 腎症と深く関連していることが示唆されるが、その詳細な病態生理は不明である。

2. 研究の目的

Treponema denticola と *Campylobacter rectus* が IgA 腎症患者で特異的であることを見出したことを踏まえ、この 2 種の菌をマウスに感染させることで、マウスに IgA 腎症を惹起することが出来るかの確認を行う。その上で感染 IgA 腎症マウスにおいて IgA 腎症発症の機序を明らかに、さらに新規の治療薬の開発を目指していく。また、同時に IgA 腎症患者の歯周にこれらの菌が検出されるか、IgA 腎症患者と慢性扁桃炎の患者の扁桃において *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* への免疫応答の違いがあるかどうかを検討していく。これらにより IgA 腎症発症機序における口腔内免疫応答の関与を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

A. IgA 腎症患者および慢性扁桃炎の扁桃の免疫応答の違いの検討

IgA 腎症患者および慢性扁桃炎の扁桃から免疫細胞を単離後培養し、その後 *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* の菌体成分と共培養することで、IgA の産生能の違いや、その他免疫応答の違いを検討していく。

B. IgA 腎症患者およびその他の慢性糸球体腎炎患者おける血清の *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* に対する抗体価の検討および歯周における有病率の検討

- 1) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* は歯周病菌として知られており、IgA 腎症患者の歯周での陽性率を検討する
- 2) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* 検出を行う血清 ELISA 法の人での応用の検討
- 3) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* の検出が IgA 腎症患者の腎生検を経ない診断に役立つかどうかの前向きな検討
- 4) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* の検出が IgA 腎症患者の扁桃摘出およびステロイドパルス療法の治療効果の予測に役立つかどうかの前向きな検討

C. 実験モデルの作成・病態の解明

- 1) IgA 腎症特異的な細菌の感染による IgA 腎症発症マウスの作成
- 2) IgA 腎症発症マウスを用いた IgA 腎症発症機序の組織学的・免疫学的な検討
- 3) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* 検出を行いマウスの感染成立を確認するための ELISA 法の確立
- 4) *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* に対する抗体価と病勢の検討

IgA 腎症発症マウスを用いた IgA 腎症の新規治療法の開発の試み

4. 研究成果

A. IgA 腎症患者および慢性扁桃炎の扁桃の免疫応答の違いの検討 IgA 腎症患者の摘出扁桃を、単離生成し、細菌が混ざることなく培養することが出来る段階まで進んだ。さらに免疫学的な検討を行った。B. IgA 腎症患者およびその他の慢性糸球体腎炎患者における血清の *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* に対する抗体価の検討および歯周における有病率の検討 IgA 腎症患者およびそのコントロールとなる患者における歯周のサンプルと血清のサンプルの採取を行った。また、IgA 腎症患者の末梢血白血球の遺伝子発現を患者毎のマイクロアレイを実施し、IFI27 (Interferon Inducible Factor 27) が IgA 腎症患者で発現が低下しており、持続的感染に対する免疫応答の一部と考えられ論文として報告を行った。C. 実験モデルの作成・病態の解明 *Treponema denticola* と *Campylobacter rectus* を C57B6 マウスに対して週 1 回の経鼻投与を 4 か月間継続した。 *Campylobacter rectus* 投与群の腎臓の糸球体に置いて IgA の沈着を確認した。D. IgA 腎症患者のコホートにおいて女性に置いて尿酸の軽度上昇がその後の腎障害進展のリスクとなっていることを明らかにし、論文として発表を行った。

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 8 件)

1) Matsumoto A, Nagasawa Y, Yamamoto R, Shinzawa M, Hasuike Y, Kuragano T, Isaka Y, Nakanishi T, Iseki K, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Fujimoto S, Asahi K, Moriyama T, Watanabe T. The association of alcohol and smoking with CKD in a Japanese nationwide cross-sectional survey. *Hypertens Res*. 2017 Mar 9. doi: 10.1038/hr.2017.25. 査読有

2) Nagasawa Y, Okuzaki D, Muso E, Yamamoto R, Shinzawa M, Iwasaki Y, Iwatani H, Nakanishi T, Isaka Y and Nojima H. IFI27

Is a Useful Genetic Marker for Diagnosis of Immunoglobulin A Nephropathy and Membranous Nephropathy Using Peripheral Blood. *PLoS One*. 2016 Apr 21;11(4):e0153252. doi: 10.1371/journal.pone.0153252. eCollection 2016 査読有

3) Nagasawa Y, Yamamoto R, Shoji T, Shinzawa M, Hasuike Y, Nagatoya K, Yamauchi A, Hayashi T, Kuragano T, Moriyama T, Isaka Y and Nakanishi T. Serum Uric Acid Level Predicts Progression of IgA Nephropathy in Females but Not in Males. *PLoS One*. 2016 Aug 25;11(8):e0160828. doi: 10.1371/journal.pone.0160828. eCollection 2016. 査読有

4) Nagasawa Y, Kida A, and Nakanishi T. Effect of cigarette smoking cessation on CKD: is it a cancer-suppression-like effect or a CVD-suppression-like effect? *Hypertension Research*, (16 June 2016) | doi:10.1038/hr.2016.62. 査読有

5) Nagasawa Y, Yamamoto R, Shinzawa M, Hasuike Y, Kuragano T, Isaka Y, Nakanishi T, Iseki K, Yamagata K, Tsuruya K, Yoshida H, Fujimoto S, Asahi K, Moriyama T and Watanabe T. Body Mass Index Modifies an Association between Self-Reported Regular Exercise and Proteinuria. *J Atheroscler Thromb*. 2016 Apr 1;23(4):402-12. 査読有

6) Iwatani H, Nagasawa Y, Yamamoto R, Iio K, Mizui M, Horii A, Kitahara T, Inohara H, Kumanogoh A, Imai E, Rakugi H, and Isaka Y. CD16+CD56+ cells are a potential culprit for hematuria in IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2015 Apr;19(2):216-24. 査読有

7) Kuragano T, Yahiro M, Kida A, Furuta M, Nagasawa Y, Hasuike Y, Nanami M and Nakanishi T. Effect of protoconized therapy for renal anemia on adverse events of patients with maintenance hemodialysis. *Int J Artif Organs*. 2014 Nov 29;0(0):0. doi: 10.5301/ijao.5000370. 査読有

8) Nagasawa Y, Hasuike Y, Nanami M, Kuragano T and Nakanishi T. Albuminuria and hypertension: the chicken or the egg?. *Hypertens Res*. 2014 査読有

[学会発表] (計 7 件)

1) Annual Meeting of American Society of Nephrology,

Nov,19, 2016 Chicago, USA

Yasuyuki Nagasawa, Eri Muso, Ryohei Yamamoto, Maki Shinzawa, Yukako Iwasaki, Hirotsugu Iwatani, Takeshi Nakanishi, Yoshitaka Isaka

IFI27/ ISG12A in peripheral white blood cells is a useful marker for IgA nephropathy

2) EDTA-ERA 53rd Congress, Vienna, May 23, 2016

Yasuyuki Nagasawa, Daisuke Okuzaki, Eri Muso, Ryohei Yamamoto, Maki Shinzawa, Yukako Iwasaki, Hirotsugu Iwatani, Takeshi Nakanishi, Yoshitaka Isaka, Hiroshi Nojima

IFI27/ ISG12A in peripheral white blood cells is a useful marker for IgA nephropathy

3) EDTA-ERA 53rd Congress, Vienna, May 23, 2016

Yasuyuki Nagasawa, Ryohei Yamamoto, Tatsuya Shoji, Maki Shinzawa,, Tomoko Kimura, Kiyoko Yamamoto, Yukiko Hasuike, Katsuyuki Nagatoya,,Atsushi Yamauchi, Terumasa Hayashi, Takayuki Kuragano, Toshiki Moriyama, Yoshitaka Isaka. Takeshi Nakanishi¹

EFFICACY OF STEROID THERAPY FOR IGA NEPHROPATHY

4) Annual Meeting of American Society of Nephrology, Nov,5, 2015 San Diego, USA

Sayuri Kawada, Yasuyuki Nagasawa, Mutsuki Kawabe, Aritoshi Kida, Mana Yahiro, Masayoshi Nanami, Yukiko Hasuike, Takahiro Kuragano, Keiji Nakasho, Hideki Ohyama, Takeshi Nakanishi
Mechanism of calcification by iron stimulation in vascular smooth muscle cells

5) Annual Meeting of American Society of Nephrology, Nov,5, 2015 San Diego, USA

Yasuyuki Nagasawa, Sayuri Kawada, Mana Yahiro, Tomoko Kimura, Kiyoko Yamamoto, Aritoshi Kida, Masayoshi Nanami, Yukiko Hasuike, Takahiro Kuragano, Takeshi Nakanishi

Prevalence of Cancer in Membranous nephropathy patients

6) EDTA-ERA 52nd Congress, London, May 29, 2015

Yasuyuki Nagasawa, Sayuri Kawada, Mana Yahiro, Tomoko Kimura, Kiyoko Yamamoto, Aritoshi Kida, Masayoshi Nanami, Yukiko Hasuike, Takahiro Kuragano, Takeshi Nakanishi

Prevalence of Cancer in Membranous nephropathy patients

7) EDTA-ERA 52nd Congress, London, May 29, 2015

Sayuri Kawada, Yasuyuki Nagasawa, Mutsuki Kawabe, Aritoshi Kida, Mana Yahiro, Masayoshi Nanami, Yukiko Hasuike, Takahiro Kuragano, Keiji Nakasho, Hideki Ohyama, Takeshi Nakanishi
Mechanism of calcification by iron stimulation in vascular smooth muscle cells

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
長澤康行 (Nagasawa, Yasuyuki)
兵庫医科大学・医学部・講師
研究者番号：10379167

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()