

家族性IgA腎症の疾患遺伝子マッピング

●塚口 裕康

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・病態情報医学

＜研究の目的と進め方＞

末期腎不全で透析療法導入に至る患者数は年々増加の一途を辿っているが、IgA腎症はその代表的な原因疾患である。本症は我が国を含むアジア諸国に頻度が高く、遺伝素因の解明は医学的のみならず社会的にも要請が高い課題である。発症機序としてアレルギー説、免疫グロブリン分子の異常説、腎糸球体自体に免疫複合体の沈着を引き起こす異常があると考えられる説など諸説が提唱されているが分子レベルでの病態解明には至っていない。

従来から、本症の家族性集積例が報告され、遺伝要因の関与が指摘されてきた。本邦では親子・兄弟例など小規模家系を対象としたHLA解析や孤発例連鎖不平衡解析が主に行われてきた。浸透率が比較的高い、まれな疾患遺伝子を探索するためには、相関研究と違ったアプローチ、特にメンデル遺伝型型のIgA腎症例を対象としたパラメトリック連鎖解析研究が望まれる。申請者らは、家族性巣状糸球体硬化症で用いた方法 (MLINK, GENEHUNTER programによるパラメトリック連鎖解析1)-3))を家族性IgA腎症にも適用し、病態の解明を目指す。

＜研究開始時の研究計画＞

1) 獲得目標

- 1 家族集積例の調査と検体収集
- 1 家系内臨床表現型の検討
- 1 症例の病理学的検討
- 1 候補遺伝子領域の部分ゲノムスキャン
- 1 パラメトリック解析によるゲノムワイドスキャン
- 2) 研究計画

多発家系の地道な集積と正確な臨床情報に基づいた連鎖解析による候補遺伝子の絞り込みという分子遺伝学の基本的手法を用いる。

1 家系調査と検体収集

3省合同の遺伝子研究倫理指針に基づいて作成し、遺伝子研究倫理審査委員会承認済みのプロトコルを用いて、各施設と連携し、家系調査と患者検体の収集を行なう。IgA腎症がアジア諸国で多発することに着目し、中国解放軍総院腎病科・陳香美教授とIgA腎症例の臨床比較調査を進める。

1 家系内臨床表現型の検討

家族集積（遺伝様式）を調べると同時に、アレルギー歴、薬剤、特定の抗原暴露の有無など外的・環境要因の関与についても情報収集を行う。

1 症例の病理学的検討

各患者の罹患状態の判定には、腎生検標本 (HE, PAS, PAM) の光顕所見、蛍光抗体による免疫染色 (IgA, C3) の沈着の確認、電顕所見 (基底膜病変の有無) を参考に作成し、診断する。重症度分類は厚労省調査班報告「IgA腎症診療指針第2版 (2002)」を参照する。

1 候補遺伝子領域の部分ゲノムスキャン

検体収集と臨床表現型のデータ解析が終了した家系から候補領域部分ゲノムスキャンを行う。まず欧米でmajor locusと報告されているIGAN1 (6q22-23)について検討す

る。次に過去の研究結果から推測される候補遺伝子、例えば uteroglobin, IgA Fc受容体 (CD89), HLA領域、 β 1,3-galactosyltransferase、等への連鎖を調べる。具体的には候補遺伝子を含む領域内にマイクロサテライトマーカーを配置し、ハプロタイプ解析や MLINK, GENEHUNTER programによるロッド値算定を行い、連鎖の有無を検討する。

1 全ゲノムスキャン

全染色体領域に、10cM間隔でマイクロサテライトマーカーを配置して、ゲノタイピングを行う。LOD>1.5以上の陽性領域については、マーカーを高密度で配置して候補領域の狭小化を図る。候補遺伝子の位置はUCSCのゲノムブラウザを参考にする。連鎖解析ソフトはGENEHUNTERの他、SimWalk2やMerlinも併用する。

＜研究期間の成果＞

① 家系調査

不完全浸透率・常染色体優性遺伝様式に合致する多発家系4症例を中心に調査を行った。一卵性双生児に発症している例、劣性遺伝の兄弟例、紫斑病とIgA腎症が混在する集積例などについても新たな情報が得られた。また地域的な集積の有無に関する情報収集を行った。

② 候補遺伝子のスクリーニング

家系IgAN-MH (患者6名、健常7名)について候補遺伝子座6q22 (IGAN1)、polymeric Ig 受容体 (1q31)、セレクチン遺伝子クラスター (1q21)との連鎖解析を行った。常染色体優性遺伝・不完全浸透率 (75-85%) のモデル下での領域内4マーカーの2点及び多点LOD値はいずれも-2.0以下で、連鎖を否定した。

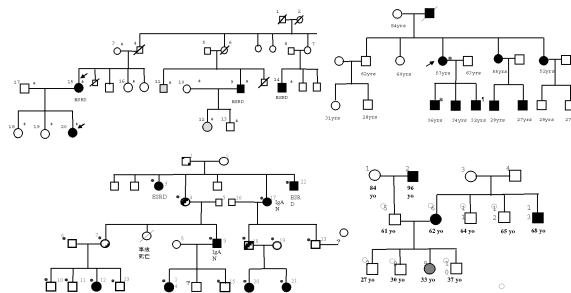


図 IgA腎症の多発家系
常染色体優性、不完全浸透率の遺伝様式が考えられる。家系内の少なくとも2名は腎生検でIgA腎症と診断されている。家系内に、検尿異常、透析患者が多発している。

③ 家系IgAN-TT (患者8名、不明3名、健常人7名)のタイピング前の検出力評価を行った。SLINKプログラムによるsimulationでは最大予測LOD値=3.2で、LOD値>1.5レベルのスコア検出力は70%以上であった (empirical P<0.05)。候補領域への連鎖の検討とゲノムワイドでの疾患遺伝子探索を行っている。

＜国内外での成果の位置づけ＞

欧州特にイタリアを中心とした国際コンソーシアム2000年に米国とイタリアの国際研究チームが家族性IgA

腎症の30家系を解析し、その60%が遺伝子座IGAN1 (6q22-23)にマップされた報告した。しかし、我が国ではこの遺伝子座が発症にどの程度関与するのか、詳しくはわかっていない。またIGAN1領域から、疾患遺伝子も明らかでない特定されていない。本研究は、家族集積例を対照としたパラメトリック連鎖解析としては国内で随一である。さらに本症は欧米諸国に比べてアジア地域で発症頻度が多いことから本研究は国内外において重要な一端を担っている。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

1. 罹患状況の調査と診断確定

マッピングの成否の鍵を握る、疾患の臨床診断と罹患状況の確認に予想以上の労力と時間を要した。特に最近イタリアのグループから、家族性IgA腎症と基底膜疾患 (Alport 症候群、Thin basement membrane disease) との鑑別が重要であることが指摘されている。研究代表者らは、この点をふまえて生検標本の免疫蛍光染色所見や電顕所見の再確認を行った。

2. サンプル収集

血液検体の収集のみならず家系内の健常者を含む成員の検尿や生化学データの調査と、検査承諾を得る患者説明に時間を要した。

〈今後の課題〉

本邦において、進行性腎障害・慢性腎不全の主因である IgA腎症の疾患遺伝子のマッピングは、増加の一途を辿る透析患者・医療費の抑制に貢献するという重要な意義を有している。

ポストゲノム時代に突入した現在、多因子疾患である IgA腎症の疾患遺伝子解析に必要な基盤データベースが整い、疾患遺伝子の同定も現実的に可能になりつつある。現在、全ゲノム連鎖解析を進めており、研究成果を正しい病態理解に基づいた根本的治療法の開発に役立てたい。

1. アジア諸国との共同研究の推進

本症がアジア諸国に頻度が多いということから、疾患遺伝子の同定にはアジア諸国の共同研究が重要と考えられる。症例を増やして、我が国を始めとするアジアの研究グループから世界に発信できる成果を出せるよう研究を継続する。

2. 疾患概念の見直し

本研究の調査で、家系内にIgA腎症と、紫斑病性腎炎が同時に集積する症例が少なからず存在することがわかってきた。以前からこの2つの疾患の異同については様々な議論がなされ、病因論的には共通の要因があり、紫斑病を全身型、IgA腎症を血管炎を欠く臓器特異型 (monosymptomatic form) とする見方が主流である。しかし、コンセンサスが得られておらず、今後家族集積例の研究と病態解明を通じて、疾患概念が整理、確立されていくことが望まれる。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Tsukaguchi H, Yager H, Dawborn J, Jost L, Cohlmiä J, Abreu PF, Pereira AB, Pollak MR. A locus for adolescent and adult onset familial focal segmental glomerulosclerosis on chromosome 1q25-31. *Am Soc Nephrol.* 11: 1674-1680, 2000.

2. Tsukaguchi H, Sudhakar A, Le TC, Yao J, Nguyen T, Schwimmer J, Schachter A, Poch E, Abreu PF, Appel G, Pereira AB, Kalluri R, Pollak MR. NPHS2 Mutations in late onset focal segmental glomerulosclerosis: R229Q is a

common disease-associated allele. *J Clin Invest.* 110: 1659-1666, 2002.

3. Maruyama K, Iijima K, Ikeda M, Kitamura K, Tsukaguchi H, Yoshiya K, Hoshii S, Wada N, Uemura O, Satomura K, Honda M, Yoshikawa N. NPHS2 mutation in sporadic steroid-resistance nephrotic syndrome in Japanese children. *Pediatr Nephrol.* 18: 412-416, 2003.

4. Tsukaguchi H. A genetic mapping for a familial IgA nephropathy. *Nephrology (Carlton).* Suppl 2:A65, 2004.