

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（腎疾患対策研究事業））
分担研究報告書

**「IgA腎症新規バイオマーカーの測定および
血尿の2次スクリーニングにおけるスコアリングシステムの開発にむけた研究」**

研究分担者

鈴木 仁 順天堂大学大学院医学研究科・腎臓内科・助教

研究協力者

牧田 侑子 順天堂大学大学院医学研究科・腎臓内科 大学院生

高畑 暁子 順天堂大学大学院医学研究科・腎臓内科 大学院生

柳川 宏之 順天堂大学大学院医学研究科・腎臓内科 助教

研究要旨

IgA 腎症は、初発症状は血尿が主体で、本邦における発見機転は健診時の血尿が約 70%と大半を占めるが、確定診断には腎生検による病理診断を要する。これまでの研究で、IgA 腎症患者においては、糖鎖異常 IgA1 と糖鎖異常 IgA1 の糖鎖異常部位を認識する自己抗体との免疫複合体が病因と深く関わり、疾患活動性によく相関することを見出した（Multi-Hit theory）。そこで、糖鎖異常 IgA1、糖鎖異常 IgA1 と免疫複合体を形成する自己抗体の検出系を確立し、他の臨床マーカーと多変量解析することで IgA 腎症を特異度 81%・感度 91%で診断可能なスコアリングシステムを開発した。平成 24 年度より東京都内および宮崎県内の健診・人間ドック受診者における尿潜血陽性者を対象に、血中バイオマーカーを測定しスコアリングシステムを検証してきたが、生理中の影響による尿潜血陽性者のような再現性に乏しい尿潜血陽性者もいることから、血尿を解析因子より除外し、IgA 腎症を診断できるスコアリングシステムに改訂している。今年度は測定系も安定し、さらに、本研究の共同研究を沖縄県・山形県にも拡大し、解析を行ってきた。昨年の 607 例に比し、1554 例（宮崎県 1178 例、東京都 223 例、沖縄県 108 例、山形県 41 例）の血中バイオマーカーを測定し、上記スコアリングシステムを用いて IgA 腎症患者の割合を推定した。その結果、スコアの高値群が宮崎県では 10.7%、東京都では 18.8%、山形県では 7.3%と地域によるばらつきがみられた。次年度では、地域性を含めて因子解析を行っていく。さらに、今後の課題として、スコア高値群であった症例のなかで、実際に IgA 腎症と確定診断された方がどの程度いるのか、低値群や中間群と診断された症例において、翌年の健診で、どの程度再現性のある血尿がみられるのか、さらには、バイオマーカーがどのように推移するのかを解析することで、本スコアリングシステムを検証していく必要がある。

A. 研究目的

IgA 腎症は、世界で最も頻度の高い原発性糸球体腎炎であり、本邦に極めて多い腎疾患である。初発症状は血尿が主体で、本邦における発見機転は健診時の血尿が約70%と大半を占めるが、確定診断には腎生検による病理診断を要する。これまでの基礎研究により IgA 腎症患者血中には、糖鎖異常 IgA1 が増加していることが明らかとなり、糖鎖異常 IgA1 の異常糖鎖を認識する Helix Aspersa agglutinin (HAA)レクチンを利用した方法により初めて定量的に確認された (Moldoveanu Z et al, *Kidney Int*, 2007)。我々は、Moldoveanu らとの共同研究でこの測定系を確立し、同様の検討にて日本人の IgA 腎症患者でも疾患活動性と相関することを確認している。さらに、糖鎖異常 IgA1 の糖鎖異常部位を認識する自己抗体との免疫複合体が病因と深く関わり、疾患活動性によく相関することを見出した。しかし、正常者や他の腎炎患者の一部にも糖鎖異常 IgA1 や糖鎖異常 IgA1 免疫複合体の上昇を認めることから、各マーカー単独では有効な診断はできないことが問題であった。しかし、我々は IgA 腎症 135 症例での予備研究で、血清パラメーターと臨床データを Logistic model を用い、IgA 腎症を特異度 81%・感度 91%で診断可能なスコアリングシステムを開発した (論文投稿中)。この背景をふまえ、複数の健診センターの健診・人間ドック受診者を対象に、上記診断方法を用いて1次スクリーニングでの尿潜血陽性者における潜在的 IgA 腎症患者の割合を明らかにし、IgA 腎症の早期診断・治療介入の礎とすることを、本研究の目的とした。

B. 研究方法

a. 研究実施施設および対象

東京都の健診施設 (元気プラザ、同友会、東京都予防医学協会、野村病院の 4 施設) および、宮崎県内の健診施設 (社会保険宮崎江南病院、同心会古賀総合病院、紘和会平和台病院、延岡医師会病院の 4 施設) に加えて、沖縄県の健診施設 (浦添総合病院健診センター、敬愛会ちばなクリニック、豊見城中央病院附属健康管理センター、沖縄県総合保健協会)、山形県の健診施設 (山形市医師会健診センター、やまがた健康推進機構山形検診センター、山形健康管理センター、高畠町役場げんき館、清永会矢吹病院) も参加し、尿潜血陽性者の二次登録を開始した。尿潜血陽性対象者に対し、順天堂大学附属順天堂医院 (センター病院とする)、東京慈恵会医科大学附属病院、宮崎大学医学部附属病院、琉球大学附属病院、山形大学附属病院、また各健診施設の附属診療所にて、血尿の2次スクリーニングを行う。インフォームドコンセントを得た上で、対象者の検体 (血清 5ml) は、各病院・診療所で回収されたのち、匿名符号化したうえで、順天堂大学医学部腎臓内科に送付される。臨床データの管理、バイオマーカーの測定、データ解析はすべて順天堂大学医学部腎臓内科で行われる。

b. 観察項目

研究対象者の年齢、性別、既往歴、現病歴を聴取する。また、血清クレアチニン (sCr) および血清免疫学的検査 (免疫グロブリン、補体) をエスアールエル検査会社に委託する。バイオマーカー (下記) については、我々がすでに確立した ELISA 系を用いて下記のバイオマーカーを測定する。糖鎖異常 IgA1 については、協和発酵キリン (株) との共同研究で、モノクローナル抗体を用いた ELISA 系を開発し、大量検体の測定体制が可能となった協和メデックスの「KM アッセイセンター」に委託する。

・血中バイオマーカー

IgA

糖鎖異常 IgA1

IgA-IgG 免疫複合体

糖鎖異常 IgA1 特異的 IgA

c. バイオマーカーのスコア化

上述したバイオマーカーと臨床データ（性別・年齢・血尿・尿蛋白量）を主成分分析と logistic model を用いて多変量解析し、スコア化した。我々の基礎研究にて立証されたスコアリングシステムを用いて感度・特異度より、IgA 腎症の疑いがどの程度強いかを評価した。しかし、腎生検にて確定診断がなされた IgA 腎症患者とその他の腎炎患者を対象としたスコアリングシステムでは、尿潜血陽性者を対象とした本研究参加者のスコアが一律高めにでることから、当初のスコアリングシステムより血尿を除外し、本研究に適した logistic model を使用した。この血尿を除外したスコアリングシステムを我々の基礎研究のコホートでも検証し、IgA 腎症患者と健康人のスコアにおける 95%信頼区間から、IgA 腎症の疑いが強い（B 判定）、IgA 腎症の可能性が低い（A 判定）、またその中間のスコア（C 判定）を算出した。

d. 結果報告と臨床転帰の追跡

各健診の臨床データから、尿蛋白陽性、あるいは、sCr 上昇を認める対象者も少なくないことが明らかとなり、結果報告の際に、その点も踏まえて、腎臓専門医受診を推奨する内容を加えることとした。上述したスコアリングシステムにより算出されたスコアを元にした判定（A,B,C）に、サブグループとして、蛋白尿陰性かつ sCr 正常を 1 群、蛋白尿陽性を 2 群、蛋白尿陰性かつ sCr 上昇を 3 群とした（巻末結果報告一

覧参照）。測定されたバイオマーカー、各施設からの臨床情報、スコアリングシステムによる結果判定を Microsoft Access を用いたデータベースに入力し、研究協力施設および研究対象者に結果を送付した。

A 判定といっても、一度は尿潜血陽性を認めていることから、検診または、腎臓専門医での経過観察を推奨する結果報告内容としている。上記の結果報告に基づき、同意が得られた 2 次スクリーニング受診者には、2 次スクリーニング施設にて精密検査・腎生検を推奨し、臨床的転帰の追跡を開始した。

（倫理面への配慮）

インフォームドコンセントを得た上で、対象者の検体（血清 5ml）は、各病院・診療所で回収されたのち、匿名符号化したうえで、順天堂大学医学部腎臓内科に送付される。センター病院および、各基幹病院や健診施設での倫理委員会はすでに承認済みである。

C. 研究結果

東京都内 4 健診施設、宮崎県内 4 健診施設、沖縄県内 4 健診施設、山形県内 5 健診施設の計 16 施設において倫理委員会の承認を得て、尿潜血陽性者の登録が開始された。平成 26 年 1 月末までに、約 1554 検体についてバイオマーカーの測定を完了し、前述のスコアリングシステムを用いてスコアリングを行った。

本研究参加者のスコアを高値群（IgA 腎症の可能性が高い：12.1%）、低値群（IgA 腎症の可能性が低い：41.7%）、中間群（経過観察が必要とされる群：46.2%）の 3 群に分けた。地域別に解析すると、スコア高値群が、宮崎県で 10.7%、東京都 18.8%、沖縄県 16.7%、山形県で 7.3%とかなりば

らつきがみられることがわかった。また、対象者の血中糖鎖異常 IgA1 値を比較すると、宮崎県の対象者で平均 194.9U/mL であったのに対し、山形県の対象者では、平均 162.0U/mL と低値であった。

D. 考察

本研究の参加者は全員尿潜血陽性であるが、地域を問わず、約 7 割の対象者が女性であり、生理中の影響による尿潜血陽性者のような、再現性に乏しい尿潜血陽性者もいることが想定される。本スコアリングシステムを検証し、臨床的に有用性の高いスコアリングシステムを構築するためには、研究対象者の臨床転帰に追跡が必要である。今後、2 次スクリーニング施設での外来受診を推奨し、血尿の再現性、蛋白尿陽性化率、腎生検による確定診断等、臨床的転帰を追跡していく。

E . 結論

2 次スクリーニング対象者の追跡研究として、腎生検結果を含めた臨床経過・転帰のデータ収集を行い、データベースを構築する。我々が考案した IgA 腎症の診断スコアリングシステムを検証し、必要に応じて改訂していく必要がある。

F . 健康危険情報

特記事項なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

・ **Suzuki H**, Raska M, Yamada K, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ, Tomino Y, Gharavi AG, Novak J. Cytokines alter IgA1 O-glycosylation by dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II enzymes. *J Biol Chem*. 2014 in press

・ Suzuki Y, Matsuzaki K, **Suzuki H**, Okazaki K, Yanagawa H, Ieiri N, Sato M, Sato T, Taguma Y, Matsuoka J, Horikoshi S, Novak J, Hotta O, Tomino Y. Serum levels of galactose-deficient immunoglobulin (Ig) A1 and related immune complex are associated with disease activity of IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2014 in press

・ Hastings MC, Moldoveanu Z, **Suzuki H**, Berthoux F, Julian BA, Sanders JT, Renfrow MB, Novak J, Wyatt RJ. Biomarkers in IgA nephropathy: relationship to pathogenetic hits. *Expert Opin Med Diagn* 7: 615-27, 2013

・ **鈴木 仁**, 鈴木祐介, 富野康日己 : IgA 腎症患者扁桃と TLR .Annual Review 腎臓: 47-56, 2013

2 . 学会発表

・ **Suzuki H**, Suzuki Y, Yanagawa H, Novak J, Tomino Y. Tonsils of patients with IgA nephropathy contain cells producing aberrantly glycosylated IgA1 and anti-glycan antibodies: Implications for tonsillectomy. ISN World Congress of Nephrology, 2013, Hong Kong

・ **Suzuki H**. Potential Role of TLR in IgA Nephropathy. 13th International Symposium on IgA Nephropathy. Nanjing, China, 2013

・ Yanagawa H, **Suzuki H**, Suzuki Y, Matsuoka J, Julian BA, Novak J, Tomino Y. Novel diagnostic approach for IgA nephropathy. 13th International Symposium on IgA Nephropathy. Nanjing, China, 2013

・ Takahashi K, **Suzuki H**, Yamada K, Hall S, Moldoveanu Z, Poulson K, Kilian M, Mestecky J, Julian BA, Renfrow MB, Novak J. Molecular Characterization of IgA1 secreted by IgA1-producing cell lines from patients with IgA nephropathy. 13th

International Symposium on IgA Nephropathy. Nanjing, China, 2013

・鈴木 仁、Milan Raska、鈴木祐介、山田耕嗣、Jan Novak、富野康日己：糖鎖不全 IgA1 の産生機序：サイトカインによる糖鎖修飾異常。第 56 回日本腎臓学会、東京、2013

・Suzuki H, Suzuki Y, Makita Y, Yanagawa H, Julian BA, Novak J, Tomino Y. Tonsillar Cells in Patients with IgA Nephropathy Produce Aberrantly Glycosylated IgA1 and Anti-glycan Antibodies. Annual meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, 2013

・Suzuki H, Yanagawa H, Suzuki Y, Satake K, Julian BA, Novak J, Tomino Y. Pathogenic Role of IgA1-containing Immune Complexes in IgA Nephropathy. Annual meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, 2013

・Suzuki H, Raska M, Yamada K, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ, Tomino Y, Gharavi AG, Novak N. Cytokines Accentuate Synthesis of Galactose-deficient IgA1 in IgA Nephropathy by Dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II Enzymes. Annual meeting of American Society of Nephrology, Atlanta, 2013

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1 . 特許取得

特記事項なし

2 . 実用新案登録

特記事項なし

3 . その他

特記事項なし