

コラーゲン結合タンパク陽性
ミュータンス菌と IgA 腎症の関連

総合病院聖隷浜松病院 腎臓内科

三崎 太郎

内容の要約

IgA 腎症の発症機序は未だ不明な点が多い。う蝕の起炎菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) 株の 10-15%には *cnm* 遺伝子が存在しており、様々な疾患と関連していることが報告されている。そこで我々は *cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* は IgA 腎症の発症と関連しているのではないかと仮説を構築した。本院腎臓内科に受診中の IgA 腎症と診断されている患者 53 人と健常者 50 人より唾液を採取し、選択培地を用いて *S. mutans* 株を分離した。その後、各菌株より染色体 DNA を抽出し、*cnm* 遺伝子の存在を特異的に検出する PCR 系を用いて検討した。また、オックスフォード分類を用いた各患者の腎生検標本の評価を行った。*S. mutans* 株の分離率は IgA 腎症群が 84.0%であり、健常群 (84.9%) とほぼ同程度であったが、*cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* の株の分離率は IgA 腎症群が 32.1% であり、健常群の 14.0%と比較して有意に高い分離率であることが明らかになった ($P<0.05$)。また、*cnm* 株陽性群と *cnm* 株陰性群で腎生検標本を比較すると、*cnm* 陽性株群では腎障害の程度が有意に高度であった (0.94 vs 0.57, $P<0.05$)。以上の結果より、*cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* 株は IgA 腎症の発症と関連している可能性があると考えられた。

研究内容

背景：IgA 腎症は、慢性糸球体腎炎の中で最も頻度が高く、20 年の経過で約 40%が末期腎不全におちいる最も重要な腎疾患であり、2015 年より厚生労働省の特定疾患に認定された。発症機序は未だに不明な点が多く、根本的な治療法はない。IgA 腎症は急性上気道炎を契機として悪化することや歯周病との関連が報告されており、口腔細菌が発症に関与している可能性が考えられている。近年、口腔内疾患と全身疾患との関連が注目されており、う蝕の起炎菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) に関しては感染性心内膜炎や、潰瘍性大腸炎、脳動脈瘤破裂などの発症・増悪と関連していることが報告されている。*S. mutans* 株の 10-15%には *cnm* 遺伝子が存在しており、この遺伝子はコラーゲン結合タンパクをコードしている。この *cnm* 遺伝子陽性（コラーゲン結合能を有している）*S. mutans* 株が血中に入ると、血管内皮や細胞外基質の I 型コラーゲンや IV 型コラーゲンに付着することで様々な病態を増悪すると考えられている。

目的：*cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* 株が IgA 腎症と関連しているかを検証する。

方法：腎生検で IgA 腎症と診断されている当科外来患者 53 人と、蛋白尿、血尿陰性で腎機能正常な健常者 50 人より唾液を採取し、選択培地を用いて *S. mutans* 株の分離し染色体 DNA を抽出した。その後、*cnm* 遺伝子に特異的なプライマーを用いた PCR 検出系によって、各株における *cnm* 遺伝子の存在を検討した。また、分離された *S. mutans* 株それぞれにおけるコラーゲン結合能の測定を行った。さらにオックスフォード分類を用いて腎生検標本の比較を行った。

結果：*S. mutans* 株の分離率は IgA 腎症群 84.0%であり、健常群 (84.9%) とほぼ同程度であったが、*cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* の株分離率は IgA 腎症群が 32.1% であり、健常群の 14.0%と比較して有意に高率に陽性であった ($P < 0.05$)。さらに、分離された *cnm* 遺伝子陽性 *S. mutans* 株

のコラーゲン結合能を比較すると、健常群の平均値は基準株の結合能の30.0%程度であったが、IgA腎症群では96.6%であり、有意に高い値であった($P<0.05$)。また、*cnm*株陽性群と*cnm*株陰性群で腎生検標本を比較すると*cnm*陽性株群で有意に腎障害が高度であった(0.94 vs 0.57, $P<0.05$)。

考察：以上の結果より、*cnm*遺伝子陽性*S. mutans*株はIgA腎症の発症と関連している可能性が考えられ、その成果をClin Exp Nephrol.誌に投稿し2014年に受理された(添付資料1.)。IgA腎症患者の唾液中に*cnm*遺伝子陽性*S. mutans*株が有意に多く存在することが臨床的に証明できたため、次の段階として*cnm*遺伝子陽性*S. mutans*株を実験動物に投与するとIgA腎症様の腎炎が起こるのかどうかを証明する必要がある。さらに、口腔ケアを行うことで、IgA腎症患者の腎炎の進行が抑えられるかを証明する必要がある。

そこで、大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座(仲野和彦教授)と共同研究を継続し、IgA腎症患者の唾液より得られた*cnm*遺伝子陽性*S. mutans*株をラットの歯に定着させう蝕を発生させたところ、実際にIgA腎症様の腎炎が起こることを確認した。以上の内容はすでに本年11月の米国腎臓学会2015の演題として採択され発表を予定している(添付資料2.)。さらに、本院歯科(福永暁子主任医長)、浜松市歯科医師会と浜松市医師会の協力を得て、う蝕や歯周病の程度とIgA腎症の障害度との関連や、口腔ケアと歯科治療によるIgA腎症の進展予防効果があるかについてなどの前向き臨床研究もすでに開始している(UMIN登録番号000017048)(添付資料3)。また、IgA腎症患者に少しでも貢献できるように2015年8月より本院腎臓内科にIgA腎症外来を開設した(添付資料4)。

将来的にIgA腎症の一因に口腔細菌が関連していることが明確に証明されれば、浜松市内のかかりつけの歯科医師や医師と緊密に連携し、口腔ケアの徹底や口腔細菌のコントロールを行うなどして、新たな予防法や治療法の開発ができるのではないかと考えている。

資料

- 添付資料 1. Misaki et al. Clin Exp Nephrol. 2014 Dec 10.
- 添付資料 2. 米国腎臓学会 2015 採択書と抄録
- 添付資料 3. 審査結果通知書と臨床研究計画書
- 添付資料 4. IgA 腎症外来のパンフレット

Distribution of *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity of IgA nephropathy patients

Taro Misaki · Shuhei Naka · Keiko Kuroda · Ryota Nomura ·
Tempei Shiooka · Yoshitaka Naito · Yumiko Suzuki ·
Hideo Yasuda · Taisuke Isozaki · Kazuhiko Nakano

Received: 19 September 2014 / Accepted: 4 December 2014
© Japanese Society of Nephrology 2014

Abstract

Background IgA nephropathy (IgAN) is the most common primary chronic glomerulonephritis; however, its precise initiating pathogenesis remains unclear. *Streptococcus mutans* is a major pathogen of human dental caries. *S. mutans* strains with the *cnm* gene encoding Cnm, a collagen-binding protein, have been reported to contribute to the development of systemic diseases. However, the contribution of *S. mutans* with Cnm in the development of IgAN has not been reported. The aim of this study was to investigate the prevalence of *cnm*-positive *S. mutans* in IgAN patients and clarify the effects of *cnm*-positive *S. mutans* on the histological pathology of IgAN.

Methods We identified the *cnm* gene in *S. mutans* isolated in saliva specimens, which were collected from IgAN patients ($n = 53$) and control subjects ($n = 50$). We evaluated the collagen-binding properties of *S. mutans* in IgAN patients and controls. The clinical parameters and histological scores were also assessed in IgAN patients.

Results The rates of *S. mutans* isolation in IgAN and control groups were 84.0 and 84.9 %, respectively, not significantly different. *cnm*-positive strains were significantly more prevalent in the IgAN group than in controls

(32.1 vs. 14.0 %, $p < 0.05$). With regard to collagen-binding assays, the binding rates of *cnm*-positive strains were significantly higher in the IgAN group than in controls (96.6 vs. 30.0, $p < 0.05$). In addition, the segmental glomerulosclerosis scores were significantly higher in *cnm*-positive patients with IgAN than in *cnm*-negative patients with IgAN (0.94 vs. 0.57, $p < 0.05$).

Conclusion *cnm*-positive *S. mutans* strains are potentially associated with the pathogenesis of IgAN.

Keywords IgA nephropathy · *cnm* · Collagen-binding protein · *Streptococcus mutans*

Introduction

IgA nephropathy (IgAN) is the most common primary chronic glomerulonephritis worldwide and it is known that approximately 30–40 % of IgAN patients progress to end-stage kidney disease within 20 years [1, 2]. Various treatments (renin-angiotensin inhibitors, corticosteroids, immunosuppressive agents, tonsillectomy, etc.) have been attempted to improve renal outcomes in IgAN. However, there is no disease-targeted treatment for IgAN [3] because the mechanism of pathogenesis remains unclear. It is well known that IgAN patients often manifest a deterioration of macroscopic hematuria in upper respiratory infections such as tonsillitis [4]. Some bacteria were reported to be the source of the initiating antigens or are involved in the pathogenesis of IgAN [5–7]. Periodontitis-related bacteria were also suggested to be associated with IgAN [8].

Streptococcus mutans, a gram-positive oral streptococcal species, is known to be a major pathogen of human dental caries [9]. An association between *S. mutans* strains and infective endocarditis is also recognized [10]. *S.*

T. Misaki (✉) · T. Shiooka · Y. Naito · Y. Suzuki · T. Isozaki
Division of Nephrology, Seirei Hamamatsu General Hospital,
2-12-12 Sumiyoshi, Naka-ku, Hamamatsu,
Shizuoka 430-8558, Japan
e-mail: misakitar@sis.seirei.or.jp

S. Naka · K. Kuroda · R. Nomura · K. Nakano
Department of Pediatric Dentistry, Osaka University Graduate
School of Dentistry, Osaka, Japan

H. Yasuda
First Department of Medicine, Hamamatsu University School of
Medicine, Hamamatsu, Japan

mutans strains with the *cnm* gene encoding Cnm, a collagen-binding protein, exhibit bacterial binding ability to the extracellular matrix which may be a possible virulence factor in infective endocarditis [10]. Recent studies also revealed that *S. mutans* is associated with other systemic diseases such as ulcerative colitis [9] and cerebral aneurysm rupture [11]. These results indicated that infection of *cnm*-positive *S. mutans* were significantly more prevalent in the oral cavities of disease groups than in control groups using human saliva specimens. Potential virulence of *cnm*-positive *S. mutans* using rodent models was also demonstrated [9, 11].

On the other hand, the relationship between *S. mutans* and IgAN has not been reported. We now hypothesize that *cnm*-positive *S. mutans* might be associated with IgAN. Here, we collected human saliva specimens and evaluated the prevalence of *cnm*-positive *S. mutans* with histological lesions.

Materials and methods

Subjects and clinical specimens

The subjects were IgAN patients who are outpatients of Seirei Hamamatsu General Hospital and control volunteers. IgAN patients were confirmed by renal biopsy in the past. The histological diagnosis was based on light microscopy and immunohistochemistry findings. Patients who had secondary IgAN diseases, such as IgA vasculitis or lupus nephritis were excluded in this study.

Age-matched control subjects were confirmed to have normal kidney function (serum Cr < 1.2 mg/dl, no proteinuria, no hematuria), no medicine taken regularly and no history of any other diseases, such as diabetes mellitus, hypertension, stroke, heart failure, rheumatoid arthritis, liver disease, gastrointestinal disease or anemia. All of the specimens were collected from October 2013 to April 2014. A total of 53 expectorated saliva specimens from IgAN patients (IgAN) and 50 saliva specimens from control subjects were collected.

Nonstimulated expectorated whole saliva was collected from each subject in a sterile plastic tube and stored at -20°C .

Clinical data [urinary protein excretion, urinary occult blood, serum creatinine, estimated glomerular filtration rate (eGFR) and serum IgA] from IgAN patients were evaluated at the time of collecting saliva specimens, and clinical data from controls were collected during routine medical checkups within 1 year.

We evaluated urinary protein excretion and urinary occult blood by dipsticks (0, \pm , 1+, 2+, 3+ or 4+) and

assessment was made by US-3100R plus (Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan).

S. mutans strains were isolated and confirmed by the method previously described [12]. Briefly, saliva specimens collected in sterile PBS were diluted and streaked onto mitis salivarius (MS) agar (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) plates containing bacitracin (0.2 U/ml; Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) and 15 % (w/vol) sucrose. Five colonies from each specimen were randomly chosen on the basis of rough colony morphology. Genomic DNA was then extracted from each strain and PCR was performed to confirm *S. mutans* identity using *S. mutans*-specific sets of primers (forward, 5'-GGC ACC ACA ACA TTG GGA AGC TCA GTT-3'; reverse, 5'-GGA ATG GCC GCT AAG TCA ACA GGA T-3'), as described previously [13]. PCR was also performed to detect *cnm*-positive strains using *cnm*-specific sets of primers (forward, 5'-GAC AAA GAA ATG AAA GAT GT-3'; reverse, 5'-GCA AAG ACT CTT GTC CCT GC-3'), as described previously [11].

Collagen-binding assay

The collagen-binding properties of *S. mutans* from samples were evaluated according to the method described by Waterhouse and Russell [14], with some modifications as described previously [15]. Briefly, Type I [type I collagen in 0.25 M acetic acid; Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, USA] or type IV collagen (Cellmatrix Type IV; Nitta Gelatin Inc., Osaka, Japan) were coated onto 96-well tissue culture plates (Beckton Dickinson) and incubated overnight at 4°C . The plates were then washed three times with PBS and blocked for 1.5 h with 5 % BSA in PBS at 37°C . Next, the wells were washed again with PBS containing 0.01 % Tween 20. Cells from overnight cultures of *S. mutans* grown in brain heart infusion broth (Difco) were collected by centrifugation and added to the wells after the bacterial numbers were adjusted with PBS. After 3 h incubation at 37°C , adherent cells were washed three times with PBS and fixed with 200 μl 25 % formaldehyde at room temperature for 30 min. After another three washes with PBS, the adherent cells were stained with 200 μl 0.05 % crystal violet (Wako) in water for 1 min and washed three times with PBS. The dye was dissolved by adding 7 % acetic acid (200 μl) before determining the A_{595} . The results for each strain were expressed as a percentage compared to the binding properties of *S. mutans* TW871, which was defined as 100 %.

Histological studies

The Oxford classification was proposed by the Working Group of the International IgA Nephropathy Network and

the Renal Pathology Society and has gained worldwide acceptance [16]. Oxford classification of IgAN includes four pathological variables: mesangial hypercellularity (M0/M1 lesion), segmental glomerulosclerosis (S0/S1 lesion), endocapillary hypercellularity (E0/E1 lesion), and tubular atrophy/interstitial fibrosis (T0/T1/T2 lesion) [17, 18], that independently determine the risk of developing progressive renal disease [18, 19]. We compared the renal histology of *cnm*-positive and negative groups of IgAN patients using the Oxford classification in a blind test.

Ethics regarding subjects

This study was conducted in full adherence to the Declaration of Helsinki, and study protocols were approved by the Ethics Committee of Seirei Hamamatsu General Hospital (1486) and Osaka University Graduate School of Dentistry (H25-E24). All subjects were informed of the protocols and gave their written consent prior to participating in the study.

Statistical analysis

All results are expressed as mean \pm standard deviation (SD). When a significant difference was found, further statistical analysis was performed using Fisher's PLSD test, the Mann-Whitney *U* test or Fisher's exact test between two groups. The results were considered significantly different at $p < 0.05$. All statistical analyses were performed with the STATVIEW software (SAS Institute, Cary, NC, USA).

Results

Characteristics of IgAN and control groups

At presentation, IgAN patients and control subject groups were similar in distribution of age and sex. Urinary protein excretion and urinary occult blood were significantly greater in the IgAN group than in the control group. Renal function [serum creatinine levels and estimated Glomerular Filtration Rates (eGFR)] were significantly lower in the IgAN than control groups (Table 1).

Frequency of *S. mutans* and *cnm*-positive *S. mutans* infection in IgA nephropathy patients and control subjects

The rates of *S. mutans* isolation in the IgAN and control groups were 84.0 and 84.9 %, respectively. *cnm*-Positive strains were significantly more prevalent in the IgAN group

Table 1 Characteristics of IgA nephropathy patients and control subjects

| | Control subjects (n = 50) | IgAN patients (n = 53) | p value |
|--|------------------------------|---------------------------|---------------------|
| Age (year; mean \pm SD) | 38.7 \pm 10.8 | 38.6 \pm 13.2 | 0.97 |
| Gender (M/F) | 25/25 | 27/26 | 1.0 |
| % Urinary protein 1+ or higher | 0 | 54.7 | <0.001 ^a |
| % Urinary occult blood 1+ or higher | 0 | 41.5 | <0.001 ^a |
| Serum creatinine (mg/ dl; mean \pm SD) | 0.72 \pm 0.16 | 0.94 \pm 0.58 | 0.01 ^a |
| eGFR (ml/min/ 1.73 m ² ; mean \pm SD) | 88.2 \pm 13.6 | 76.7 \pm 26.6 | 0.01 ^a |

^a Statistically significant

Table 2 Frequency of *S. mutans* and *cnm*-expressing *S. mutans* infection in IgA nephropathy patients and control subjects

| | Control subjects (n = 50) | IgAN patients (n = 53) | p value |
|---|------------------------------|---------------------------|-------------------|
| <i>S. mutans</i> isolated/total subjects (%) | 84.0 | 84.9 | 1.00 |
| <i>cnm</i> -positive <i>S. mutans</i> /total subjects (%) | 14.0 | 32.1 | 0.04 ^a |
| <i>cnm</i> -positive <i>S. mutans</i> /total <i>S. mutans</i> isolated subjects (%) | 16.7 | 37.8 | 0.03 ^a |

^a Statistically significant

than in the control group (32.1 vs. 14.0 %, $p = 0.04$ of total subjects, 37.8 vs. 16.7 %, $p = 0.03$ of total subjects with *S. mutans* isolates) (Table 2).

Analysis of the type I collagen-binding properties

The binding rate was higher in the IgAN group than in the control group but not significantly different (31.0 vs. 4.2, $p = 0.06$) (Fig. 1a). The binding rate of *cnm*-positive specimens was significantly higher in the IgAN group than in the control group (96.6 vs. 30.0, $p = 0.02$) (Fig. 1b). We also compared the collagen-binding properties of *S. mutans* isolated from *cnm*-positive patients with IgAN and *cnm*-negative patients with IgAN, which showed that the collagen-binding properties were significantly higher in the *cnm*-positive patients with IgAN than *cnm*-negative patients with IgAN (96.6 vs. 0, $p < 0.0001$) (Fig. 1c).

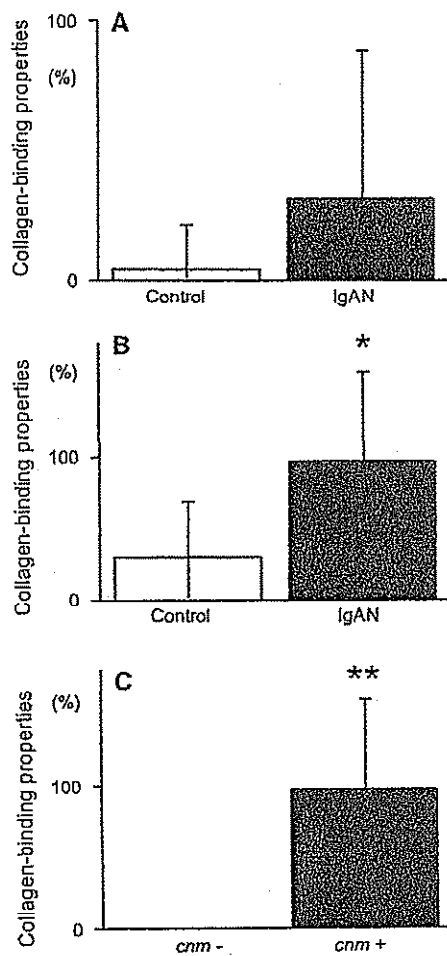


Fig. 1 Analysis of type I collagen-binding properties. **a** Collagen-binding properties in the IgAN group and the control group did not significantly differ (31.0 vs. 4.2, $p = 0.06$). **b** When we compared *cnm*-positive specimens of the IgAN group with *cnm*-positive specimens of the control group, collagen-binding properties were significantly higher in the IgAN group than in control group (96.6 vs. 30.0, $*p = 0.02$). **c** Collagen-binding properties were significantly higher in the *cnm*-positive patients with IgAN than in *cnm*-negative patients with IgAN (96.6 vs. 0, $**p < 0.0001$)

Analysis of the type IV collagen-binding properties

The binding rate was higher in the IgAN group than in control group but not significantly higher (29.4 vs. 5.0, $p = 0.14$) (Fig. 2a). The binding rate of *cnm*-positive specimens was significantly higher in the IgAN group than in the control group (91.5 vs. 35.5, $p = 0.05$) (Fig. 2b). We also compared the collagen-binding properties of *cnm*-positive and *cnm*-negative patients with IgAN, which showed that collagen-binding properties were significantly higher in the *cnm*-positive patients with IgAN than *cnm*-negative patients with IgAN (91.5 vs. 0, $p < 0.0001$) (Fig. 2c).

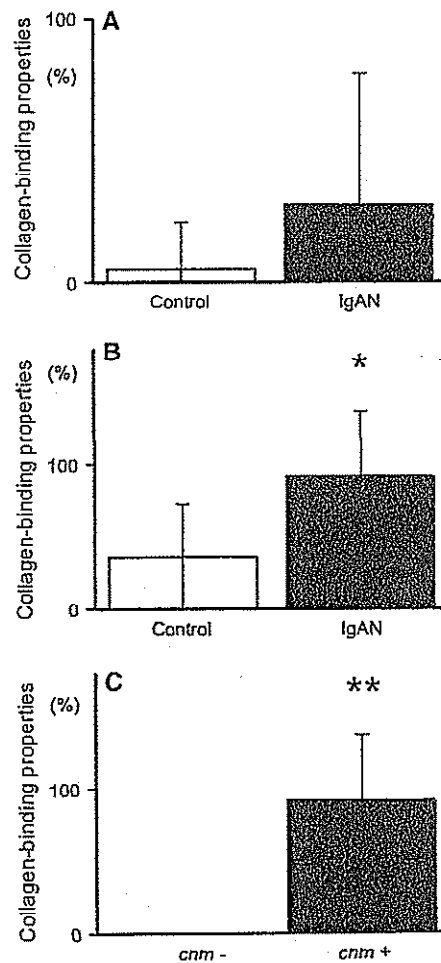


Fig. 2 Analysis of the type IV collagen binding properties. **a** Collagen-binding properties in the IgAN group and the control group did not significantly differ (29.4 vs. 5.0, $p = 0.14$). **b** When we compared *cnm*-positive specimens of the IgAN group and *cnm*-positive specimens in the control group, the collagen-binding properties were significantly higher in the IgAN group than in the control group (91.5 vs. 35.5, $*p = 0.05$). **c** Collagen-binding properties were significantly higher in the *cnm*-positive patients with IgAN than in *cnm*-negative patients with IgAN (91.5 vs. 0, $**p < 0.0001$)

A comparison between the *cnm*-positive and *cnm*-negative groups with IgAN

The ages were significantly higher in *cnm*-positive patients ($n = 17$) than *cnm*-negative patients ($n = 36$), whereas *cnm*-positive patients and *cnm*-negative patients were similar in distribution based on sex, urinary protein excretion, urinary occult blood and serum IgA. No difference was observed between the two groups in the use of ACE inhibitors, anamnesis by tonsillectomy or steroid therapy or the duration following kidney biopsy. In addition, renal function [serum creatinine levels and estimated glomerular filtration rates (eGFR)] were lower in *cnm*-

Table 3 Comparison between the *cnm*-positive and *cnm*-negative groups of IgA nephropathy patients

| | <i>cnm</i> + (<i>n</i> = 17) | <i>cnm</i> - (<i>n</i> = 36) | <i>p</i> value |
|---|----------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| Age (year; mean \pm SD) | 47.2 \pm 13.7 | 34.6 \pm 11.0 | <0.001 ^a |
| Gender (M/F) | 10/7 | 17/19 | 0.56 |
| % Urinary protein 1+ or higher | 58.8 | 52.8 | 0.77 |
| % Urinary occult blood 1+ or higher | 35.3 | 44.4 | 0.57 |
| Scrum creatinine (mg/dl; mean \pm SD) | 1.06 \pm 0.69 | 0.89 \pm 0.51 | 0.30 |
| cGFR (ml/min; mean \pm SD) | 66.5 \pm 24.0 | 81.5 \pm 26.7 | 0.05 |
| IgA (mg/dl; mean \pm SD) | 323.4 \pm 128.3 | 294.3 \pm 106.5 | 0.36 |
| RAS-I medication rate (%) | 88.2 | 77.8 | 0.47 |
| Anamnesis of tonsillectomy rate (%) | 47.1 | 41.7 | 0.77 |
| Anamnesis of Steroid therapy rate (%) | 88.2 | 63.9 | 0.10 |
| Duration from kidney biopsy (month) | 60.6 | 53.0 | 0.67 |

RAS-I renin-angiotensin system inhibitors

^a Statistically significant

positive patients than *cnm*-negative patients but not significantly different (Table 3).

Analysis of kidney histology in IgA nephropathy

We could obtain 46 renal biopsy samples from 53 IgAN patients and compared the renal histology of the *cnm*-positive (*n* = 16) and *cnm*-negative (*n* = 30) groups of the IgAN patients using the Oxford classification. It was shown that no difference was observed among the two groups in the mesangial hypercellularity, endocapillary hypercellularity and tubular atrophy/interstitial fibrosis scores. However, the segmental glomerulosclerosis score was significantly higher in the *cnm*-positive group than in *cnm*-negative group (0.94 vs. 0.57, *p* = 0.02) (Table 4).

Discussion

This is the first study showing the distribution of *S. mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity of IgA nephropathy patients. In this study, we found that *cnm*-positive *S. mutans* strains were significantly more prevalent in IgAN patients than in control subjects, though the frequency of *S. mutans* infection in IgAN patients was similar to that of control subjects. Surprisingly, about 32 % of

Table 4 The analysis of the kidney biopsy specimens of IgA nephropathy patients using the Oxford classification

| | <i>cnm</i> + (<i>n</i> = 16) | <i>cnm</i> - (<i>n</i> = 30) | <i>p</i> value |
|---|----------------------------------|----------------------------------|-------------------|
| Mesangial hypercellularity score | 0.31 | 0.33 | 1.0 |
| Segmental glomerulosclerosis score | 0.94 | 0.57 | 0.02 ^a |
| Endocapillary hypercellularity score | 0.38 | 0.30 | 0.74 |
| Tubular atrophy/interstitial fibrosis score | 0.69 | 0.47 | 0.22 |

^a Statistically significant

IgAN patients harbor *cnm*-positive *S. mutans*. In our previous studies, approximately 10 % of *S. mutans* strains were shown to possess collagen-binding properties due to the presence of the *cnm* gene encoding the 120-kDa collagen-binding adhesion (Cnm) [15, 20, 21]. The Cnm protein binds to type I collagen of the extracellular matrix, which may be a potential virulence factor in several diseases [9–11]. Therefore, we used type I collagen-binding assays to determine whether or not the *cnm* gene coded for collagen-binding properties. We showed that the collagen-binding rates for *S. mutans* strains were significantly higher in the *cnm*-positive patients with IgAN than in the *cnm*-positive control subjects when we compared the two *cnm*-positive groups. This suggests that collagen-binding proteins were expressed very weakly in control subjects even when harboring *S. mutans* strains containing the *cnm* gene. In fact, *cnm* mRNA expression was demonstrated to be positively correlated with the intensity of collagen binding [15]. We also demonstrated that the collagen-binding properties were significantly stronger in the *S. mutans* strains from *cnm*-positive patients with IgAN than strains from *cnm*-negative patients with IgAN. In addition, the collagen-binding properties of strains from *cnm*-negative patients with IgAN was negligible. These results indicated that the *cnm* gene is involved in collagen-binding in these strains.

IgAN is characterized by the predominant deposition of IgA1 in the mesangium area, and the extracellular matrix proteins consist of type IV collagen, fibronectin, etc., [22, 23]. Glomerular basement membranes (GBM) also consist of type IV collagen [24]. Therefore, we investigated type IV collagen-binding activities of the strains. These results were similar to those using type I collagen-binding assays, and regression analysis of type I and type IV collagen-binding assays indicated $R^2 = 0.84$, *p* < 0.0001 (data not shown).

We reported previously that *cnm*-positive *S. mutans* binds to collagen fibers of endothelial cells or the extracellular matrix of cerebral arteries and this may aggravate

hemorrhagic stroke in a rodent model [11]. Collagen-binding proteins are associated not only with collagen binding but also adhesion to, and invasion of, artery and vein endothelial cells [10]. Therefore, we suggest the possibility that interaction between glomerular components and *cnm*-positive *S. mutans* might be important in aggravating glomerulonephritis via a similar mechanism. Such reports indicated that intravenous administration of *S. mutans* into rabbits led to severe nephritis involving glomeruli, tubules and interstitium [25, 26]. These lesions involved immune complex-mediated inflammation. Albini et al. [25] reported the observation of glomeruli with documented diffuse endocapillary proliferative glomerulonephritis accompanied often (65 %) by epithelial crescents, and fibrin deposits with sclerosis evident in the glomeruli of some rabbits. This model is distinct from that of IgAN which has immune complex formation mainly in mesangial areas; however, we consider that this model might be helpful in understanding the mechanism involved when we hypothesize that *cnm*-positive *S. mutans* is an aggravating factor of IgAN and not the direct cause of IgAN. Therefore, we expected that the endocapillary hypercellularity scores following renal histology would be significantly higher in the *cnm*-positive group. However, we could not observe any differences among the two groups in terms of endocapillary hypercellularity scores in this study. We confirmed that the segmental glomerulosclerosis score was significantly higher in the *cnm*-positive group than in *cnm*-negative group by renal histology. However, we do not have sufficient data to explain how *cnm*-positive *S. mutans* affects the induction of glomerulosclerosis at present. We need to clarify these mechanisms in subsequent studies. These results may also indicate the importance of *cnm*-positive *S. mutans* infection in the development of IgAN.

Generally, *S. mutans* is acquired in the oral cavity from mother's saliva in early childhood [27]. We speculate that individuals with *cnm*-positive *S. mutans* in their oral cavity tend to develop IgAN. If this is the case, we should consider how children minimize infection from *cnm*-positive *S. mutans* in their mother's saliva to prevent the onset of IgAN. We cannot rationalize why age appears to be a significant factor in the *cnm*-positive IgAN group compared to the *cnm*-negative IgAN group. In this study, we collected specimens from outpatients in our hospital, so there was a possibility that a certain bias was involved. For example, stable IgAN patients were not included in these studies. Thus, we speculate that *S. mutans* strains might, in part, have association with IgAN. Since this study was designed in a retrospective manner, there are some limitations. Prospective and larger studies should be designed to confirm these results. We also need to confirm whether or not persistent stimulation by *cnm*-positive *S. mutans*

infection will induce IgA nephropathy by using experimental rodent models.

Conclusion

The distribution rate of *S. mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity is significantly greater in IgAN patients than in healthy controls, suggesting that these strains are potentially involved in the mechanism of IgAN development.

Acknowledgments The authors thank Prof. Howard K. Kuramitsu, State University of New York at Buffalo, for editing the manuscript. This study was supported by Osaka University Graduate School of Dentistry.

Conflict of interest The authors state that they have no conflict of interest (COI).

References

1. D'Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Q J Med.* 1987;64(245):709–27.
2. Julian BA, Waldo FB, Rifai A, et al. IgA nephropathy, the most common glomerulonephritis worldwide. A neglected disease in the United States? *Am J Med.* 1988;84(1):129–32.
3. Wyatt RJ, Julian BA. IgA nephropathy. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2402–14.
4. Donadio JV, Grande JP. IgA nephropathy. *N Engl J Med.* 2002;347(10):738–48.
5. Suzuki S, Nakatomi Y, Sato H, et al. *Haemophilus parainfluenzae* antigen and antibody in renal biopsy samples and serum of patients with IgA nephropathy. *Lancet.* 1994;343:12–6.
6. Kusuno K, Tokunaga O, Ando T, et al. *Helicobacter pylori* in the palatine tonsils of patients with IgA nephropathy compared with those of patients with recurrent pharyngotonsillitis. *Huan Pathol.* 2007;38(12):1788–97.
7. Iwama H, Horikoshi S, Shirato I, et al. Epstein-Barr virus detection in kidney biopsy specimens correlates with glomerular mesangial injury. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(5):785–93.
8. Nagasawa Y, Iio K, Fukuda S, et al. Periodontal disease bacteria specific to tonsil in IgA nephropathy patients predicts the remission by the treatment. *PLoS One.* 2014;9(1):e81636.
9. Kojima A, Nakano K, Wada K, et al. Infection of specific strains of *Streptococcus mutans*, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. *Sci Rep.* 2012;2:332.
10. Nomura R, Naka S, Nemoto H, et al. Potential high virulence for infective endocarditis in *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins but lacking PA expression. *Arch Oral Biol.* 2013;58(11):1627–34.
11. Nakano K, Hokamura K, Taniguchi N, et al. The collagen-binding protein of *Streptococcus mutans* is involved in hemorrhagic stroke. *Nat Commun.* 2011;2:485.
12. Nakano K, Nomura R, Nakagawa I, et al. Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, *k*, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2004;42(1):198–202.
13. Hoshino T, Kawaguchi M, Shimizu N, et al. PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using *gfp* genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;48(3):195–9.

14. Waterhouse JC, Russell RR. Dispensable genes and foreign DNA in *Streptococcus mutans*. *Microbiology*. 2006;152(Pt 6):1777–88.
15. Nomura R, Nakano K, Taniguchi N, et al. Molecular and clinical analyses of the gene encoding the collagen-binding adhesin of *Streptococcus mutans*. *J Med Microbiol*. 2009;58(Pt 4):469–75.
16. Park KS, Han SH, Kie JH, et al. Comparison of the Haas and the Oxford classifications for prediction of renal outcome in patients with IgA nephropathy. *Hum Pathol*. 2014;45(2):236–43.
17. Roberts IS, Cook HT, Troyanov S, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int*. 2009;76(5):546–56.
18. Cattran DC, Coppo R, Cook HT, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Int*. 2009;76(5):534–45.
19. Lee H, Yi SH, Seo MS, et al. Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy: a single-center study in Korean adults. *Korean J Intern Med*. 2012;27(3):293–300.
20. Sato Y, Okamoto K, Kagami A, et al. *Streptococcus mutans* strains harboring collagen-binding adhesin. *J Dent Res*. 2004;83(7):534–9.
21. Nakano K, Lapirattanakul I, Nomura R, et al. *Streptococcus mutans* clonal variation revealed by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol*. 2007;45(8):2616–25.
22. Kokubo T, Hiki Y, Iwase H, et al. Protective role of IgA1 glycans against IgA1 self-aggregation and adhesion to extracellular matrix proteins. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9(11):2048–54.
23. Narita I, Gejyo F. Pathogenetic significance of aberrant glycosylation of IgA1 in IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2008;12:332–8.
24. Abrahamson, St John PL, Stroganova L, et al. Laminin and type IV collagen isoform substitutions occur in temporally and spatially distinct patterns in developing kidney glomerular basement membranes. *J Histochem Cytochem*. 2013;61(10):706–18.
25. Albini B, Nisengard RJ, Glurich I, et al. *Streptococcus mutans*-induced nephritis in rabbits. *Am J Pathol*. 1985;118(3):408–18.
26. Miyata M, Glurich I, Kasukawa R, et al. *Streptococcus mutans*-induced nephritis in rabbits: rheumatoid factors and nephritogenicity. *Int Arch Allergy Immunol*. 1995;108(4):360–7.
27. Lapirattanakul I, Nakano K. Mother-to-child transmission of *mutans streptococci*. *Future Microbiol*. 2014;9:807–23.

August 7, 2015

Dear Dr. Taro Misaki:

On behalf of the American Society of Nephrology (ASN), thank you for submitting an abstract for the ASN Kidney Week 2015 Annual Meeting, November 5-8 in San Diego, CA. We are pleased to inform you that your abstract 2193 “[*italic*]Streptococcus mutans[/*italic*] Strains with Collagen-Binding Protein May Cause IgA-Like Glomerulonephritis in Rats” has been selected by ASN’s Program Committee for poster presentation. The details of the poster session are outlined below:

Poster Session

| | |
|----------------------|--|
| Session Title: | Glomerular Epithelial Cell Injury and Rescue |
| Session Date, Time: | Thursday, 11/5/2015, 10:00 AM - 12:00 PM |
| Your Poster Board #: | TH-PO774 |

Your poster board number will correspond with the number printed in the ASN Program Builder and Abstract Supplement. Your poster board area will be approximately 4 feet high (1.219m vertical) by 8 feet wide (2.438m horizontal). Please reference the poster instructions to prepare your poster. Exhibit Hall access for poster presenters during the poster set-up/dismantling times will be located at the Exhibit Hall A door. On your assigned day of Thursday, 11/5/2015, please plan to (a) set up your poster on your assigned board between 7:30 a.m. – 9:15 a.m., (b) display your poster all day between 9:30 a.m. – 4:30 p.m., and dismantle your poster between 4:30 p.m. – 5:00 p.m. **ASN cannot be responsible for posters that are not removed by the specified poster dismantling times. Please go to http://www.asn-online.org/education/kidneyweek/2015/KW15_Poster_Instructions.pdf for additional poster instructions.**

One of the abstract co-authors must remain at the poster throughout the designated “Poster Presentation” period, which is 10:00 a.m. – 12:00 noon. Many members have noted, and the Program Committee agrees, that the quality of the poster session is reduced when authors are not available to discuss their work.

***Streptococcus mutans* strains with collagen-binding protein may cause IgA-like glomerulonephritis in rats**

Taro Misaki¹, Shuhei Naka², Ryota Nomura², Taisuke Isozaki¹ and Kazuhiko Nakano²

¹Division of Nephrology, Seirei Hamamatsu General Hospital, Hamamatsu, Japan,

²Department of Pediatric Dentistry, Osaka University Graduate School of Dentistry

ABSTRACT

Background: The precise pathological mechanisms of IgA nephropathy (IgAN) remain unclear. It is known that 10-20% of healthy subjects harbor strains of *Streptococcus mutans*, a known pathogen of dental caries, that possess Cnm, a cell surface collagen-binding protein encoded by the *cnm* gene. Furthermore, it is widely accepted that an association between *S. mutans* with Cnm protein and systemic diseases exists. We previously found that the rate of *cnm*-positive *S. mutans* organisms isolated in saliva specimens was significantly higher in an IgAN group as compared to the controls, and reported those findings at ASN Kidney Week 2014 and in *Clinical and Experimental Nephrology* in 2014.

Objective: The aim of this study was to investigate whether nephritis is induced by Cnm-positive *S. mutans* strains inoculated into the oral cavity of a rat model of dental caries.

Materials and Methods: Cnm-positive *S. mutans* strains (JD-17R, JD-52R, JD-74R) were isolated from the oral cavities of 3 IgAN patients. Those along with MT8148, a

standard oral isolate, were inoculated into the oral cavities of 2-week-old Sprague-Dawley rats fed a 56% sucrose-containing diet and then we confirmed that the strains were harbored in the oral cavity of each rat 1 week later. From 10 weeks of age, findings of severe dental caries were confirmed in all rats. They were euthanized at 24 weeks of age, then kidney tissues were extirpated and stained with PAS, and immunohistochemistry with the IgA antibody was performed for histopathological analysis.

Results: Dental caries in nearly all of the rats were found extending to the pulp space, which contains nerves and blood vessels. In rats harboring Cnm-positive strains in the oral cavity, mesangial cell proliferation was observed and immunochemical staining of the IgA antibody was seen in the para-mesangial area. However, no abnormal findings were observed in extirpated kidney tissues from rats harboring MT8148 in the oral cavity.

Conclusion: Our results indicate that Cnm-positive *S. mutans* strains harbored in the oral cavity may cause IgA-like glomerulonephritis.

様式0903号臨床研究審査委員会
審査結果通知書

受付番号 第1807号

2015年3月19日

審査結果通知書

申請者
腎臓内科
三崎太郎

臨床研究審査委員会
委員長 岡 俊明

受付年月日 2015年 3月 10日

課題名 口腔内疾患とIgA腎症の関連の検討 第2弾

研究者 三崎太郎〔腎臓内科〕

上記の件について、2015年3月17日開催の第289回 聖隷浜松病院
臨床研究審査委員会 において審査し、下記のとおり通知いたします。

記

判定 承認 条件付承認 変更の勧告 却下 非該当 保留

以上

なお、依頼のあった臨床研究に関する審査結果に異議があるときは、再審査を求める
ことができます。

施設長 総合病院 聖隷浜松病院
病院長 鳥居 裕

研究計画書

臨床研究：口腔内疾患とIgA腎症の関連の検討 第2弾

2015. 3. 10 腎臓内科 三崎太郎

【研究の背景】

IgA腎症は、慢性糸球体腎炎の中で最も頻度が高く、20年の経過で約40%が末期腎不全におちいる最も重要な腎疾患の1つである(1)。治療法においては、扁桃摘出術＋ステロイドパルス療法の有効性を示すデータが蓄積されつつあるが(2-4)、発症機序は依然として不明な点が多い。

急性上気道炎を契機としてIgA腎症が発症・悪化することがあり、感染とIgA腎症との関連が示唆されている。う蝕を生じて歯が抜けて永久歯に置換後に血尿が消えたとの報告(5)や、扁桃摘出術＋ステロイドパルス療法無効例で根尖性歯周炎治療＋ステロイド投与によりIgA腎症が寛解した報告(5)など、う蝕や歯周病とIgA腎症が関連している可能性がある。

基礎研究においては、う蝕の起因菌 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (通性嫌気性グラム陽性レンサ球菌の一種) が、口腔内でIgA抗体の産生と関連するとの報告(6-11)や、*S. mutans*をウサギに投与すると腎炎が惹起されるとの報告(12-14)がある。

コラーゲン結合タンパク陽性の *S. mutans* は、コラーゲン結合能を有しており、潰瘍性大腸炎の発症(15)や脳動脈瘤破裂(16)と関連しているなど全身疾患と関連している可能性が報告されており、我々はIgA腎症患者の唾液を用いて、*S. mutans*の陽性率、さらにはコラーゲン結合タンパク *S. mutans*の陽性率について検討し、コラーゲン結合タンパク陽性の *S. mutans*とIgA腎症に関連があることを見出し報告した(17)。

今回、う蝕、歯周病の程度とIgA腎症の障害度に関連があるか、また口腔ケアと歯科治療を行うことでIgA腎症が改善するか前向きに検討を行う。

【研究の計画】

本研究は大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学教室との共同研究である。

仮説

う蝕、歯周病の程度とIgA腎症の障害度は関連しており、口腔ケアと歯科治療を行うことでIgA腎症は改善する。

目的

本研究では、聖隷浜松病院の IgA 腎症外来患者を対象として、う蝕、歯周病など口腔疾患と IgA 腎症との関連を検討し、口腔ケアと歯科治療で IgA 腎症が改善するか検討を行う。

研究方法

対象：腎生検により IgA 腎症と診断された当院腎臓内科外来患者約 100 名を対象とする。

前回の臨床研究“IgA 腎症に及ぼすミュータンスレンサ球菌の影響の検討”で唾液分析を行った 53 名の再エントリーを行い、さらに 50 人前後追加エントリーする。

除外：ステロイド治療中の患者は除外する。

方法：

<検査>

- ① 追加エントリーで唾液を分析していない対象者（IgA 腎症患者）は、唾液（歯ブラシ後 2 時間以上経過していること）を滅菌チューブ 10ml に 1ml 採取して -20 度で凍結保存する。唾液検体は大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学教室に送付し、選択培地を用いて *S. mutans* の分離を行った後、生化学的性状から菌種の同定を行う。そして、*S. mutans* と同定された菌株から抽出したゲノム DNA を鋳型にして、コラーゲン結合タンパクをコードする遺伝子に特異的なプライマーを用いて PCR を行う。
- ② 当院歯科受診に同意の得られた対象者は、1 年以内にう蝕、歯周病の定量的な評価を行う（保険診療の範囲で補助はない）。歯科受診に同意得られなかった患者は追跡フォローのみさせていただき同意を得る。う蝕、歯周病の評価は別表を用いる。
- ③ 当院歯科受診の際に口腔衛生指導を行う。治療の必要な患者は近医かかりつけ歯科を紹介し、う蝕、歯周病の治療、継続的な口腔衛生指導を行う（保険診療の範囲）。
- ④ 年 1 回歯科に受診し上記②、③の評価、治療を 5 年間追跡して行う。
- ⑤ 通常診察における血液・尿検査、(TP, Alb, BUN, Cr, WBC, Hb, CRP, IgA, U-pro, U-ob, 尿沈渣 RBC, CCr, 蓄尿蛋白尿、蛋白尿 g/gCr)、血圧、体重を 6 ヶ月毎に 5 年間データをフォローしていく。
- ⑥ 過去に腎生検を行い確認できる患者では腎生検所見（オクスフォード分類、日本分類）も検討に加える。
- ⑦ 記載項目 上記以外に、年齢、性別、病名、扁桃の有無、ステロイド治療歴の有無を記載し、関連を比較検討する。

<評価項目>

- ① う蝕、歯周病の定量的な評価と IgA 腎症の障害度に関連があるかどうか。
 - ② 口腔ケアと歯科治療により IgA 腎症が改善するかどうか、進行を抑制できるかどうか追跡比較を行う。
腎障害はCr、eGFR、蛋白尿、血尿の程度で評価する。
 - ③ 歯科受診群 VS 受診していない群の追跡比較を行う。
 - ④副次項目として、死亡、透析導入、心血管、脳血管合併症についても検討していく。
- * 今回の研究のために新たに行う検査、治療は歯科受診のみ（保険診療範囲）で、他は通常の診断や治療に必要な保険診療範囲の検査である。

研究期間

聖隷浜松病院倫理審査委員会の承認年月日から6年間（2015年4月1日から2021年3月31日（エントリー1年、5年間の追跡フォロー）を予定。

研究場所

聖隷浜松病院とする。

唾液検体の解析は、大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学教室で行う。

結果の解析と総括は聖隷浜松病院で行う。

研究対象

- (1) 対象者：詳細は前述。
- (2) 試料提供機関：聖隷浜松病院腎臓内科
- (4) 試料の採取方法：病棟、外来で唾液1mlを滅菌チューブ10mlに採取し、-20度で凍結保存する。
- (5) 当院歯科にてう蝕、歯周病の定量的な評価（別紙）。

予想される結果と展望

- ① う蝕、歯周病の程度と IgA 腎症の障害度が関連していることが予想される。
- ② 口腔ケアと歯科治療を行うことで、蛋白尿、血尿の改善など IgA 腎症の改善が期待される。特にコラーゲン結合タンパク陽性の *S. mutans* 保因者での改善を期待する。
- ③ 歯科に受診した群と受診していない群を比較すると、受診して口腔ケアと歯科治療を行った群では、IgA 腎症の進行が抑制されることが期待される。

以上のことが証明できれば、IgA 腎症の治療に継続的な歯科受診が新たに加わる可能性がある。

個人への利益及び不利益

(1) 個人への利益の有無と理由

う蝕および歯周病が判明した場合、早期発見し治療が行える。その結果腎炎自体が改善する可能性がある。

(2) 個人への不利益の有無と理由。

歯科受診の時間的負担。口腔評価のみなので、有害事象を生じる可能性は極めて少ない。

(治療は近医かかりつけ歯科医院で行う)

個人情報、試料、データ等の管理保護

個人情報、試料、データ等は、正確に尚且つ検証が可能なように記録・保管する。データベースは独立した番号によって管理し、患者の特定できる情報は入力しない。よって本研究に参加する研究者が、患者の試料や診療情報を知る必要がある場合にも、患者の個人情報は特定されることはない。データベースはPC（流出予防のためインターネットと非接続）に保存し、施錠のついた引き出しに保管し、施設外には持ち出さない。紙媒体のデータは鍵のかかるロッカーに保管する。追加の項目を検査が必要となった場合には、改めて患者に説明し、同意を得た上で検査を行う。B8 病棟医師室で鍵管理。 保管者、責任者：三崎太郎。

試料および資料等の廃棄

データベースは独立した番号によって管理した上で、PC（流出予防のためインターネットと非接続）に保存される。紙媒体のデータは、研究終了後すべてシュレッダーで裁断した後に破棄される。

研究成果の公表

本研究の成果は、提供者本人及び家族の氏名等が明らかにならないようにして、学会発表や学術雑誌等で公に発表することがある。

研究から生じる知的財産権の帰属

本研究から生じる特許権等の知的財産権は聖隷浜松病院または研究者に帰属し、試料提供者には属さない。

研究に要する費用

本研究に要する費用は、聖隷浜松病院腎臓内科部門運営費、あるいは研究費の負担をもって充てられる。

研究参加者の負担となることはなく、健康保険が適用されない検査にかかる費用は研究者側で負担する。患者の病気の治療にかかる医療費のうち、健康保険からの給付を除く部分は患者の自己負担になる。尚、この研究に参加することにより、謝礼として患者に金銭が支払われることはない。

その他の事項

今後将来的に、歯科医科連携へ発展させていきたいと考えているため、浜松医師会、浜松市歯科医師会に研究計画を提示し理解を求めていく。

同意を得る方法

説明書ならびに同意書を渡して説明の上、同意を得たことを記載する。

研究者の氏名

実施責任者

腎臓内科 三崎太郎

共同研究者

腎臓内科 江間智映実、伊藤誓悟、塩岡天平、内藤善隆、鈴木由美子、磯崎泰介

歯科 福永暁子

大阪大学大学院小児歯科学教室 仲周平、野村良太、仲野和彦

参考文献

- (1) Koyama A et al. Natural history and risk factors for immunoglobulin A nephropathy in Japan. Research Group on Progressive Renal Diseases. Am J Kidney Dis 1997; 29: 526-532.
- (2) Miyazaki M, Hotta O et al. Japanese Multicenter Study Group on Treatment of IgA Nephropathy (JST-IgAN). A multicenter prospective cohort study of tonsillectomy and steroid therapy in Japanese patients with IgA nephropathy: a 5-year report. Contrib Nephrol 2007; 157: 94-98.
- (3) Komatsu H et al. Effect of tonsillectomy plus steroid pulse therapy on clinical remission of IgA nephropathy: a controlled study. Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3: 1301-1307.
- (4) Sato M, Hotta O et al. Cohort study of advanced IgA nephropathy: efficacy and limitations of

corticosteroids with tonsillectomy. *Nephron Clin Pract* 2003 ; 93 : 137–145.

- (5) 堀田修, 慢性免疫病の根本治療に挑む. 悠飛社 2007
- (6) Bammann LL, Immunoglobulin A antibodies reactive with *Streptococcus mutans* in saliva of adults, children, and preterm infants. *J Clin Microbiol.* 1979 Oct;10(4):538-43.
- (7) Parkash H et al. Humoral immune response to mutans streptococci associated with dental caries. *Natl Med J India.* 1994 Nov-Dec;7(6):263-6.
- (8) Chia JS et al. Salivary and serum antibody response to *Streptococcus mutans* antigens in humans. *Oral Microbiol Immunol.* 2000 Apr;15(2):131-8.
- (9) Koga-Ito CY et al. Correlation among mutans streptococci counts, dental caries, and IgA to *Streptococcus mutans* in saliva. *Braz Oral Res.* 2004 Oct-Dec;18(4):350-5.
- (10) Nogueira RD et al. Characterization of salivary immunoglobulin A responses in children heavily exposed to the oral bacterium *Streptococcus mutans*: influence of specific antigen recognition in infection. *Infect Immun.* 2005 Sep;73(9):5675-84.
- (11) Ranadheer E et al. The relationship between salivary IgA levels and dental caries in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2011 Apr-Jun;29(2):106-12.
- (12) Albin B et al. *Streptococcus mutans*-induced nephritis in rabbits. *Am J Pathol.* 1985 Mar;118(3):408-18.
- (13) Miyata M et al. *Streptococcus mutans*-induced nephritis in rabbits: rheumatoid factors and nephritogenicity. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995 Dec;108(4):360-7.
- (14) Okada K et al. Possible role for a polysaccharide antigen shared between *Streptococcus pyogenes* and *S. mutans* in the pathogenesis of poststreptococcal glomerulonephritis. *Acta Paediatr Jpn.* 1996 Oct;38(5):470-5.
- (15) Kojima A et al. Infection of specific strains of *Streptococcus mutans*, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. *Sci Rep.* 2, 232, 2012.
- (16) Nakano K et al. The collagen-binding protein of *Streptococcus mutans* is involved in haemorrhagic stroke. *Nat Commun.* 2011 Sep 27;2:485.
- (17) Misaki T, Naka S, Kuroda K, Nomura R, Shioka T, Naito Y, Suzuki Y, Yasuda H, Isozaki T, Nakano K: Distribution of *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity of IgA nephropathy patients. *Clin Exp Nephrol.* 2014 (in press)

同 意 書

「口腔内疾患と IgA 腎症の関連の検討」に参加するにあたり、別紙の説明文を理解した上で本試験に参加することを同意します。

- () 当院歯科に受診することに同意し、データ使用にも同意します。
- () 当院歯科に受診には同意しませんが、データの使用には同意します。

上記の同意する方に○をお願いします。

同意年月日： 平成 年 月 日

氏 名：自署

印

(代諾者氏名：自署

印)

説 明 者：自署

印

説明年月日： 平成 年 月 日

登録No：

説 明 文 書

1. はじめに

IgA 腎症は原因不明で、慢性腎炎の中で頻度が一番多く、末期腎不全に至ることがある疾患です。IgA 腎症の原因が解明されれば、より良い治療法の開発につながると考えています。

この説明文書は「口腔内疾患と IgA 腎症の関連の検討」の試験について書かれています。この試験にご協力いただけるかどうかを、自発的に判断する材料の一つとしていただくために作られたものです。

この研究は当院臨床研究審査委員会で、了承されたものです。

2. 研究の目的

IgA 腎症は、上気道炎後に腎炎が悪くなるなど、細菌感染との関連が指摘されています。

本研究では、う蝕、歯周病など口腔内病変と IgA 腎症との関連を研究するものです。

3. 検査の内容

唾液を採取させていただきます。今回の研究で新たに必要な検査や治療は唾液の評価とう蝕、歯周病の評価のみです。当院歯科受診し、口腔内のう蝕、歯周病のチェックを行い、口腔衛生指導（口腔ケアの指導）を行います。歯のレントゲン検査も行います。治療が必要な方は、近医の歯科医院を紹介させていただきます。金銭的な補助はなく保険診療の範囲で行います。

年1回当院歯科に通院いただき、5年間通院していただく予定です。

5年間口腔ケアを継続いただきます。

歯科受診をいただけなかった場合は、5年間腎臓内科の通常診察やデータを使用させていただきます。採血、尿所見の日常保険診察、治療におけるデータを使用します。

4. 予期される危険性

今回の研究に用いる検査は、唾液検査と歯科での保険診療範囲での評価・治療と腎臓内科の通常診察・採血・尿検査のデータを使用するもので、未知の副作用発現などの危険性は極めて低いと考えられます。

5. 試験に参加して頂く場合の有益性

この研究に参加していただいた場合、直接、あなたに経済的な利益があるわけではありません。

6. 試験に参加頂けなかった場合の不利益

この研究に参加いただくかどうかは、あなたの自発的な意思によるものであり、強制するものではありません。研究に参加することを断っても、不利益をこうむる心配は一切ありません。研究に参加していただいた場合も、途中で自発的な意思により中止することができます。

7. 個人情報の保護

この研究にご協力いただいで得られた成績は、すべて厳重に保管されます。研究の結果は、学会などで報告されますが、個人的な秘密は一切公表いたしません。個人情報を保護するあらゆる努力をお約束いたします。

関係医療機関 各位

総合病院 聖隷浜松病院
地域医療連絡室(JUNC)

「IgA 腎症外来」のご案内

謹啓 時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

平素は、当院の運営につきまして格別のご高配を賜り厚く御礼申し上げます。

さて当院腎臓内科では、平成 27 年 8 月より「IgA 腎症外来」の診療を始めました。今後とも、地域の皆様のお力になれるよう診療に邁進して参りたいと存じますので、何卒よろしくお願い申し上げます。

謹白

■IgA 腎症外来

外来日：腎臓内科 毎週月曜日

担当医師：三崎 太郎（みさき たろう）



1999 年 3 月 浜松医科大学医学部卒業
1999 年 5 月 浜松医科大学第一内科研修医
2000 年 6 月 東京専売病院内科研修医
2002 年 6 月 磐田市立総合病院内科(腎臓内科)
2004 年 1 月 浜松医科大学第一内科(腎臓内科)
2010 年 6 月 カリフォルニア大学サンディエゴ校細胞分子医学講座
2011 年 8 月 聖隷浜松病院(腎臓内科医長)
2013 年 4 月 聖隷浜松病院(腎臓内科主任医長)

■下記のような患者さんを御紹介ください

- Cr1mg/dl 以下で、“血尿 1+・蛋白尿 1+以上の両方”を呈している患者さん
- IgA 腎症とすでに診断されている患者さん(年 1,2 回のフォローを予定)

* 病態が安定してきましたら、病診連携にて、開業医の先生方でのフォローをお願い致します

* 地域医療連絡室(JUNC)連絡先 TEL:0120-107-352 FAX:0120-107-362

■IgA 腎症の特徴

- 血尿、蛋白尿を呈するが、自覚症状がなく健診で見つかることが多い。
- 20 年の経過で 30-40%が末期腎不全に至り、透析が必要になる。
- 扁桃腺炎を繰り返している方も多い。
- 感冒後に血尿・蛋白尿が増悪することが多い。
- 初期腎生検で診断し、扁桃摘出術、ステロイド治療などを行えば根治も可能。

(扁桃摘出術は当院耳鼻咽喉科で行います。)

■当院腎臓内科の IgA 腎症に対する試み

私達は、う蝕原因菌であるミュータンス菌が IgA 腎症の発症と関連している可能性を見だし、大阪大学大学院口腔分子感染制御学講座や当院歯科と共同研究を行っています。将来的に IgA 腎症の発症や進展を予防できるような新規治療法を開発していきたいと考えています。