

IgA 肾病的遗传学和免疫生物学发病机制的研究进展

范燕琴 丁国华 陈星华 王惠明

摘要 IgA 肾病是多基因多因素参与的复杂性疾病,糖基化异常 IgA1 分子的形成被认为是 IgA 肾病致病的关键环节,而近年来关于 IgA 肾病的全基因组关联分析(GWAS)研究发现数个易感基因与 IgA 肾病发病相关,主要涉及获得性免疫、先天性免疫及补体系统区域,进一步提示遗传因素及免疫生物学因素在 IgA 肾病发病机制中起关键作用,逐步揭示 IgA 肾病错综复杂的遗传发病和进展机制。如何将研究成果更好的与临床结合,对易感人群进行早期诊断和个体化治疗,这是未来面临的又一挑战。

关键词 IgA 肾病 易感基因 关联分析 连锁分析 黏膜免疫

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.004

IgA 肾病(IgAN)是我国,乃至世界范围内公认的最常见的原发性肾小球肾炎,疾病异质性强。病理特征为肾小球系膜区以聚合体低糖基化 IgA1 为主的免疫复合物沉积,临床表现以血尿和(或)蛋白尿为主。研究表明约 30%~40% 患者在 20 年内进展为终末期肾病(ESRD)^[1]。肾移植是个体到达 ESRD 的治疗方式之一,但高达 50% 的肾移植患者存在疾病复发风险,将有免疫复合物沉积的亚临床症状 IgAN 患者肾脏移植给正常人后约几星期移植肾的免疫复合物消失,这种高复发率提示 IgAN 的原发致病缺陷可能为肾外起源,Suzuki 等研究通过免疫吸附除去体内 IgG 自身抗体后能明显改善肾功能,表明 IgAN 是免疫复合物沉积引起的自身免疫性疾病。近年来 IgAN 已被广泛认为是一种多基因多因素参与的复杂性疾病,全基因组关联分析(GWAS)提示 IgAN 的疾病易感性与抗原处理和呈递途径、黏膜免疫系统、补体替代途径中的某些遗传变异有关^[2-4]。本文主要从 IgAN 的分子遗传学和免疫生物学方面阐述相关研究进展,提供 IgAN 发病机制的新视野。

一、糖基化异常 IgA1、抗聚糖抗体与 IgA 肾病

IgAN 患者血清及系膜区沉积的 IgA 主要为异常糖基化 IgA1(Gd-IgA1),Gd-IgA1 主要通过以下过程参与 IgAN 发病:IgA 铰链区 O-聚糖半乳糖缺失,暴露出 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc,Tn 抗原),以 Tn 抗原或唾液酸化 Tn 抗原形式出现;血循环中抗 Gd-

IgA1 自身抗体形成;Gd-IgA1 与自身抗体形成 IgA1-IC 沉积于肾小球系膜区导致肾脏损伤^[5]。大量研究表明半乳糖基转移酶活性降低是导致 IgA1 分子糖基化异常的重要途径,伴侣蛋白 Cosmc 表达下调是 IgA1 分子糖基化异常的中心环节,而唾液酸转移酶对于 IgA1 分子糖基化的作用仍存在争议^[5]。

已有可靠方法评估血清 Gd-IgA1 和抗 Gd-IgA1 自身抗体水平,IgAN 患者血清 Gd-IgA1 及 Gd-IgA1-IgG 抗体水平高于健康及疾病对照组,上述指标区分 IgAN 及非 IgAN 患者特异性及敏感度均较高,与 IgAN 的不良预后指标亦存在相关性,可成为诊断 IgAN 特异无创性生物标志物和潜在的治疗靶点^[6]。凝集素亲和 ELISA 法是目前最简便且应用最广泛检测血清 Gd-IgA1 水平的方法,此外,气液色谱法和质谱分析法已用于分析 IgA1 分子的 O-糖基化模式。对于 Gd-IgA1 分子的特性、自身抗体产生途径及调控糖基化过程中关键酶编码基因的 microRNAs 等方面仍有待更多的基础及临床研究,为开发 Gd-IgA1 作为 IgAN 早期诊断、判断预后的特异性生物学指标及探索潜在疾病特异性治疗靶点建立基础。

二、IgA 肾病的遗传学研究现状

大量证据表明遗传因素参与 IgAN 的发病。首先,IgAN 发生率存在明显的种族差异,东亚人发生率最高,其次为欧洲白种人,而非洲黑人发生率较低^[7]。其次,IgAN 发病存在明显的家系和家族聚集倾向:意大利有相关研究提示超过 50% 的 IgAN 患者呈家族聚集性发病,世界各国陆续有众多 IgAN 家系报道^[8]。而且 IgAN 的发病还存在地域差异:美国肯塔基州东部、意大利北部和澳大利亚土著人中发生率

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81370800)

作者单位:430060 武汉大学人民医院肾内科

通讯作者:丁国华,电子信箱:ghxding@gmail.com

较高。上述报道均证明遗传因素参与其发病。目前主要有两种方法研究 IgAN 遗传学机制:一种是以家族性 IgAN 为基础的家系连锁分析,另一种是以散发 IgAN 为基础的关联分析,包括有遗传假设的候选基因关联分析及无遗传假设的全基因组关联分析(GWAS)。IgAN 基于家系的全基因组连锁分析报道共发现 4 个与家族性 IgAN 连锁的染色体区域^[9, 10]: 染色体 6q22 ~ 23 (LOD = 5.6), 4q26 ~ 31 (LOD = 1.83), 17q12 ~ 22 (LOD = 2.56), 2q36 (LOD = 3.46)。但这些连锁区间里尚未发现 IgAN 的相关易感基因,可能与家系连锁分析存在一定局限性有关:IgAN 疾病异质性大,家系成员健康/疾病表型错误分类会影响其应用,分析众多微效基因共同作用的多基因复杂性疾病时会降低统计效能。若将遗传连锁分析联合血清 Gd-IgA1 水平评估疾病表型、基因组测序等方法可更有效发现与 IgAN 有关的易感基因。

候选基因关联分析法发现众多与 IgAN 相关的候选基因:主要组织相容性复合体 II 类分子基因、肾素-血管紧张素系统相关基因、细胞因子相关基因、转化生长因子 β 1、T 细胞受体基因、炎症因子、肿瘤坏死因子、黏附分子基因等多个领域^[11]。但多数候选基因并非 IgAN 发病的特异参与因素,又因样本量较小、统计效能不够而未获得独立人群验证。Gd-IgA1 分子是 IgAN 发病的始动因素,Gharavi 等^[12]研究提示 IgA1 分子的糖基化异常具遗传性,表现为 IgAN 患者的血缘亲属中携带 Gd-IgA1 分子比例明显高于正常对照组。IgA1 分子的糖基化异常亦与糖基化过程中关键酶的编码基因遗传多态性有关^[13, 14]。北京大学肾脏病研究所通过候选基因关联分析证实糖基化过程中 β 1,3 半乳糖转移酶的编码基因 C1GALT1 的危险性单倍型 YAGDA、YATDG,保护性单倍型 YATIG 及 α -2,6 唾液酸转移酶的编码基因 ST6GALNAC2 启动子区 ADG 单倍型与 IgAN 发病的易感性密切相关,并进一步应用多位点的综合分析法证实易感基因 C1GALT1 和 ST6GALNAC2 之间的交互作用与 IgAN 疾病严重性显著相关^[11]。

GWAS 法无需假设易感基因、应用高密度基因芯片、定位微效及中效易感基因效能要强于连锁分析而广泛应用于研究复杂性疾病的遗传致病机制。目前应用 GWAS 已发现 5 个与 IgAN 发病相关联的易感染色体区段:与天然免疫相关的 8p23、17p13、22q12 区域,与获得性免疫相关的 MHC 区域,与补体调控相关的 1q32 区域^[3, 4, 15]。而 MHC 区段、1q32 和

22q12 与 IgAN 的疾病关联性已在多个独立人群中被广泛验证。这 5 个易感基因位点解释了 IgAN 约 5% 的疾病风险及高达 10 倍的个体风险差异。GWAS 局限性在于只限于检测相对普遍的易感基因,仅能轻度解释疾病风险,很难发现罕见变异及遗漏相关的遗传信息。GWAS 面临的主要问题是多重检验、群体分层的比例分析、巨额费用、可靠的临床表型、标签单核苷酸多态性的选择等挑战,这些关联区域中 IgAN 的致病基因及其确切遗传发病机制尚未明确,仍需更多基于通路的 GWAS 数据分析、易感基因交互作用分析及高效的全基因组深度测序共同阐明。

GWAS 研究提示了天然免疫(黏膜免疫调节)、获得性免疫(抗原处理和呈递途径)、补体系统领域的某些相关基因出现遗传变异,属于 IgAN 的易感基因。

1. 黏膜免疫与 IgA 肾病:分泌型 IgA(s-IgA)是黏膜免疫防御的主要免疫球蛋白,由黏膜免疫系统 B 细胞分泌,胃肠道和呼吸道黏膜的浆细胞可以分泌多聚体 IgA1。IgAN 患者血清中发现 s-IgA 显著升高;且 IgAN 的病理提示肾脏系膜区沉积的 IgA 为多聚体 IgA1,而多聚体 IgA1 主要由黏膜浆细胞所分泌,同时临床上 IgAN 常随肠道黏膜或上呼吸道黏膜感染而发病或加重;近年来口服免疫诱发的 IgAN 的动物模型更支持了黏膜免疫参与 IgAN 发病^[16]。提示黏膜免疫与 IgAN 密切相关。GWAS 研究发现 IgAN 易感染色体位点 17p13 内的基因主要包括 TNFSF13、CD68。TNFSF13 基因编码增殖诱导配体(APRIL),APRIL 与 B 细胞发育和 T 细胞介导的抗体应答有关,并参与 IgA1 与 IgA2 类别转换。有研究表明,部分 IgAN 患者血清 APRIL 水平升高,17p23 风险基因与患者总 IgA 分子水平升高有关^[3, 17]。小鼠 Tnfsf13 敲除导致部分 IgA 分子功能缺陷并减少黏膜免疫中 IgA 抗体应答反应,而过度表达会诱发小鼠自身免疫性疾病并伴随小鼠肾小球系膜 IgA 沉积,表明 APRIL 信号通路参与 IgAN 发病机制^[17, 18]。CD68 也与 IgAN 密切相关,肾小球 CD68⁺巨噬细胞浸润是评价 IgAN 活动程度的重要生物标志。提示 IgAN 可能与自身免疫和炎症等有关。IgAN 的另一易感染色体位点 22q12 上的基因亦与血清 IgA 水平有关,该区域包含 LIF、OSM 基因,LIF、OSM 基因编码与黏膜免疫和炎症相关的细胞因子,上述细胞因子属于 IL-6 家族成员,表达于黏膜组织中,具免疫调节特性。OSM 基因敲除小鼠可导致胸腺萎缩和血清抗双链 DNA 抗体阳性的自

身免疫性肾小球肾炎^[19]。有研究显示该位点的基因可能与 IgA 分子生成调控和黏膜免疫应答相关。该位点的 IgAN 风险等位基因是克罗恩病的保护性因素,但血循环 IgA 水平升高却是肾炎的危险因素,具体机制有待于进一步研究^[20]。8p23 是 IgAN 的又一易感染色体,该区域的基因主要包括 DEFA5,同样与黏膜免疫有关。DEFA5 基因编码 α -防御素,属于内源性的抗生素,与感染应答的炎性反应相关^[21]。该区域内存在较多片段重复导致拷贝数变异较高,可影响防御素编码基因的表达水平,有研究发现 DEFA5 区域内的拷贝数变异与狼疮肾炎等肾脏疾病的易感性有关^[22]。上述 GWAS 研究表明黏膜 IgA 分泌失调是导致 IgAN 的病因之一。未来应努力通过基因结构精细定位、测序和功能研究等方法在 IgAN 发病相关的易感位点上探索致病基因,并进一步验证上述易感基因在 IgA1 分子合成及其 O-糖基化过程中的作用。

2. 抗原处理和呈递途径与 IgA 肾病: Feehally 等^[15]以家庭为基础和病例对照研究对欧洲人种 IgAN 患者进行了全基因组分析,发现 HLA 基因区域包含了最常见的易感等位基因,同时近年来 IgAN 的 GWAS 研究在染色体 6p 上 MHC 区域发现强相关信号,对该区域的相关基因进一步分析识别到 3 个不同的 SNPs 与 IgAN 相关联,分别位于 HLA-DRB1/DQB1、HLA-DPB1/DPB2 和 TAP1/PSMB9 区域^[2]。HLA-DRB1/DQA1/DQB1 基因所在的 MHC 区域与 IgAN 疾病相关性最强^[3]。采用基因填补法推测等位基因(DQB*0302、B*4001)和单体型(DRB*0901-DQB*0303、DQA*0201-DQB*0201)与 IgAN 相关联。其中 DRB*0901-DQB*0303 单体型与 1 型糖尿病和多血管炎、类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、溃疡性结肠炎等自身免疫性疾病相关^[2]。

第 2 个独立的 IgAN 易感染色体位点位于 HLA-DPA1、-DPB1、-DPB2 基因所在区域,但目前这些位点上的致病基因以及上述基因如何参与 IgAN 发病仍不清楚。第 3 个与 IgAN 易感性相关的 MHC 区域包括 TAP1、TAP2、PSMB8、PSMB9 基因。上述干扰素调节基因通过 MHC-I 分子参与内源性抗原处理和递呈,在产生细胞因子和细胞毒性 T 细胞反应的调节过程中起重要作用。采用基因填补法发现位于 PSMB8 基因 2 号外显子的 SNP(rs2071543)标记错义突变体。表明在外周血单核细胞中存在一种强烈顺式作用表达的数量性状基因座,该基因座上的 IgAN 风险等位基因上调 TAP2、PSMB8、PSMB9 基因表达水

平。在 IgAN 患者的外周血单核细胞中检测发现 PSMB8 的 mRNA 表达水平提高,表明该基因可作为第 1 候选基因。HLA 区域与 IgAN 具有关联性提示 IgAN 与机体免疫应答相关,抗原处理和递呈途径在 IgAN 发病机制中存在重要作用。HLA 区域与 IgAN 疾病易感性间存在复杂的关联模式,仍需进一步研究。

3. 补体替代途径与 IgA 肾病:近年来各种研究表明补体系统在 IgAN 发生与发展中起重要作用^[23]。患者肾小球系膜区补体 C3、C4 与 properdin 沉积,无免疫复合物、C1q 等经典途径成分沉积,表明补体替代途径的异常激活在 IgAN 致病中有重要作用^[24]。IgA 免疫复合物经旁路激活补体,固定补体能力差,其免疫复合物在肾脏不断沉积损伤肾小球,释放炎症因子、细胞因子加重肾小球损伤。

最近的一项 GWAS 研究发现染色体 1q32 的 CFH 基因所在区域与 IgAN 易感性显著相关,该区域存在 CFHR1 和 CFHR3 基因共缺失(CFHR3, 1 Δ)^[3]。补体 H 因子(CFH)由 CFH 基因编码,对补体替代途径起关键调节作用,CFH 通过与 C3b 结合抑制旁路途径 C3 转化酶形成,并作为 I 因子的辅助因子促进 C3b 降解而避免旁路途径过度活化^[25]。Zhu 等研究亦认为 CFH 及相关 H 因子蛋白 CFHR3、CFHR1 的基因突变会影响补体激活,促进 IgAN 进展。CFH 相关蛋白 1-5(CFHR1-5)由 CFHR1-5 基因编码,CFHR1-5 和 CFH 的编码基因均位于补体活化调控区域基因簇,二者的基因序列高度类似,由于该区域内存在较多的片段重复,故拷贝数变异高。在该区域所有的已知拷贝数变异中 CFHR3、1 Δ 最常见,在亚洲人和土著美国人中该等位基因频率范围为 0%~5%,在欧洲人中为 20%,而在某些非洲国家甚至高达 50%。研究发现,CFHR3、1 Δ 是 IgAN 的保护性遗传变异,每份拷贝数可降低约 40% 的疾病风险^[3]。该突变亦是老年性黄斑变性(AMD)的保护性因素,AMD 属于补体介导的视网膜病,是导致老年人失明的主要原因。

CFH 基因所在区域存在罕见基因重组对了解 CFHRs 功能有一定帮助,并解释了 CFHR3、1 Δ 属于 IgAN 和 AMD 的保护性因素的可能机制。CFHR1 基因突变导致 C3 肾小球肾炎(C3GN),C3GN 是一种由于补体替代途径异常激活所致的肾小球疾病,其临床表现缺乏特征性,免疫病理以 C3 沉积为主,电镜观察肾小球毛细血管袢内皮下电子致密物沉积。有研

究显示 CFHR1、CFHR2 和 CFHR5 具有高度保守的二聚化结构域,有利于形成头尾相连的均聚物及上述蛋白以不同的组合方式形成的异源二聚体。二聚体 CFHRs 通过与 CFH 竞争结合 C3b,拮抗 CFH 对 C3b 的抑制作用,使 C3 转化酶的活性增高。CFHR1 和 CFHR5 区域存在罕见基因重排,其二聚化结构域内存在内部复制。上述 CFHRs 突变蛋白易形成循环低聚物,在组织表面更易竞争性拮抗 CFH 对 C3b 的抑制作用,导致 C3 转化酶过度活化,使 C3b 沉积于肾小球。近年来补体旁路激活途径在肾小球疾病中的作用机制虽然有突破性进展,但补体系统作用复杂,其机制仍有待更深入研究阐明,为希望通过干预补体途径防治 IgAN 提供了一个新的思路。

综上所述,IgAN 属于多基因多因素参与的复杂性疾病,未来需投入更多精力整合基因家系的连锁分析、基因散发人群的关联分析、高通量基因测序及生物信息分析技术,从 IgAN 分子遗传学和免疫生物学方面探索与 IgAN 发病和临床表型相关的易感基因,逐步揭示其错综复杂的遗传发病和进展机制。同时引发临床工作者思考,如何将这些研究成果更好地与临床结合,对易感人群进行早期诊断和个体化治疗,这是未来今后面临的挑战。

参考文献

- Xu G, Tu W, Jiang D, *et al.* Mycophenolate mofetil treatment for IgA nephropathy: a Meta-analysis[J]. *Am J Nephrol*,2009,29(5):362-367
- Kiryuk K, Novak J. The genetics and immunobiology of IgA nephropathy[J]. *J Clin Invest*,2014,124(6):2325-2332
- Gharavi AG, Kiryuk K, Choi M, *et al.* Genome-wide association study identifies susceptibility loci for IgA nephropathy[J]. *Nat Genet*,2011,43(4):321-327
- Yu XQ, Li M, Zhang H, *et al.* A genome-wide association study in Han Chinese identifies multiple susceptibility loci for IgA nephropathy[J]. *Nat Genet*,2012,44(2):178-182
- Suzuki H, Raska M, Yamada K, *et al.* Cytokines alter IgA1 O-glycosylation by dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II enzymes[J]. *J Biol Chem*,2014,289(8):5330-5339
- Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y, *et al.* A panel of serum biomarkers differentiates IgA nephropathy from other renal diseases[J]. *PLoS One*,2014,9(5):e98081
- Hall YN, Fuentes EF, Chertow GM, *et al.* Race/ethnicity and disease severity in IgA nephropathy[J]. *BMC Nephrol*,2004,5:10
- Schena FP, Cerullo G, Rossini M, *et al.* Increased risk of end-stage renal disease in familial IgA nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*,2002,13(2):453-460
- Bisceglia L, Cerullo G, Forabosco P, *et al.* Genetic heterogeneity in

- Italian families with IgA nephropathy: suggestive linkage for two novel IgA nephropathy loci[J]. *Am J Hum Genet*,2006,79(6):1130-1134
- Paterson AD, Liu XQ, Wang K, *et al.* Genome-wide linkage scan of a large family with IgA nephropathy localizes a novel susceptibility locus to chromosome 2q36[J]. *J Am Soc Nephrol*,2007,18(8):2408-2415
- 朱厉,张宏. IgA 肾病发病机制:分子遗传学研究进展[J]. *中华肾病研究电子杂志*,2014,2:68-72
- Gharavi AG, Moldoveanu Z, Wyatt RJ, *et al.* Aberrant IgA1 glycosylation is inherited in familial and sporadic IgA nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*,2008,19(5):1008-1014
- Li GS, Zhang H, Lü JC, *et al.* Variants of C1GALT1 gene are associated with the genetic susceptibility to IgA nephropathy[J]. *Kidney Int*,2007,71(5):448-453
- Zhu L, Tang W, Li G, *et al.* Interaction between variants of two glycosyltransferase genes in IgA nephropathy[J]. *Kidney Int*,2009,76(2):190-198
- Feehally J, Farrall M, Boland A, *et al.* HLA has strongest association with IgA nephropathy in genome-wide analysis[J]. *J Am Soc Nephrol*,2010,21(10):1791-1797
- Emancipator SN. Prospects and perspectives on IgA nephropathy from animal models[J]. *Contrib Nephrol*,2011,169:126-152
- Mccarthy DD, Kujawa J, Wilson C, *et al.* Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy[J]. *J Clin Invest*,2011,121(10):3991-4002
- Castigli E, Scott S, Dedeoglu F, *et al.* Impaired IgA class switching in APRIL-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2004,101(11):3903-3908
- Esashi E, Ito H, Minehata K, *et al.* Oncostatin M deficiency leads to thymic hypoplasia, accumulation of apoptotic thymocytes and glomerulonephritis[J]. *Eur J Immunol*,2009,39(6):1664-1670
- Jostins L, Ripke S, Weersma R K, *et al.* Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease[J]. *Nature*,2012,491(7422):119-124
- Lehrer RI, Lu W. alpha-Defensins in human innate immunity[J]. *Immunol Rev*,2012,245(1):84-112
- Khan FF, Carpenter D, Mitchell L, *et al.* Accurate measurement of gene copy number for human alpha-defensin DEFA1A3[J]. *BMC Genomics*,2013,14:719
- Ohsawa I, Ishii M, Ohi H, *et al.* Pathological scenario with the mannose-binding lectin in patients with IgA nephropathy[J]. *J Biomed Biotechnol*,2012,2012:476739
- Verroust PJ, Wilson CB, Cooper NR, *et al.* Glomerular complement components in human glomerulonephritis[J]. *J Clin Invest*,1974,53(1):77-84
- Atkinson JP, Goodship TH. Complement factor H and the hemolytic uremic syndrome[J]. *J Exp Med*,2007,204(6):1245-1248

(收稿日期:2015-08-27)

(修回日期:2015-09-25)