

「Possible role of complement factor H in podocytes in clearing glomerular subendothelial immune complex deposits」

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2020-11-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Zoshima, Takeshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00060000

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【総説】

第18回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Possible role of complement factor H in podocytes in clearing glomerular subendothelial immune complex deposits」
 Scientific Reports 2019 May 27; 9(1): 7857 2019年5月掲載
 Takeshi Zoshima, Satoshi Hara, Masakazu Yamagishi, Ira Pastan,
 Taiji Matsusaka, Mitsuhiro Kawano & Michio Nagata

「ポドサイトは補体H因子を産生し糸球体内皮下の免疫複合体沈着物を除去しうる」

藏島 乾 (ぞうしま たけし)

背景

ループス腎炎は、全身性エリテマトーデスの臓器障害の中で最も頻度が高く、予後に関連する難治性病態のひとつである。腎臓の糸球体に沈着した免疫複合体は補体の活性化や炎症細胞の遊走を介して腎炎を発症させると考えられているが、沈着した免疫複合体に対する糸球体局所の反応に関しては十分明らかになっていない。

糸球体上皮細胞 (ポドサイト) は糸球体ろ過障壁の一部であるだけでなく、様々な因子を発現することで局所的に糸球体環境を維持している¹⁾。ポドサイトの発現する因子のひとつに、補体H因子 (CFH; complement factor H) がある。CFHは補体代替経路を抑制する補体制御因子である。これまで、ラット膜性腎症モデルにおいて障害されたポドサイトがCFHを発現することが報告されている²⁾。また、マウス慢性血清病モデルにおいてポドサイト由来のCFHは、糸球体の内皮下と上皮下に同時に沈着した免疫複合体の除去を促進することが報告されている³⁾。しかし、内皮下のみに免疫複合体が沈着した場合、ポドサイトが補体関連因子を発現したり、免疫複合体の除去を促進したりするかに関しては、これまで報告されていない。

私たちは、糸球体内皮下のみに免疫複合体を沈着させ、ポドサイトを特異的に傷害するモデルを作成し、内皮下沈着物に対するポドサイトの補体因子の関与に関して検討した。

方法と結果

実験材料として、ポドサイト特異的傷害モデルであるNEP25マウスを用いた。NEP25マウスはヒトCD25をポドサイトに発現しており、免疫毒素 (LMB2) によってポドサイトを特異的に傷害することができる。そのため、NEP25マウスはネフローゼ症候群の原疾患のひとつである巣状糸球体硬化症のモデルとして報告されている⁴⁾。また、もうひとつの実験材料として、腎炎原性IgG3産生

ハイブリドーマ「2B11.3」を用いた。この細胞はループス腎炎のモデルであるMRL/lprマウスの脾細胞とマウス骨髄腫細胞のハイブリドーマで、モノクローナルなIgG3を産生する。このIgG3を含む免疫複合体が糸球体に沈着し、糸球体腎炎を起こすことが報告されている⁵⁾。

最初に、ポドサイトが特異的に傷害された際の補体関連因子の発現の変化を検討した (図1)。in vivoの実験系

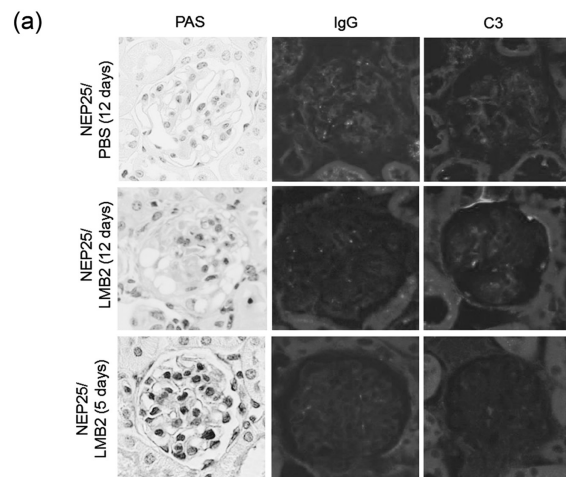


図1. ポドサイト傷害の程度によって補体関連因子のmRNA発現が異なる。(a)糸球体のPAS染色と免疫蛍光染色,(b)糸球体のリアルタイムPCR。Scientific Reports 2019; 9: 7857より引用。

で、LMB2をNEP25マウスに静脈内投与すると、12日目
に光顕でヒトの巣状糸球体硬化症に類似した病変を認め
た。この際、CFHと補体C3a受容体(C3aR)の糸球体
におけるmRNAの発現はコントロールと比較して減少し、
ポドサイトが致命的に傷害された状態と考えられた。一
方、LMB2投与5日目には光顕と電顕でポドサイトの明
らかな形態異常は認めなかったが、CFHとC3aRの糸球
体におけるmRNA発現はコントロールと比較して増加し
た。LMB2投与早期ではポドサイトに形態的变化はない
が機能的変化が生じており、非致命的なポドサイト傷害
が起こった状態と考えられた。

次に、糸球体内皮下のみに免疫複合体が沈着するモデ
ルを作成した(図2-3)。ハイブリドーマ2B11.3をNEP25
マウスに腹腔内投与すると、光顕では糸球体の炎症細胞

浸潤は認めなかったが、免疫蛍光染色ではIgGとC3が糸
球体係蹄に沈着し、電顕では糸球体内皮下のみに高電子
密度沈着物を認めた。このマウスを内皮下のみに免疫複
合体が沈着するモデルとして以下で使用した(NEP25/
ハイブリドーママウスと呼ぶ)。このマウスではCFHの
糸球体におけるmRNAの発現はコントロールと同程度
で、増加していなかった。

さらに、内皮下のみに免疫複合体が沈着した状態で、
ポドサイトを特異的に傷害した際に起こる変化を検討し
た(図2-3)。NEP25/ハイブリドーママウスにLMB2を投
与して致命的ポドサイト傷害を起こすと、IgGとC3の沈
着は糸球体では減少したが、尿細管腔で増加した。ポド
サイトの致命的な傷害により、糸球体のろ過障壁が破綻
し、免疫複合体が糸球体から尿細管腔に漏出したと考え

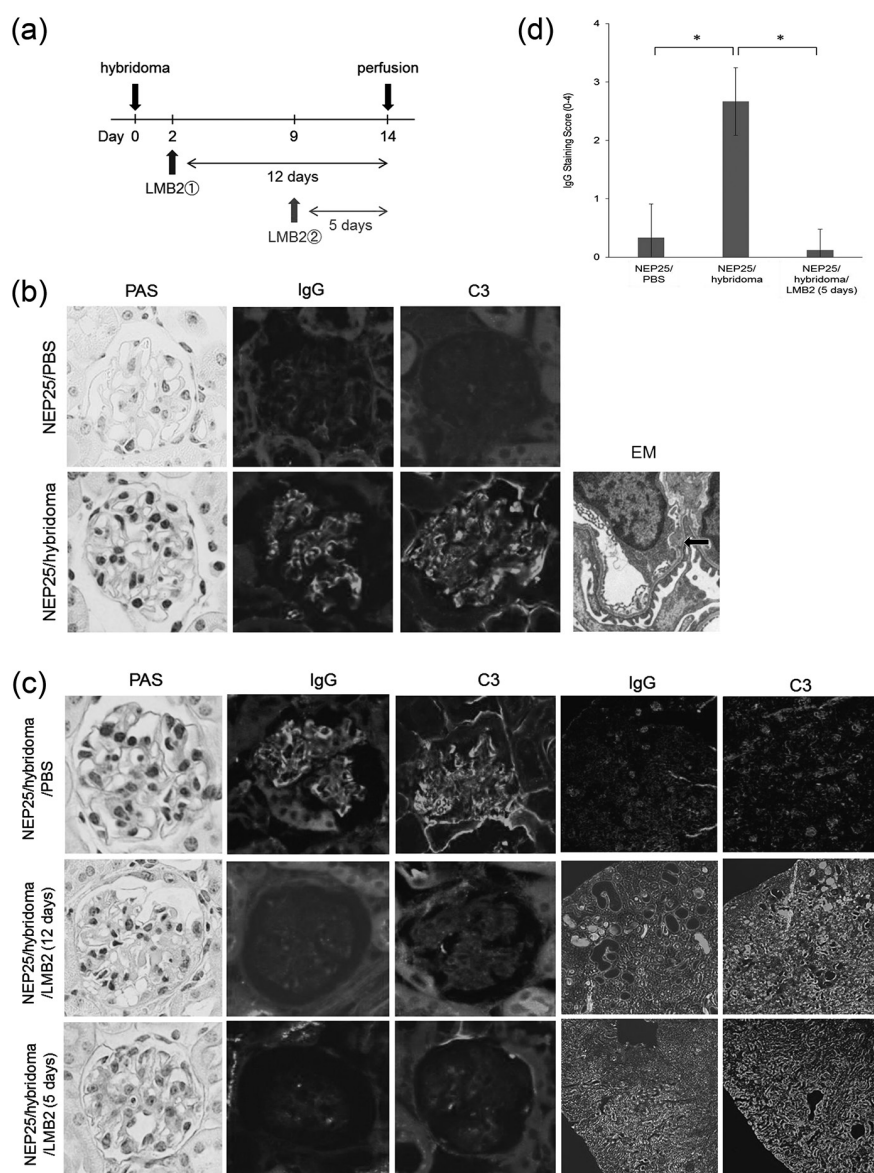


図2. 非致命的なポドサイト傷害では内皮下沈着物は減少する。(a) 実験スケジュール, (b,c) 糸球体のPAS染色と免疫蛍光染色, (d) 糸球体IgG沈着スコア。Scientific Reports 2019; 9: 7857より引用。

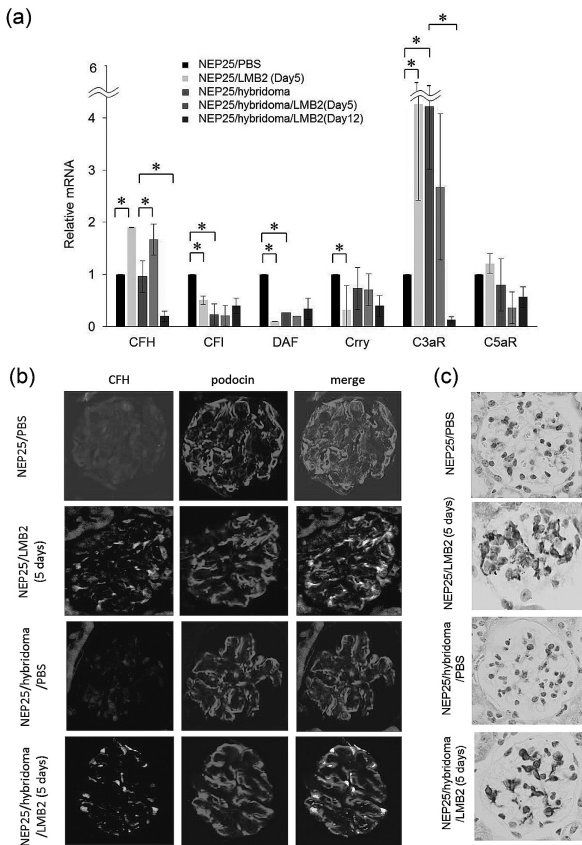


図3. 非致死的なポドサイト傷害で糸球体CFHの発現が増加する. (a) 糸球体のリアルタイムPCR, (b) 糸球体の免疫蛍光染色, (c) 糸球体CFHの免疫組織化学染色. Scientific Reports 2019; 9: 7857 より引用.

られた. 一方, NEP25/ハイブリドーママウスへのLMB2暴露時間を短くして非致死的なポドサイト傷害に留めると(以下, このマウスをNEP25/ハイブリドーマ/LMB2マウスと呼ぶ), NEP25/ハイブリドーママウスと比較して内皮下沈着物は減少し, かつ尿細管腔への漏出は認めなかった. この際, 糸球体におけるCFHのmRNAの発現は増加したが(1.7倍), C3aRの発現は増加しなかった. さらに, 免疫蛍光二重染色と免疫組織化学染色では, CFH蛋白はNEP25/ハイブリドーマ/LMB2マウスのポドサイト優位に発現を認めた. 血清CFH濃度をELISAで測定したが, NEP25/ハイブリドーマ/LMB2マウスとNEP25/ハイブリドーママウスでは同程度だった. 以上のことから, 循環血中のCFHではなく, 非致死的に傷害されたポドサイトが発現する局所的なCFHが糸球体内皮下に沈着した免疫複合体の除去に関与していると考えられた.

最後に, ポドサイトが非致死的な傷害でCFHを発現することを*in vitro*で確認した. 不死化マウスポドサイトをピューロマイシンで傷害すると, 形態的变化は認めなかったが, リアルタイムPCRとウェスタンブロット法でコントロールと比較してCFHの発現増加を認めた.

考察と結論

今回の検討により, 非致死的な傷害を受けたポドサイトはCFHの発現を増加させ, 内皮下の免疫複合体沈着物の除去を促進していることが示唆された. CFH欠損マウスを使用した既報では, CFHは糸球体内皮下と上皮下に同時に沈着した免疫複合体の除去に関与し, ポドサイトのCFHは補体受容体(CR1)と類似した機能を持つことが示唆されている³⁾. また, 上皮下のみ免疫複合体が沈着する膜性腎症モデルにおいても, ポドサイトのCFHの発現が増加することが示されている²⁾. 今回の検討では, 内皮下のみに免疫複合体が沈着した際にはCFHの発現は増加しなかったが, ポドサイトを非致死的に傷害した場合のみにCFHの発現が増加した. これらから, 上皮下沈着物を含めた非致死的な刺激がポドサイトにCFHを発現させ, 内皮下沈着物の除去に関与していると考えられた. 今回の検討は, ループス腎炎に代表される免疫複合体関連糸球体腎炎における病変局所でのポドサイトの新しい役割に着目し, ポドサイトの発現するCFHが内皮下沈着物の除去を促進する保護的な作用を有することを示唆した. 因果関係を示す直接的な証明や臨床応用の可能性を含め, 今後のさらなる検討が必要である.

文 献

- 1) Nagata M. Podocyte injury and its consequences. *Kidney Int* 89:1221-30,2016
- 2) Ren G, Doshi M, Hack BK, et al. Rat glomerular epithelial cells produce and bear factor H on their surface that is up-regulated under complement attack. *Kidney Int* 64:914-22,2003
- 3) Alexander JJ, Wang Y, Chang A, et al. Mouse Podocyte Complement Factor H: The Functional Analog to Human Complement Receptor 1. *J Am Soc Nephrol* 18:1157-66,2007
- 4) Matsusaka T, Xin J, Niwa S, et al. Genetic Engineering of Glomerular Sclerosis in the Mouse via Control of Onset and Severity of Podocyte-Specific Injury. *J Am Soc Nephrol* 16:1013-23,2005
- 5) Itoh J, Nose M, Takahashi S, et al. Induction of Different Types of Glomerulonephritis by Monoclonal Antibodies Derived From an MRL/lpr Lupus Mouse. *Am J Pathol* 143:1436-43,1993



Profile

2010年 金沢大学医学部医学科卒業
 2020年 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科(博士課程)修了
 2020年 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 包括的IgG4関連免疫学講座 特任助教
 専門分野: リウマチ・膠原病内科学, 腎臓内科学