

the rate of disease progression are still unclear. An accumulating amount of evidence suggests that genetic factors determine the susceptibility to developing IgAN as well as to the progression of renal dysfunction. For the purpose of better understanding both the pathogenesis and the mechanism of IgAN progression, it is thought to be important to identify the genetic background for the susceptibility both to IgAN and to ESRD. This article summarizes our recent clinical and molecular genetic studies on the pathogenesis and progression of IgAN.

Key words: IgA nephropathy, Gene polymorphism, Microsatellite maker, single nucleotide polymorphism (SNP)

背景と目的

本邦で最も多い原発性糸球体腎炎であり、慢性腎不全の主な原疾患でもあるIgA腎症の発症・進行機序を明らかにすることを目的として、私達は臨床分子遺伝学的な解析を行ってきた。

IgA腎症は、孤発例が大半を占めるが、家族の尿検査を含めて詳細な家族調査を行っていないことが多く、肉親に軽微な尿異常などがあっても見過ごしている可能性もある。事実、IgA腎症が原因で腎移植を受ける症例の両親や同胞には、明らかに血尿や蛋白尿を認める頻度が高い。また、本症は日本人を含むアジア系人種に多く、アフリカ系人種には少ないなど、明らかに人種差があることが知られている。私共の過去9年間の腎生検の動向では、4,330例の腎生検例中、IgA腎症は908例であった。その家族歴を調査した結果、家系内に血尿例を有する率が8.3%、腎炎は10.5%、透析症例がある割合は4.6%であった。このことから、少なくともIgA腎症の約10%近い症例は潜在的に遺伝性であることが示唆される。その遺伝的背景、すなわち疾患感受性遺伝子が同定されれば、IgA腎症の発症メカニズムの解明が進むばかりでなく、有効な治療法、予防法の開発の糸口になると考えられる。

以上より、私共はこのIgA腎症の発症と進展に関与する遺伝的背景を明らかにすることを、本研究を開始した。

方 法

まず、臨床表現型、すなわち腎生検病理組織所

見と臨床経過データが記録された症例について、下記のような倫理的配慮のもと、末梢血白血球からゲノムDNAを抽出し、保存した。

IgA腎症の発症に関しては、IgA分子に対する受容体をコードする遺伝子群(pIgR, polymeric immunoglobulin receptor; FcaR, Fca receptorなど)の遺伝子多型(主に一塩基置換, single nucleotide polymorphism, SNP)を解析した。また、欧米の家族性IgA腎症で連鎖が報告された6番染色体長腕22-23領域についてマイクロサテライトマーカーを用いた関連解析を行った。

IgA腎症の進行に関しては、IgA腎症の腎機能の予後と、血管作動性物質、サイトカイン・ケモカイン、食塩感受性に関与する遺伝子群との関連を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究全般にわたり、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守した。十分なインフォームドコンセントを行った上で文書にて同意を得、末梢血からDNAを抽出し、保存した。これらのヒト由来試料や臨床データに関する個人識別情報は、連結可能匿名化を行い、個人識別情報管理者が厳重に管理した。本研究全般に関して、新潟大学遺伝子研究倫理委員会で審査を受け、承認を得ている。

研究結果

1. IgA分子受容体および処理機構をコードする遺伝子群について

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腎症の発症は、食物抗原、細菌菌体外膜抗原、ウイルス抗原などの環境因子とともに、何らかの遺伝的背景の関与が想定されているが、その詳細は未だに不明である。IgA腎症では半数以上の症例で血清IgA値が上昇しており、IgA分子の産生・代謝に異常があることが知られている。IgA分子の代謝・処理に関わる分子は、多価免疫グロブリン受容体(pIgR; polymeric immunoglobulin receptor)、IgA Fc部分に対する受容体(FcαR)、アシアロ糖蛋白受容体(ASGPR; asialo-glycoprotein receptor)の3種が、従来から知られていた。IgA分子は40mg/KgBWと他のどの免疫グロブリンよりも多量に産生され、粘膜上皮細胞を越えて消化管、気道、尿中などに分泌されている。多価IgAは必ず粘膜上皮細胞上でpIgRに結合し、このC末端側が切断されて分泌成分(secretory component)となって分泌される。私達は粘膜免疫において重要な役割を果たすpIgRの遺伝子多型について検討し、pIgR exon4の転写開始点から161塩基対上流にT/GのSNPがあり、IgA腎症で他の腎炎や健常人に比較して有意にG(A2)アレルが多いことを報告した¹⁾。現在、その機序を検討中である。なお、東京大学医科学研究所の中村祐輔らは、ゲノムワイドに8万個以上のSNPマーカーを用いてIgA腎症との関連を解析している²⁾³⁾。彼らは現在まで3カ所の有意な関連を報告しているが、そのうちの一つは、このpIgRであることを最近報告している⁴⁾。

IgA処理機構には他に、FcαRがあるが、私達はFcαR遺伝子のプロモーター領域を含む5'上流領域に3箇所のSNPがあることを見だし、IgA腎症との関連を解析したが他の腎炎患者との差を認めなかった⁵⁾。免疫グロブリンheavy chainや、IgA constant region promoter領域の遺伝子多型と本疾患の関連は既に報告されているが、その後追試した報告はなされていない。IgA腎症症例の約半数に血清IgA値の上昇が見られ、IgAの過剰産生がその主な原因と考えられており、その機序を説明する手がかりになりうる。今後さらに多数例で検討する必要がある。

2. ウテログロビン遺伝子多型とIgA腎症の進行の関連

ウテログロビン(UTG; Uteroglobin)分子はフィブロネクチン(fibronectin)とIgAの結合を抑制し、IgAの糸球体メサンギウム沈着を抑制することが、マウスで証明されており、さらに抗炎症性サイトカインとしての機能も有している。ヒトUTG遺伝子にはエクソン(exon)1の5'非翻訳領域にA38GのSNPがあり、私共はこの遺伝子型とIgA腎症の発症について解析した。結果、IgA腎症の発症には関連が無かったが、腎生検時高血圧を有する群と2g/day以上の高度蛋白尿を有する群においてはUTG A38G GG型で腎機能予後が不良であった。つまり、同じ遺伝子多型であっても、それに対する感受性には個体差があり、それは比較的単純な臨床データで推定できることが示された⁶⁾。

3. IgA腎症の進行に影響する遺伝的背景

前述のUTGのように、IgA腎症の発症のみでなく、進行にも遺伝的背景が関与している。特に、レニン-アンジオテンシン系遺伝子については従来から多数の報告があり、未だに一致した結論は得られていない。

日本人ではアンジオテンシノーゲン遺伝子(AGT)235Tのアレル頻度が80%以上と白人に比べて著しく高いため、日本人集団での大規模な解析が必要である。私達は、AGT A-20C多型がAGTの転写活性に直接影響することに着目し、このSNPとIgA腎症の予後との関連を解析した。その結果、少なくとも日本人集団においては、AGT M235T多型よりは、このAGT A-20C多型が予後(腎機能生存率)に影響することを報告した⁷⁾。私たちの後ろ向き調査による成績では、腎生検時に腎機能が保たれていて2年以上の経過が明らかであったIgA腎症137例の、腎生検時の臨床所見のうち、腎死の発生に対するCox比例ハザードモデルで有意差が検出されたものは、尿蛋白(1g/day以上)、高血圧の合併とともに、AGT-20のCアレル、であった。つまり、AGT M20の位置に一つでもCアレルを有する症例は、AA遺伝子

型の症例に比較して3.6倍(95%信頼区間1.5-8.7, $P=0.004$)腎不全発生の危険性が高いという結果であった。また、アンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬などのレニン-アンジオテンシン系(RAS)阻害薬は、近年腎保護作用があることが証明されているが、これらの腎保護作用にも個人差があることは明らかである。私達はAGT A-20CやACE A2350G遺伝子多型がこのRAS阻害薬の腎保護作用にも影響を持つ可能性が高いことを報告した⁸⁾⁹⁾。

4. その他

Sa 遺伝子は高血圧自然発症ラットの腎臓から同定され、近位尿細管などのミトコンドリアにおけるエネルギー代謝に関わることが分かっている。ヒトで、この遺伝子多型と高血圧との関連が示唆されているが、否定的な報告もあり、詳細は不明であった。私たちは、この遺伝子多型は健常人では血圧に影響しないが、腎炎症例では関連があり、予後に影響する可能性もあることを報告した¹⁰⁾。

アルドステロン合成酵素(CYP11B2)遺伝子多型とIgA腎症の腎機能の予後を検討し、男性では予後に影響しないが、女性では大きな影響を及ぼす可能性があることを報告した¹¹⁾。

α -adducinはcalmodulin結合蛋白の一つであり、この遺伝子の多型が近位尿細管でのナトリウム再吸収に影響を及ぼすことが知られている。この遺伝子多型は単独ではIgA腎症の進行に影響しなかったが、ACE遺伝子イントロン16多型欠失型を有する集団では、有意な進行因子であった¹²⁾。

考 察

Liftonらが報告したように(Nature Genet, 26:354, 2000)、家族性IgA腎症30家系での連鎖解析では、6q22-23に関連が認められたのは60%であった。つまり、家族性IgA腎症でさえも、単一の遺伝子が原因ではない可能性が高いことを示唆している。SNPを用いた関連解析でも、IgA腎症発症に責任が疑われる遺伝子は、少なくとも4

カ所(6q22-23の他、pIgR, L-selectin, HLA-DRA)はあるという結果であった。今後、これらの候補遺伝子の機能解析と、IgA腎症発症との関連の機序を解析することにより、本症の病因がより明確に理解され、根本的な治療や予防法の開発につながるものと考えられる。

一方、IgA腎症の進行についても、複数の遺伝的背景が関連することが明らかとなった。特にレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系をコードする遺伝子の多型が腎機能の予後に影響することは、腎実質でのアンジオテンシンII濃度が、他臓器や循環血液中に比較して約100倍高いという事実と考え合わせると、重要な所見である。

さらに、性差、血圧、尿蛋白量などの簡単な臨床所見が、UTG遺伝子やCYP11B2遺伝子の多型に対する感受性を推定する有用なマーカーとなりうることを示されたが、これらは腎炎に対する個別治療を構築する上で、興味深い結果である。

今後は治療に対する反応性に影響する遺伝子も探索し、より詳細な個別治療戦略を開発する必要がある。これらの結果は、IgA腎症に限らず、他の原発性糸球体腎炎や糖尿病性腎症などの二次性腎疾患においても共通の進行機序が想定されていることから、腎疾患全般に應用できる可能性が高い。

結 論

複数の遺伝的背景がIgA腎症の発症と進展に関与している。今後、これらの候補遺伝子が何故IgA腎症の発症に関連するのかを解析する必要がある。

比較的簡便な臨床所見により遺伝子多型に対する感受性を推定することが可能である。これは、個別治療戦略を構築する上で、重要な示唆を与える。今後はさらに症例を重ね、IgA腎症以外の腎疾患での解析や、治療に対する反応性を解析する必要がある。

謝辞

本研究に御協力頂いた腎疾患診療に携わるすべての方々、特に臨床データの収集や遺伝子抽出に御協力頂い

た新潟大学第二内科腎班の方々，御指導頂いた宮下哲典先生，桑野良三先生（新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター），データベースの作成・維持に御協力頂いた今井直史技官に深謝致します。

参考文献

- 1) Narita I, Kondo D, Goto S, Saito N, Watanabe Y, Yamazaki H, Sakatsume M, Saito A and Gejyo F: Association of gene polymorphism of polymeric immunoglobulin receptor and IgA nephropathy. *Intern Med* 40: 867-872 2001.
- 2) Takei T, Iida A, Nitta K, Tanaka T, Ohnishi Y, Yamada R, Maeda S, Tsunoda T, Takeoka S, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Suzuki Y, Fujioka T, Ujiie T, Nagane Y, Miyano S, Narita I, Gejyo F, Nihei H and Nakamura Y: Association between single-nucleotide polymorphisms in selectin genes and immunoglobulin A nephropathy. *Am J Hum Genet* 70: 781-786 2002
- 3) Akiyama F, Tanaka T, Yamada R, Ohnishi Y, Tsunoda T, Maeda S, Takei T, Obara W, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Nitta K, Yumura W, Nihei H, Ujiie T, Nagane Y, Miyano S, Suzuki Y, Fujioka T, Narita I, Gejyo F and Nakamura Y: Single-nucleotide polymorphisms in the class II region of the major histocompatibility complex in Japanese patients with immunoglobulin A nephropathy. *J Hum Genet* 47:532-538, 2002
- 4) Obara W, Iida A, Suzuki Y, Tanaka T, Akiyama F, Maeda S, Ohnishi Y, Yamada R, Tsunoda T, Takei T, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Yumura W, Ujiie T, Nagane Y, Nitta K, Miyano S, Narita I, Gejyo F, Nihei H, Fujioka T and Nakamura Y: Association of single-nucleotide polymorphisms in the polymeric immunoglobulin receptor gene with immunoglobulin A nephropathy (IgAN) in Japanese patients. *J Hum Genet* 48:293-299 2003
- 5) Narita I, Goto S, Saito N, Sakatsume M, Jin S, Omori K and Gejyo F: Genetic polymorphisms in the promoter and 5' UTR region of the Fc alpha receptor (CD89) are not associated with a risk of IgA nephropathy. *J Hum Genet* 46: 694-698 2001
- 6) Narita I, Saito N, Goto S, Jin S, Omori K, Sakatsume M and Gejyo F: Role of uteroglobin G38A polymorphism in the progression of IgA nephropathy in Japanese patients. *Kidney Int* 61: 1853-1858 2002
- 7) Goto S, Narita I, Saito N, Watanabe Y, Yamazaki H, Sakatsume M, Shimada H, Nishi S, Ueno M, Akazawa K, Arakawa M and Gejyo F: A (-20) C polymorphism of the angiotensinogen gene and progression of IgA nephropathy. *Kidney Int* 62: 980-985 2002
- 8) Narita I, Goto S, Saito N, Song J, Omori K, Kondo D, Sakatsume M and Gejyo F: Angiotensinogen gene variation and renoprotective efficacy of renin-angiotensin system blockade in IgA nephropathy. *Kidney Int* 64: 1050-1058 2003
- 9) Narita I, Goto S, Saito N, Song J, Omori K, Kondo D, Sakatsume M and Gejyo F: Renoprotective efficacy of renin-angiotensin system inhibition in IgA nephropathy is influenced by ACE A2350G polymorphism. *J Med Genet* in press
- 10) Narita I, Saito N, Goto S, Shirasaki A, Morioka Y, Jin S, Omori K, Sakatsume M, Arakawa M and Gejyo F: Role of genetic polymorphism in the SA gene on the blood pressure and prognosis of renal function in patients with IgA nephropathy. *Hypertens Res* 25: 831-836 2002
- 11) Song J, Narita I, Goto S, Saito N, Omori K, Sato F, Ajiro J, Saga D, Kondo D, Sakatsume M and Gejyo F: Gender Specific Association of Aldosterone Synthase Gene Polymorphism with Renal Survival in Patients with IgA Nephropathy. *J Med Genet* 40: 372-376 2003
- 12) Narita I, Goto S, Saito N, Song J, Ajiro J, Sato F, Saga D, Kondo D, Akazawa K, Sakatsume M and Gejyo F: Interaction Between ACE and ADD1 Gene Polymorphisms in the Progression of IgA Nephropathy in Japanese Patients. *Hypertension* 42: 304-309 2003