

# IgA腎症におけるIgAスイッチ遺伝子の異常について

## 小児腎疾患の進行防止に関する研究 進行阻止に関する免疫、遺伝の病態生化学的研究

宮崎正信<sup>1</sup>, 堺 秀人<sup>1</sup>

IgA腎症患者の免疫グロブリン・スイッチ部分遺伝子の多様性について検討した。患者及び正常者のDNAを制限酵素処理した後、スイッチ部分遺伝子をプローブとしてサザンブロッティングを行った。IgA腎症患者においてIgA2のスイッチ部分遺伝子に多様性が見られ、そのヘテロタイプを持つ患者は血清IgA値、末梢血IgA bearing細胞数が有意に増加していた。IgA腎症患者に見られるIgAの産生亢進にIgAのスイッチ部分遺伝子の異常が関与していることが示唆された。

IgA腎症、IgAスイッチ部分遺伝子、IgA産生亢進

【研究方法】開放性腎生検にてIgA腎症と診断された22名と健康成人15名を対象とした。患者は何等薬の投与を受けてない状態で検討を行った。健康人の中で尿所見異常を示した者は無かった。血清IgA値はlaser nephrometryにより、IgA bearing細胞は末梢単核球を分離後、FITCラベル抗ヒトIgA抗体にて染色し、flow cytometry (FACStar)にて測定した。免疫グロブリンのスイッチ部分遺伝子の多様性は、サザンブロッティング法を用い検討した。即ち、末梢血より、リンパ球を分離後、DNAを抽出し、制限酵素SacIにてdigestionを行い、0.7%のアガロースゲル内で泳動後、フィルターにトランスファーし、IgMのスイッチ部分遺伝子をプローブとしてサザンブロッティングを行った。IgMスイッチ部分遺伝子は京都大学の本庶先生の御承諾を得、遺伝子バンクからの供与を得たCh. H. Ig $\mu$  24より作製した。

【成績】図1にサザンブロッティング法にて得られた免疫グロブリン・スイッチ部分遺伝子パターンを示す。各免疫グロブリン遺伝子の前に存在するスイッチ遺伝子は繰り返し配列が多く、各isotypeのスイッチ部分遺伝子にはhomologyが存在するため、IgMのスイッチ部分遺伝子をプローブとした場合、図のようにIgA1、IgA2、

IgMのスイッチ部分遺伝子についての解析が可能になる。即ち、IgA1のスイッチ部分遺伝子に関しては、7.4kbと6.8kbのバンド、IgA2に関しては5.0kbと4.1kb、IgMについては2.6kbと2.1kbのバンドが検出された。表1に各バンドの出現頻度を示す。IgA1に関しては、7.4/7.4kbを示すものが、健康人6.7%、患者群20.0%と患者群に多く見られる傾向があったが、有意差は認められなかった。IgA2では5.0kb/4.1kbのヘテロタイプを示すものが健康人群21.4%、患者群54.5%を示し、患者群に有意に多く認められた。IgMに関しては多様性は認められなかった。そこで、IgA2のヘテロタイプを示すグループと他のグループとの違いを検討した。

血清IgA値は、IgA腎症患者において、IgA2のヘテロタイプを示すものが、 $432 \pm 160$ mg/dl、他のタイプを示すものが、 $317 \pm 66$ mg/dlとヘテロタイプ群において有意に高値を示した(図2)。患者と健康人を合わせた場合においても、このヘテロタイプを示すものが、有意に血清IgAの高値を示した(ヘテロ： $397 \pm 154$ mg/dl；ホモタイプ： $282 \pm 71$ mg/dl)。図3に末梢血IgA bearing細胞数の検討を示す。患者群においてヘテロタイプを示すものが、 $10.8 \pm 3.1\%$ 、その他のタイプを示すものが、 $8.2 \pm 2.0\%$ とヘテロタイ

1)東海大学病院内科7

Masanobu Miyazaki<sup>1</sup>、Hideto Sakai<sup>1</sup>

1)Dept. of Internal Medicine, Tokai University

プグループが有意に高値を示した。また、患者と健常人と合わせた場合においても、このヘテロタイプを示すものが、有意に高値を示した(ヘテロ:  $9.9 \pm 3.7\%$ ; ホモ:  $7.5 \pm 2.6\%$ )。次にIgA2のスイッチ部分遺伝子の多様性と1日尿蛋白量、血尿の程度との検討を示す(図4)。尿蛋白量については、ヘテログループ:  $0.40 \pm 0.20\text{g/day}$ ; ホモグループ:  $0.27 \pm 0.15\text{g/day}$ とヘテロタイプを示す者が有意に1日尿蛋白量の高値を示した。その他、血尿の程度、血中尿素窒素、クレアニンクリアランスに関しては違いは認められなかった。

今回の我々の結果とヨーロッパにおける免疫グロブリン・スイッチ部分遺伝子の多様性検討の結果の比較を行った。表2に示す如く、ヨーロッパにおいてはIgA1の7.4kbのホモタイプを示すものが、62.5%と有意に多く認められたが、我々の結果では、7.4kbのホモタイプは多い傾向にあるものの有意差は認められなかった。なお、IgA2の遺伝子に関しては、ヨーロッパの報告には記載がなく、比較出来なかった。

【考察】IgA腎症患者において、いくつかの遺伝的要素の関与が報告されている。即ち、補体C3、C4の特異的なフェノタイプ<sup>1</sup>や、免疫グロブリンκ鎖のアロタイプの異常<sup>2</sup>などの報告がなされている。また、HLAとの関連についてはHLA-DR4との関連性の報告がある<sup>3</sup>。これらの結果はIgA腎症発症に関して何等かの遺伝的要因の関与を示唆するものである。一方、IgA腎症患者において血清IgAの高値<sup>4</sup>、末梢血中IgA bearing細胞数の増加<sup>5</sup>、IgAのFc部分に対するレセプターとOKT4抗原の双方をその表面に持つT細胞(TO4細胞)の増加<sup>6</sup>がこれまで報告されている。さらに末梢単核球の無刺激培養上清中のIgAが正常人に比べ高値を示すという報告が成されており<sup>7</sup>、IgA腎症患者においてIgAの産生亢進があることが考えられている。我々は、これらIgA産生亢進に関する異常が患者のみならず何等尿所見異常を示さない患者家族においても認められることを報告して

きた<sup>8</sup>。このことは、IgA産生亢進に関してIgA腎症患者とその家族に何等かの遺伝的素因が存在することを示していると考えられる。

さて、IgA産生の制御機構については未だ不明の点も多く残されているが、一般にIgMからisotype switchingによると考えられている。この現象により、免疫グロブリンのvariable regionは一定のままconstant regionが他のクラスに置き代わる。スイッチ部分遺伝子は各クラスのheavy chainの遺伝子の前に存在しておりスイッチの時に重要な役割をしているとされている。今回、我々が示したIgAのスイッチ部分遺伝子の多様性と血清IgA値、IgA bearing細胞数の増加との関連が見られたことはIgA腎症患者とその家族に見られるIgA産生亢進の原因の1つとしてスイッチ部分遺伝子の異常が関与している可能性が考えられる。即ち、スイッチ部分遺伝子の異常があるために、よりIgAへのスイッチが起こり易く、IgA腎症発症に関与している可能性を示唆している。

また、これまでに免疫グロブリンスイッチ部分遺伝子の多様性が免疫機序を介した糸球体腎炎に関与していること<sup>9</sup>や、膜性腎症においてT細胞レセプターの異常との関連<sup>10</sup>が報告されており、免疫グロブリン・スイッチ部分の異常が免疫応答の違いや、variable regionの異常に関与していることは十分に考えられる。IgA腎症において、免疫グロブリンのラムダ鎖がメサンジウムに優位な沈着を示すと言う報告もあり<sup>11</sup>、免疫応答のレパートリーにある制限がある可能性が在ることを示している。これらの結果より、未だ、明らかとなっていないIgA腎症の発症に関連した抗原の解明の一手段としても今後の検討が必要と思われる。

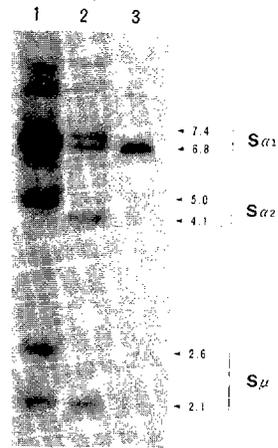
また、今回の我々の結果と欧州からの報告<sup>12</sup>との間には違いが認められたが(表2)、IgA腎症の発症頻度が世界各地で大きく異なっていることなどより、民族差によるものと考えられた。

【文献】

×1

1. Wyatt R.J., Julian B.A., Weinstein A. et al. J. Clin. Immunol. 2: 110, 1982.
2. Le Petit J.D., E. van Loghem., G Lange. et al. J. Immunogenet. 8: 415, 1981.
3. Kasahara M., Hamada K., Okuyama T. et al. Clin. Immunol. Immunopathol. 25: 189, 1982.
4. Clarkson A.R., Seymour A.E., Thompson A.J. et al. Clin. Nephrol. 8: 459, 1977.
5. Nomoto Y., Sakai H. and Arimori S. Am. J. Clin. Pathol. 71: 158, 1979.
6. Sakai H., Endoh M., Tomino Y. et al. Clin. exp. Immunol. 78: 378, 1989.
7. Endoh M. Jpn. J. Nephrol. 26: 1179, 1984.
8. Miyazaki M. submitted.
9. Demaine A.G., Taube D.H., Vaughan R.W. et al. Clin. exp. Immunol. 66: 406, 1986.
10. Demaine A.G., Vaughan R.W., Taube D.H. et al. Immunogenetics 27: 19, 1988.
11. Lai K.N., Chan K.W., Lai F.M.-M. et al. Am. J. Clin. Pathol. 85: 548, 1986.
12. Demaine A.G., Rambašek M., Knight J.F. et al. J. Clin. Invest. 81: 611, 1988.

Phenotypic expression of S $\alpha_1$ , S $\alpha_2$  and S $\mu$



×2

Levels of Serum IgA

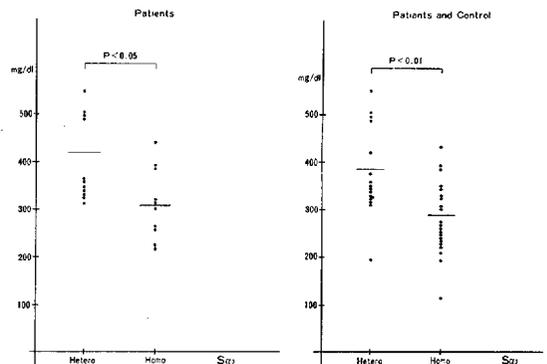


图 3

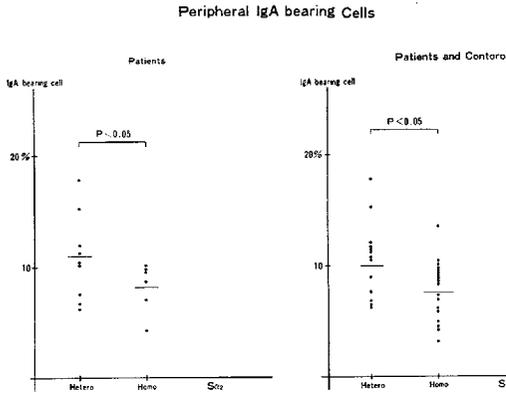


表 1

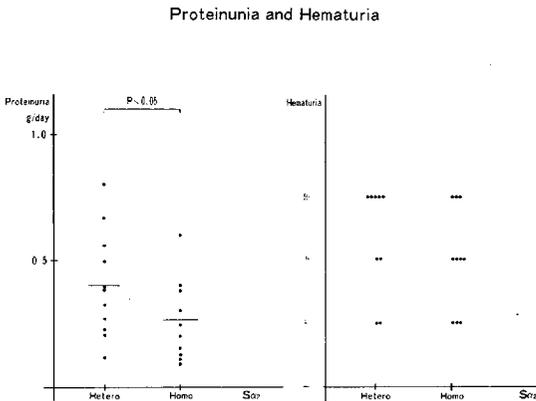
Phenotypic expression of  $S\alpha_1$ ,  $S\alpha_2$  and  $S\mu$  alleles by RFLP analysis

	Control		IgAN	
	n	(%)	n	(%)
$S\alpha_1$ (Switch region of IgA <sub>1</sub> )				
7.4/7.4 kb	1	(6.7)	4	(20.0)
7.4/6.8	3	(20.0)	5	(25.0)
6.8/6.8	11	(73.3)	11	(55.0)
$S\alpha_2$ (Switch region of IgA <sub>2</sub> )				
5.0/5.0 kb	3	(21.4)	3	(13.6)
5.0/4.1	3	(21.4)	12	(54.5)
4.1/4.1	8	(57.2)	7	(31.9)
$S\mu$ (Switch region of IgM)				
2.6/2.6 kb	3	(21.4)	4	(18.2)
2.6/2.1	9	(64.3)	15	(68.2)
2.1/2.1	2	(14.3)	3	(13.6)

\* P < 0.05

表 2

图 4



Comparison of phenotypic expression of  $S\alpha_1$  and  $S\mu$  alleles between Japanese patients with IgAN and European pts

$S\alpha_1$	Control %		IgAN %	
	Japan	Europe	Japan	Europe
7.4/7.4	6.7	37.7	20.0	62.5
7.4/6.8	20.0	46.4	25.0	35.4
6.8/6.8	73.3	15.9	55.0	2.1

$S\mu$	Control %		IgAN %	
	Japan	Europe	Japan	Europe
2.6/2.6	21.4	19.9	18.2	31.3
2.6/2.1	64.3	56.0	68.2	33.3
2.1/2.1	14.3	24.1	13.6	35.4



## 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



IgA 腎症患者の免疫グロブリン・スイッチ部分遺伝子の多様性について検討した。患者及び正常者の DNA を制限酵素処理した後、スイッチ部分遺伝子をプローブとしてサザンブロットティングを行った。IgA 腎症患者において IgA2 のスイッチ部分遺伝子に多様性が見られ、そのヘテロタイプを持つ患者は血清 IgA 値、末梢血 IgA bearing 細胞数が有意に増加していた。IgA 腎症患者に見られる IgA の産生亢進に IgA のスイッチ部分遺伝子の異常が関与していることが示唆された。