

特集：膜性腎症

## 特発性膜性腎症をめぐる話題：up to date

今井 圓裕

### はじめに

特発性膜性腎症とは、糸球体基底膜上皮下に形成される抗原抗体複合体により活性化された補体によるポドサイトの傷害が原因となる糸球体腎炎であり、40歳以上のネフローゼ症候群患者の約35%を占める。膜性腎症は約30%が自然寛解し、30%がステロイドや免疫抑制薬にても不完全寛解I型に至らない難治性ネフローゼ症候群をきたす。原因抗原に関しては、Haymann腎炎など動物モデルやヒトの組織を使用して1950年頃より研究が行われてきたが、2009年にBeckらにより報告されたM型ホスホリパーゼA<sub>2</sub>受容体(PLA2R)が原因抗原であるという報告<sup>1)</sup>がマイルストーンとなった。

現在、膜性腎症の研究はPLA2Rのどの部分がエピトープになるかについて、研究が進められている。また、抗体はIgG4が主体であるが、なぜC3が活性化するかについての議論も続いている<sup>1)</sup>。PLA2R以外の抗原についても、neutral endopeptidase: NEP<sup>2)</sup>, superoxide dismutase 2: SOD2, aldose reductase<sup>3)</sup>, ウシアルブミン<sup>4)</sup>などが報告されている。さらに、膜性腎症と関連するsingle-nucleotide polymorphism: SNPのゲノムワイド関連解析の結果、HLA-DQA1とPLA2R遺伝子のSNPとの関連が報告されている。これらの研究から、PLA2Rは膜性腎症の原因抗原であることが強く示唆され、今後、診断、治療に向けた研究が進むものと思われる。

### 特発性膜性腎症の抗原(図1)

#### 1. Neutral endopeptidase (NEP)

NEPは肝臓、肺、乳腺、脳などさまざまな臓器に発現し

ているが、腎臓では糸球体ポドサイトと近位尿細管に発現している。RoncoとDebiecは、大量の蛋白尿を有する新生児の腎不全症例から、膜性腎症の抗原がポドサイトに発現するNEPであることを証明し、膜性腎症発症のメカニズムに重要な示唆となる発見をした<sup>2)</sup>。彼らは、NEPを先天的に欠損する母親が、父親由来のNEPを持つ胎児を妊娠するとNEPに対する抗NEP抗体が母体で産生され、胎児の腎臓のポドサイトに発現するNEPに*in situ*で結合することにより抗原抗体複合体が形成され、膜性腎症が発症するという仮説を立てた。この母親は、この子を産む直前に流産を経験しており、胎児の好中球などに発現しているNEPが母体の抗原提示細胞に認識され、alloimmuneの機序で抗NEP抗体が産生される可能性がある。実際、母親の血清にはNEPに対する抗体が認められ、そのIgG分画をウサギに静注すると糸球体に免疫複合体が形成され、蛋白尿が出るが、父親のIgG分画では何も起こらなかったことより、母親由来の抗NEP抗体が膜性腎症形成に重要な作用をしていることを示した。また、血中の抗NEP抗体は経過とともに減少し、最終的には消失した。それとともに、尿蛋白は減少し腎機能も改善した。

この症例以外にも、オランダとモロッコとポルトガルの家系でもNEP欠損による新生児の膜性腎症の報告がある<sup>5)</sup>。

#### 2. PLA2R

特発性膜性腎症の血清に抗PLA2R抗体が含まれることをBeckらが報告した<sup>1)</sup>。彼らは、特発性膜性腎症の患者血清から分子量185kDの蛋白に対する抗体が正常のヒト糸球体をも認識することを見出し、質量分析計でPLA2Rであることを同定した。血清中の抗体とは還元型のPLA2Rのみが反応する。すなわち、ジスルフィド結合が保存されることが抗原性に重要である。一方、PLA2Rの糖鎖を除いても抗原性が維持されることもわかった。PLA2Rは、ポドサイトと肺ならびに好中球にも存在する。PLA2Rには細胞

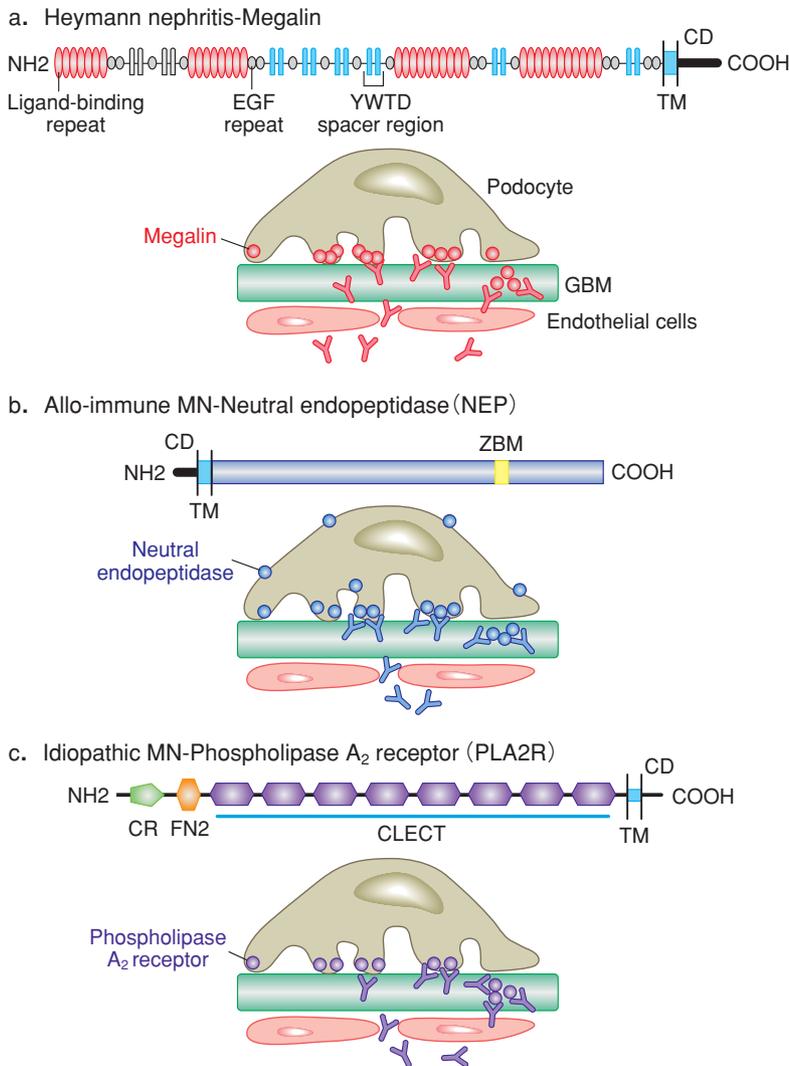


図 1 特発性膜性腎症の抗原とポドサイトでの発現部位

- a : Heymann 腎炎の抗原であるメガリン (FxA-1, gp330) は、ポドサイトの足突起部分に発現しており、抗体は糸球体ポドサイトの直下に免疫複合体が産生される。
- b : 中性エンドペプチダーゼ (NEP) は、顆粒球、合胞体栄養細胞、ポドサイトを含む上皮細胞、好中球に発現している。NEP 欠損の母親は妊娠中に胎児の NEP より抗体を産生し、この抗体が原因となって、ポドサイトの NEP と結合し、免疫複合体を形成し膜性腎症を起こす。
- c : PLA2R は肺、顆粒球、ポドサイトに発現しており、70 %の特発性膜性腎症患者においては、抗 PLA2R 抗体が血中に検出でき、ポドサイトに発現する PLA2R と結合して膜性腎症ができる。

(文献 16 より引用)

膜に存在する細胞質型と分泌される分泌型があるが、膜性腎症の抗原となるのは細胞質型である。PLA2R は膜蛋白で、リガンドとともにエンドサイトーシスされ、再び膜表面にでるリサイクリングがなされている。すなわち、ある条件で膜の表面に出現する可能性があり、抗原となる機会がある<sup>6)</sup>。

PLA2R の生理学的な意義は不明であるが、活性酸素による細胞の加齢を促進すること、膜のリン脂質の水酸化の促進、エイコサノイドの産生を増加させることが報告されている。

特発性膜性腎症患者の 70~80 %に PLA2R 抗体が認められるが、二次性の膜性腎症では認められない<sup>1,7,8)</sup>。

Ronco らは、特発性膜性腎症患者 42 例のうち、57 %が血清中に抗 PLA2R 抗体を有すると報告している<sup>9)</sup>。一方、糸球体ポドサイトにおける PLA2R 発現は、74 %において認められ、膜性腎症糸球体での発現と血清の抗体の出現は一致していない(図 2)<sup>8,9)</sup>。また、血清の PLA2R 抗体が認められない膜性腎症患者もみられることを報告している。この原因として、抗 PLA2R 抗体のエピトープが異なる、あるいは腎炎惹起性のない抗体が存在する可能性をあげている。また、糸球体には染色されるが、血清の PLA2R 抗体が発現していない患者も認められ、抗体が血中から速やかに消失しているか、糸球体障害はすでに慢性化し、尿蛋白は抗原抗体形成とは関係なく障害された糸球体から漏れ続けている可能性も指摘している。

一般に尿蛋白量と抗 PLA2R 抗体価は比例し、血清の抗 PLA2R 抗体は寛解とともに減少する<sup>1,8)</sup>。また、抗 PLA2R 抗体の減少が尿蛋白の減少に先行する(図 3)<sup>7)</sup>。恐らく、糸球体の基底膜に沈着している免疫複合体が消失するまでに時間がかかるので、尿蛋白の消失までに時間差があるものと思われる。

特発性膜性腎症で糸球体に主に沈着するのは IgG4 である。PLA2R の抗体は主には IgG4 であるが、少量の IgG1 も認められる。特発性膜性腎症において IgG1 抗体が産生されていることは重要であり、IgG1 により補体が活性化されている可能性がある。一方、C4b が特発性膜性腎症に認められるため、mannan-binding lectin pathway が活性化されている可能性が示唆される<sup>1)</sup>。

### 3. Superoxide dismutase (SOD)2, aldose reductase

Aldose reductase と SOD2 に対する IgG4 抗体が膜性腎症患者血清中に報告された<sup>3)</sup>。これらの蛋白が膜性腎症発症にどの程度関与しているかは不明であるが、FSGS 患者血清や正常者の糸球体には認められず、また、糸球体の基底

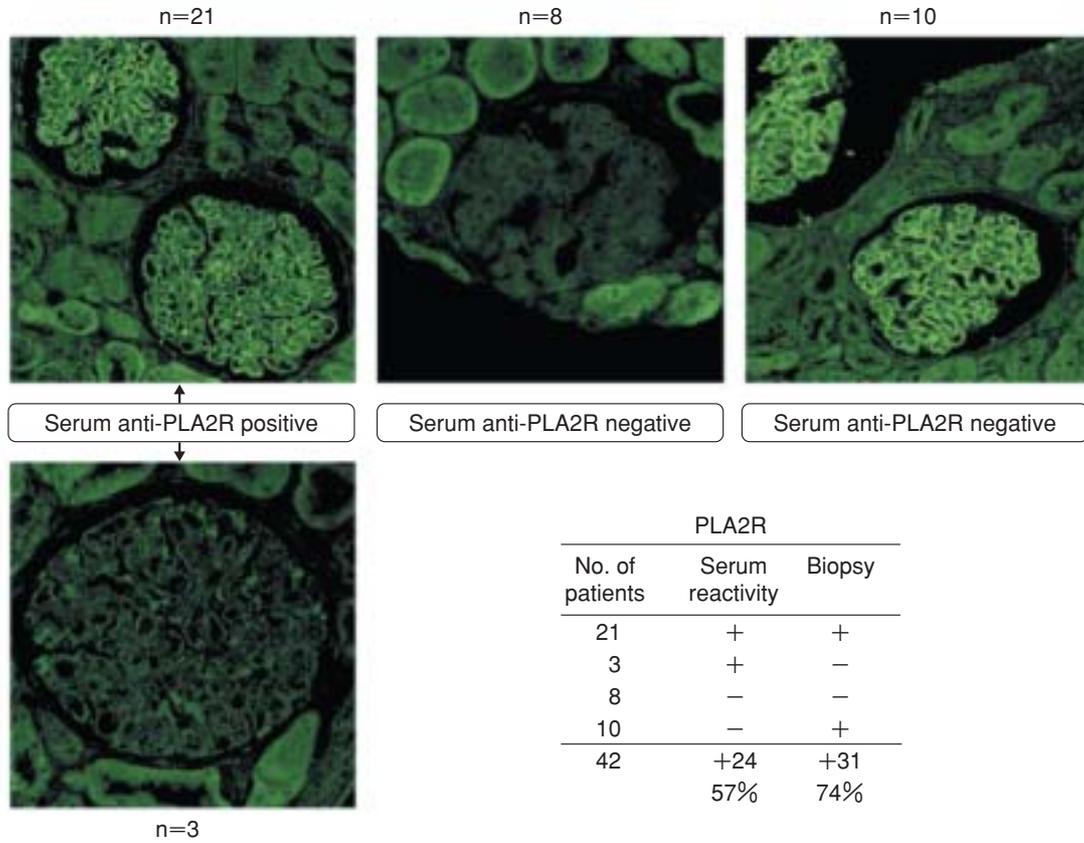


図 2 血清 PLA2R 陽性患者と糸球体の PLA2R 染色

血中 PLA2R 抗体価と糸球体の PLA2R 発現は必ずしも一致しない。PLA2R 抗体が陰性例でも糸球体に PLA2R が染色されることがある。

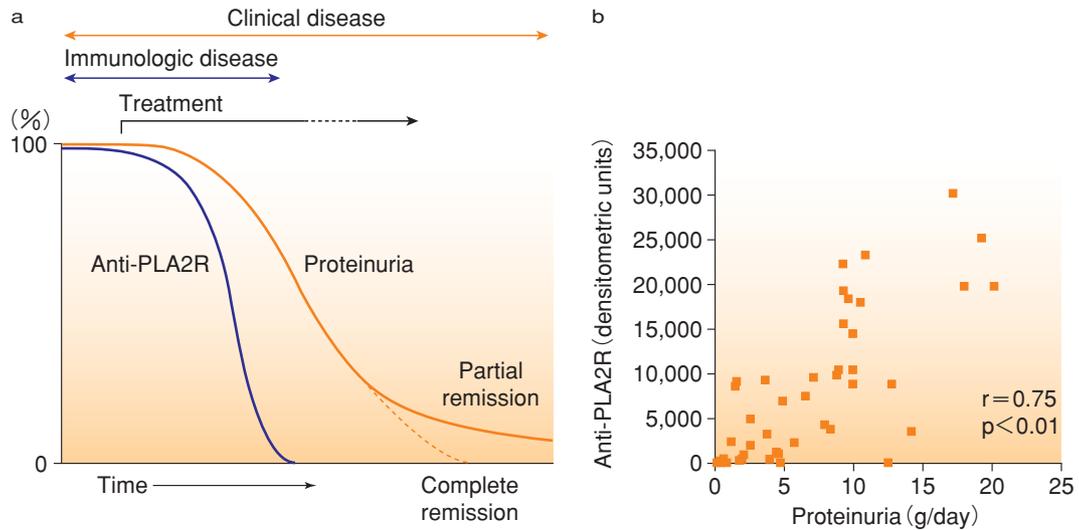


図 3

a : 抗 PLA2R 抗体による特発性膜性腎症の発症・寛解の経過血中の抗体の量と尿蛋白の量を示す。尿蛋白量は抗 PLA2R 抗体の量に依存して出現する。治療により尿蛋白が減少するより前に抗 PLA2R 抗体が減少する。

b : 抗 PLA2R 抗体価と尿蛋白量；抗 PLA2R 抗体価と尿蛋白量は比例する。（文献 7 より引用）

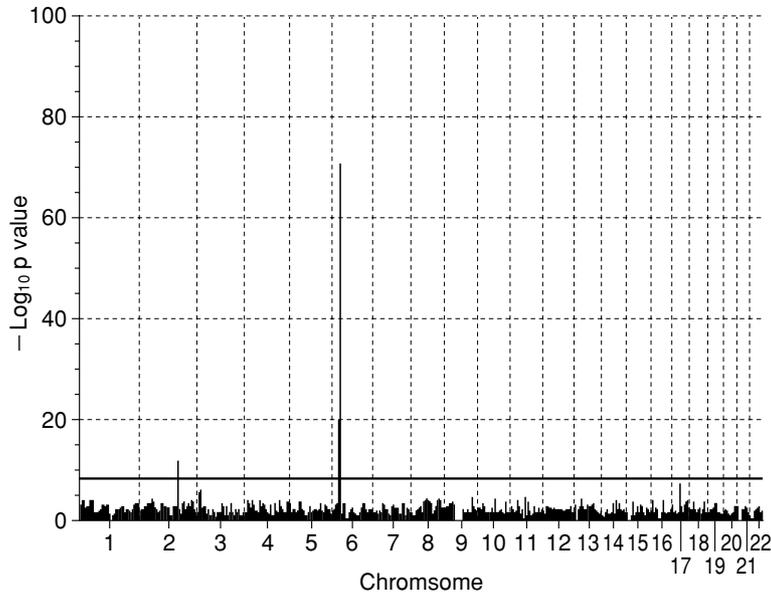


図 4 特発性膜性腎症のゲノムワイド関連遺伝子解析

フランス、ドイツ、イギリスの膜性腎症患者のコホートを使用して、ゲノムワイド関連解析が行われ、HLA-DQA1 の SNP との関連とともに PLA2R 遺伝子との関連が報告された。HLA-DQA1 (SNP rs2187668) は全患者コホートで  $p=8.0 \times 10^{-93}$  と非常に強い相関を示し、また、PLA2R (SNP rs4664308) との相関は  $p=8.6 \times 10^{-29}$  であった。

膜に沿って染色されるため、膜性腎症の発症に関連していることが示唆される。Aldose reductase は通常は髄質集合管にしか発現せず、糸球体ポドサイトに発現するメカニズムを解明することが必要である。同様に SOD2 も尿細管にしか発現していないが、なぜ糸球体の基底膜に発現するようになるのかを解明することが必要である。

#### 4. Bovine serum albumin : BSA

Ronco らは、牛乳の中に含まれている BSA が抗原となって膜性腎症が発症する可能性を報告している<sup>4)</sup>。

### 膜性腎症関連遺伝子の SNP 解析

膜性腎症に関連する HLA は、1979 年に Klouda らにより HLA-DRW3 が報告され<sup>10)</sup>、その後、DQA1 との関連が報告された<sup>11)</sup>。日本人においても、Ogahara らにより DR15, DQ6 との関連が報告された<sup>12)</sup>。Ogahara らは PLA2R のエピトープとなる部分が、抗原提示細胞により HLA から提示される可能性を示している。

2011 年に、75 例のフランス人、146 例のドイツ人、335 例のイギリス人の膜性腎症患者のコホートを使用して、ゲノムワイド関連解析の結果、HLA-DQA1 の SNP との関連とともに PLA2R 遺伝子との関連が報告された<sup>13)</sup> (図 4)。

HLA-DQA1 (SNP rs2187668) と全患者コホートでは  $p=8.0 \times 10^{-93}$  と非常に強い相関があり、フランス  $p=1.8 \times 10^{-9}$ 、ドイツ  $p=5.6 \times 10^{-27}$ 、イギリス  $p=5.2 \times 10^{-36}$  と、いずれのコホートも有意に相関した。PLA2R (SNP rs4664308) との相関は、 $p=8.6 \times 10^{-29}$  であった。それぞれのアレルを比較すると、HLA-DQA1 (SNP rs2187668) GG かつ PLA2R (SNP rs4664308) GG を対照 (1.00) とすると、SNP rs2187668 AA かつ rs4664308 AA の場合は、オッズ比は 78.46 倍 (95 %CI 34.55-178.17) になり、非常に強い相関であることが示された。この PLA2R の SNP rs4664308 は第一イントロンに存在し、細胞外の C 型レクチンドメイン 1 を含むエクソンに存在する M292V にあたる SNP rs3749117 と関連することもわかった。今後、M292V アミノ酸変異が、PLA2R のコンフォメーションを変え、エピトープと関連があるかどうか問題となる。

このゲノムワイド関連解析では、aldose reductase や SOD2 との関連は見出されていない。

韓国からの PLA2R の SNP との関連をみた報告では、rs35771982 と rs3828323 が相関することが報告されているが<sup>14)</sup>、HLA-DQA1 (SNP rs2187668) との関連は報告されていないため、アジア人では HLA が異なる可能性があり、Ogahara らの報告<sup>12)</sup> と一致する。

## 今後の展望

PLA2R 抗体が特発性膜性腎症患者の血清中に認められ、PLA2R が抗原となり、抗体が産生されていることが示唆される。この PLA2R 抗体を検出する ELIZA を開発することが急務である。このためには、PLA2R の抗原となるエピトープの決定が必須であり、世界中で競争が起こっている。しかし、PLA2R は発現が困難な蛋白であり、Salant らも、最初に行った HEC 細胞から蛋白を得ること以外の方法を開発できていない。

日本人のネフローゼ症候群のゲノムワイド関連解析が、Okamoto ら<sup>15)</sup>によって行われており、膜性腎症患者における PLA2R や HLA の SNP との関連に関する報告が待たれる。

利益相反自己申告 : 申告すべきものなし

## 文献

1. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 11-21.
2. Debiec H, Guignon V, Mougnot B, Decobert F, Haymann JP, Bensman A, Deschènes G, Ronco PM. Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N Engl J Med* 2002 ; 346(26) : 2053-2060.
3. Prunotto M, Carnevali M, Candiano G, et al. Autoimmunity in membranous nephropathy targets aldose reductase and SOD2. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 507-519.
4. Debiec H, Lefeu F, Kemper MJ, Niaudet P, Deschènes G, Remuzzi G, Ulinski T, Ronco P. Early-childhood membranous nephropathy due to cationic bovine serum albumin. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 2101-2110.
5. Debiec H, Nauta J, Coulet F, et al. Role of truncating mutations in MME gene in fetomaternal alloimmunisation and antenatal glomerulopathies. *Lancet* 2004 ; 364 (9441) : 1252-1259.
6. Zvaritch E, Lambeau G, Lazdunski M. Endocytic properties of the M-type 180-kDa receptor for secretory phospholipases A2. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 250-257.
7. Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 ; 6 : 1286-1291.
8. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, Salant DJ, Liu Z. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011 ; 22 : 1137-1143.
9. Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 689-690.
10. Klouda PT, Manos J, Acheson EJ, Dyer PA, Goldby FS, Harris R, Lawler W, Mallick NP, Williams G. Strong association between idiopathic membranous nephropathy and HLA-DRW3. *Lancet* 1979 ; 2(8146) : 770-771.
11. Vaughan RW, Demaine AG, Welsh KI. A DQA1 allele is strongly associated with idiopathic membranous nephropathy. *Tissue Antigens* 1989 ; 34 : 261-269.
12. Ogahara S, Naito S, Abe K, Michinaga I, Arakawa K. Analysis of HLA class II genes in Japanese patients with idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney Int* 1992 ; 41 : 175-182.
13. Stanescu HC, Arcos-Burgos M, Medlar A, Bockenbauer D, Kottgen A, Dragomirescu L, Voinescu C, Patel N, Pearce K, Hubank M, Stephens HA, Laundry V, Padmanabhan S, Zawadzka A, Hofstra JM, Coenen MJ, den Heijer M, Kiemeny LA, Bacq-Daian D, Stengel B, Powis SH, Brechley P, Feehally J, Rees AJ, Debiec H, Wetzels JF, Ronco P, Mathieson PW, Kleta R. Risk HLA-DQA1 and PLA(2)R1 alleles in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 616-626.
14. Kim S, Chin HJ, Na KY, Kim S, Oh J, Chung W, Noh JW, Lee YK, Cho JT, Lee EK, Chae DW ; Progressive Renal Disease and Medical Informatics and Genomics Research (PREMIER) members. Single nucleotide polymorphisms in the phospholipase A2 receptor gene are associated with genetic susceptibility to idiopathic membranous nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2011 ; 117 : c253-258.
15. Okamoto K, Tokunaga K, Doi K, Fujita T, Suzuki H, Katoh T, Watanabe T, Nishida N, Mabuchi A, Takahashi A, Kubo M, Maeda S, Nakamura Y, Noiri E. Common variation in GPC5 is associated with acquired nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2011 ; 43 : 459-463.
16. Ronco P, Debiec H. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 564-569.