

奨励賞受賞者論文

# IgA 腎症における糖鎖異常 IgA1 の特徴

高橋 和男

(藤田医科大学医学部・解剖学Ⅱ)

## 緒 言

IgA 腎症は、何らかの原因で糸球体沈着性の IgA1 が循環血液中に増加し、メサンギウム領域に沈着し腎障害を生じると考えられる。診断には腎生検による腎組織所見が必須であり、我が国で行われる腎生検の約 1/3 が IgA 腎症と診断され、世界的にも最も高頻度に見られる糸球体腎炎である<sup>1,2</sup>。腎生検後 20 年で約 20-40% の症例が、血液透析などの腎代替療法が必要となる末期腎不全に陥る。未だ病因は不明で特異的治療法が確立されていないため、国の難病指定をうけている。

IgA 腎症は、メサンギウム領域への IgA1 を主体とする沈着に伴う糸球体メサンギウム細胞増多と基質の増生を特徴とする。本症では移植腎の IgA 再沈着が高率であり、非 IgA 腎症末期腎不全患者への IgA 沈着を伴う腎の移植にて沈着 IgA が消失することから、糸球体沈着 IgA は循環血液中の IgA 由来と考えられる。本症患者では血清 IgA 値が必ずしも上昇せず、さらに血清 IgA が異常高値の IgA 骨髄腫の患者でも IgA 腎症の合併は稀である。これらの報告から IgA 側の量的異常ではなく質的異常が本症の病因に関与すると考えられ、本症の血液中 IgA1 分子について詳細な解析が行われてきた。IgA1 ヒンジ部には O 結合型糖鎖が集簇し結合しているが、患者血清 IgA1 及び糸球体抽出 IgA1 において、ガラクトース (Gal) が欠損した O 結合型糖鎖を持つ糖鎖異常 IgA1 (abnormally glycosylated IgA1)<sup>3-7</sup> が増加していると報告された。我々は糖鎖異常 IgA1 の詳細な構造解析から本症病因解明に取り組むとともに、新規診断法の開発を行っている。本総説では IgA 腎症における糖鎖異常 IgA1 の特徴について概説する。

## 1. IgA の構造

### 1) IgA1 の糖鎖構造とその役割

IgA の産生量は約 66mg/kg/日であり IgG の約 2 倍、

IgM の 10 倍にもなる。その 2/3 は粘膜面に分泌され、外分泌液中の主要抗体である。ヒト IgA は IgA1, IgA2 のサブタイプが存在する。血中 IgA は多くが骨髄 B 細胞由来で一部が末梢リンパ組織で産生される。90% が IgA1 であり単量体 IgA が多い。ヒト IgA1 及び IgA2 はともに N 結合型糖鎖を持つ糖タンパク質である。図 1 A に糖鎖結合部位を示す。Joining (J) 鎖には 1 ヶ所に N 結合型糖鎖が付着し IgA の 2 量体形成及び polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) 結合に必須である (図 1 B)。粘膜に存在する IgA は多くが粘膜の B 細胞から産生され、16kDa の J 鎖とジスルフィド結合することにより 2 量体となっており、pIgR 由来の分泌片 (secretory component: SC) を共有結合し、分泌型 IgA (secretory IgA; sIgA) と呼ばれる。SC には 7 か所に N 結合型糖鎖が結合するため、sIgA は大量の糖鎖を含む (図 1 C)。ヒト IgA1 と IgA2 はヒンジ部の構造に大きな差異を認める。図 2 A

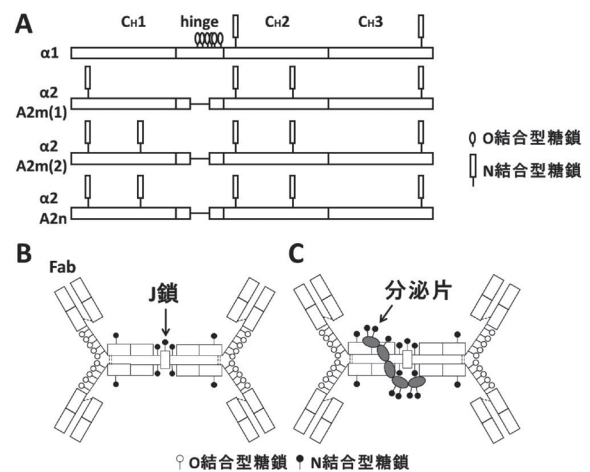


図 1 IgA の構造と糖鎖

(A) ヒト IgA1, IgA2 は共に N 結合型糖鎖を持つ糖タンパク質であるが、IgA2 と異なり IgA1 はヒンジ部に O 結合型糖鎖を持つ。(B) 2 量体 IgA1 と分泌型 IgA1 の構造。J 鎖、分泌片ともに N 結合型糖鎖を持つ。

に IgA1 とそのヒンジ部糖鎖構造を示す<sup>8</sup>。IgA1 は IgA2 に比し長いヒンジ部に集簇した O 結合型糖鎖を持つが、IgA2 ヒンジ部は短く O 結合型糖鎖修飾部位はない。IgA 及び SC の糖鎖は粘膜面において細菌表面の主に糖鎖と結合又は反発することにより血液中への侵入を防ぐ働きがあると考えられる<sup>9</sup>。

2) IgA1 ヒンジ部糖鎖とその合成

ヒト IgA1 ヒンジ部のアミノ酸配列は、豊富なプロ

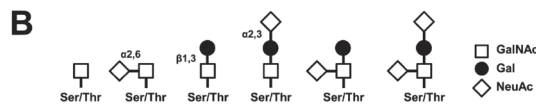
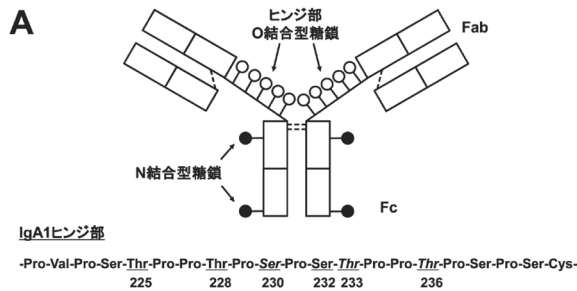


図2 IgA ヒンジ部糖鎖構造

(A) IgA1 はヒンジ部に O 結合型糖鎖を 3 - 6 個持ち、N 結合型糖鎖を 2 か所を持つ。アンダーラインの Ser/Thr は通常 O 結合型糖鎖の結合を認める。斜体の Ser/Thr は Gal 欠損 O 結合型糖鎖結合が報告されている部位を示す。Gal 欠損 GalNAc を糖鎖異常 IgA1 特異的 IgG 抗体が認識すると考えられる。(B) IgA1 ヒンジ部糖鎖のバリエーション。Ser/Thr に GalNAc が結合しその外側に Gal, NeuAc が結合する。ヒンジ部糖鎖は、糖鎖数、糖鎖構造、結合部位、にて多数のパラエティを持つ。

リン (Pro ; P) と O 結合型糖鎖が結合するセリン (Ser ; S) 又はスレオニン (Thr ; T) から構成されている。9 つの Ser/Thr のうち通常 3 - 6 ヶ所に O 結合型糖鎖が結合しており<sup>8</sup>、糖鎖結合はランダムではなく特定の部位に生じる<sup>10,11</sup>。この糖鎖化は IgA1 分泌形質細胞のゴルジ装置内で各糖転移酵素群にて段階的に行なわれるため IgA1 分子の O 結合型糖鎖構造には多様性を認める (図 2 B)。IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖の特徴として、糖鎖結合数(主に 3 - 6 個)、糖鎖結合部位 (図 2 A 下線部)、糖鎖構造 (図 2 B) によるパラエティを持つ。

IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖化は、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 転移酵素 2 (GalNAc-T2) により Ser 又 Thr に GalNAc が結合することにより始まる。その外側に Gal がガラクトース転移酵素 (C1GalT1) にて結合する。C1GalT1 安定化にその分子シャペロン Cosmc が働き、Cosmc が存在しないと C1GalT1 は速やかに変性失活し Gal は転移しない。その外側にシアル酸 (NeuAc) が  $\alpha$ 2,3 シアル酸転移酵素 (ST3Gal1) を介し Gal に、 $\alpha$ 2,6 シアル酸転移酵素 (ST6GalNAc2) を介し GalNAc にそれぞれ結合する (図 3)。Gal が GalNAc に結合するよりも前に、GalNAc が  $\alpha$ 2,6 でシアル化されると、そのシアル化した GalNAc には Gal は結合できない (図 3\*)。

3) 糖鎖異常 IgA1 とは

ヒンジ部に存在する 3 - 6 個の O 結合型糖鎖のうち、NeuAc, Gal が欠損し末端 GalNAc が露出した O 結合型糖鎖 (図 2 B 左) を持つ IgA1 は、後述するレクチンにより検出され、IgA 腎症患者血清で健常者より高値を示す。この IgA1 は Gal 欠損糖鎖を多く持つと考えられ、Gd-IgA1 と呼ばれる。今日では Gd-IgA1 は糖鎖異常 IgA1 のことを指し示すことが多いが、IgA1 に結合する糖鎖のすべてが Gal 欠損ではないことに注意が必要である。一方、糖鎖不全 IgA1 (underglycosylated IgA1) は糖鎖そのものの結合が少ないことを示すが、NeuAc の増加を認めることがあり、IgA 腎症に出現するヒンジ部糖鎖異常を持つ IgA1 は糖鎖異常 IgA1 と総称される。健常者 IgA1 においても一部の糖鎖には Gal 欠損を認め<sup>11</sup>、IgA 腎症に特異的なヒンジ部糖鎖構造は未だ不明である。患者 IgA1 産生 B 細胞由来の IgA1 と、同じ患者の血清 IgA1 の HAA-ELISA 値は関連したことから、糖鎖異常 IgA1 は免疫複合体形成後の変化や血中での糖鎖切断ではなく、IgA1 産生 B 細胞内での過程で生じると考えられる<sup>12</sup>。この患者由来の IgA1 産生 B 細胞では C1GalT1 活性の低下と ST6GalNAc2 活性の増加を認め、GalNAc のシアル化が Gal の GalNAc への結合を阻害することにより (premature sialylation) 糖鎖異常 IgA1 が

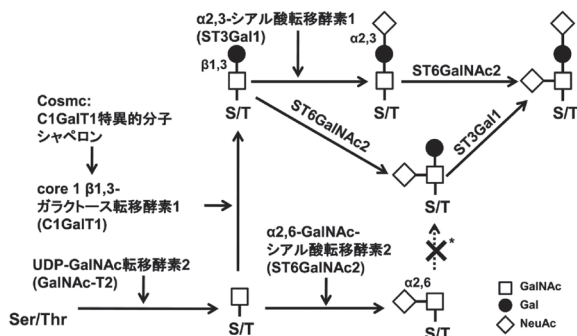


図3 IgA1 ヒンジ部糖鎖構造に関わる糖転移酵素群

IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖化は、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 転移酵素 2 (GalNAc-T2) により Ser(S) 又は Thr(T) に GalNAc が結合することにより始まる。その外側にガラクトース (Gal) がガラクトース転移酵素 (C1GalT1) にて結合する。C1GalT1 安定化にその分子シャペロン Cosmc が働き、Cosmc が存在しないと C1GalT1 は速やかに変性失活し Gal が転移しなくなる。その外側にシアル酸 (NeuAc) が  $\alpha$ 2,3 シアル酸転移酵素 (ST3Gal1) を介し Gal に、 $\alpha$ 2,6 シアル酸転移酵素 (ST6GalNAc2) を介し GalNAc にそれぞれ結合する。糖鎖異常 IgA1 は IgA1 産生 B 細胞内での過程で生じるため、糖転移酵素の異常の関与が考えられる。

増加する可能性が報告されている<sup>12</sup>。

## 2. 糖鎖異常 IgA1 の病因における役割

### 1) 遺伝との関連

家族性 IgA 腎症及び孤発性 IgA 腎症の一親等で血中糖鎖異常 IgA1 の増加を認め、健常者双子の研究においても Gd-IgA1 値は遺伝的影響をうけることが明らかとなった。白人では健常人でも Gd-IgA1 値が高く、C1GALT1 の多型が関与する<sup>16</sup>。本症のゲノムワイド関連解析 (GWAS) では、直接糖転移酵素に関連する遺伝子領域は検出されなかったものの、検出された感受性遺伝子座には B 細胞の成熟分化を促す APRIL (TNFSF13) や、抗体産生を促す LIF や OSM を含んでおり、本症における Gd-IgA1 産生増加との関連が示唆される<sup>17,18</sup>。

### 2) 抗原性

患者血清中の糖鎖異常 IgA1 に反応する IgG または IgA1 抗体が同定されている<sup>19-21</sup>。IgA1 ヒンジ部糖鎖異常は IgA1 の 3 次元構造の変化を生じ、ヒンジ部糖鎖異常部位を新たなエピトープとして血清中の IgG 型または IgA 型の自己抗体が認識し、免疫複合体を形成すると考えられる。Suzuki らは IgA 腎症患者 B 細胞より IgA ヒンジ部糖鎖異常特異的 IgG 抗体が産生され、その重鎖遺伝子の可変領域内 complementarity-determining region 3 のアミノ酸配列の変化が糖鎖異常 IgA1 への結合に必要と報告した<sup>21</sup>。さらに患者血中糖

鎖異常 IgA1 特異的 IgG 抗体値は蛋白尿と相関した<sup>21</sup>。この糖鎖異常 IgA1 特異的抗体の形成機序は不明であるが、細菌表面の糖鎖に対してつくられた抗体が交差抗原としての IgA1 ヒンジ部糖鎖を認識するという仮説が考えられている<sup>22,23</sup>。前述のように、健常者でも糖鎖異常 IgA1 は存在しており、糖鎖異常 IgA1 単独で IgA 腎症は発症しないと考えられる。腎炎惹起には Multi-hit が必要と考えられ、IgA 腎症の病因に Multi-hit mechanism が提唱されている (図 4)。

### 3) 分子複合体の形成

糖鎖の役割の一つにタンパク質の立体構造や親水性の保持がある。IgA1 から酵素処理で NeuAc と Gal を除去すると IgA1 は凝集する。糖鎖異常 IgA1 は分子脆弱性であり凝集高分子 IgA1 が非免疫学的に生成され、糸球体に沈着する可能性が示されている<sup>24</sup>。β1,4 ガラクトース転移酵素欠損マウスでは IgA の N 結合型糖鎖で Gal 欠損 (及びシアル酸欠損) が生じ、メサングウムに IgA の沈着を認める<sup>25</sup>。これは IgA 糖鎖異常単独で糸球体沈着を生じうることを示している。酵素的に NeuAc と Gal を除去した IgA1 は、IgA1、IgG1、IgG3、IgM、C3 との非免疫学的に結合すると報告され、糖鎖異常 IgA1 は細胞外基質に対しても親和性が高く、メサングウムに受動的に捉えられ沈着が生じる可能性も示唆されている<sup>24</sup>。

### 4) 補体反応性

本症では、高率に C3 の沈着し、C5b-9 が存在することから補体が腎炎発症に関与すると考えられる。古典経路の C1q 沈着は稀であり、副経路またはマンノース結合レクチン (Mannose-binding lectin; MBL) 経路が本症における補体系の活性化に関与している。単量体 IgA は補体活性化を示さないが、2 量体および多量体 IgA は補体を活性化し糸球体障害を引き起こす。多量体 IgA 及び IgA1 免疫複合体は補体副経路とレクチン経路介し C5-9b を産生し、メサングウム細胞から炎症誘導因子と基質蛋白の産生を促進する。多量体 IgA1 は単量体 IgA1 に比し MBL により強く結合し MBL 経路を誘導する<sup>26</sup>。糖鎖と免疫複合体の大きさは補体活性化に重要な因子であり、MBL は N 結合型糖鎖のマンノース又は N アセチルグルコサミン残基と結合するため、IgA1 の糖鎖異常との関連が疑われる。

### 5) クリアランス異常

IgA 腎症患者の約半数では血中 IgA 値の増加を認めるが、血中 IgA 値は IgA の産生増加と白血球への取り込み、肝からの除去のバランスによって決定される。肝疾患において糸球体 IgA 沈着を高率に認めることは IgA クリアランスの障害にて糸球体 IgA 沈着を生じることを示唆する。IgA は通常循環中から肝と白血球の受容体を介した細胞内の取り込みにてクリアされ

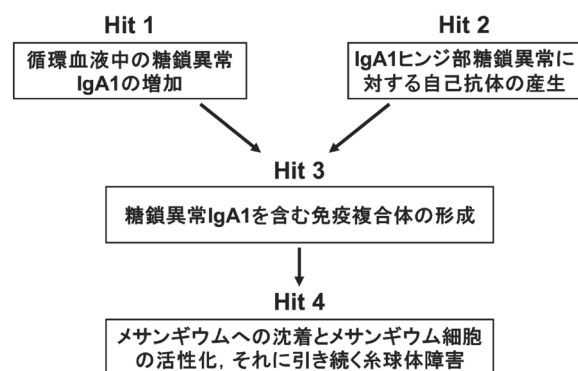


図 4 IgA 腎症の病因仮説: Multi-hit mechanism

IgA 腎症では、糖鎖異常 IgA1 とそれに対応する自己抗体の形成を認めると報告されている。糖鎖異常 IgA1 単独で腎炎は生じず、腎炎惹起には Multi-hit が必要と考えられ、IgA 腎症の病因に Multi-hit mechanism が提唱されている<sup>2,23</sup>。

Hit 1: 循環血中に分子異常 (IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖異常) を伴った多量体 IgA1 が増加する。

Hit 2: ヒンジ部糖鎖異常を持つ IgA1 (糖鎖異常 IgA1) に対し糖鎖異常特異的な自己抗体が形成される。

Hit 3: 循環血中に糖鎖異常 IgA1 を含む免疫複合体が形成される。

Hit 4: 糖鎖異常 IgA1 を含む免疫複合体がメサングウムに沈着し、メサングウム細胞を活性化し糸球体障害を起こす。



る。アジア糖蛋白受容体 (ASPG-R) は IgA を含む幅広い糖蛋白のアシアロ体を認識するため、シアル酸を多く含む IgA は受容体の結合性は低下しクリアランスが低下すると考えられる。しかし、血中 IgA1 のシアル酸の多寡についてはまだ結論が出ておらず、一般的に IgA1 は肝からわずかにクリアランスされるに過ぎない。また、IgA1-IgG 免疫複合体の大きさは大きく 800kD 以上でディッセ腔を通過できず ASGP-R から除去されない<sup>23</sup>。

### 3. Gd-IgA1 の検出とバイオマーカー応用

IgA 腎症血液中に増加する Gd-IgA1 及びその関連分子をバイオマーカー応用する試みが近年なされている。現在、Gd-IgA1 は ELISA 法によって定量が可能である。また、高分解能質量分析計によるヒンジ部糖鎖バラエティの検出・定量、糖鎖修飾部位解析が行われている。

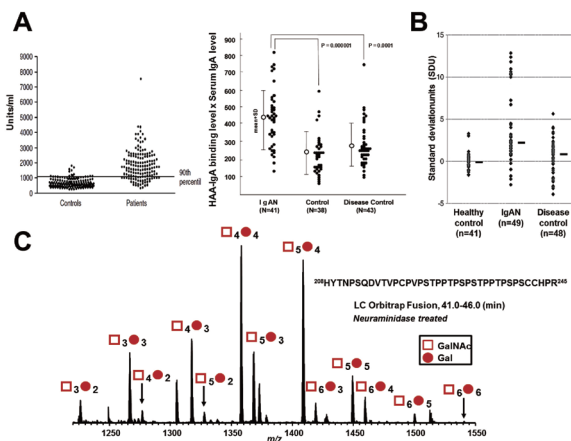


図5 Gd-IgA1 の検出

(A) 末端 GalNAc 特異的レクチンである HAA を用いた ELISA (HAA-ELISA) 値は、健康者に比し IgA 腎症患者で有意に高値である。左：米国アラバマ大学の報告<sup>27</sup>、右：日本人 IgA 腎症患者<sup>28</sup> (B) ヒンジ部 Gal 欠損糖鎖に対するモノクローナル抗体による Gd-IgA1 の検出。<sup>31</sup> (C) 高分解能質量分析計により、IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖のバラエティを正確に検出することが可能である。ヒンジ部に結合する O 結合型糖鎖数は、ヒンジ部アミノ酸配列 (His<sup>208</sup>-Arg<sup>245</sup>) に加え、GalNAc (□)、Gal (●) の数によって同定される。ヒンジ部に結合する GalNAc と Gal の数を同定されたピークの上に示す。



図6 異常 O 結合型糖鎖修飾部位

ヒト血清 IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖は赤字で示される T<sup>225</sup>、T<sup>228</sup>、S<sup>230</sup>、T<sup>233</sup>、T<sup>236</sup> に結合するが、Gal 欠損糖鎖修飾は頻度順に T<sup>236</sup>、S<sup>230</sup>、T<sup>233</sup>、T<sup>228</sup> の 4ヶ所に生じる。<sup>34</sup>

### 1) レクチン

ヒンジ部の Gal 欠損 O 結合型糖鎖を検出するために、末端 GalNAc 特異的レクチンである、*Helix Aspersa* agglutinin (HAA)、*Helix pomatia* agglutinin (HPA)、*Vicia villosa* lectin (VVL) 等が用いられる。HAA を用いた ELISA にて Gd-IgA1 を検出する方法が確立され (図 5 A 左)、我々は、日本人 IgA 腎症患者においても血中 Gd-IgA1 の増加を認めることが確認した (図 5 A 右)<sup>28</sup>。しかし、HAA をはじめとしたレクチンは抗体に比べて結合性が弱く、HAA はロット間の差が大きいこと、近傍のシアル酸の影響をうけるためシアリダーゼ処理の影響を強く受ける問題点がある。<sup>29</sup>

### 2) ヒンジ部糖鎖モノクローナル抗体

より確実な Gd-IgA1 の検出をめざし、合成ヒンジ部糖ペプチドに対するモノクローナル抗体 (KM55, 35A12) による検出系が開発された (図 5 B)。KM55 は上梓されており Gd-IgA1 検出の標準法として確立された。IgA 腎症の診断において Gd-IgA1 単独ではなく、IgA、IgG、糖鎖異常 IgA1 特異的 IgG/IgA 値を組み合わせるにより、診断の感度特異度を向上させる試みもなされている。<sup>32</sup>

さらに、IgA 腎症及び IgA 血管炎の糸球体沈着 IgA1 は KM55 により特異的に染色されることが明らかとなり、二次性 IgA 沈着疾患の鑑別に有用であると報告された。これは IgA 腎症の沈着 IgA1 は他疾患 (ループス腎炎等) と異なり Gd-IgA1 を中心とするものであると考えられ、Gd-IgA1 はバイオマーカーのみならず治療ターゲットとなる可能性を示している。<sup>33</sup>

### 3) 質量分析計

レクチンやヒンジ部糖鎖モノクローナル抗体を用いた ELISA では、Gal 欠損糖鎖を含む IgA1 を検出するが糖鎖の付着数や異常糖鎖の付着部位は不明であり、患者に増加する真のヒンジ部異常糖鎖構造は不明である。O 結合型糖鎖付着部位を解析するためには、トリプシンなどのエンドペプチダーゼにて IgA1 を切断後、ヒンジ部糖ペプチドを質量分析計で解析する。集簇した O 結合型糖鎖の解析にはナノフローの高速液体クロマトグラフィーと高分解能質量分析計が必要である (図 5 C)。糖鎖修飾部位は、Electron transfer dissociation (ETD) タイプのタンデム質量分析にて同定が可能である。我々は、臨床検体の解析にあたり、定量的な IgA1 ヒンジ部 O 結合型糖鎖プロファイルの解析と異常糖鎖付着部位の定量的解析法を開発した。本解析法により、ヒト血清 IgA1 ヒンジ部の異常糖鎖修飾部位は主に 4ヶ所に生じ、好発部位は頻度順に T<sup>236</sup>、S<sup>230</sup>、T<sup>233</sup>、T<sup>228</sup> であることが明らかとなった (図 6)。<sup>34</sup>

### 4) 臨床的意義

HAA-ELISA で検出される Gd-IgA1 値が臨床所見

と関連があるかは結論が出ていない。<sup>35</sup>扁桃摘出術後、<sup>28</sup>Rituximab 治療後の HAA-ELISA 値には差を認めていないが、何れも少数例であり、Gd-IgA1 の臨床的意義については今後の検討を待つ必要がある。

## 総 括

HAA や糖鎖特異的モノクローナル抗体により検出される血液中 Gd-IgA1 の増加は本症の特徴の一つと言える。さらに IgA 腎症の沈着 IgA1 は主に Gd-IgA1 が中心となっていることが明らかとなり、病因における重要性がさらに注目されている。しかし、血液中の IgA1 を含む免疫複合体のメサンギウムへの沈着機序、炎症惹起における役割の解明は十分とは言えない。IgA 腎症における糖鎖異常 IgA1 の成因、正確な構造、その nephritogenicity を明らかにすることで、本症の病因解明・診断・新規治療法の開発が進むことが期待される。

## 謝 辞

本研究は、科学研究費助成事業科研費（課題番号 16K09632, 19K08715, 19K08691）、武田科学振興財団医学系研究助成、愛知腎臓財団、藤田学園教員助成費により補助を受けた。また著者は平成 19 年度藤田学園医学会奨励賞を受賞した。受賞にあたり多大なるご指導を賜った、白田信光名誉教授、杉山敏前腎臓内科学教授、比企能之名誉教授にこの場を借りて深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Sugiyama H, Yokoyama H, Sato H, Saito T, Kohda Y, Nishi S, Tsuruya K, Kiyomoto H, Iida H, Sasaki T, Higuchi M, Hattori M, Oka K, Kagami S, Nagata M, Kawamura T, Honda M, Fukasawa Y, Fukatsu A, Morozumi K, Yoshikawa N, Yuza-wa Y, Matsuo S, Kiyohara Y, Joh K, Taguchi T, Makino H, Committee for Standardization of Renal Pathological D and Working Group for Renal Biopsy Database JSoNTJ : Japan Renal Biopsy Registry : the first nationwide, web-based, and prospective registry system of renal biopsies in Japan. *Clin. Exp. Nephrol.* 2011 ; 15 : 493 – 503.
- 2) Wyatt RJ and Julian BA : IgA nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 2013 ; 368 : 2402 – 2414.
- 3) Mestecky J, Tomana M, Crowley-Nowick PA, Moldoveanu Z, Julian BA and Jackson S : Defective galactosylation and clearance of IgA1 molecules as a possible etiopathogenic factor in IgA nephropathy. *Contrib. Nephrol.* 1993 ; 104 : 172 – 182.
- 4) Allen AC : Abnormal glycosylation of IgA : is it related to the pathogenesis of : IgA nephropathy? *Nephrol. Dial. Transplant.* 1995 ; 10 : 1121 – 1124.
- 5) Hiki Y, Horii A, Iwase H, Tanaka A, Toda Y, Hotta K and Kobayashi Y : O-linked oligosaccharide on IgA1 hinge region in IgA nephropathy. Fundamental study for precise structure and possible role. *Contrib. Nephrol.* 1995 ; 111 : 73 – 84.
- 6) Hiki Y, Odani H, Takahashi M, Yasuda Y, Nishimoto A, Iwase H, Shinzato T, Kobayashi Y and Maeda K : Mass spectrometry proves under-O-glycosylation of glomerular IgA1 in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 2001 ; 59 : 1077 – 1085.
- 7) Allen AC, Bailey EM, Brenchley PE, Buck KS, Barratt J and Feehally J : Mesangial IgA1 in IgA nephropathy exhibits aberrant O-glycosylation : observations in three patients. *Kidney Int.* 2001 ; 60 : 969 – 973.
- 8) Mattu TS, Pleass RJ, Willis AC, Kilian M, Wormald MR, Lellouch AC, Rudd PM, Woof JM and Dwek RA : The glycosylation and structure of human serum IgA1, Fab, and Fc regions and the role of N-glycosylation on Fc alpha receptor interactions. *J. Biol. Chem.* 1998 ; 273 : 2260 – 2272.
- 9) Arnold JN, Wormald MR, Sim RB, Rudd PM and Dwek RA : The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annu. Rev. Immunol.* 2007 ; 25 : 21 – 50.
- 10) Takahashi K, Wall SB, Suzuki H, Smith AD, Hall S, Paulsen K, Kilian M, Mobley JA, Julian BA, Mestecky J, Novak J and Renfrow MB : Clustered O-glycans of IgA1 : Defining macro- and micro-heterogeneity by use of electron capture/transfer dissociation. *Mol. Cell. Proteomics.* 2010 ; 9 : 2545 – 2557.
- 11) Takahashi K, Smith AD, Poulsen K, Kilian M, Julian BA, Mestecky J, Novak J and Renfrow MB : Naturally occurring structural isomers in serum IgA1 o-glycosylation. *J. Proteome. Res.* 2012 ; 11 : 692 – 702.
- 12) Suzuki H, Moldoveanu Z, Hall S, Brown R, Vu HL, Novak L, Julian BA, Tomana M, Wyatt RJ,

- Edberg JC, Alarcon GS, Kimberly RP, Tomino Y, Mestecky J and Novak J : IgA1-secreting cell lines from patients with IgA nephropathy produce aberrantly glycosylated IgA1. *J. Clin. Invest.* 2008 ; 118 : 629 – 639.
- 13) Gharavi AG, Moldoveanu Z, Wyatt RJ, Barker CV, Woodford SY, Lifton RP, Mestecky J, Novak J and Julian BA : Aberrant IgA1 glycosylation is inherited in familial and sporadic IgA nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008 ; 19 : 1008 – 1014.
- 14) Kiryluk K, Moldoveanu Z, Sanders JT, Eison TM, Suzuki H, Julian BA, Novak J, Gharavi AG and Wyatt RJ : Aberrant glycosylation of IgA1 is inherited in both pediatric IgA nephropathy and Henoch–Schönlein purpura nephritis. *Kidney Int.* 2011 ; 80 : 79 – 87.
- 15) Lomax-Browne HJ, Visconti A, Pusey CD, Cook HT, Spector TD, Pickering MC and Falchi M : IgA1 Glycosylation Is Heritable in Healthy Twins. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017 ; 28 : 64 – 68.
- 16) Gale DP, Molyneux K, Wimbury D, Higgins P, Levine AP, Caplin B, Ferlin A, Yin P, Nelson CP, Stanescu H, Samani NJ, Kleta R, Yu X and Barratt J : Galactosylation of IgA1 Is Associated with Common Variation in *CIGALTI*. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017 ; 28 : 2158 – 2166.
- 17) Gharavi AG, Kiryluk K, Choi M, Li Y, Hou P, Xie J, Sanna-Cherchi S, Men CJ, Julian BA, Wyatt RJ, Novak J, He JC, Wang H, Lv J, Zhu L, Wang W, Wang Z, Yasuno K, Gunel M, Mane S, Umlauf S, Tikhonova I, Beerman I, Savoldi S, Magistroni R, Ghiggeri GM, Bodria M, Lugani F, Ravani P, Ponticelli C, Allegri L, Boscutti G, Frasca G, Amore A, Peruzzi L, Coppo R, Izzi C, Viola BF, Prati E, Salvadori M, Mignani R, Gesualdo L, Bertinetto F, Mesiano P, Amoroso A, Scolari F, Chen N, Zhang H and Lifton RP : Genome-wide association study identifies susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat. Genet.* 2011 ; 43 : 321 – 327.
- 18) Kiryluk K, Li Y, Sanna-Cherchi S, Rohanizadegan M, Suzuki H, Eitner F, Snyder HJ, Choi M, Hou P, Scolari F, Izzi C, Gigante M, Gesualdo L, Savoldi S, Amoroso A, Cusi D, Zamboli P, Julian BA, Novak J, Wyatt RJ, Mucha K, Perola M, Kristiansson K, Viktorin A, Magnusson PK, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Stefansson K, Boland A, Metzger M, Thibaudin L, Wanner C, Jager KJ, Goto S, Maixnerova D, Karnib HH, Nagy J, Panzer U, Xie J, Chen N, Tesar V, Narita I, Berthoux F, Floege J, Stengel B, Zhang H, Lifton RP and Gharavi AG : Geographic Differences in Genetic Susceptibility to IgA Nephropathy : GWAS Replication Study and Geospatial Risk Analysis. *PLoS Genet.* 2012 ; 8 : e1002765.
- 19) Tomana M, Matousovic K, Julian BA, Radl J, Konecny K and Mestecky J : Galactose-deficient IgA1 in sera of IgA nephropathy patients is present in complexes with IgG. *Kidney Int.* 1997 ; 52 : 509 – 516.
- 20) Tomana M, Novak J, Julian BA, Matousovic K, Konecny K and Mestecky J : Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J. Clin. Invest.* 1999 ; 104 : 73 – 81.
- 21) Suzuki H, Fan R, Zhang Z, Brown R, Hall S, Julian BA, Chatham WW, Suzuki Y, Wyatt RJ, Moldoveanu Z, Lee JY, Robinson J, Tomana M, Tomino Y, Mestecky J and Novak J : Aberrantly glycosylated IgA1 in IgA nephropathy patients is recognized by IgG antibodies with restricted heterogeneity. *J. Clin. Invest.* 2009 ; 119 : 1668 – 1677.
- 22) Novak J, Julian BA, Tomana M and Mestecky J : IgA glycosylation and IgA immune complexes in the pathogenesis of IgA nephropathy. *Semin. Nephrol.* 2008 ; 28 : 78 – 87.
- 23) Suzuki H, Kiryluk K, Novak J, Moldoveanu Z, Herr AB, Renfrow MB, Wyatt RJ, Scolari F, Mestecky J, Gharavi AG and Julian BA : The pathophysiology of IgA nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011 ; 22 : 1795 – 1803.
- 24) Hiki Y : O-linked oligosaccharides of the IgA1 hinge region : roles of its aberrant structure in the occurrence and/or progression of IgA nephropathy. *Clin. Exp. Nephrol.* 2009 ; 13 : 415 – 423.
- 25) Nishie T, Miyaishi O, Azuma H, Kameyama A, Naruse C, Hashimoto N, Yokoyama H, Narimatsu H, Wada T and Asano M : Development of immunoglobulin A nephropathy-like disease in beta-1,4-galactosyltransferase-I-deficient mice. *Am. J. Pathol.* 2007 ; 170 : 447 – 456.
- 26) Oortwijn BD, Roos A, Royle L, van Gijlswijk-Janssen DJ, Faber-Krol MC, Eijgenraam JW,

- Dwek RA, Daha MR, Rudd PM and van Kooten C : Differential glycosylation of polymeric and monomeric IgA : a possible role in glomerular inflammation in IgA nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006 ; 17 : 3529 – 3539.
- 27) Moldoveanu Z, Wyatt RJ, Lee JY, Tomana M, Julian BA, Mestecky J, Huang WQ, Anreddy SR, Hall S, Hastings MC, Lau KK, Cook WJ and Novak J : Patients with IgA nephropathy have increased serum galactose-deficient IgA1 levels. *Kidney Int.* 2007 ; 71 : 1148 – 1154.
- 28) Shimozato S, Hiki Y, Odani H, Takahashi K, Yamamoto K and Sugiyama S : Serum under-galactosylated IgA1 is increased in Japanese patients with IgA nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008 ; 23 : 1931 – 1939.
- 29) Yasutake J, Suzuki Y, Suzuki H, Hiura N, Yanagawa H, Makita Y, Kaneko E and Tomino Y : Novel lectin-independent approach to detect galactose-deficient IgA1 in IgA nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2015 ; 30 : 1315 – 1321.
- 30) Takahashi K, Raska M, Stuchlova Horynova M, Hall SD, Poulsen K, Kilian M, Hiki Y, Yuzawa Y, Moldoveanu Z, Julian BA, Renfrow MB and Novak J : Enzymatic sialylation of IgA1 O-glycans : implications for studies of IgA nephropathy. *PLoS One.* 2014 ; 9 : e99026.
- 31) Hiki Y, Hori H, Yamamoto K, Yamamoto Y, Yuzawa Y, Kitaguchi N and Takahashi K : Specificity of two monoclonal antibodies against a synthetic glycopeptide, an analogue to the hypogalactosylated IgA1 hinge region. *J. Nephrol.* 2015 ; 28 : 181 – 186.
- 32) Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y, Kiryluk K, Gharavi AG, Matsuoka K, Makita Y, Julian BA, Novak J and Tomino Y : A panel of serum biomarkers differentiates IgA nephropathy from other renal diseases. *PLoS One.* 2014 ; 9 : e98081.
- 33) Suzuki H, Yasutake J, Makita Y, Tanbo Y, Yamasaki K, Sofue T, Kano T and Suzuki Y : IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis have a shared feature involving galactose-deficient IgA1-oriented pathogenesis. *Kidney Int.* 2018 ; 93 : 700 – 705.
- 34) Ohya Y, Yamaguchi H, Nakajima K, Mizuno T, Fukamachi Y, Yokoi Y, Tsuboi N, Inaguma D, Hasegawa M, Renfrow MB, Novak J, Yuzawa Y and Takahashi K : Analysis of O-glycoforms of the IgA1 hinge region by sequential deglycosylation. *Sci. Rep.* 2020 ; 10 : 671.
- 35) Sun Q, Zhang Z, Zhang H and Liu X : Aberrant IgA1 Glycosylation in IgA Nephropathy : A Systematic Review. *PLoS One.* 2016 ; 11 : e0166700.
- 36) Lafayette RA, Canetta PA, Rovin BH, Appel GB, Novak J, Nath KA, Sethi S, Tumlin JA, Mehta K, Hogan M, Erickson S, Julian BA, Leung N, Enders FT, Brown R, Knoppova B, Hall S and Fervenza FC : A Randomized, Controlled Trial of Rituximab in IgA Nephropathy with Proteinuria and Renal Dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017 ; 28 : 1306 – 1313.