

- & Bonnerot, C. (2005) *Int. Immunol.*, 17, 879–887.
- 9) Palmerini, C.A., Cametti, C., Sennato, S., Gaudino, D., Carlini, E., Bordini, F., & Arienti, G. (2006) *J. Membr. Biol.*, 211, 185–190.
- 10) Pisitkun, T., Shen, R.F., & Knepper, M.A. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 13368–13373.
- 11) Oshima, K., Aoki, N., Kato, T., Kitajima, K., & Matsuda, T. (2002) *Eur. J. Biochem.*, 269, 1209–1218.
- 12) Nakatani, H., Aoki, N., Nakagawa, Y., Jin-No, S., Aoyama, K., Oshima, K., Ohira, S., Sato, C., Nadano, D., & Matsuda, T. (2006) *Biochem. J.*, 395, 21–30.
- 13) Hanayama, R., Tanaka, M., Miwa, K., Shinohara, A., Iwamatsu, A., & Nagata, S. (2002) *Nature*, 417, 182–187.
- 14) Larocca, D., Peterson, J.A., Urrea, R., Kuniyoshi, J., Bistrain, A.M., & Ceriani, R.L. (1991) *Cancer Res.*, 51, 4994–4998.
- 15) Rajendran, L., Honsho, M., Zahn, T.R., Keller, P., Geiger, K. D., Verkade, P., & Simons, K. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103, 11172–11177.

青木 直人¹, 松田 幹²

⁽¹⁾ 三重大学大学院生物資源学研究科生物圏生命科学専攻,

² 名古屋大学大学院生命農学研究科応用分子生命科学専攻)

Secreted membrane vesicles: components and biological functions

Naohito Aoki (Department of Life Sciences, Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577 Kurimamachiya-cho, Tsu, Mie 514-8507, Japan) and Tsukasa Matsuda (Department of Applied Molecular Biosciences, Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi 464-8601, Japan)

IgA の糖鎖不全と IgA 腎症

1. はじめに

IgA 腎症は 1968 年にフランスの Berger らによって初めて報告され、アジア太平洋地域と南ヨーロッパに多くの患者が報告されている。日本人に特に多く、我が国では慢性糸球体腎炎の約半数を占める代表的な腎疾患である。20 歳代をピークに子供から大人まで幅広い年代で発症し、進行は緩慢であるが、20 年の歳月を経て、約 40% の患者が人工透析や腎臓移植を必要とする腎不全に陥る予後不良の難治性疾患である。働き盛りの年代に人工透析が必要となるために、患者の QOL の著しい低下と共に経済的な損失も大きな社会問題となっている。

学校や職場での検尿で無症候性の血尿・蛋白尿として発見されることが多く、確定診断には腎生検が必要である。

①メサングウム細胞と基質の増殖性変化（光学顕微鏡所見）、②メサングウム領域を主体とする IgA 優位の沈着（蛍光免疫染色）、③メサングウム基質内、特にパラメサングウム領域を主体とする高電子密度物質沈着（電子顕微鏡所見）の三つが確定診断とされている。

血中の IgA を主体とする免疫複合体が腎糸球体のメサングウム領域に沈着することが原因であると考えられるが、発症の分子機構はよくわかっていない。原因抗原として、細菌やウイルス、食物、自己抗原などが疑われたが、確定的なものは見出されていない。一方、糸球体のメサングウムにおける IgA 特異的な受容体の関与が提唱されている。その候補として、Fcα 受容体、アシアロ糖タンパク質受容体、ポリ IgA 受容体、Fcα/μ 受容体、トランスフェリン受容体などが登場したが、これらが IgA 腎症の原因となってるか否かは不明である。

2. IgA 腎症と IgA1 の O 型糖鎖不全

IgA 腎症は IgA が特異的に沈着することが特徴であり、腎臓移植を行っても高率に再発し、逆に IgA 腎症の腎臓を移植してしまった事例では IgA 沈着が消失したことから、IgA 分子の研究が進められた。ヒト IgA は IgA1 と IgA2 のサブクラスが存在するが、糸球体への沈着が IgA1 優位であることから、IgA1 に特徴的な構造に注目が集まった。ヒトと霊長類だけが IgA1 を持ち、そのヒンジ部のアミノ酸配列は Ser と Thr に富んでおり、血清糖タンパク質には珍しい O 型糖鎖が 5 か所程度に付加することが知られている（図 1A）。IgA 腎症患者の血清 IgA1 や糸球体へ沈着している IgA1 の O 型糖鎖の構造が詳細に解析され、ガラクトースやシアル酸の欠損が検出された（図 1C）^{1,2)}。また、IgA1 の O 型糖鎖を酵素学的に除去すると、自己凝縮してメサングウムの細胞外マトリックスに結合しやすくなり³⁾、ラットの腎動脈に大量に投与すると糸球体に沈着した⁴⁾。以上の結果から、O 型糖鎖不全の IgA1 が IgA 沈着の原因であるとの説が提唱された。一方、IgA 腎症患者では、O 型糖鎖不全 IgA1 の露出した GalNAc に対する IgA1 や IgG タイプの自己抗体が産生されて、免疫複合体を形成しているという報告がなされた⁵⁾。自己免疫が IgA 腎症の原因となっている可能性もある。

3. IgA 腎症の動物モデル

IgA 腎症の発症機構の解明と治療法の開発のためには、

適切な動物モデルの開発が不可欠である。「自然発症モデル」としては、加齢に伴って高 IgA 血症と糸球体への IgA 沈着を示した ddY マウスを高 IgA 血症を指標に近交系化した HIGA マウスが有名である⁶⁾。実験操作を加えずに IgA 腎症を発症することができたが、原因遺伝子が不明であるため、今後の研究が待たれるところである。

「遺伝子改変モデル動物」は、改変した遺伝子の情報がはっきりしているので、発症の分子機構の解明に直結するモデルである。抗炎症作用を持つウテログロビンの KO マウスは、糸球体に IgA と C3 及びフィブロンネクチンやコラーゲンの沈着を認め、IgA 腎症に酷似した病態を示した⁷⁾。ウテログロビンはフィブロンネクチンと結合することにより、フィブロンネクチンと IgA の複合体の形成と沈着を阻害していることが示された。また、IgA の特異的な受容体の一つである Fcα 受容体を単球で過剰発現するトランスジェニック (Tg) マウスは、IgA 腎症患者と同様に血中に多量の Fcα 受容体と IgA の複合体が検出され、それが糸球体に沈着して IgA 腎症様病態を発症した⁸⁾。実際に IgA 腎症患者の血中に Fcα 受容体と IgA の複合体が検出されており、可溶性 Fcα 受容体の過剰産生は IgA 腎症を引き起こすことが示された。一方、リンフォトキシン β のリガンドである Light を T 細胞で過剰発現する Tg マウスが激しい消化管炎症を起こして IgA 腎症様病態を発症することが報告された⁹⁾。消化管炎症が多量体 IgA の過剰産生と粘膜輸送の破綻をきたし、血中に多量の多量体 IgA が循環することになり、それが糸球体に沈着して IgA 腎症を引き起こすと考えられた。実際に潰瘍性大腸炎の患者は IgA 腎症を併発する確率が高いことが示された。

4. β4-ガラクトース転移酵素-I 欠損マウスに発症する IgA 腎症

我々は生体内での糖鎖機能を解析するために、N 型糖鎖の 2 型基幹構造や O 型糖鎖のコア 2 構造の生合成に必須の β4-ガラクトース転移酵素 (β4GalT) 遺伝子群の KO マウスを作成して研究を進めている。β4GalT は七つの遺伝子からなるファミリーを形成しており、その中でも β4GalT-I は脳神経系以外では最も強く発現しており、大部分の血清糖タンパク質の N 型糖鎖の Galβ1→4GlcNAc の生合成を担っている。これまでの我々の研究から、β4GalT-I KO マウスは、出生後に成長遅延を示して一部が致死となること¹⁰⁾、セレクチンのリガンド糖鎖の生合成が障害されることにより炎症性細胞の浸潤が低下して、皮膚の炎症反応が減弱したり¹¹⁾、皮膚創傷治癒が遅延するこ

と¹²⁾を報告してきた。また、Shur らのグループは脳下垂体前葉ホルモンの異常のために下垂体の低形成が起きることを報告している¹³⁾。

無事に離乳できた β4GalT-I KO マウスも 10 週齢を過ぎるころから、腎臓に異常を生じて死亡する個体が散発するようになる。尿検査を行ったところ、3 か月齢よりすでに尿中にアルブミンが検出され、一部の個体には血尿も見られた。糸球体の組織切片からは、メサングウム基質の激しい増生と免疫複合体のメサングウムへの沈着が観察された (図 2A-F)。月齢を追って糸球体病変を定量したところ、2-3 か月齢ですでに約 75% の糸球体が分節性病変を示し、7 か月齢ではほぼすべての糸球体に病変が検出され、約 25% の糸球体は全節性病変を示した (図 2G)。また、糸球体硬化の程度も月齢が進むと共に、割合が高くなった。沈着している免疫複合体の正体を明らかにするために蛍光免疫染色を行ったところ、メサングウム領域に IgA の強いシグナルが検出され、IgG と IgM のシグナルも検出された (図 3A-H)。また、補体の C3 の沈着も認められ、IgA と C3 は加齢と共に強く沈着する傾向が見られた。免疫複合体の沈着はパラメサングウム領域であることが電子顕微鏡観察により確認された (図 3 I)。以上の結果は、前述のヒト IgA 腎症の診断基準に合致し、β4GalT-I KO マウスは新しい IgA 腎症モデルであるといえる¹⁴⁾。なお、ヒトの場合は顕微鏡的血尿が必見所見であるが、このマウスでは血尿の頻度は低く、間質や糸球体への細胞浸潤も顕著ではない。このマウスではセレクチンのリガンド糖鎖の生合成が障害されており、細胞浸潤が低下していることから¹¹⁾、炎症による血尿が顕著ではない IgA 腎症モデルと位置づけることができる。

5. β4GalT-I KO マウスにおける IgA 腎症の発症機構

IgA 腎症患者では高 IgA 血症が見られることが多く、血中の IgA 濃度が高いことが IgA 沈着の一因となっていると思われる。β4GalT-I KO マウスの血中免疫グロブリン濃度を測定したところ、IgG や IgM は正常値の範囲内であったが、IgA だけが著しく高い値を示した。Light の Tg マウスのように消化管炎症を起こしてはいないし、消化管の粘膜輸送も正常であり、高 IgA 血症の原因は現在解析中であるが、ヒトと同様に IgA 沈着の一因となっている可能性がある。また、血中の IgA の性状をゲル濾過や非還元ポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析したところ、血中の IgA は多量体を形成していることがわかった。これも IgA 腎症患者において観察される所見である。

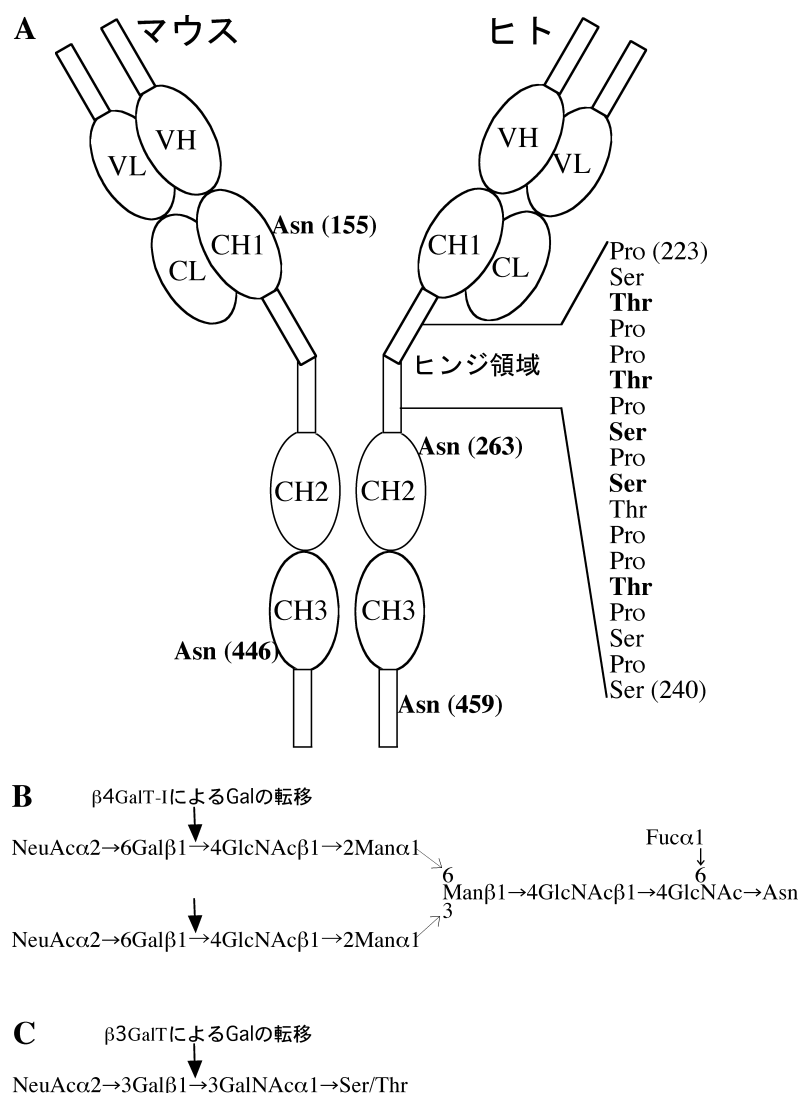


図1 ヒトとマウスのIgAの模式図と付加する糖鎖

A: 左にマウスのIgA, 右にヒトのIgA1の模式図を示す。マウスのIgAのヒンジ領域にはO型糖鎖は付加しないが, CH1領域とCH3領域にN型糖鎖が付加する。ヒトのIgA1のヒンジ領域はThrとSerが多く, 太字のThrとSerにはO型糖鎖が付加すると考えられている。また, CH2領域とC末端にN型糖鎖が付加する。

B: IgAに付加するN型糖鎖の代表的な例と $\beta 4\text{GalT-I}$ の作用点。 $\beta 4\text{GalT-I}$ KOマウスでは $\text{NeuAc}\alpha 2 \rightarrow 6\text{Gal}$ 部分が完全に欠損。

C: O型糖鎖の代表的な例と $\beta 3\text{GalT}$ の作用点。IgA腎症患者では $\text{NeuAc}\alpha 2 \rightarrow 3\text{Gal}$ 部分が一部欠損。

先に述べたようにヒトIgA1のO型糖鎖不全が, IgA1の多量体形成と糸球体沈着を引き起こしている可能性が考えられている。しかし, マウスのIgA (マウスにはIgAのサブタイプは存在しない) のヒンジ領域のアミノ酸配列はヒトのそれと大きく異なり, O型糖鎖は結合しない。一

方, ヒトとマウスのIgAにはN型糖鎖が2か所結合する (図1A)。MALDI-TOF MSにより $\beta 4\text{GalT-I}$ KOマウスの血清IgAのN型糖鎖構造を決定したところ, 完全にガラクトースとシアル酸が欠損していた (図1B)。以上のことから, 少なくともマウスにおいてはIgAのN型糖鎖不全に

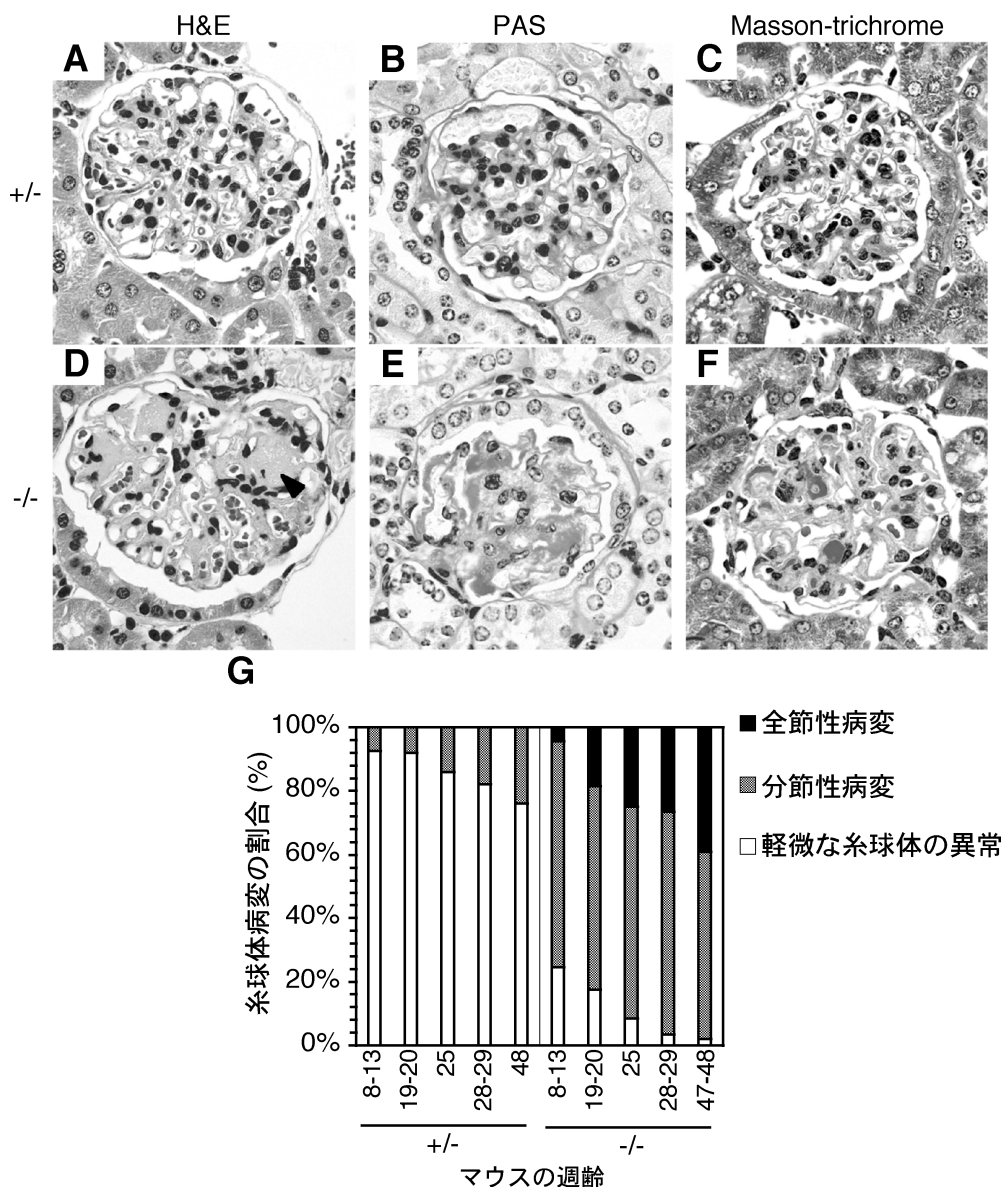


図2 $\beta 4\text{GalT-I KO}$ マウスの腎糸球体の組織像と糸球体病変の進行 (文献 14 より)
 A-C: コントロールマウスの糸球体の病理像, D-F: $\beta 4\text{GalT-I KO}$ マウスの糸球体の病理像. A, D: ヘマトキシリン・エオジン染色, B, E: PAS 染色, C, F: Masson-trichrome 染色. メサンギウム基質の著しい増生が認められる. G: 各週齢における糸球体病変の程度. $\beta 4\text{GalT-I KO}$ マウスの方が明らかに糸球体病変の程度が重篤であり, 週齢が進むに従ってひどくなっている.

よって, IgA の多量体形成を誘導して, 糸球体への IgA の沈着を引き起こしている可能性が考えられた (図 4)¹⁴⁾. なお, $\beta 4\text{GalT-I}$ と同様に *N* 型糖鎖の生合成に重要な α -マンノシダーゼ-II の KO マウスが自己免疫疾患の全身性エリテマトーデス (SLE) 様の病態を呈したが, $\beta 4\text{GalT-I KO}$ マウスの血中の IgG と IgA タイプの抗二重鎖 DNA 抗体価は上昇しておらず, SLE 様の病態は発症していなかった.

しかし, $\beta 4\text{GalT-I KO}$ マウスは多くの糖タンパク質糖鎖でガラクトースが欠損しているので, IgA の *N* 型糖鎖不全以外の可能性を否定することはできない. 野生型マウスと KO マウスとの間の骨髄移植や腎臓移植を行うことで, 更なる証拠を得たいと考えている.

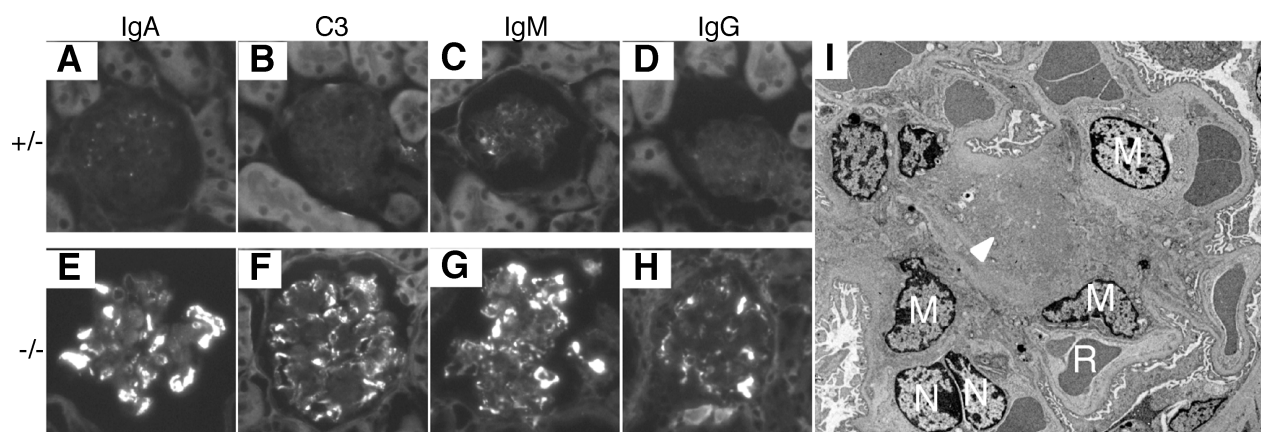


図3 糸球体の蛍光免疫染色と電子顕微鏡観察（文献14より）

A-D: コントロールマウスの糸球体の蛍光免疫染色, E-H: β 4GalT-I KO マウスの糸球体の蛍光免疫染色. A, E: IgA, B, F: C3, C, G: IgM, D, H: IgG. I: β 4GalT-I KO マウスの糸球体の電子顕微鏡写真. M はメサンギウム細胞, N は内皮細胞, R は赤血球を示す. 矢頭はパラメサンギウム領域に沈着した高電子密度物質.

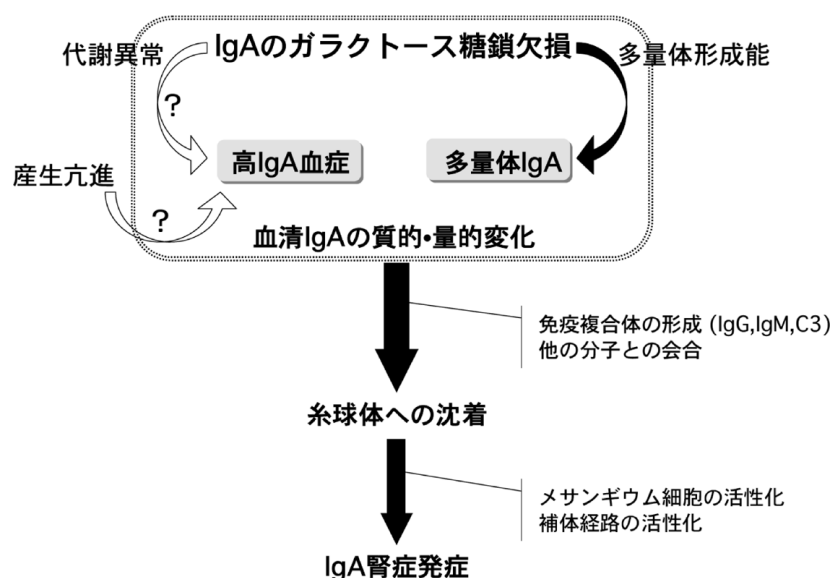


図4 β 4GalT-I KO マウスにおける糖鎖不全 IgA による IgA 腎症発症の仮説

糖鎖不全 IgA は自己凝集を形成すると共に, 他の免疫グロブリンや他の分子と複合体を形成する. 一方, IgA の産生亢進や血中クリアランスの異常などにより血中の IgA 濃度が高くなる. 血清 IgA が質的・量的に変化することにより, 糸球体への IgA の沈着が誘導される. IgA 沈着はメサンギウム細胞を活性化し, 補体経路も活性化することにより, IgA 腎症を引き起こすと考えられる.

6. IgA の糖鎖不全と IgA 腎症

β 4GalT-I KO マウスの結果は, O 型糖鎖と N 型糖鎖の違いがあるものの, IgA の糖鎖不全が IgA の自己凝集を誘導して, 糸球体への沈着を引き起こしていることを示唆している. 血清糖タンパク質には珍しいこともあって, ヒト IgA1 の O 型糖鎖の構造がよく研究されたが, β 4GalT-I

KO マウスの結果は N 型糖鎖についても見直す必要性を提起している. 実際にレクチンを用いた解析ではあるが, N 型糖鎖異常を検出した報告もあるので, 今後の解析が期待される.

IgA の糖鎖異常はなぜ起きるのであろうか. このマウスのように β 4GalT-I 遺伝子に変異が入っている可能性はあったとしても非常に稀なケースと思われる. O 型糖鎖

については $\beta 3\text{GalT}$ 遺伝子群がガラクトースの転移を担うが、IgA 腎症患者でその活性が低下している例を報告している。しかし、明確な遺伝子変異や一塩基多型 (SNP) は見つかっていない。家族性が疑われる IgA 腎症も存在するが、このような糖転移酵素の遺伝子変異が主な原因である可能性は非常に低い。一方、臨床の現場では扁桃摘出を行うと IgA 腎症が緩解した例が数多く報告されている。IgA 腎症患者の扁桃由来の IgA は、O 型糖鎖不全で多量体を形成していることが報告されている¹⁵⁾。感染等の刺激で扁桃での IgA への糖鎖付加に異常をきたし、血中に分泌された一部の糖鎖不全 IgA が核となって凝集体が形成されて、それが糸球体へ沈着する説が提唱されている。今後、扁桃における糖転移酵素の発現や IgA への糖鎖付加について研究を進めて行く必要がある。

7. お わ り に

このミニレビューでは、IgA 腎症患者の IgA1 に O 型糖鎖不全が検出されることと、IgA の N 型糖鎖不全を示す $\beta 4\text{GalT-I}$ KO マウスが IgA 腎症様病態を発症したことから、IgA の糖鎖不全に焦点を絞った話題を紹介したが、メサンギウムにおける IgA 受容体の異常発現や自己免疫説等もさらに検討を必要とする。IgA 腎症の原因が一つである必要もないので、今後もあらゆる方面からの検討を重ねてこの疾患の発症機構の解明と治療法の開発に貢献できればと考えている。

最後に $\beta 4\text{GalT-I}$ KO マウスの IgA 腎症様病態の解析は、宮石理 (中部労災病院)、東治人 (大阪医科大学泌尿器科)、亀山昭彦、成松久 (産業技術総合研究所糖鎖工学センター)、和田隆志 (金沢大学第一内科)、横山仁 (金沢医科大学腎臓内科)、成瀬智恵、橋本憲佳 (当研究室) の諸先生方との共同研究である。この場を借りて感謝いたします。

- 1) Odani, H., Hiki, Y., Takahashi, M., Nishimoto, A., Yasuda, Y., Iwase, H., Shinzato, T., & Maeda, K. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 271, 268–274.
- 2) Allen, A.C., Bailey, E.M., Brenchley, P.E., Buck, K.S., Barratt, J., & Feehally, J. (2001) *Kidney Int.*, 60, 969–973.
- 3) Kokubo, T., Hiki, Y., Iwase, H., Tanaka, A., Toma, K., Hotta, K., & Kobayashi, Y. (1998) *J. Am. Soc. Nephrol.*, 9, 2048–2054.
- 4) Sano, T., Hiki, Y., Kokubo, T., Iwase, H., Shigematsu, H., & Kobayashi, Y. (2002) *Nephrol. Dial. Transplant.*, 17, 50–56.
- 5) Tomana, M., Novak, J., Julian, B.A., Matousovic, K., Konecny,

- K., & Mestecky, J. (1999) *J. Clin. Invest.*, 104, 73–81.
- 6) Miyawaki, S., Muso, E., Takeuchi, E., Matsushima, H., Shibata, Y., Sasayama, S., & Yoshida, H. (1997) *Nephron*, 76, 201–207.
- 7) Zheng, F., Kundu, G.C., Zhang, Z., Ward, J., DeMayo, F., & Mukherjee, A.B. (1999) *Nat. Med.*, 5, 1018–1025.
- 8) Launay, P., Grossetete, B., Arcos-Fajardo, M., Gaudin, E., Torres, S.P., Beaudoin, L., Patey-Mariaud de Serre, N., Lehuen, A., & Monteiro, R.C. (2000) *J. Exp. Med.*, 191, 1999–2009.
- 9) Wang, J., Anders, R.A., Wu, Q., Peng, D., Cho, J.H., Sun, Y., Karaliukas, R., Kang, H.S., Turner, J.R., & Fu, Y.X. (2004) *J. Clin. Invest.*, 113, 826–835.
- 10) Asano, M., Furukawa, K., Kido, M., Matsumoto, S., Umesaki, Y., Kochibe, N., & Iwakura, Y. (1997) *EMBO J.*, 16, 1850–1857.
- 11) Asano, M., Nakae, S., Kotani, N., Shirafuji, N., Nambu, A., Hashimoto, N., Kawashima, H., Hirose, M., Miyasaka, M., Takasaki, S., & Iwakura, Y. (2003) *Blood*, 102, 1678–1685.
- 12) Mori, R., Kondo, T., Nishie, T., Ohshima, T., & Asano, M. (2004) *Am. J. Pathol.*, 164, 1303–1314.
- 13) Lu, Q., Hasty, P., & Shur, B.D. (1997) *Dev. Biol.*, 181, 257–267.
- 14) Nishie, T., Miyaishi, O., Azuma, H., Kameyama, A., Naruse, C., Hashimoto, N., Yokoyama, H., Narimatsu, H., Wada, T., & Asano, M. (2007) *Am. J. Pathol.* 170, 447–456.
- 15) Horie, A., Hiki, Y., Odani, H., Yasuda, Y., Takahashi, M., Kato, M., Iwase, H., Kobayashi, Y., Nakashima, I., & Maeda, K. (2003) *Am. J. Kidney Dis.*, 42, 486–496.

浅野 雅秀, 西江 敏和

(金沢大学学際科学実験センター・遺伝子改変動物分野)

Aberrant glycosylation of IgA and IgA nephropathy
Masahide Asano and Toshikazu Nishie (Division of Transgenic Animal Science, Kanazawa University Advanced Science Research Center, 13-1 Takara-machi, Kanazawa 920-8640, Japan)

リソソーム病の分子病理と治療ターゲット

1. は じ め に

リソソーム病は、リソソームに存在する酸性加水分解酵素及び関連因子の遺伝子変異が原因で、酵素活性低下とその基質のリソソームへの過剰蓄積を伴って、全身性に細胞・臓器障害を惹起する単一遺伝子病群である。リソソーム病は、障害を受ける酵素や蓄積する代謝産物により分類され、現在 40 種類以上存在する。

GM2 ガングリオシドーシスは、リソソーム中の加水分解