

特集：最新の腎臓領域の基礎研究

腎炎・ネフローゼ症候群研究の進歩

Topics in nephritis and nephrotic syndrome : Update 2017

三上大輔 岩野正之

Daisuke MIKAMI and Masayuki IWANO

はじめに

腎炎やネフローゼ症候群の病態には不明な点が多い。近年、難治性ネフローゼ症候群におけるリツキシマブの有効性を示す報告が散見されるが、多施設共同ランダム化比較試験は現在進行中であり、エビデンスの確立には至っていない。しかし、基礎研究レベルでは特発性膜性腎症の原因抗原の発見、巣状分節性糸球体硬化症の発症に関連するポドサイト障害の機序に関する新知見の集積により、個々の疾患の病態が徐々に解明されつつある。本稿では、2017年度の基礎研究の報告を中心に、腎炎・ネフローゼ症候群研究の最新の動向をまとめたい。

ネフローゼ症候群の最新基礎研究

1. ポドサイトと液性因子

巣状分節性糸球体硬化症(FSGS)は約80%が特発性である。移植後早期に再発することから、原因因子が腎臓外にあることが想定されてきた。その液性因子として、可溶性ウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター受容体(soluble urokinase-type plasminogen activator receptor : suPAR)が2011年にReiserらのグループより報告されて以来注目されている¹⁾。しかし、suPARに関しては、FSGSの診断バイオマーカーや病因としての意義に否定的な報告もあり、一定の見解を得られておらず、更なる検証が求められている。

Hahmらは、骨髄のGr-1^{lo}未成熟骨髄細胞がsuPARの病的上昇の原因であることを報告した²⁾。彼らはLPS誘導性腎障害モデルの骨髄において、分化抗原であるGr-1陽性細胞の細胞膜表面にuPARの発現レベルが上昇することと、

LPS刺激がGr-1の発現レベルが低いGr-1^{lo}未成熟骨髄細胞を著しく増加させることを見出した。Gr-1^{lo}未成熟骨髄細胞の顕著な増加は、血清あるいは尿中suPARの上昇と蛋白尿を惹起する。腎線維化モデルであるTGF- β 1トランスジェニックマウス、nephrotoxic serum惹起型腎炎モデル、糖尿病モデルであるBTBR ob/obマウスの骨髄中にも上記と同様の現象が確認された。また、Gr-1^{lo}未成熟骨髄細胞を移植したマウスには蛋白尿が発症した。さらに、FSGSヒト化異種移植モデルマウスに再発性FSGS患者の末梢血CD34⁺細胞を移植すると、Gr-1^{lo}未成熟骨髄細胞の増加、血清と尿中suPAR濃度の上昇、電子顕微鏡でのポドサイトの足突起の消失、および蛋白尿の発症が確認された。しかし、健常者の末梢血の移植や、再発性FSGS患者のCD34⁺細胞を除去した末梢血移植の場合には、上記の所見は観察されなかった。以上の結果より、TGF- β 1、糖尿病由来因子、あるいはhuman FSGS CD34⁺細胞などが骨髄に作用することで、Gr-1^{lo}未成熟骨髄細胞分画由来の血中suPAR濃度が上昇し、その結果、腎症発症に至ったと結論づけている。未成熟骨髄細胞が糸球体障害を引き起こしうることから、FSGSの発症には骨髄-腎臓連関の存在が重要であることを示したといえる(図1)。

Hayekらはアポリポ蛋白質L1(APOL1)とsuPARの関連を報告した³⁾。アフリカ系アメリカ人では腎機能障害が家族集積することから遺伝素因の関与が疑われており、2010年に腎機能障害の責任遺伝子としてAPOL1が同定された。FSGSと高血圧性末期腎不全を呈するアフリカ系アメリカ人には、APOL1のS342GとI384Mの2つのミスセンス変異(G1)とdel N388/Y389のアミノ酸欠損(G2)のホモ接合(G1G1, G2G2)と複合ヘテロ接合(G1G2)が多いことが報告されている⁴⁾。彼らは、血清suPAR値とAPOL1変異に伴う臨床的特徴をEmory Cardiovascular Biobank(EmCAB)と

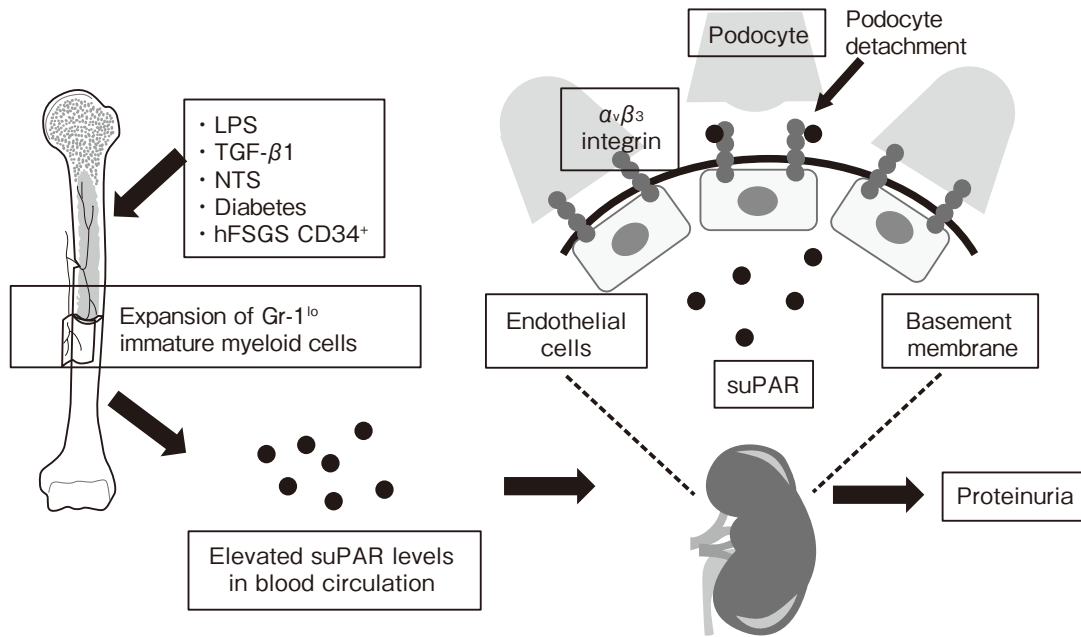


図1 未成熟骨髄細胞由来 suPAR による腎障害

LPS, TGF- β 1, 糖尿病由来因子, human FSGS CD34⁺ 細胞などが骨髄に作用することで, Gr-1^{lo} 未成熟骨髄細胞分画由来の血中 suPAR 濃度が上昇し, ポドサイト障害に至る。

(文献2 Fig. 4より引用, 改変)

African American Study of Kidney Disease and Hypertension (AASK)の2つの大規模臨床研究で調査し, APOL1 変異に伴う腎機能低下は血中 suPAR 値が 3,000 pg/mL 以上の患者群で著明になることを明らかにした。次に suPAR と APOL1 およびインテグリン ($\alpha_v\beta_3$) の蛋白間相互作用を表面プラズモン共鳴法 (surface plasmon resonance: SPR) で検討し, suPAR, APOL1 とインテグリンの3者は相互作用し, APOL1 G0 と比較して APOL1 G1, G2 変異体は活性型インテグリン・suPAR 複合体に高親和性を呈することが示された。培養ヒトポドサイトを用いた検討では, suPAR および APOL1 G1, G2 変異蛋白の添加によりインテグリンの活性化が誘発され, 同時に細胞剥離が観察された。In vivo の検討で, ヒト APOL1 G1, G2 変異を発現させたマウスでは足突起が消失し蛋白尿を呈したが, G0 を発現させたマウスでは異常は認められなかった。ポドサイトはインテグリンを介して基底膜に接着している。インテグリンは suPAR と結合することで細胞内ヘンドサイトーシスされ, 接着能を失ったポドサイトは剥離する。変異型 APOL1 はポドサイト細胞膜上でインテグリン・suPAR 複合体形成を促進させ, インテグリンのエンドサイトーシスによるポドサイト剥離が促進された結果, FSGS などの腎症が発症するという機序が推測された。

2. ポドサイトと細胞障害ストレス

ポドサイトは, 糸球体の濾過による高い静水圧や Bowman 嚢側を流れる原尿によるずり応力などのメカニカルストレスに絶えず曝露されている。そのため, ポドサイト障害をきたす原因遺伝子には細胞骨格に関連するものが多い。ポドサイトのメカニカルストレスによる細胞骨格の再構築は Rho キナーゼを介することが知られている。Rho キナーゼは, 分子量 20 ~ 30 kDa の GTP 結合蛋白質である。GDP 結合型から GTP 結合型への転換により活性型となり, 特異的な標的分子に結合して細胞内シグナルを伝達する分子スイッチとして機能する。Rho ファミリーである, Ras homolog gene family member A (RhoA), Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (Rac1), cell division control protein 42 homolog (Cdc42) がポドサイトで作用し, ネフローゼ症候群の病態に関与することが知られている。ポドサイト特異的活性型 RhoA 発現マウスでは蛋白尿が惹起され, ポドサイト特異的 Cdc42 欠損マウスでは出生時より高度蛋白尿が出現して生後2週間で腎不全のため死亡する⁵⁾。ポドサイトにおける Rac1 の欠損は, 急性腎不全モデルでは保護的に作用し, 慢性高血圧障害モデルでは増悪に関与することが報告されている⁶⁾。これまで家族性に蛋白尿を呈する疾患群の遺伝子解析により, Rac1 が重要な因子であることが

示唆されてきた。成人発症 FSGS には, Rac1 と Cdc42 を不活性化する *ARHGAP24* の遺伝子変異が認められるものがある⁷⁾。また, 先天性小児発症ネフローゼ症候群の原因遺伝子の一つとして, Rho-GTPase の不活性化に作用する *ARHGDIA* の遺伝子変異が報告されている^{8~9)}。しかし, Rac1 の過剰活性が FSGS などのネフローゼ症候群の発症に直接関与することは証明されていなかった。Robins らは, doxycycline (Dox) により, ポドサイト特異的に Rac1 の活性化を誘導するトランスジェニックマウスを用いた実験を行った¹⁰⁾。ポドサイトに導入された Rac1 遺伝子が 1 copy の Low responder 群と 2 copy の High responder 群で比較した。Rac1 活性は導入された copy 数に相関した。Dox 内服で, 両群とも 5 日以内にはアルブミン尿が出現し, 病理組織は微小変化型ネフローゼ症候群 (MCD) 様であった。蛋白尿は High responder 群が Low responder 群より有意に多かった。30 日間の Dox 内服で High responder 群では多量のアルブミン尿が持続し, 尿中へのポドサイト脱落も観察され, 病理組織は FSGS を呈した。Low responder 群では少量のアルブミン尿が持続し, 硬化糸球体が少数確認された。また, Rac1 活性化ポドサイトではリン酸化 p38 の発現が上昇していた。High responder 群へ p38 阻害薬である SB-203580 を腹腔内投与すると, アルブミン尿と糸球体硬化病変の改善が確認された。マウス培養ポドサイトでは Rac1 の活性化はラミニンとの接着性を減少させ, インテグリン $\beta 1$ の再分布を誘導するが, これらの現象も SB-203580 の添加で部分的に抑制されることから, p38-Rac1 signal pathway の関与が示された。ヒトの MCD と FSGS の病理組織でもポドサイトの Rac1 活性化が確認された。さらに培養ヒトポドサイトに FSGS の患者血清を添加することで Rac1 の活性化と p38 のリン酸化が誘導された。以上の結果より, Rac1 の活性化は MCD と FSGS の病態に関与し, その機序として p38 依存性のポドサイトの接着能低下が関与する可能性が示された。

Rac1 の活性化により, Ca^{2+} チャンネルである transient receptor potential canonical-5 (TRPC5) も活性化される。Zhou らは, TRPC5 を阻害することで, FSGS 発症モデルの腎障害が改善することを報告した¹¹⁾。彼らは, ポドサイト特異的にヒトアンジオテンシン II 受容体である AT1R を過剰発現するラットを実験モデルとして使用した。このラットは 8~14 週齢で蛋白尿が出現し, 14 週齢以降徐々に悪化して高度蛋白尿を呈するという特徴がある。12 週齢前後で 5 mg/日以上以上の蛋白尿が出現したラットを“病初期群”とし, 18 週齢前後で 25 mg/日以上以上の蛋白尿が出現したラットを

“進行群”として実験を行った。単離糸球体では, 後天性ネフローゼ症候群患者において発現が増強していることが知られている TRPC6 は, 正常ラット群でも恒常的に活性化しているが, TRPC5 は病初期から活性化がみられ, 蛋白尿の進行に伴い活性が増強することが見出された。パッチクランプ法を用いた実験では, TRPC5 活性化薬であるリルゾールの添加が, 病初期群と進行群の単離糸球体に流入電流を生じさせ, この現象は阻害薬である ML204 の添加で抑制されることが示された。高度蛋白尿が発症した進行群に ML204 を腹腔内投与することで, 蛋白尿の有意な改善が得られ, 病理組織ではポドサイトの消失が抑制された。さらに彼らは, TRPC5 阻害薬として ML204 より特異性の高い AC1903 を合成した。正常ラットの培養ポドサイトを用いた実験で, Ang II 刺激で誘導された活性酸素種 (ROS) 産生が AC1903 投与により有意に抑制されること, および活性化 human AT1R を発現させたラットの培養ポドサイトに認められる ROS 過剰産生とアポトーシス誘導が, AC1903 や Rac1 の阻害薬である NSC23677 の投与により抑制されることが示された。これらの結果から, Rac1-TRPC5 シグナルによる過剰な ROS 産生がポドサイト障害に関連することが明らかとなった。次に *in vivo* の実験として, 高度蛋白尿が出現した進行群ラットに AC1903 を腹腔内投与したところ, 有意な蛋白尿減少とポドサイト数の減少抑制などの腎保護効果が認められた。TRPC5 の活性化が腎症の発症につながり, その障害が新規治療ターゲットとなる可能性が示されたといえる。

3. ポドサイトと mTOR

Mammalian target of rapamycin (mTOR) はさまざまな腎疾患に関与する。しかし, FSGS 患者への mTOR 阻害薬の投与は, 寛解に至る症例から逆に腎機能の悪化に至る症例まであり一定の見解が得られていない。Zschiedrich らは, 完全な mTOR 阻害と過剰な活性化は FSGS を悪化させ, 適度な mTOR の阻害が病勢の改善に寄与することを報告した¹²⁾。彼らは, MCD 患者と FSGS 患者から単離した糸球体の発現遺伝子を比較して, FSGS では mTOR 遺伝子の発現と mTOR1 の標的遺伝子であるミトコンドリア合成, 脂肪合成, 血管新生に関与する遺伝子発現が有意に上昇していることを見出した。また, ポドサイトにおける mTOR1 下流シグナルのリン酸化 S6 キナーゼ (pS6) 発現が, MCD と比較して FSGS で上昇していることを見出した。FSGS モデルであるアドリアマイシン (ADR) 投与マウスでは, ポドサイトでの pS6 の発現亢進が確認された。次に, ポドサイト特異的に mTOR の抑制遺伝子である Tsc1 をノックアウト

したマウスを作製し、mTOR1を恒常的に活性化したところ、生後3週間でネフローゼレベルの蛋白尿出現とFSGS様の腎病変が確認されたことから、mTOR1の恒常的な活性化はFSGSの原因となることが示された。次に、mTORと結合し制御するrapamycin-sensitive adaptor protein of mTOR (Raptor)のポドサイト特異的ノックアウトマウスを作製したところ、mTOR1下流シグナルであるpS6の発現は消失したにもかかわらず、ADR処置により蛋白尿の出現、FSGS様の腎硬化病変、およびポドサイトの消失が観察された。さらにRaptorノックアウトマウスの片腎を摘除したところ、蛋白尿の出現、BUNの上昇、および電子顕微鏡での足突起の消失などが観察された。よって、mTOR1の恒常的な抑制もFSGSの発症に至ることが明らかになった。そこで、Raptorをポドサイト特異的にヘテロにノックアウトしたマウスにADR処置を施行したところ、pS6の発現低下、蛋白尿の低下、ポドサイト肥大の改善、および糸球体硬化病変の改善が観察された。培養ヒトポドサイトにmTOR1の阻害薬であるTorin 1をADRと共に添加したところ、低濃度Torin 1(10 μ M)ではアデノシン3リン酸(ATP)産生とミトコンドリアの酸素消費がADR単独と比較して改善したが、高濃度Torin 1(100 μ M)では逆に悪化した。ADRマウスに低用量(0.5 μ g/g)のラパマイシンを腹腔内投与すると、蛋白尿の減少、硬化面積の減少、およびポドサイト消失の減少が観察された。mTOR1の病期初期における活性化は生理的な適応反応であり、それをラパマイシンで阻害することはラパマイシン誘導性腎症につながるが、mTOR1の持続的活性化はFSGSの発症に至るため治療する必要があることとなり、個々の症例の腎組織の病期とmTORの活性化レベルに応じた治療法を選択すべきであるといえる。

4. ポドサイトと足場蛋白

Membrane-associated guanylate kinase inverted 2(MAGI-2)はポドサイトのスリット膜を形成する足場蛋白である。MAGI-2欠損マウスは、スリット膜形成不全による無尿により、生後24時間以内に死亡することが報告されている¹³⁾。Shirataらは、ポドサイト特異的MAGI-2欠損マウス(MAGI-2^{pdKO})を作製し、その表現型を解析した¹⁴⁾。MAGI-2^{pdKO}マウスでは、生後4週間からアルブミン尿が出現し、8週間後に有意なアルブミン尿の上昇が確認され、12週間後には腎機能の低下も認められた。病理組織では、8週間後から糸球体硬化が出現し、12週間後には全糸球体の80%以上で糸球体硬化が確認された。電子顕微鏡所見でも、4週間後から足突起の消失が確認された。そして20週以内に全例が腎不全で死亡した。さらに、4週間後よりポドサイトにア

ポトシス関連蛋白であるcleaved caspase 3の発現上昇が認められ、TUNEL陽性ポドサイトの増加も確認された。以上より、MAGI-2欠損によりポドサイトにアポトシスが誘導されることが示された。彼らは以前、dendrinがポドサイトにアポトシス誘導することを報告している¹⁵⁾。そこで、dendrinの発現部位を蛍光抗体法で確認したところ、正常マウスではスリット膜に局在しているのに対し、4週齢と8週齢のMAGI-2^{pdKO}マウスでは核に局在していた。さらに、免疫沈降法などを用いた解析で、1)MAGI-2がdendrinと相互作用することでdendrinの核への移行を抑制すること、2)SrcチロシンキナーゼファミリーであるFynがdendrinと結合し、dendrinをリン酸化し、dendrinのユビキチンリガーゼであるNedd4-2による分解から保護すること、3)protein tyrosine phosphatase 1B(PTP1B)がdendrinを脱リン酸化し、Nedd4-2によるdendrinの分解を促進すること、を見出した。以上の結果より、細胞質中のdendrinはMAGI-2欠損の条件下では、PTP1Bにより脱リン酸化され、Nedd4-2により分解される経路と核に移行する経路の存在が考えられた(図2)。さらに、ラットの半月体形成性糸球体腎炎モデルでは、ポドサイトにおいてMAGI-2の発現低下とdendrinの核への局在が示された。生理的条件下ではMAGI-2とFynはdendrinのNedd4-2による分解と核への移行を抑制し、ポドサイトにおける恒常性を維持するのに対し、ポドサイトにおけるMAGI-2欠損はアポトシスを誘導し、FSGSの発症につながるとShirataらは報告している。

腎炎の最新基礎研究

1. 半月体形成性糸球体腎炎とmiRNAs

MicroRNA(miRNAs)は21~25塩基長の短い1本鎖RNA分子であり、真核生物において遺伝子の転写後発現調節に関与する。miRNAはその標的mRNAに対して不完全相同性で結合し、一般に標的遺伝子の3'UTRを認識して標的mRNAを不安定化するとともに、翻訳抑制を行うことで蛋白産生を抑制する。miRNAは、細胞増殖、細胞分化、およびアポトシスの過程で重要な役割を担うことが知られ、近年注目を浴びている。さらに、腎臓領域においても、miRNAが腎疾患の発症に関与することが報告されており¹⁶⁾、miRNAの制御が腎疾患における新しい治療標的となる可能性がある。Heniqueらは、半月体形成性糸球体腎炎において、miRNA-92a(miR-92a)を抑制することで、ポドサイトの細胞周期を制御し、半月体形成を抑制することを報告した¹⁷⁾。彼らは、nephrotoxic serum惹起型腎炎モデルを

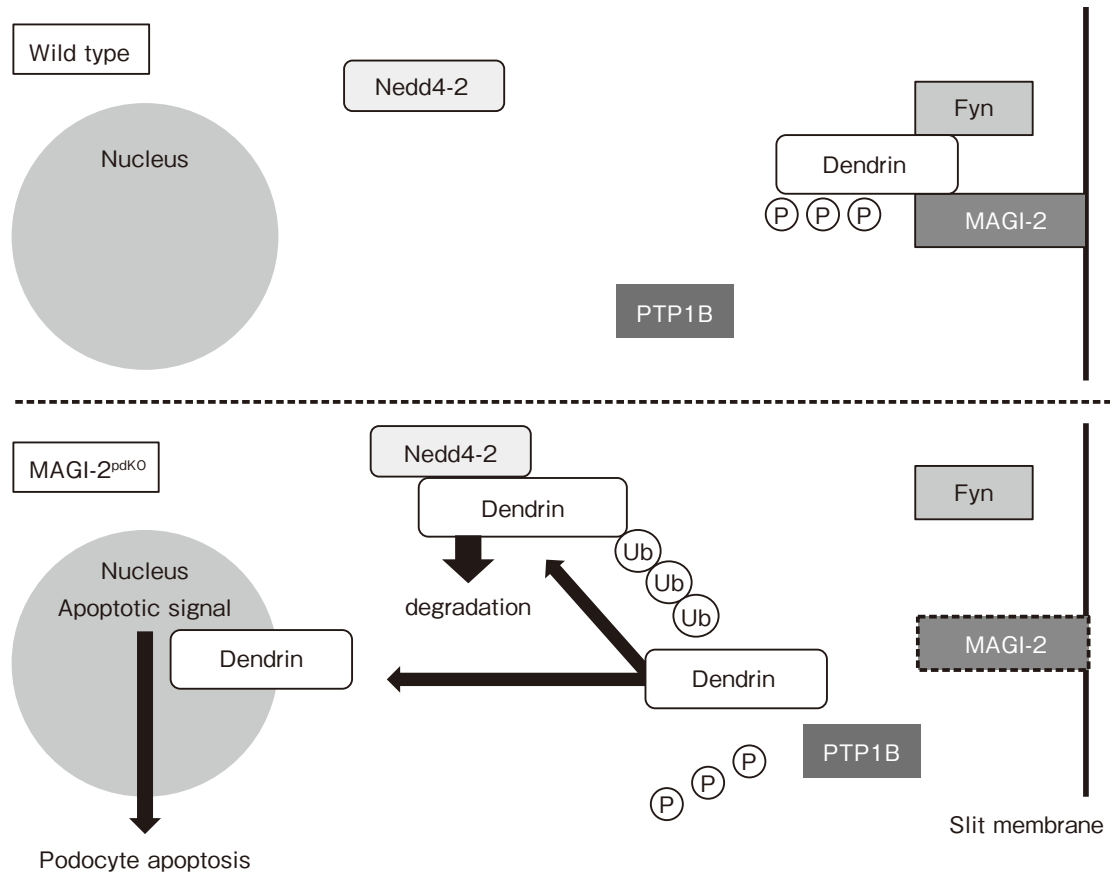


図2 MAGI-2欠損によるポドサイトのアポトーシス誘導

ポドサイト特異的MAGI-2欠損マウスでは、dendrinがPTP1Bにより脱リン酸化されNedd4-2により分解される経路と、核に移行してアポトーシスを促進する経路が存在する。(文献14 Fig. 8より引用, 改変)

用いた実験で、ポドサイトにmiR-92aが発現していることを*in situ* hybridization, RT-qPCRを用いて見出した。さらに、膜性腎症やMCDなどの半月体を形成しないヒト腎組織と比較して、顕微鏡的多発血管炎(MPA), 多発血管炎性肉芽腫症(GPA), およびループス腎炎(Ⅲ型, Ⅳ型)などの半月体を形成する腎組織では、ポドサイトと半月体にmiR-92aが発現していることを*in situ* hybridizationで確認した。さらに、半月体形成を認める単離糸球体のmiR-92a発現が3.5~4倍上昇していることをRT-qPCRで確認した。miR-92a遺伝子のプロモーター領域は、STAT3の結合領域と相同性が高いことから、miR-92aのモジュレーターとしてSTAT3の可能性が考えられた。そこで、ポドサイト特異的にSTAT3をノックアウトしたマウスにnephrotoxic serum処置を行ったところ、miR-92aの発現は誘導されなかったことから、miR-92aの発現はSTAT3依存性であることが明らかになった。次に、miR-92aの機能解明のために、マウスの糸球体から単離したポドサイトにanti-miR-92aをトラン

スフェクションしたところ、ポドサイトの増殖抑制と細胞周期関連蛋白であるKi67の発現低下、細胞増殖静止期の維持を担う中心的なサイクリン依存性キナーゼ(CDK)阻害蛋白であるp57の発現上昇が確認された。Nephrotoxic serum 惹起型腎炎モデルの糸球体、ヒトの半月体形成性糸球体腎炎の糸球体でもp57の発現低下が確認された。*In vivo*の実験として、ポドサイト特異的にmiR-92aをノックアウト後、nephrotoxic serum 処置を行ったところ、尿中アルブミン、BUN、半月体面積の低下が確認され、p57陽性細胞が保持されていた。次に、nephrotoxic serum 惹起型腎炎モデルマウスにanti-miR-92aを投与したところ、p57陽性細胞の上昇、半月体形成の抑制、アルブミン尿の改善、およびBUNの低下が確認された。以上より、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)の新規治療薬としてmiR-92a阻害薬が有望であることが示された。

2. 半月体形成性糸球体腎炎とネクローシス

アポトーシスとネクローシスはプログラムされた細胞死

であるか否かが相違である。しかし、Lasterらは細胞をTNF- α で刺激して細胞死を誘導した際に、細胞によりアポトーシスの形態を示すものとネクローシスの形態を示すものがあることを報告し¹⁸⁾、プログラムされたネクローシスという概念が生まれ、2005年にDegterevらにより、ネクロトーシスと名づけられた¹⁹⁾。TNF- α で刺激されると、caspase-8が活性化されアポトーシスが誘導されるが、このcaspase-8をbenzyloxycarbonylvalyl-alanyl-laspartyl fluoromethyl ketone (zVAD)で阻害するとreceptor interacting protein kinase 1/3 (RIPK1/3)が活性化されネクロトーシスが誘導される。

好中球細胞外トラップ(neutrophil extracellular traps: NETs)は2004年にBrinkmannらにより報告された好中球の細胞死の形態である²⁰⁾。細菌などの外来微生物により活性化された好中球は最終的に細胞死に至るが、その際、核DNA、ヒストン、好中球顆粒蛋白などの混合物を網状に放出することで病原菌を捕捉し殺菌する、つまり細胞死に至った後も殺菌する。しかし、NETsの存在は細胞外にDNAや細胞内蛋白が曝露されている状態であり、NETsの過剰産生や処理能力の低下は、自己抗体の産生につながる。2009年にKessenbrockらは、ANCA関連血管炎(ANCA-associated vasculitis: AAV)にNETsが関与することを報告した²¹⁾。さらに、AAVの糸球体病変部位にNETsが検出されること、*in vitro*でANCAがNETsを誘導することを示した²¹⁾。その後の研究で、NETsは血管内皮細胞障害を誘導することも示された²²⁾。しかし、ANCAがNETsを誘導するメカニズム、NETsが血管内皮障害を誘導するメカニズムは十分には解明されていなかった。Schreiberらは、ANCAがネクロトーシスの経路を介して、NETs産生、補体活性による血管内皮障害とそれによる血管炎を制御することを報告した²³⁾。TNF- α でプライミングされたヒトの好中球をPR3抗体、MPO抗体、AAV患者からのANCA-IgG抗体で刺激したところ、NETs形成が誘導された。さらに、MPO抗体によるNETs誘導はRIPK1/3の阻害薬であるnecrostatin-1(Nec-1)の添加により、濃度依存性に阻害された。また、RIPK1/3の下流シグナルであるmixed-lineage kinase domain-like(MLKL)の阻害薬であるnecrosulfonamideの添加でも抑制された。またRipk3ノックアウトマウスの好中球でもNETs形成は抑制された。ヒト好中球ではMPO抗体の添加でMLKLがリン酸化されることも確認された。次に、ヒト好中球をTNF- α で刺激して得られたNETsを使用して、血管内皮障害との関連を検討した。ヒト血管内皮細胞(HUVEC)とNETsを共培養し、MPO抗体を添加した

ところ血管透過性が亢進し、DNase IやNec-1の共添加でこの透過性亢進は抑制された。ANCA関連腎炎の糸球体障害には補体副経路の活性化も関与することが報告されている。C5a受容体拮抗薬投与やC5a受容体欠損マウスではMPO-ANCA型糸球体腎炎は誘導されない^{24~26)}。MPO抗体で刺激された好中球にヒト正常血清を添加したところ、NETsにC3dの沈着がみられた。この沈着はDNase Iの添加で抑制された。次に、C3欠損、C1q欠損の血清を添加したところ、C1q欠損の血清添加ではNETsへのC3d沈着が観察されたが、C3欠損の血清添加ではNETsへのC3d沈着が観察されなかった。さらに血管透過性もC3欠損の血清添加では抑制された。つまり、NETsに血清中のC3dが沈着し活性化することで血管内皮障害を引き起こすことが示された。MPO欠損マウスにMPOを免疫することで得られたIgG-MPO抗体をマウスに投与することで半月体形成性糸球体腎炎を発症させることができる。このモデルマウスにDNase Iを投与することで、血尿、蛋白尿などの尿所見、腎病理組織の半月体形成が有意に抑制され、Ripk3ノックアウトマウスあるいはMik1ノックアウトマウスにIgG-MPO抗体を投与した場合は尿所見および腎病理組織が改善することが確認された。ヒトのMPO-ANCA関連血管炎の腎病理組織でもphospho-MLKL陽性好中球が確認されることから、RIPK3によりリン酸化されたMLKLがネクロトーシスを介して、AAVの発症に関与することが示唆された。RIPK1阻害薬の臨床試験は、炎症性腸疾患、関節リウマチ、および乾癬に対し、現在、第二相試験まで進んでいる。今後、ネクロトーシスを標的とした治療が半月体形成性糸球体腎炎の治療にも応用されることが期待できる。

3. ループス腎炎とインフラマソーム

近年、糖尿病性腎症やループス腎炎などのさまざまな腎疾患の進展に、慢性炎症が関与することが知られている。炎症に関与する機構として、NOD-like-receptor family, pyrin domain-containing protein 3(NLRP3)が注目を浴びている。NLRP3は、細菌由来のムラミルジペプチド、死細胞由来のATPや尿酸結晶、カテプシンB、細菌の毒素で形成された細胞孔からのK⁺の流失、あるいはROSの作用でthioredoxin(TRX)から遊離したTRX-interacting proteinなどにより活性化され、apoptosis-associated speck-like protein containing caspase recruitment domain(ASC)およびprocaspase-1と会合してインフラマソームとよばれる複合体を形成し、炎症性サイトカインであるIL-1 β やIL-18の産生を誘導する。これまでに、NLRP3の活性抑制と、その上流であるpurinergic receptor(P2X₇)受容体の阻害がループス腎炎のモデルマウ

スで蛋白尿を改善することが報告されている^{27~28)}。しかし、NLRP3の活性化がポドサイト障害に関与するか否かは不明であった。Fuらは、ループス腎炎モデルであるNZM2328マウスを用いた実験で、ポドサイトにおけるNLRP3の活性化がループス腎炎の発症に関与することを報告した²⁹⁾。雌のNZM2328マウスは16週から蛋白尿が出現し、30週では70%に高度蛋白尿が出現した。36週齢では、腎臓全体のNLRP3とcaspase-1の活性化型であるcaspase-1p20が蛋白レベルとmRNAレベルで上昇しており、FACS解析ではポドサイトにおけるcaspase-1の発現亢進が認められた。また、活動性ループス腎炎患者の腎病理組織でもIL-1 β とcaspase-1がポドサイトで発現しており、ループス腎炎患者の尿中に脱落したポドサイトもIL-1 β とcaspase-1が陽性であった。次に、選択的NLRP3阻害薬であるMCC950をNZM2328マウスに腹腔内投与したところ、腎臓全体のNLRP3とcaspase-1p20の発現が低下し、ポドサイトにおけるcaspase-1の発現が低下し、蛋白尿が減少し、電子顕微鏡での足突起の消失が改善し、腎病理組織の改善も認められた。NZM2328マウスのポドサイトを*in vitro*でNZM2328マウス血清と培養すると、caspase-1p20の蛋白発現と上清中IL-1 β の増加がみられたが、MCC950あるいはMito Tempo(ミトコンドリア選択的抗酸化剤)との共培養により抑制された。さらにNZM2328マウスポドサイトへのNZM2328マウス血清添加で、ROS産生の亢進、ミトコンドリア膜電位の低下がみられた。また、血清からIgGを除去するとcaspase-1p20の発現上昇は抑制された。以上より、ループス腎炎マウス血清中のIgGがミトコンドリアを傷害し、ROS産生を介してNLRP3を活性化し、ポドサイト障害に至ったと考えられる。

次に、樹状細胞のNLRP3活性とループス腎炎の関連がWesterterpらによって報告された³⁰⁾。全身性エリテマトーデス(SLE)などの自己免疫疾患では、血清HDLが低値であること³¹⁾、心血管イベントの発症が多いこと^{32,33)}が報告されている。ATP-binding cassette(ABC)は、ATP結合ドメインと複数の膜貫通ヘリックスを持つ膜蛋白ファミリーで、体内のコレステロール恒常性に関与する。ABC蛋白であるABCA1とABCG1は細胞内の過剰のコレステロールを血中に排出する。アポ蛋白A1(ApoA1)とHDLは免疫細胞からABCA1とABCG1を介してコレステロールを排出する³⁴⁾。しかし、コレステロールの排出経路の障害が自己免疫疾患の発症に関連するかは不明であった。彼らは、*Abca1*と*Abcg1*のダブルノックアウトマウスを作製し、40週齢でリンパ節腫脹が認められ、糸球体腎炎が発症する

ことを見出した。さらに、樹状細胞、マクロファージ、あるいはT細胞のABCA1とABCG1を選択的にノックアウトしたところ、樹状細胞でのノックアウトマウス(DC-ABC^{DKO})にのみ、dsDNAの上昇、Wire-loop病変、およびIgG、IgM、IgA、C1、C3の糸球体沈着が確認された。DC-ABC^{DKO}マウスの解析では、樹状細胞にコレステロールが蓄積し、GM-CSF受容体の発現が上昇したCD11b⁺樹状細胞がリンパ節と脾臓に増加し、GM-CSF産生能を持つTh17細胞の比率がリンパ節と脾臓で上昇し、脾臓のCD4⁺T細胞ではTh1への分化を示すT-bet陽性細胞が上昇していた。さらに、20週齢のDC-ABC^{DKO}マウスのCD11b⁺樹状細胞では、pro-IL-1 β とNLRP3のmRNA発現の亢進、caspase-1の活性化型であるcleaved caspase-1の蛋白発現の亢進が観察された。また、40週齢のDC-ABC^{DKO}マウスでは血清IL-18の上昇もみられた。これらのインフラマソームの活性が蓄積されたコレステロールによることを示すため、DC-ABC^{DKO}マウスの脾臓から抽出したCD11b⁺樹状細胞に、コレステロールの細胞外排出を促進するreconstituted HDL(rHDL)を添加し培養したところ、上清中IL-18とIL-1 β 蛋白は減少した。さらにDC-ABC^{DKO}マウスでNLRP3をノックアウトしたところ、リンパ節腫大とTh1への分化傾向は抑制された。これらの結果より、免疫寛容の維持に樹状細胞におけるコレステロールの排出が重要であり、ABCA1とABCG1の発現促進に作用するliver X receptor(LXR)のアゴニストがループス腎炎患者への治療薬となる可能性が示された。

4. メサングウム細胞増殖性腎炎とmTOR1

メサングウム細胞は糸球体病変の発症進展に重要な役割を果たす。しかし、これまでメサングウム細胞特異的なCre-loxPシステムが確立されていなかったため、*in vivo*におけるメサングウム細胞の機能解析を解明することが困難であった。Nagaiらはタモキシフェン誘導型Cre-loxPシステムでメサングウム細胞におけるmTOR抑制分子であるtuberous sclerosis complex 1(TSC1)をコンディショナルノックアウトすることで、mTOR1-S6キナーゼの活性化がメサングウム基質の拡大と硬化につながることを報告した³⁵⁾。同マウスにmTORの阻害薬であるrapamycinを投与したところ、生後3カ月のphospho-S6蛋白の発現低下と、collagen IV染色領域の減少が認められた。実際にヒトの腎病理組織でも、IgA腎症やループス腎炎などのメサングウム増殖病変が主体の疾患群では、早期糖尿病、膜性腎症、あるいはMCDの疾患群と比較して、phospho-S6の発現が有意に上昇していることが免疫染色法で示された。以上よ

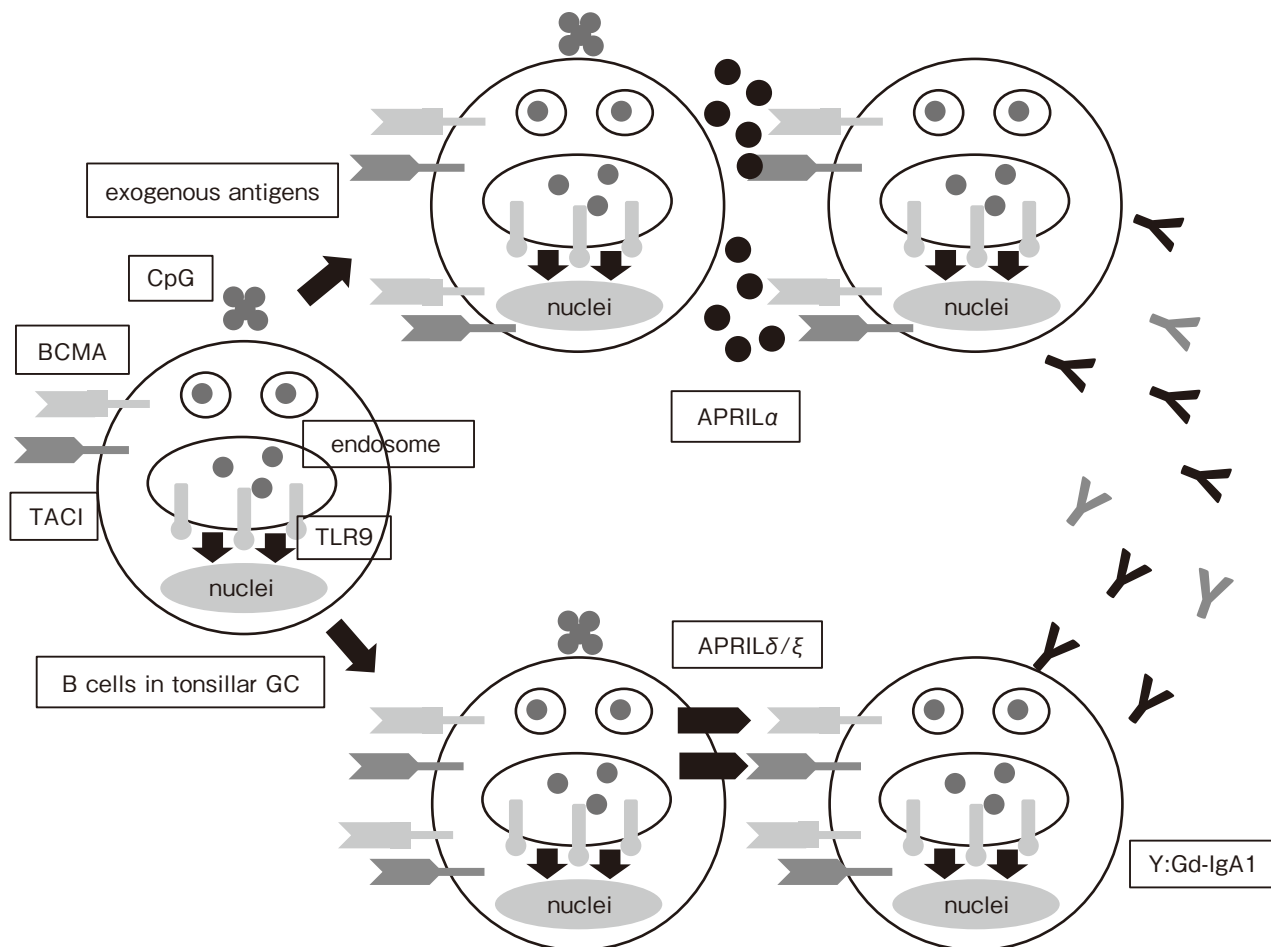


図3 IgA 腎症患者における口蓋扁桃 B 細胞の TLR9 を介する活性化

IgA 腎症患者の口蓋扁桃 GC では、外来抗原による TLR9 の活性化が、BCMA と TACI 発現の上昇、分泌型 APRIL α と膜型 APRIL δ/ξ 発現の上昇による、Gd-IgA1 を含む抗体産生を介して腎症進展に寄与する。(文献 38 Fig. 7 より引用、改変)

り、メサングウム細胞特異的な mTOR 経路の活性化が糸球体硬化を誘導することが示唆された。

5. IgA 腎症と Toll-like receptor 9

中国人 IgA 腎症患者 4,137 例に関するゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) で、IgA 腎症の疾患感受性遺伝子として *TNFSF13* 遺伝子が同定され、*TNFSF13* にコードされる a proliferation inducing ligand (APRIL) が注目されている³⁶⁾。さらに、IgA 腎症患者では血清 APRIL が健常人と比較して増加しており、血中濃度と重症度が相関することが報告された³⁷⁾。APRIL は TNF スーパーファミリーに属し、受容体として transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI) と B-cell maturation antigen (BCMA) が存在する。APRIL の機能として、B 細胞の分化、増殖、抗体産生、および IgA へのクラススイッチを誘導することが知られてい

る。しかし、APRIL を産生する細胞や、その機序に関しては依然不明であった。Muto らは、Toll-like receptor 9 (TLR9) が IgA 腎症患者の扁桃胚中心の B 細胞に APRIL の発現を誘導することを報告した³⁸⁾。彼らは IgA 腎症患者と慢性扁桃炎 (CT) 患者の扁桃での APRIL の発現を RT-qPCR で比較し、IgA 患者で有意に発現が上昇していること、免疫染色法で IgA 腎症患者の扁桃胚中心で APRIL の発現が上昇していることを見出した。この扁桃胚中心の APRIL 産生細胞は、IgD⁻CD38⁺CD19⁺B 細胞であり、これらは IgG または IgA にクラススイッチしていた。さらに、この B 細胞は分泌型である APRIL α と非分泌型である APRIL δ/ξ の発現の両者が CT 患者と比較して有意に上昇していた。IgA 腎症患者の扁桃では TLR9 の発現が有意に上昇しており、APRIL α および APRIL δ/ξ の mRNA 発現量と TLR9 mRNA の発現量には正の相関が認められた。次に、彼らは CT 患

者の扁桃細胞をTLR9のリガンドであるCpG-oligodeoxynucleotide (CpG-ODN)で慢性刺激すると、APRILと受容体であるTACIとBCMAの発現が誘導されることを確認した。臨床的検討でも、IgA腎症患者の蛋白尿が1g/gCr以上の患者は1g/gCr未満の患者と比較して有意に扁桃胚中心のAPRIL産生細胞の比率は高く、胚中心APRIL産生細胞が10%以上のIgA腎症患者群では蛋白尿が有意に上昇していた。APRIL産生細胞が10%以上の患者群では扁桃腺摘出前後の血清IgA値の減少率は10%未満群と比較し差がなかったが(p=0.052)、扁桃腺摘出後にGd-IgA1は減少し、尿蛋白量も有意に減少していた。つまり、扁桃胚中心におけるAPRIL陽性率がIgA腎症の重症度と扁桃腺摘出の治療反応性と関連することが示された(図3)。

おわりに

腎炎、ネフローゼ症候群領域における、この1年間に発表された基礎研究論文のなかから、巣状分節性糸球体硬化症、半月体形成性糸球体腎炎、ループス腎炎に関するもので重要と思われる報告を筆者なりに選択して紹介した。ポドサイト障害が、蛋白尿と糸球体硬化にかかわる中心的な腎臓病のテーマであるため、ポドサイトに関する基礎研究を中心として概説した。さらに基礎研究が発展し、末期腎不全への移行を抑制できる新しい治療法が開発されることを期待したい。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文 献

- Wei C, El Hindi S, Li J, Fornoni A, Goes N, Sageshima J, Maignel D, Karumanchi SA, Yap HK, Saleem M, Zhang Q, Nikolic B, Chaudhuri A, Daftarian P, Salido E, Torres A, Salifu M, Sarwal MM, Schaefer F, Morath C, Schwenger V, Zeier M, Gupta V, Roth D, Rastaldi MP, Burke G, Ruiz P, Reiser J. Circulating urokinase receptor as a cause of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Med* 2011 ; 17 : 952-960.
- Hahm E, Wei C, Fernandez I, Li J, Tardi NJ, Tracy M, Wadhvani S, Cao Y, Peev V, Zloza A, Lusciks J, Hayek SS, O'Connor C, Bitzer M, Gupta V, Sever S, Sykes DB, Scadden DT, Reiser J. Bone marrow-derived immature myeloid cells are a main source of circulating suPAR contributing to proteinuric kidney disease. *Nat Med* 2017 ; 23 : 100-106.
- Hayek SS, Koh KH, Grams ME, Wei C, Ko YA, Li J, Samelko B, Lee H, Dande RR, Lee HW, Hahm E, Peev V, Tracy M, Tardi NJ, Gupta V, Altintas MM, Garborcauskas G, Stojanovic N, Winkler CA, Lipkowitz MS, Tin A, Inker LA, Levey AS, Zeier M, Freedman BI, Kopp JB, Skorecki K, Coresh J, Quyyumi AA, Sever S, Reiser J. A tripartite complex of suPAR, APOL1 risk variants and $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ integrin on podocytes mediates chronic kidney disease. *Nat Med* 2017 ; 23 : 945-953.
- Genovese G, Friedman DJ, Ross MD, Lecordier L, Uzureau P, Freedman BI, Bowden DW, Langefeld CD, Oleksyk TK, Uscinski Knob AL, Bernhardt AJ, Hicks PJ, Nelson GW, Vanhollebeke B, Winkler CA, Kopp JB, Pays E, Pollak MR. Association of trypanolytic ApoL1 variants with kidney disease in African Americans. *Science* 2010 ; 329 : 841-845.
- Scott RP, Hawley SP, Ruston J, Du J, Brakebusch C, Jones N, Pawson T. Podocyte-specific loss of Cdc42 leads to congenital nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012 ; 23 : 1149-1154.
- Blattner SM, Hodgin JB, Nishio M, Wylie SA, Saha J, Soofi AA, Vining C, Randolph A, Herbach N, Wanke R, Atkins KB, Gyung Kang H, Henger A, Brakebusch C, Holzman LB, Kretzler M. Divergent functions of the Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in podocyte injury. *Kidney Int* 2013 ; 84 : 920-930.
- Akilesh S, Suleiman H, Yu H, Stander MC, Lavin P, Gbadegesin R, Antignac C, Pollak M, Kopp JB, Winn MP, Shaw AS. Arhgap24 inactivates Rac1 in mouse podocytes, and a mutant form is associated with familial focal segmental glomerulosclerosis. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 4127-4137.
- Gee HY, Saisawat P, Ashraf S, Hurd TW, Vega-Warner V, Fang H, Beck BB, Gribouval O, Zhou W, Diaz KA, Natarajan S, Wiggins RC, Lovric S, Chernin G, Schoeb DS, Ovunc B, Frishberg Y, Soliman NA, Fathy HM, Goebel H, Hoefele J, Weber LT, Innis JW, Faul C, Han Z, Washburn J, Antignac C, Levy S, Otto EA, Hildebrandt F. ARHGDI1 mutations cause nephrotic syndrome via defective RHO GTPase signaling. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 3243-3253.
- Gupta IR, Baldwin C, Auguste D, Ha KC, El Andaloussi J, Fahiminiya S, Bitzan M, Bernard C, Akbari MR, Narod SA, Rosenblatt DS, Majewski J, Takano T. ARHGDI1 : a novel gene implicated in nephrotic syndrome. *J Med Genet* 2013 ; 50 : 330-338.
- Robins R, Baldwin C, Aoudjit L, Côté JF, Gupta IR, Takano T. Rac1 activation in podocytes induces the spectrum of nephrotic syndrome. *Kidney Int* 2017 ; 92 : 349-364.
- Zhou Y, Castonguay P, Sidhom EH, Clark AR, Dvela-Levitt M, Kim S, Sieber J, Wieder N, Jung JY, Andreeva S, Reichardt J, Dubois F, Hoffmann SC, Basgen JM, Montesinos MS, Weins A, Johnson AC, Lander ES, Garrett MR, Hopkins CR, Greka A. A small-molecule inhibitor of TRPC5 ion channels suppresses progressive kidney disease in animal models. *Science* 2017 ; 358 : 1332-1336.
- Zschiedrich S, Bork T, Liang W, Wanner N, Eulenbruch K, Munder S, Hartleben B, Kretz O, Gerber S, Simons M, Viau A, Burtin M, Wei C, Reiser J, Herbach N, Rastaldi MP, Cohen CD, Tharaux PL, Terzi F, Walz G, Gödel M, Huber TB. Targeting mTOR signaling can prevent the progression of FSGS. *J Am Soc*

- Nephrol 2017 ; 28 : 2144-2157.
13. Ihara K, Asanuma K, Fukuda T, Ohwada S, Yoshida M, Nishimori K. MAGI-2 is critical for the formation and maintenance of the glomerular filtration barrier in mouse kidney. *Am J Pathol* 2014 ; 184 : 2699-2708.
 14. Shirata N, Ihara KI, Yamamoto-Nonaka K, Seki T, Makino SI, Oliva Trejo JA, Miyake T, Yamada H, Campbell KN, Nakagawa T, Mori K, Yanagita M, Mundel P, Nishimori K, Asanuma K. Glomerulosclerosis induced by deficiency of membrane-associated guanylate kinase inverted 2 in kidney podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 2654-2669.
 15. Asanuma K, Akiba-Takagi M, Kodama F, Asao R, Nagai Y, Lydia A, Fukuda H, Tanaka E, Shibata T, Takahara H, Hidaka T, Asanuma E, Kominami E, Ueno T, Tomino Y. Dendrin location in podocytes is associated with disease progression in animal and human glomerulopathy. *Am J Nephrol* 2011 ; 33 : 537-549.
 16. Gebeshuber CA, Kornauth C, Dong L, Sierig R, Seibler J, Reiss M, Tauber S, Bilban M, Wang S, Kain R, Böhmig GA, Moeller MJ, Gröne HJ, Englert C, Martinez J, Kerjaszki D. Focal segmental glomerulosclerosis is induced by microRNA-193a and its downregulation of WT1. *Nat Med* 2013 ; 19 : 481-487.
 17. Henique C, Bollée G, Loyer X, Grahmmer F, Dhaun N, Camus M, Vernerey J, Guyonnet L, Gaillard F, Lazareth H, Meyer C, Bensaada I, Legrès L, Satoh T, Akira S, Bruneval P, Dimmeler S, Tedgui A, Karras A, Thervet E, Nochy D, Huber TB, Mesnard L, Lenoir O, Tharaux PL. Genetic and pharmacological inhibition of microRNA-92a maintains podocyte cell cycle quiescence and limits crescentic glomerulonephritis. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 1829.
 18. Laster SM, Wood JG, Gooding LR. Tumor necrosis factor can induce both apoptotic and necrotic forms of cell lysis. *J Immunol* 1988 ; 141 : 2629-2634.
 19. Degtrev A, Huang Z, Boyce M, Li Y, Jagtap P, Mizushima N, Cuny GD, Mitchison TJ, Moskowitz MA, Yuan J. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol* 2005 ; 1 : 112-119.
 20. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004 ; 303 : 1532-1535.
 21. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönemmarck U, Back W, Gross WL, Werb Z, Gröne HJ, Brinkmann V, Jenne DE. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med* 2009 ; 15 : 623-625.
 22. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD Jr, Wroblewski SK, Wakefield TW, Hartwig JH, Wagner DD. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010 ; 107 : 15880-15885.
 23. Schreiber A, Rousselle A, Becker JU, von Mässenhausen A, Linkermann A, Kettritz R. Necroptosis controls NET generation and mediates complement activation, endothelial damage, and autoimmune vasculitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017 ; 114 : E9618-E9625.
 24. Schreiber A, Xiao H, Jennette JC, Schneider W, Luft FC, Kettritz R. C5a receptor mediates neutrophil activation and ANCA-induced glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2009 ; 20 : 289-298.
 25. Huuigen D, van Esch A, Xiao H, Peutz-Kootstra CJ, Buurman WA, Tervaert JW, Jennette JC, Heeringa P. Inhibition of complement factor C5 protects against anti-myeloperoxidase antibody-mediated glomerulonephritis in mice. *Kidney Int* 2007 ; 71 : 646-654.
 26. Xiao H, Dairaghi DJ, Powers JP, Ertl LS, Baumgart T, Wang Y, Seitz LC, Penfold ME, Gan L, Hu P, Lu B, Gerard NP, Gerard C, Schall TJ, Jaen JC, Falk RJ, Jennette JC. C5a receptor (CD88) blockade protects against MPO-ANCA GN. *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 : 225-231.
 27. Zhao J, Wang H, Dai C, Wang H, Zhang H, Huang Y, Wang S, Gaskin F, Yang N, Fu SM. P2X7 blockade attenuates murine lupus nephritis by inhibiting activation of the NLRP3/ASC/caspase 1 pathway. *Arthritis Rheum* 2013 ; 65 : 3176-3185.
 28. Zhao J, Wang H, Huang Y, Zhang H, Wang S, Gaskin F, Yang N, Fu SM. Lupus nephritis : glycogen synthase kinase 3 β promotion of renal damage through activation of the NLRP3 inflammasome in lupus-prone mice. *Arthritis Rheumatol* 2015 ; 67 : 1036-1044.
 29. Fu R, Guo C, Wang S, Huang Y, Jin O, Hu H, Chen J, Xu B, Zhou M, Zhao J, Sung SJ, Wang H, Gaskin F, Yang N, Fu SM. Podocyte activation of NLRP3 inflammasomes contributes to the development of proteinuria in Lupus nephritis. *Arthritis Rheumatol* 2017 ; 69 : 1636-1646.
 30. Westerterp M, Gautier EL, Ganda A, Molusky MM, Wang W, Fotakis P, Wang N, Randolph GJ, D'Agati VD, Yvan-Charvet L, Tall AR. Cholesterol accumulation in dendritic cells links the inflammasome to acquired immunity. *Cell Metab* 2017 ; 25 : 1294-1304.
 31. Norata GD, Pirillo A, Ammirati E, Catapano AL. Emerging role of high density lipoproteins as a player in the immune system. *Atherosclerosis* 2012 ; 220 : 11-21.
 32. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, Raggi P, Stein CM. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 2407-2415.
 33. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, Schwartz JE, Paget SA, Devereux RB, Salmon JE. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 2399-2406.
 34. Yvan-Charvet L, Ranalletta M, Wang N, Han S, Terasaka N, Li R, Welch C, Tall AR. Combined deficiency of ABCA1 and ABCG1 promotes foam cell accumulation and accelerates atherosclerosis in mice. *J Clin Invest* 2007 ; 117 : 3900-3908.
 35. Nagai K, Tominaga T, Ueda S, Shibata E, Tamaki M, Matsuura M, Kishi S, Murakami T, Moriya T, Abe H, Doi T. Mesangial cell mammalian target of rapamycin complex 1 activation results

- in mesangial expansion. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 2879-2885.
36. Yu XQ, Li M, Zhang H, Low HQ, Wei X, Wang JQ, Sun LD, Sim KS, Li Y, Foo JN, Wang W, Li ZJ, Yin XY, Tang XQ, Fan L, Chen J, Li RS, Wan JX, Liu ZS, Lou TQ, Zhu L, Huang XJ, Zhang XJ, Liu ZH, Liu JJ. A genome-wide association study in Han Chinese identifies multiple susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat Genet* 2011 ; 44 : 178-182.
37. McCarthy DD, Kujawa J, Wilson C, Papandile A, Poreci U, Porfilio EA, Ward L, Lawson MA, Macpherson AJ, McCoy KD, Pei Y, Novak L, Lee JY, Julian BA, Novak J, Ranger A, Gommerman JL, Browning JL. Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 3991-4002.
38. Muto M, Manfroi B, Suzuki H, Joh K, Nagai M, Wakai S, Righini C, Maiguma M, Izui S, Tomino Y, Huard B, Suzuki Y. Toll-like receptor 9 stimulation induces aberrant expression of a proliferation-inducing ligand by tonsillar germinal center B cells in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2017 ; 28 : 1227-1238.