

## ネフローゼ症候群における免疫細胞関与機構の解明

石井直人<sup>1)</sup>, 菊池敦生<sup>2)</sup>

1) 東北大学大学院医学系研究科 免疫学分野

2) 東北大学大学院医学系研究科 小児病態学分野

### 【研究の背景】

ネフローゼ症候群は重度の蛋白尿と低蛋白血症を主症状とする疾患であり、ステロイド感受性ネフローゼ症候群では免疫異常が病態形成に関与することが想定されている。一方、その原因遺伝子に関してはステロイド抵抗性の先天的ネフローゼ症候群では 20 種以上の報告があるが、小児ネフローゼ症候群の 80%を占めるステロイド感受性ネフローゼ症候群では、HLA 多型を除いて、報告はない。したがって、ステロイド感受性ネフローゼ症候群の発症に関与する遺伝子の同定は重要な研究課題である。

### 【目 的】

筆者らは、ステロイド感受性ネフローゼ症候群を家族内発症した姉妹 2 人と健常両親 (2 人) および健常妹の家族 5 人の全エクソームシーケンス解析を行った。本家族におけるネフローゼ症候群発症を常染色体劣性遺伝と仮定し、それに合致する遺伝子多型/変異を検索したところ、患者特異的に IL-1 receptor accessory protein (IL-1RAP (別名 IL-1R3)、遺伝子名 *IL1RAP*) の複合ヘテロ接合型ミスセンス多型/変異; p.I175T および p.R221H を見いだした。患者らの両親はそれぞれ片アリルにミスセンス多型/変異 (p.I175T (父)あるいは p.R221H (母)) を有し、もう一方は野生型であった。患者らの健康な妹は両アリルとも野生型であった。IL-1RAP は、IL-1、IL-33、IL-36 の受容体に共通のサブユニットであることから、これらのサイトカインのシグナル異常がネフローゼ症候群発症に関与する可能性が想定された。そこで、本研究では、同定したミスセンス多型/変異を有する IL-1RAP の受容体としての機能を評価することで、その機能異常を明らかにし、さらに、IL-1RAP 欠損マウスを用いて、IL-1RAP 機能異常とネフローゼ症候群発症との関連について明らかにすることを試みた。

### 【方 法】

- 1) ネフローゼ症候群患者 2 名と健常家族 2 名の末梢血由来単核球を IL-1 $\beta$  で刺激し、誘導されるサイトカインおよびケモカイン遺伝子発現量を qPCR で測定した。
- 2) IL-1 受容体は、IL-1 に固有の IL-1R1 分子と IL-1RAP のヘテロ二量体で構成される。いずれの分子も発現していないヒト赤芽球系細胞株 K562 細胞に野生型 IL-1R1 遺伝子を外因性に発現させた後、IL-1R1 発現 K562 細胞をクローン化した。
- 2-1) それぞれの IL-1R1 発現 K562 クローンに、野生型あるいは患者由来の 2 種の IL1RAP 変異体 (p.I175T あるいは p.R221H) を遺伝子導入し、多型/変異 IL-1 受容体を発現する K562 細胞を樹立した。これらの細胞表面の IL-1 受容体の IL-1 $\beta$  への結合能を、ビオチン化 IL-1 $\beta$  の細胞表面への結合量をフローサイトメーターで測定することによって評価した。
- 2-2) それぞれの IL-1R1 発現 K562 クローンを IL-1 $\beta$  で刺激し、IL-1 刺激で誘導されるサイトカインおよびケモカインの発現量を測定した。
- 3) ネフローゼ症候群発症における IL-1RAP の関与を証明するために、IL-1RAP 欠損マウスに LPS を投与し、LPS 誘発

腎炎を誘導した。LPS 投与後 24 時間、48 時間の尿中アルブミン濃度を定量し、腎炎の重症度を測定した。

## 【結 果】

- 1) 患者由来の末梢血単核細胞を IL-1 $\beta$  で刺激したところ、母と健常妹由来単核細胞に比べ、*IL8*、*TNFA*、*CCL3* の mRNA 量の減弱を認めた。
- 2-1) 患者由来の IL-1RAP によって再構成された IL-1 受容体は、I175T と R221H のいずれの変異においてもリガンド (IL-1 $\beta$ ) の結合能が強く障害されていた。
- 2-2) 変異型の IL1RAP の遺伝子を導入した細胞株を IL-1 $\beta$  で刺激したところ、野生型の細胞株と比べ、*IL8*、*TNFA*、*CCL3* の mRNA 量の有意な減弱を認めた。
- 3) IL-1RAP 欠損マウスに LPS 誘発腎炎を誘導し、その尿中アルブミン濃度を測定した。その結果、LPS 投与 24 時間後および 48 時間後において、野生型マウスと有意な差は認められなかった。

## 【考 察】

ステロイド感受性ネフローゼ症候群症候群家系から同定された IL-1RAP 多型/変異はリガンド結合能およびシグナル伝達能においてその機能が低下していることが証明された。筆者の知る限り、ヒトにおける IL-1RAP 変異の最初の報告である。しかし、一家系内での変異であることから、現時点で、IL-1RAP 変異がネフローゼ症候群の原因であると断定することはできない。今後、他のネフローゼ症候群患者からも IL-1RAP 変異を同定されることで、その確証が高まるものと考えられる。また、マウスを用いた実験からは IL-1RAP 変異と腎炎発症との関連性を示す証拠は得られなかった。マウスにおいて、ステロイド感受性ネフローゼ症候群の良いモデルが存在しないため、新たな解析系が必要である。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

IL-1RAP は、IL-1、IL-33、IL-36 の受容体サブユニットであり、本研究で見いだした IL-1RAP 変異は、これらのサイトカインのシグナル伝達障害を惹起すると考えられる。これらのサイトカインの機能低下とネフローゼ症候群発症との関連が明らかになれば、同症候群の治療法の開発に資する重要な知見となるものと考えられる。

## 【参考・引用文献】

当該研究成果を投稿中である。