

IgA 腎症の家族性自己免疫異常について

堺 秀人, 野本 保夫

東海大学 内科七

〔序言〕

IgA腎症は本邦の慢性糸球体腎炎中最多数を占めており、腎不全に移行する症例も少なくないところから、成因の解明が待たれている。しかし、本症には現在適切な動物モデルがないために、成因の解明は臨床例の観察を主として行わざるを得ない。われわれは近年この問題について検討を行い¹⁾、昨年度の本会議では本症患者およびその家族にポリクローナルなIgA産生亢進が認められるところから、本症患者には家族性にIgA抗体の非特異的な産生亢進が存在することを示唆した²⁾。さらに、このようなポリクローナルな抗体産生能亢進の一つとして、本症患者には家族性に自己抗体産生亢進が認められることについても以前に報告している³⁾ところから、本年度は本症患者とその家族に見出される低温反応性の抗核抗体について、その性状の検討を行った。

〔対象・方法〕

対象は東海大学内科受診中のIgA腎症患者24例と、その家族56名および健康成人37名であった。血清は分離後に-20℃に保存した。それぞれの被検血清における低温反応性抗核抗体の力価は以前の報告³⁾同様の方法で測定した。各種抗核抗体の標準血清は二重鎖DNA, RNP, Sm, SS-A, Jo-1およびKuについては米国Center for Disease Control および慶応大学医学部高野・秋月両博士の御好意により入手した。抗原の精製はわれわれの既報の方法³⁾によって行った。簡略に述べると、子牛の胸腺ホモジネートより硫酸アンモニウムによって沈殿させ、0.01M PBS (pH7.2)によって抽出した。

抽出抗原はその後DEAEセルロースカラムでinitial buffer(0.05M Tris/HCl, 0.05M NaCl, pH 7.4)よりNaCl濃度勾配(最終濃度1.0M)で分画し、Sephrose 6Bカラムを通じた後に、限外濾過により10倍に濃縮した。等電点泳動はファルマシア社のPBE-94を使用し、initia I buffer(0.0025M histidine/HCl, pH7.2)で平衡後polybuffer 74(ファルマシア)を用いてpH 7-4の直線的pH勾配下で行った。抗原の物理化学的性状については、DNase, RNase, trypsin, 37℃ 3 hours, 56℃ 3 hours およびglycine/HCl(pH3.0), acetate(pH 4.0-5.0), phosphate(pH 6.0-8.0), glycine/HCl(pH9.0-11.0)などによるpH安定性を検討した。特異抗体の精製については、CNBr-activated Sepahrose 4Bカラムに半精製の抗原を吸着させ、患者血清からの特異抗体の分離を行い、抗体の特異性は蛍光抗体定量法によって検定した。イムノプロットングについては、半精製の抗原をまず10% SDS-polyacrylamide gelで電気泳動し、次いでニトロセルロース膜に転写した。3% bovine serum albuminで処理したのちに1:40に希釈した被検血清を対象血清と共に4℃, 15 hours 反応させ、その後ペルオキシダーゼ標識の抗ヒトIgM抗体で染色した。〔成績〕

図1にIgA腎症患者の血清から検出された低温反応性抗核抗体のパターンを示す。抗体のサブクラスはIgMで、染色パターンはいわゆるspeckledである。時にhomogeneousとなることもあるが、shaggyにはならない。細胞質内への自己抗体反応性は認められない。

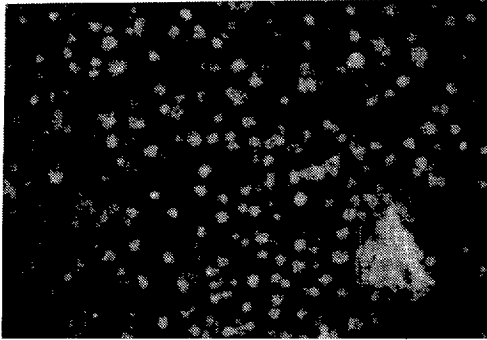


図1：抗核抗体染色パターン

表1に、この低温反応性抗核抗体の組織特異性を示す。標的組織はヒト、マウスいずれの場合も腎が最も検出率が良く、次いで肝であり、白血球や脾には反応しない。

Tissue Specificity of ANF

	Human		Mouse		
	kidney	leucocyte	kidney	liver	spleen
1.OM	10	-	10	10	-
2.MT	20	-	20	20	-
3.OT	20	-	20	10	-
4.HN	40	-	40	40	-
5.IS	-	-	-	-	-
6.MZ	40	-	40	20	-
7.GH	10	-	10	10	-
8.YN	20	-	20	20	-
9.TK	80	-	80	20	-
10.SY	10	-	10	10	-
11.YM	80	-	80	80	-
12.SH	40	-	40	40	-
13.TK	80	-	80	80	-
14.HA	40	-	40	40	-

表1：抗核抗体の組織特異性

図2にIgA腎症患者およびその家族における血中低温反応性抗核抗体の力価を示す。健常人では血中抗体の力価は1:10以下であるため、1:10以上の力価を示したものを陽性とする。患者の大多数は陽性であった。しかし、患者の家族においてもかなりの陽性者が観察され、このような陽性者は患者と同居している血縁者のみならず、患者とは全く同居したことがない血縁者にも観察された。一方、非血縁者である配偶者からは1例を除いて陽性者は見出されなかった。この陽性であった配偶者の血縁者にIgA腎症患者が存在するか否かは不明である。

Distribution of FANA

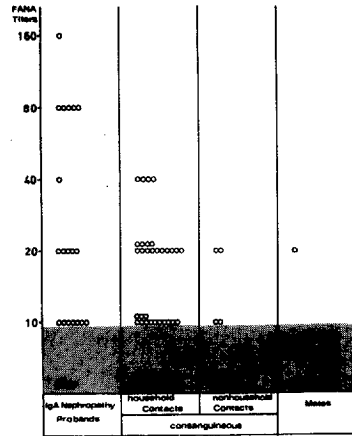


図2：患者と家族における抗核抗体の力価

図3には患者の家族における血中抗核抗体の力価と、患者の腎生検組織光顕標本における組織障害度との間に有意の関連が認められることを示す。患者を腎組織障害の程度によって2群に分けると、組織障害が重い患者群で、患者自身ではなくその家族の血中抗核抗体価が有意に上昇していた。

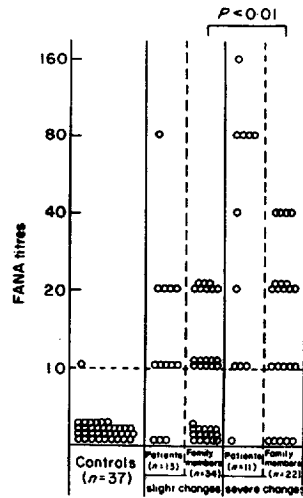


図3：腎組織障害度と抗核抗体価

図4に示すごとく、この抗原(以下GN-1と称する)はDEAEクロマトグラフィーでNaCl 0.10-0.20Mの濃度勾配下で斜線の部分に検出され、これを分別濃縮することによってさらにGN-1の性状を分析した。

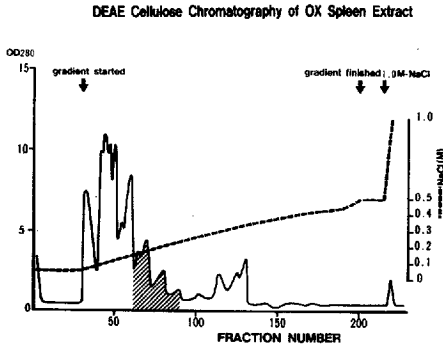


図4：GN-1抗原の分画精製

図5に示すように、セファロース6BCLクロマトグラフィーで分析した結果、GN-1の分子量はhorse ferritinよりやや小さく400,000前後と推定された。この分子量は既知の酸性核抗原のいずれよりも小さいものである。

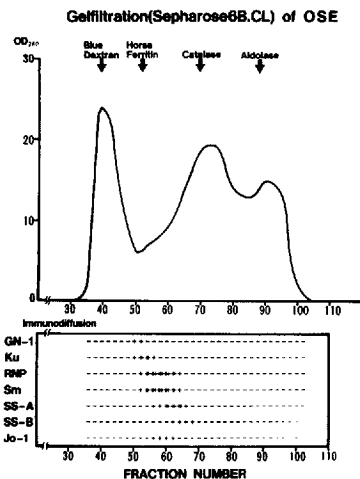


図5：GN-1抗原の分子量推定

表2にまとめたように、GN-1の物理化学的

な性状も既知の酸性核抗原とは異っており、この点からもGN-1が独立したものであることが示唆された。

Comparison of Physicochemical Characteristics of GN-1 Antigen with Other Nuclear Acidic Protein Antigens

Antigen Treatment	GN-1	Sm	RNP	SS-A	SS-B	Jo-1	Ku
DNase	R	R	R	R	R	R	R
RNase	R	R	S	R	R	R	R
Trypsin	S	R	S	S	S	S	S
37°C, 3h	R	R	S	S	S	R	S
56°C, 3h	S	R	S	PS	S	R	S
pH stability	5-10	5-10	6-9	6-10	6-10	6-10	6-9

Abbreviations used in this table: R, resistant; S, sensitive; PS, partially sensitive.

表2：GN-1の物理化学的性状

GN-1についてウェスタン・ブロッティングを行うと、図6に示すように分子量69,000および50,000のバンドが観察された。

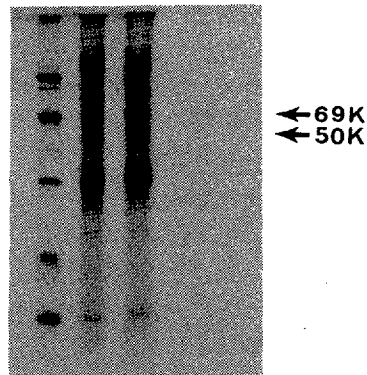


図6：GN-1の分子量測定

〔考察〕

低温反応性抗核抗体は、本邦に多発する慢性糸球体腎炎であるIgA腎症において、患者ばかりでなくその家族からも高率に見出されるところから、本症にはなんらかの家族性自己免疫異

常が存在することを示唆するものと思われる。しかもこの自己抗体が患者と同居したことがない血縁者からも検出されたことは、感染その他の環境因子よりも遺伝的な異常に由来する可能性が示されたものと思われる。

さらに、患者の家族におけるこの抗核抗体の血中力価が患者の腎組織障害度と有意の関連を示したことは、現時点ではその意義は不明ではあるが、自己抗体の家族的発現と腎炎の組織障害との間になんらかの関連が存在することも考えられ、IgA腎症の病勢進展とこの自己抗体との関係について今後調査する必要があるものと思われる。

この抗核抗体と特異的に反応する酸性核蛋白(GN-1)は、既知の核抗原であるSm, n-RNP, SS-A(Ro), SS-B(La, Ha), Jo-1 および Ku 抗原のいずれとも異なっており、新しい核抗原であることが示された。分子量についてはゲル透過での結果は約400,000であったのに対して、イムノブロッティング法では69,000と50,000の2つが認められた。後者ではメルカプトエタノールによる還元が行われているため、抗原がユニットに分れている可能性があるが、それぞれの分子量が互いにモノマーあるいはポリマーの関係を有するか否かは現時点では不明である。

今後はGN-1の性状を一層明らかにするとともに、IgA腎症患者の腎組織からもこの抗原を含む免疫複合体が検出されるか否かを検討して、本症の発症ならびに進展とこの抗核抗体との関連を明らかにすることが、本症の遺伝的背景を解明する上からも期待される。

〔結論〕

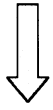
1. IgA腎症において家族性の自己免疫異常が、血中の低温反応性抗核抗体出現によって観察された。
2. この抗核抗体と患者の腎組織障害度との間には、なんらかの関連が存在する可能性が示唆された。
3. この抗核抗体と特異的に反応する抗原は

既知のものとは異なる新しい酸性核抗原であることが示された。

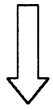
4. 以上の成績は文献⁴⁾によって、昨年末臨床免疫学の国際誌である*Clinical and Experimental Immunology* に発表された。

〔参考文献〕

- 1) Sakai, H.: Immune system abnormalities in IgA nephropathy. *Plasma Ther. Trans. Tech.* 6:677-686, 1985.
- 2) Sakai, H.: Increase of in vivo and in vitro production of polyclonal IgA in patients and their family members. In Mestecky, J. ed., *Mucosal Immunology*, Plenum Press, in press.
- 3) Nomoto, Y. and Sakai, H.: Cold-reacting anti-nuclear factor in sera from patients with IgA nephropathy. *J. Lab. Clin. Med.* 94:76-87, 1979.
- 4) Nomoto, Y., Suga, T., Miura, M., Nomoto, Y., Tomino, Y. and Sakai, H.: Characterization of an acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with IgA nephropathy. *Clin. Exp. Immunol.* 65:513-519, 1986.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



〔結論〕

1. IgA 腎症において家族性の自己免疫異常が, 血中の低温反応性抗核抗体出現によって観察された。
2. この抗核抗体と患者の腎組織障害度との間には, なんらかの関連が存在する可能性が示唆された。
3. この抗核抗体と特異的に反応する抗原は既知のものとは異なる新しい酸性核抗原であることが示された。
4. 以上の成績は文献によって, 昨年末臨床免疫学の国際誌である *Clinical and Experimental Immunology* に発表された。