

Imunita proti střevním patogenům hraje důležitou roli v patogenezi IgA nefropatie

Kiryluk K, Li Y, Scolari F, et al. Discovery of new risk loci for IgA nephropathy implicates genes involved in immunity against intestinal pathogens. *Nat Genet* 2014;25:1357–1366.

IgA nefropatie je celosvětově nejčastější primární glomerulonefritidou. Výskyt IgA nefropatie je nejvyšší ve východní Asii a v Číně je IgA nefropatie nejčastější příčinou chronického selhání ledvin. Incidence terminálního chronického selhání ledvin na podkladě IgA nefropatie je ve východní Asii čtyřikrát vyšší než v Evropě a sedmkrát vyšší než u Afroameričanů. IgA nefropatie postihuje všechny věkové skupiny, ale nejvyšší incidenci má ve druhé a třetí dekádě života. Patogeneze onemocnění a příčina etnických rozdílů a rozdílů ve věku v době prezentace onemocnění není zcela jasná a předpokládá se, že významnou roli hrají genetické faktory.

Předchozí tři celogenomové asociační analýzy (Feehally et al., 2010; Gharavi et al., 2011; Kiryluk et al., 2012 – poslední z nich jsme měli možnost se zúčastnit) prokázaly asociaci rizika vývoje IgA nefropatie s polymorfismy v HLA (HLA-DQ-HLA-DR, TAP1-PSMB8 a HLA-DP) na chromosomu 6p21 a dále identifikovaly čtyři další lokusy mimo HLA oblast, které hrají roli v riziku vývoje IgA nefropatie – úsek na chromosomu 1q32 s delecí genu pro protein příbuzný s faktorem H-komplementu – complement factor H related protein (delece CFHR3-CFHR1), úsek chromosomu 8p23 obsahující shluk genů DEFA pro α -defenziny, úsek chromosomu 17p13 (včetně genu pro TNFSF13, známého také jako APRIL) a úsek chromosomu 22q12 zahrnující gen HORMAD2 a několik dalších genů.

HLA oblast je asociována s řadou dalších autoimunitních chorob (např. produkt genu TAP1-PSMB8 hraje roli v prezentaci antigenu), roli v imunitní odpovědi hraje i většina dalších identifikovaných genů – CFHR přispívá k inhibici aktivace komplementu, α -defenziny jsou antibakteriální peptidy, TNFSF13 – APRIL je faktor stimulující B-lymfocyty. Méně jasná je role produktu genu HORMAD2, který hraje roli v reparaci chromosomových zlomů při meióze v pohlavních buňkách a spermatogenezi (Wojtasz et al., 2012).

Polymorfismy v popsáných lokusech vysvětlily dohromady jen cca 5 % celkového rizika onemocnění, ale rozdíly ve výskytu polymorfismů těchto genů vysvětlují podstatnou část rozdílů v riziku mezi různými etnickými skupinami. Rizikové alely popsáných genů se vyskytují podstatně častěji v asijské než v evropské populaci. Komentovaná nová celogenomová studie se zaměřila na nalezení dalších rizikových lokusů v evropské populaci.

V první fázi byla celogenomová analýza provedena u 2 747 evropských pacientů s biopsicky prokázanou IgA nefropatií a 3 592 kontrol a u již dříve prezentované kohorty 1 194 čínských pacientů s IgA nefropatií a 902 kontrol (testovací kohorta). Výsledky asociační analýzy z obou kohort byly pak kombinovány ve formě metaanalýzy. Bylo identifikováno několik nových signálů, z nichž nejsilnější ($p < 0,00001$) byly genotypizovány u další (validační) kohorty 4 911 pacientů s IgA nefropatií a 9 002 kontrol a poté byla provedena finální metaanalýza dat zahrnující obě kohorty o celkovém počtu 20 612 osob. Tento postup umožnil identifikovat i jen o 15–25 % vyšší riziko spojené s jednotlivými alelami.

Finální kombinovaná analýza odhalila na celogenomové úrovni šest nových významných signálů – čtyři signály ve třech nových lokusech na chromosomu 1p13 (lokus VAV3), 9q34 (lokus CARD9) a 16p11 (lokus ITGAM-ITGAX) a dva nové nezávislé signály v rámci již dříve identifikovaných lokusů v oblastech HLA-DQ-HLA-DR a DEFA. Nová analýza také potvrdila devět již dříve identifikovaných lokusů: 6p21 (HLA-DQ-HLA-DR, TAP1-PSMB8 a HLA-DP), 1q32 (lokus s delecí CFHR3-CFHR1), 8p23 (lokus DEFA), 17p13 (lokus TNFSF13) a 22q12 (lokus HORMAD2).

Nejsilnější nový signál mimo HLA oblast představoval lokus ITGAM-ITGAX na chromosomu 16p11. ITGAX kóduje pro leu-

kocyty specifický integrin α X, který je součástí komplementového receptoru 4 (CR4) a hraje roli v adhezii a migraci leukocytů a fagocytóze komplementem pokrytých buněk nebo molekul monocytů a makrofágů. Riziková alela T v tomto lokusu představuje původní (ancestrální, šimpanzí) alelu, která se vyskytuje v evropské populaci s frekvencí 0,82 a v asijské populaci s frekvencí 1,0, a nemohla být proto v asijské populaci jako riziková identifikována. Komplexnost celé problematiky ilustruje, že stejná alela v tomto genu je protektivní ve vztahu k systémovému lupus erythematosus (SLE). V rámci této oblasti, ale na jiném místě byla identifikována další nezávislá riziková (neancestrální) alela, která se vyskytuje u 36 % Evropanů a 75 % Asiatů. Obě rizikové alely jsou asociovány se zvýšenou expresí ITGAX na periferních krevních buňkách.

Další riziková alela byla odkryta v evropské i asijské populaci na chromosomu 9q34 v genu CARD9 (caspase recruitment domain-containing protein 9), jehož produktem je adaptorový protein, který stimuluje aktivaci prozánětlivého faktoru NF- κ B. Riziková alela je asociována s vyšší expresí CARD9 v monocytech a dalších periferních krevních buňkách. Stejná alela také zvyšuje riziko ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby.

Další signál na chromosomu 1p13 byl polymorfismus v intronu genu VAV3 (guanine nucleotide exchange factor for RhoA), který kóduje faktor vyměňující nukleotid obsahující guanin u Rho GTPázy, důležitý pro vývoj B-lymfocytů a T-lymfocytů a prezentaci antigenu. Alela VAV3 riziková pro IgA nefropatii se liší od alely VA3 asociované s hypotyreózou a není s ní asociována.

Byly také identifikovány nové a etnicky specifické signály v již známých lokusech: v oblasti HLA-DQ-HLA-DR a v genu pro PSMB8, který je asociovaný se zvýšenou expresí genů TAP2, PSMB8 a PSMB9, jež hrají roli ve zpracování a prezentaci antigenu, v periferních krevních buňkách, a etnicky specifický i etnicky nespecifický signál v genu pro DEFA (kódujícím antimikrobiální peptid α -defenzin; polymorfismus genu pro DEFA nebyl zatím popsán u žádné jiné choroby a může být pro IgA nefropatii specifický). Potvrzena byla asociace IgA nefropatie s dříve popsávanými geny CFHR3-CFHR1, HLA-DP, TNFSF13 a HORMAD2. Popsané genetické změny aktuálně vysvětlují 6,2 % celkového rizika u evropské a 7,6 % celkového rizika u asijské populace.

Celkové genetické riziko (vypočtené jako vážený součet rizikových alel dělený logaritmem s jednotlivými lokusy spojeného relativního rizika) korelovalo s věkem v době diagnózy, každý kvintil genetického rizika byl spojen s první prezentací onemocnění o 1,2 roku dříve a nejsilnější s věkem v době diagnózy koreloval polymorfismus rs7763262 v lokusu HLA-DQ-HLA-DR.

Autoři ukázali již ve své předchozí práci (Kirylyuk et al., 2012) a v této práci na ještě větším vzorku potvrdili, že celosvětové rozložení rizikových alel IgA nefropatie koreluje se vzdáleností od Afriky a s prevalencí IgA nefropatie. Tento nálezn lze nejlépe vysvětlit polygenní adaptací na místní prostředí.

Geny spojené se zvýšeným rizikem IgA nefropatie byly často spojeny i se zvýšeným (nebo sníženým) rizikem pro další onemocnění. Největší počet takovýchto překryvů byl zjištěn v HLA-DQ-HLA-DR oblasti, kde alely zvyšující riziko IgA nefropatie byly asociovány také se zvýšeným rizikem revmatoidní artritidy, systémové sklerózy, alopecie areata, Gravesovy choroby, folikulárního lymfomu, diabetu 1. typu a deficiencie IgA. Alely zvyšující riziko IgA nefropatie ale na druhé straně snižovaly riziko SLE, roztroušené sklerózy, ulcerózní kolitidy a hepatocelulárního karcinomu. Z lokusů mimo HLA oblast byla zaznamenána asociace se zvýšeným rizikem nespecifických střevních zánětů (CARD9), zvýšenou koncentrací nealbuminových proteinů v séru a koncen-

tracemi IgA (TNFSF13), makulární degenerací (CFHR3-CFHR1) a diabetem 1. typu (HORMAD2). S geny pro ITGAM-ITGAX a CFHR3-CFHR1 bylo asociováno snížené riziko SLE a s genem HORMAD2 snížené riziko nespecifických střevních zánětů.

Další detailní analýza ukázala, že většina genů asociovaných s IgA nefropatií hraje roli v udržování střevní slizniční bariéry a regulaci střevní slizniční imunitní odpovědi. Rizikové geny IgA nefropatie jsou asociovány s Crohnovou chorobou nebo ulcerózní kolitidou (CARD9, HORMAD2 a HLA-DQB1). ITGAM-ITGAX hraje roli v regulaci střevních buněk produkujících IgA a ITGAM je nezbytný pro interakci mezi receptorem pro Fc fragment IgA (Fc α R – CD89) a sekrečním IgA, hlavní formou IgA na sliznici. Alfa-defenziny jsou normálně exprimovány střevními Panethovými buňkami a chrání je před vodními patogeny a patogeny z potravy. Deficiencie α -defenzinů 5 a 6 je asociována s Crohnovou chorobou. CARD9, VAV2, PSMB8 a PSMB9 hrají roli v aktivaci NF- κ B a mají nezastupitelnou roli v stabilizaci intestinální epitelové bariéry a kontrole místní zánětlivé odpovědi v průběhu infekce.

Z 582 non-HLA genů asociovaných s autoimunitními a zánětlivými onemocněními bylo 87 volně asociováno ($p < 0,05$) s IgA nefropatií (vysoce signifikantní nadbytek pozitivních asociací, $p < 0,0001$). Tyto další signály (pod replikačním prahem stávající studie) by měly být studovány v dalších studiích. Studium spojitosti genů signifikantně asociovaných s IgA nefropatií ukázalo těsnou korelaci s již definovanými skupinami genů uspořádaných jako „střevní imunitní síť spojená s produkcí IgA“ a „infekce leishmanií“ (protozoální infekce postihující kůži, vnitřní orgány a sliznice).

Významné zastoupení genů asociovaných s IgA nefropatií mezi geny majícími vztah k intestinální imunitě a slizničním patogenům naznačovalo možnou souvislost, že by známá geografická distribuce IgA nefropatie mohla být způsobena adaptací k místnímu prostředí. Byla prokázána silná pozitivní asociace mezi genetickým skóre IgA nefropatie a lokální diverzitou patogenů, zejména střevních červů. V konečné analýze bylo genetické skóre IgA nefropatie nezávisle asociováno pouze s diverzitou střevních červů a geografii.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesář, DrSc.

Tato dosud největší celogenomová asociační studie identifikovala šest nových signálů, které přispívají k riziku IgA nefropatií, včetně čtyř v nových lokusech (ITGAM-ITGAX, VAV3 a CARD9) a dvou ve známých oblastech (HLA-DQB1 a DEFA), a potvrdila devět již dříve známých celogenomově významných signálů. Lokusy, pro které byla v této studii prokázána asociace s IgA nefropatií, ukazují na souvislost tohoto onemocnění s udržováním intestinální střevní bariéry, aktivací slizniční produkce IgA, signalizací NF- κ B, obranou proti intracelulárním patogenům a aktivací komplementu. Celkově těchto 15 nezávislých rizikových alel významně ovlivňuje věk manifestace onemocnění. Geny predisponující pacienty k IgA nefropatii se navíc významně překrývají s lokusy pro jiná autoimunitní a zánětlivá onemocnění, což zařazuje IgA nefropatii do tohoto spektra. Nápadná asociace rizikových alel s geografickou distribucí onemocnění a lokální diverzitou parazitů ukazuje na mnohonásobnou adaptaci k zevnímu prostředí. Samotné parazitární infekce mohou být dostatečným zdrojem příslušného selektivního tlaku. V minulosti byly parazitární střevní infekce významným zdrojem morbidit a mortality a ještě dnes postihují 25 % světové populace s nejvyšším výskytem v Asii. Již v minulosti bylo prokázáno, že se sekundární IgA nefropatie může vyvinout ze schistosomiázy, běžného parazitárního onemocnění. Schistosomiáza specificky postihuje schopnost ITGAM-pozitivních

(CD11b⁺) dendritických buněk stimulovat CD4⁺ T-lymfocyty. Zvýšený výskyt IgA nefropatie v některých geografických oblastech tak může představovat nepříznivý důsledek protektivní adaptace na slizniční invazi lokálními patogeny.

Potencovaná imunitní odpověď zajištěná rizikovými alelami může současně vysvětlit známou asociaci slizničních infekcí s aktivací IgA nefropatie. Interakce mezi hostitelem a patogenem má podobný kritický vliv na genetickou dispozici k nespecifickým střevním zánětům. S tím jistě souvisí to, že genetické lokusy predisponující k IgA nefropatii jsou buď přímo asociovány s rizikem nespecifických střevních zánětů (HLA-DQ-HLA-DR, CARD9 a HORMAD2), nebo kódují proteiny, které hrají roli v udržování intestinální slizniční bariéry nebo regulaci slizniční imunitní odpovědi (DEFA, TNFSF13, VAV3, ITGAM-ITGAX a PSMB8), a také to, že slizniční infekce vyvolávají u IgA nefropatie epizody aktivity glomerulonefritidy (charakterizované makroskopickou hematurií), a také s tím jistě souvisí role IgA v obraně sliznic. Asociace genů zvyšujících riziko IgA nefropatie s geny predisponujícími k jiným autoimunitním a zánětlivým onemocněním ukazuje na možnost identifikovat zejména u pacientů s časným nástupem onemocnění další rizikové alely s celogenomovým významem.

Tato významná studie tedy výrazně posunula naše pochopení patogeneze IgA nefropatie a identifikovala i některé potenciální cílové molekuly pro případné terapeutické intervence (např. možnost interferovat s působením TNFSF13 již existuje a je aktuálně testována u pacientů se systémovým lupus erythematoses).

Komentovaná studie přesvědčivě ukázala, že intestinální imunitní odpověď hraje primární roli ve vývoji IgA nefropatie i její aktivaci. Imunosupresiva působící primárně ve střevě by tedy mohla mít stejný účinek jako léky působící systémově a současně by mohla mít výrazně méně nežádoucích účinků, a bylo by je tedy např. možno podávat dlouhodobě. Lokálně působící syntetický kortikosteroid budesonid s preferenčním uvolňováním v ileocékální oblasti a omezenou střevní absorpcí snížil v malé pilotní studii u pacientů s IgA nefropatií proteinurii (Smerud et al., 2011). Na jaře příštího roku by měly být k dispozici výsledky právě probíhající multicentrické randomizované kontrolované studie s budesonidem, která by měla ukázat jeho možné místo v léčbě pacientů s IgA nefropatií.

Recentní pokrok v pochopení genetické dispozice k IgA nefropatii a patogeneze tohoto onemocnění by tak brzy mohl přinést i významný pokrok v léčbě tohoto nebezpečného, pomalu progredujícího onemocnění se stále špatnou dlouhodobou prognózou.

Literatura

- Feehally J, Farrall M, Boland A, et al. HLA has strongest association with IgA nephropathy in genome-wide analysis. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1791–1797.
- Gharavi AG, Kiryluk K, Choi M, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat Genet* 2011;43:321–327.
- Kiryluk K, Li Y, Sanna-Cherchi S, et al. Geographic differences in genetic susceptibility to IgA nephropathy: GWAS replication study and geospatial risk analysis. *PLoS Genet* 2012;8:e1002765.
- Smerud HK, Bárány P, Lindstrom K, et al. New treatment for IgA nephropathy: enteric budesonide targeted to the ileocecal region ameliorates proteinuria. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3237–3242.
- Wojtasz L, Cloutier JM, Baumann M, et al. Meiotic DNA double-strand breaks and chromosome asynapsis in mice are monitored by distinct HORMAD2-independent and -dependent mechanisms. *Genes Dev* 2012;26:958–973.