

アレルギー性紫斑病, IgA腎症におけるC4およびDR・DQ遺伝子の多型性の検討

小児腎疾患の進行阻止に関する研究
進行阻止に関する免疫・遺伝・病態生化学的研究

阿部 淳、香坂隆夫

腎炎における発症の個体感受性の問題を検討する目的で、IgA腎症・アレルギー性紫斑病のC4遺伝子のRFLPおよびDR・DQのTypeを、遺伝子および血清により決定した。これらの疾患で、C4 null alleleの発症頻度がcontrol群に比し高かったが、この欠損とDR・DQのTypeとの連鎖は認められなかったことより、C4 gene欠損そのものが個体易感受性と関係していると推察された。

アレルギー性紫斑病, IgA腎症, RFLP, C4遺伝子, HLA-DR・DQ

1. はじめに

主要組織適合性抗原(MHC)は、自己・非自己の認識をする免疫担当細胞の膜上に存在し、遺伝子とその産物の分子レベルでの検討の結果、Class I, Class II, Class IIIに分類され、免疫学的にもその役割が明らかとされつつある。自己免疫疾患との関連(association)については、過去数多くの報告がなされ、自己免疫疾患との関連が注目されており、SLEやリウマチ性疾患、アトピー、バセドウ病、糖尿病などにおいてその関連が数多く報告されている。著者らはこの中で、class III抗原、とくに補体C4遺伝子の変異と腎疾患(家族性良性血尿・IgA腎症・紫斑病性腎炎など)との関連を検討してきた。その結果、C4遺伝子の部分欠損を、Southern hybridizationの手法により明瞭に検出できること、また、上記の疾患群に於て、C4遺伝子の部分欠損が高頻度にみられることを前報告した。

これらの遺伝子変異の結果として

生じる、C4蛋白量の低下あるいはC4A・C4B蛋白間のアンバランスが、直接に疾患の発症と関連しているのか、あるいはC4遺伝子の近くに位置している他の分子(HLA-DQ, DR, TNF, あるいは未知のX遺伝子)が発症に関与しており、C4遺伝子欠損の集積はその反映に過ぎないのか、という問題が残された。

今年度はこの問題を明らかにするために、HLA-DQβ鎖、DRβ鎖のcDNAを用いたRFLPタイピングを上記疾患の患者群について行い、HLA class II抗原と疾患との関連について検討した。また、C4遺伝子欠損の認められた患者については、家系分析を行い、遺伝子欠損ハプロタイプに連鎖するDR・DQサブタイプを同定した。

2. 方法

(1) 対象; IgA腎症の患者32名、紫斑病性腎炎の患者24名および対照群として143名の非血縁健常者を対

国立小児病院

Jun Abe, Takao Kohsaka

National Children's Hospital

象とした。

(2) Southern analysis; 末梢血白血球からDNAを抽出した。使用した制限酵素は *Taq I* (C4, 210Hase, DR β) 及び *BamHI* (DQ β) である。

C4・210Hase については、Autoradiography で得られたバンドの濃度比を densitometer で測定し、遺伝子欠損を同定した。

(3) プローブ; 使用したプローブは、C4 (Carroll, 1984)、DQ β (Inoko, 1984)、DR β (Inoko, 1984) の cDNA 及び、210Hase (Higashi, 1986) の genomicDNA の一部である。

3. 結果

(1) 患者群でのC4遺伝子の欠損頻度は表1に示す通り、56名中9名(16.1%)であり、対照群の143名中4名(2.9%)に比べて有意に上昇していた (relative risk=6.7, $P < 0.002$)。

(2) 患者群を、C4遺伝子の欠損・重複・正常の3群に分けて、臨床経過および検査値について検討した結果を図1に示す。発症時年齢・血清クレアチニン値・血清IgA値などに有意差は認められなかったが、血清C4は遺伝子欠損群において有意に低下していた。

(3) HLA-DQ β ・DR β のRFLPタイピングの結果を、それぞれ表2、表3に示す。DR4に相当するDR β *Taq I* 5.2kb およびDQw4/8/9に相当するDQ β *BamHI* 12kb の出現頻度が患者群において有意に増加していた (relat

ive risk=2.5, $P < 0.01$ 、および relative risk=3.9, $P < 0.001$)。

(4) C4遺伝子の欠損・重複を伴うハプロタイプに連鎖するDQ・DRのタイピングの結果を表4に示す。患者群で見られたハプロタイプを表の右側に矢印で示したが、C4遺伝子の欠損と特定のDQ・DRタイプとの連鎖は、患者群においても認められなかった。

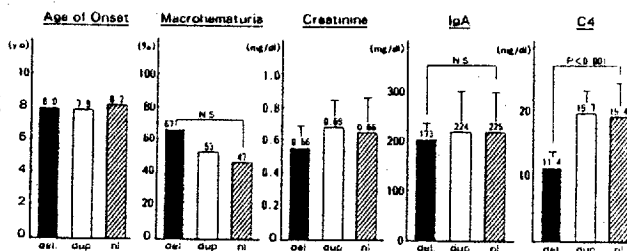
4. 考察

IgA腎症、紫斑病性腎炎におけるC4 null allele 頻度の増加は、1984年に McLean, R.H. らが報告している (Kidney Int. 26, 1984)。免疫固定法及び二次元免疫電気泳動法により検出された、homozygous なC4 null allele の頻度は、患者群で17.9%、対照群で3.9%と有意に上昇していた ($P = 0.0031$)。

表1 Frequencies of C4 Gene Abnormalities in IgA Nephropathy and HSP Nephritis

C4 gene	λ A patients (n=32)	HSP patients (n=24)	Total patients (n=56)	Controls (n=143)	Relative risk	P value
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
deletion	5 (15.6)	4 (16.7)	9 (16.1)	4 (2.9)	6.7	<0.002
duplication	9 (28.1)	6 (25.0)	15 (26.8)	25 (17.9)	1.7	
conversion	1 (3.1)	0 (0.0)	1 (1.8)	1 (0.7)	2.6	
normal	17 (53.1)	14 (58.3)	31 (55.4)	113 (78.5)		

図1 Comparison of Clinical Data in Patients Between Different C4 Genotypes



しかし、homozygous な C4 null allele あるいは C4 B null allele の頻度には有意差がなかった。また、血清 C4 値も hemizygous null 群と no null 群との間に有意差がみられなかったとされている。

我々の結果と、McLean らの報告した結果との解離の原因として、人種間の差異（日本人では C4 A null allele の頻度は Caucasian よりずっと低い）がまず考えられるが、我々は C4 欠損の同定法の違いに、より大きな意味があると考えている。我々の結果では C4 遺伝子の重複が高頻度（対照群で 17.9%）に認められたが、蛋白アロタイピング法では、これは C4 A、B どちらかの null allele と判定される可能性がある。彼らの hemizygous null allele の頻度（対照群で 57.9%）と、我々の hemizygous deletion の頻度（同じく対照群で 2.9%）との差も同じ原因で説明することが出来る。

我々は、Southern analysis を用

表 2
Frequencies of DRBI RFLP
in IgA Nephropathy and HSP Nephritis

D-DR type	Patients (n=56)	Controls (n=139)	Relative risk	Pvalue
	n. (%)	n. (%)		
1	4 (7.1)	13 (9.4)	0.74	<0.01
2	13 (23.2)	54 (38.8)	0.48	
3	2 (3.6)	0 (0)		
4	36 (64.3)	58 (41.7)	2.5	
5 (11, 12)	7 (12.5)	16 (11.5)	1.1	
6 (13, 14)	20 (35.7)	12 (8.6)	1.6	
7	0 (0)	0 (0)		
8	12 (21.4)	27 (19.4)	1.1	
9	11 (19.6)	37 (26.6)	0.67	
10	1 (1.8)	1 (0.7)	2.5	

いて欠損群と重複群とを区別することにより、患者群における C4 の部分欠損頻度の増加と血清 C4 値の低下との関連を、より明確に示すことが出来たと考えている。もちろん、遺伝子の欠損は C4 null allele の機序の一部でしかないし、生物学的活性という観点からみればアロタイピング法より間接的な方法である。今後、溶血活性の変化などを詳細に検討する必要があるだろう。この点で、良性家族性血尿の患者の中に、C4 null allele と溶血活性低下を伴う一群がみられたという、Welch T.R. らの報告 (Nephron 38, 1984) は興味深い。

今年度は、新しく HLA-DQ、DR の RFLP タイピングを試みたが、写真に示すように、DR β の cDNA を用いて明瞭なタイピング・パターンを得ることが出来た。血清タイピングとの相関も良好だった。

IgA 腎症では、従来より DR 4.1 の増加が報告されているが、1988

表 4
Haplotypes with C4 Gene Abnormality

C4 Tag pattern	210HA/210HB	D-DR	D-DQ	Frequency
(Deletion)				
6.4	-/1	5 (12)	W 7	1
7	-/1	2	W 5	3
7	-/1	2	W 7	1
7	-/1	4	W4/8	2
7	-/1	4	W 7	1
7	-/1	5	W 7	1
7	-/1	6	W 5	1
7	-/1	6	W 6	4
7	-/1	6	W 7	2
7	-/1	8	W4/8	2
7	-/1	9	W 9	3
(Duplication)				
7, 6, 6	2/1	1	W 5	8
7, 6, 6	2/1	2	W 6	1
7, 6, 6	2/1	4	W4/8	4
7, 6, 6	2/1	5 (11)	W 7	1
7, 6, 6	2/1	6	W 5	1
7, 6, 5.4	2/1	6	W 5	1
7, 5.4, 5.4	2/1	6	W 7	2
(Conversion)				
6.4, 5.4	2/-	1	W4/8	2
6.4, 5.4	2/-	0	W 7	1

年に、比企らはDQW4とのより強い関連を報告している。(第31回日本腎臓学会、奈良)。われわれのRFLPタイピングの結果でも、DQβ BamHI 12kb、すなわちDQW4/8/9に、DR4よりも強い関連が認められた。RFLPタイピングからは、これらDQW4/8/9を区別することが出来なかったが、第10回 Histocompatibility Workshop の報告を参考にすると、DQα鎖、β鎖の双方に関連を決定する因子があると予想される。今後、PCR-オリゴヌクレオチド法を用いて、連関するDQ抗原エピトープを同定するなどの進展が期待される。

最後に、家系分析によりハプロタイプの同定が可能であったものにおいて、C4遺伝子の欠損は特定のDQ・DRサブタイプとは連鎖しなかった。C4遺伝子の欠損自体が、HLA Class II 抗原とは独立にIgA腎症・紫斑病性腎炎の発症に関与することを示唆するものと考えられる。

5. 参考文献

- 1) Alper, C.A., Awdeh, Z. et al: *Biochem-Soc-Symp.* 51; 19-28 (1986)
- 2) McLean, R.H., Wyatt, R.J. et al: *Kidney International* 26; 855-860 (1984)
- 3) Welch, T.R., Stitzel, A.E. et al: *Nephron* 38; 138-143 (1984)
- 4) Hauptmann, G., Tappeiner, G. et al: *Immunoeficiency Rev.* 1; 3-22 (1988)
- 5) Maniatis, T., Fritsch, E.F. et al: *Molecular Cloning* (1982)
- 6) Carrol, M.C., Campbell, M.D. et al: *Nature* 307; 237-241 (1984)

7) Higashi, Y., Yoshioka, H., et al: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83; 2841-2845 (1986)

8) Schneider, P.M., Carrol, M.C. et al: *J. Clin. Invest.* 78; 650-657 (1986)

9) Prentice, H.L., Schneider, P.M. et al: *Immunogenetics* 23; 299-304 (1987)

10) Bidwell, J.: *Immunology Today* 9; 18-23 (1988)

11) Dupont, B., Baletta, M. et al: *Xth. Histocompatibility Workshop Newsletter* 2 (1988)

表3

Frequencies of DQB1 RFLP
in IgA Nephropathy and HSP Nephritis

D-DQ type	BamHI (kb)	Patients (n=56)		Controls (n=121)		Relative risk	P value
		n.	(%)	n.	(%)		
w5	6.0	12	(21.4)	29	(24.0)	0.87	
{ w6.0 w6.1	6.9	14	(25.0)	35	(28.9)	0.82	
w6.2	9.8	16	(28.6)	49	(36.4)	0.59	
w7	6.9, 3.0	10	(17.9)	26	(21.5)	0.79	
{ w4 w8 w9 (w3)	12.0	49	(87.5)	78	(64.5)	3.9	<0.001



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



腎炎における発症の個体感受性の問題を検討する目的で、IgA 腎症・アレルギー性紫斑病の C4 遺伝子の RFLP および DR, DQ の Type を、遺伝子および血清により決定した。これらの疾患で、C4 null allele の発症頻度が control 群に比し高かったが、この欠損と DR, DQ の Type との連鎖は認められなかったことより、C4 gene 欠損そのものが個体易感受性と関係していると推察された。