

第 60 回日本補体学会学術集会優秀賞受賞寄稿

免疫性血小板減少症における補体異常

奥 健志

北里大学医学部 リウマチ膠原病・感染内科学

Complement abnormalities in immune thrombocytopenia

Kenji Oku

Department of Rheumatology and Infectious Diseases, Kitasato University School of Medicine

[はじめに]

この度、大阪で行われました第 60 回日本補体学会学術集会優秀賞をいただきました。改めてご推薦いただいた井上徳光理事長および理事の皆様、本研究に携わっていただきました多くの関係者、とりわけ実質的に研究を行ってくれた北里大学医学部進藤理沙大学院生に感謝いたします。受賞演題は、「免疫性血小板減少症における補体異常」ですが、本演題も含めた今までの業績をご評価頂いての受賞であると理解しております。それら研究の過程で、多くの諸先輩方にお世話になっており、誌面をお借りして、改めて謝意を表させていただき、受賞演題の研究に至るまでの背景をのべさせていただきます。

1. 抗リン脂質抗体症候群 (APS) と抗リン脂質抗体 (APL) の病原性

著者は、北海道大学医学部を平成 13 年に卒業して当時の第 2 内科 (膠原病・代謝内分泌・腎臓・血液・消化器) の膠原病グループに入門いたしました。藤田禎三先生は大先輩で、医局員は皆、藤田先生のような免疫学に大きく貢献する仕事ができるように、と目標にしておりました。大学院に入学した平成 17 年に、全身性エリテマトーデス (SLE) の亜型疾患である APS を研究テーマに選びました。APS

は、病原性自己抗体である APL によっておこる動静脈血栓症、妊娠合併症、血小板減少症を 3 大病態とする自己免疫性疾患であり¹⁾、まずは APL の病原性の検討をすることから始めました。

APL 陽性者では、血中の凝固蛋白の発現が亢進していることが報告されており、2 次的な生体刺激によって血栓症を発症します (2nd hit theory)。APL には血中の凝固蛋白産生能があり、その本体は何なのか解析することが最初の大学院での研究テーマでした。モノクローナル APL を作成し、in vitro での血球細胞や血管内皮細胞の刺激実験の結果から、APL はこれら細胞に対する直接的な活性化能を有し、凝固蛋白を産生させることを報告しました²⁾。産生される組織因子 (tissue factor) は凝固外因系の initiator protein であり強力な凝固活性を有します。これは pro-coagulation cell (血管内皮細胞、単球細胞など向凝固機能を有する細胞群) activation theory として APS の病態発症機序の一つと考えられております³⁾。

2. APS と低補体血症

一方、APS は 3 大病態以外にも SLE と類似する特徴を持っており、その最たるものは低補体血症でした。それまでは SLE に合併した APS (2 次性 APS) に

特徴的と考えられていましたが、SLE が合併しない原発性 APS でも高頻度に低 C3, C4, CH50 血症が出現して、C3a や C4a の発現を伴い補体系が実際に活性化していることや、活性は主に補体古典経路までであり、C5a の出現や低 C5 血症を認めないことなどをまとめて報告しました⁴⁾。さらに補体活性化には C1q に対する自己抗体が関与している可能性が高いことを患者データとモノクローナル抗 C1q 抗体を用いた in vitro での解析により報告しております⁵⁾。APL は IgG2 タイプが多くを占め、APS 患者の血中にある(古典的な)APL 以外の自己抗体が補体を活性化している可能性は以前から指摘されてきました⁶⁾。ちょうどその頃、SLE で高頻度に出現する抗 C1q 抗体が中和抗体ではなく、補体の異常活性化をきたすと報告されてきました⁷⁾。さらに、抗 C1q 抗体が APL に特徴的な性質を持っていることにも興味を持ちました。C1q は、免疫複合体非介在性に陰性荷電リン脂質に結合することで⁸⁾、構造変化をきたして、構造変化によって表出する neoepitope が病的な抗 C1q 抗体のエピトープとなります⁹⁻¹¹⁾。APL の標的蛋白は主に β 2-glycoprotein I (β 2GPI) とプロトロンビンですが、この2つの蛋白はいずれも陰性荷電リン脂質に結合する蛋白であり、リン脂質に結合することによって構造変化をきたし、表出する epitope が自己抗体のターゲットとなるため、抗 C1q 抗体を広義の APL と呼ぶこともできるかもしれません。

3. APS と C5a/代替経路異常

さらに、APS 患者の補体データを経年的に追跡することによって、感染症などを契機に C5a が出現するケースが認められ、いずれもその後に主要な血栓症(脳梗塞や肺梗塞など)を来したことを報告しました。SLE でも同様の報告があり¹²⁾、寛解維持期には制御因子によって産生が抑制されている C5a が再燃時に出現して高炎症状態をきたすとされていますので、APS と SLE 両者において補体のコントロールとりわけ C5a 発現の抑制が重要であるということに

なります。そうすると APS における補体制御因子、とりわけ C5a 発現抑制機構に重要な H 因子と MCP の発現を確認しようと考えまして、これらを APS 患者の血清で検索したところ、MCP は他の膠原病患者と比べて同程度の発現であったのに対して、H 因子の発現は他の膠原病患者や SLE と比べてもなお低値を示しておりました。こういった現象について以下の様に考察しました¹³⁾。補体活性化例では、補体制御因子によって C5a 産生が認められないが、C3a 産生は寛解期から認められている。感染症など生体ストレスが加わると補体系の活性化が促進され、制御系での抑制が不十分となり C5a が産生されることで pro-coagulant cell activation が亢進したり、血管内皮細胞障害をきたして血栓を惹起する。補体活性化例において再発率が高いこと⁵⁾はこの仮説の機序が一因であると考えております。

H 因子低下や補体代替経路活性化が関与する血栓症としては aHUS が典型的ですが、実際、劇症型 APS、APS 全体の 1%程度を占める稀な病態、は、こういった知見の積み重ねから aHUS 様の病態であると考えられています¹⁴⁾。

これらの仕事や北海道大学医学部免疫学講座の教授でいらした瀬谷司先生にご指導いただいていたものです。当時神戸常盤大学教授でいらした畑中道代先生にも多数の検体測定をしていただきました。更に、福島県立医科大学免疫学講座の関根英治教授にも、以前より多くのご指導をいただき、レクチン経路の評価など実験手法について大学院生のご指導もいただきました。今後さらにレクチン経路について、APS や SLE 患者での関与も検討するなど関根先生にご指導をいただきながら研究を広げることができたら、と考えております。

4. 希少性疾患から一般的疾患へ: 不育症における補体異常

希少性疾患を研究する重要な目的の一つは、一般的な疾患にその研究成果を帰納することだと考えて

おります。

原発性 APS における補体活性化の存在が確認できた時、流産での病態関与が大きいだろうと予測いたしました。ちょうどその頃、妊娠の維持において胎盤局所における補体の適切な活性化が重要であり、亢進してしまった補体活性化は流産につながる¹⁵⁾ことや、APS 患者 IgG を妊娠マウスに投与する APS 流産モデルでは胎盤病理における補体活性化が顕著である¹⁶⁾などの報告が続いておりました。

一方、不育症 (2 回以上続く流産) における APS の頻度はおよそ 1 割程度であり、多くは染色体異常によって起こりますが、30%程度に原因不明とされる一群があり、その少なくとも一部は自己免疫的機序が疑われることから¹⁷⁾、APS 流産のみならず不育症一般においても抗 C1q 抗体が原因となって補体異常をきたし発症する例がいるだろうと推測しました。名古屋市立大学産婦人科 杉浦真弓教授、北折珠央講師との共同研究で原因不明とされる不育症患者で抗 C1q 抗体を測定したところ、およそ 30%に同抗体の陽性を認めました。さらに、抗 C1q 抗体の病的意義を確認するために、モノクローナル抗 C1q 抗体 JL-1¹¹⁾を妊娠 BALB/c マウスに投与するモデル動物を作成しました。その結果、JL-1 投与マウスは高度の流産を認め、胎盤病理では著明な広汎性の補体沈着を認め、それらは抗補体抗体の投与によって改善しました¹⁸⁾。つまり、不育症患者の中に免疫抑制療法が抗補体治療によって改善して挙児を得ることが可能な一群がいるのかもしれないと推測しており前向きの検討をしたいと存じております。

5. 希少性疾患から一般的疾患へ:免疫性血小板減少症における補体異常

流産など妊娠合併症は、動静脈血栓症と同様に APS の主要な病態ですが、もう一つの主要な病態が血小板減少症です¹⁹⁾。実際に、以前に特発性血小板減少性紫斑病と称した免疫性血小板減少症 (ITP) ではしばしば抗リン脂質抗体が陽性化しており、これ

ら症例では有意に血栓症発症のリスクが高いと報告されています。また、ITP は APS の類縁疾患である SLE への移行率が高い疾患でもあります。APS と SLE に共有の免疫異常である補体活性化が ITP でも認められることは以前より指摘されておりました。しかし、病態機序との関与はいまだに不明な点が多いです。一方、寒冷凝集素症で治療効果が認められる抗 C1s 抗体である sutimulimab が ITP でも治療効果を示したとの第 II 層試験の結果が報告されて²⁰⁾、クローズアップされております。既報では補体古典経路の前期成分の活性化が主に報告されておりますが²¹⁾、ITP での補体経路および代替経路、共通経路の活性化について、埼玉医科大学血液内科の宮川義隆先生に共同研究者になっていただき、北里大学医学部の進藤理沙大学院生が中心となって、原発性 ITP 患者 23 例について、血清中の抗 C1q 抗体、C3a desArg、C5a desArg、H 因子、Bb、sC5b-9 を検討いたしました。SLE/APS を補体活性化・低補体血症をきたす対照疾患と設定し、また、患者は血小板数 $3.0 \times 10^4/\text{ml}$ 未満、寛解期の血小板数から 50%以上の低下、治療強化を有するものを急性期に分類して評価しました。また、寛解期 (安定期) を $10.0 \times 10^4/\text{ml}$ をカットオフとして、部分寛解 (PR) と完全寛解 (CR) に分類しました。

その結果、血清 C3/C4 値の低下は原発性 ITP 群で明らかではありませんでしたが、血清 C3a desArg 値や sC5b-9 は原発性 ITP 群は SLE や APS と同様に高値を認めました。一方、抗 C1q 抗体や血清 C5a desArg 値は健常人と比べても明らかな上昇を認めず、血清 Bb 値の上昇や H 因子低下は認めませんでした。さらに、C3adesArg や sC5b-9 は寛解期においても特に PR 症例では高値であり、また高値例では再発回数が多いという結果が得られました。

特に C3a desArg 高値は、貪食細胞の走化、遊走作用やオプソニン化を強化しうるが、再発を惹起する可能性が高いことが大きな問題である。寛解期に高い血清 C3adesArg 値を認める例で再燃が多いのは

ITP の類縁疾患である SLE でも報告されており²²⁾、感染症など炎症性病態が追加されることによって、C5a が産生されやすく、それが SLE 再燃時の高炎症状態につながると結論づけられています。

原発性 ITP では免疫抑制療法とともにトロンボポエチン受容体作動薬による血小板産生促進が治療の主体です²³⁾。これらにより血小板産生と破壊のバランスが拮抗し、表面上は血小板数が維持されていますが、ITP では比較的軽微な感染症でも、重症の血小板減少症を惹起することがしばしばあり、その点が大きな問題です。抗補体治療や補体値をマーカーとした ITP 治療は、血小板減少症の再燃を抑制することで、ITP の予後や QOL を大きく改善する可能性があると思います。

[おわりに]

補体活性化は SLE やいくつかの希少性疾患で明らかにされてきましたが、自己免疫性疾患やその周辺疾患における補体の関与は、まだ解析すらされていないケースも多くあります。私たちはこれまで APS の主要病態でもある血栓症、流産、血小板減少症を中心に研究テーマを決めて、主に臨床的なデータ解析をしてまいりました。これからも自己免疫疾患患者における補体の活性化をテーマに研究を続けていきたいと思っています。

今回の受賞にあたりまして、補体学会入会の頃から多くの研究について実践的で的確なご指導をいただいている井上徳光先生や北海道大学時代に多くのご指導をいただいた瀬谷司先生、北海道大学医学部第2内科同門の大先輩でいらっしゃる藤田禎三先生、そして SLE を研究対象としていることを共通項として以前からご指導をいただいている関根英治先生に特に感謝を申し上げます。また、最後に本研究を行ってくれた北里大学医学部進藤理沙大学院生に感謝と敬意を表します。

これからも微力ながら補体学会と補体学に貢献していけるよう研鑽を積んでまいりますのでどうぞご

指導ください。

[謝辞]

第 60 回日本補体学会学術集会にて、日本補体学会より優秀賞を賜り、また、本受賞寄稿を発表させていただき、感謝いたします。

[利益相反]

著者は本論文内容に関連した開示すべき COI 関係にある企業等はありません。

[文献]

- 1) Oku K, Amengual O, Atsumi T. Pathophysiology of thrombosis and pregnancy morbidity in the antiphospholipid syndrome. *Eur J Clin Invest.* 2012;42(10):1126-35.
- 2) Oku K, Amengual O, Zigon P, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Essential role of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in tissue factor gene expression mediated by the phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52(10):1775-84.
- 3) Patsouras M, Alexopoulou E, Foutadakis S, Tsiki E, Karagianni P, Agelopoulos M, et al. Antiphospholipid antibodies induce proinflammatory and procoagulant pathways in endothelial cells. *J Transl Autoimmun.* 2023;6:100202.
- 4) Oku K, Atsumi T, Bohgaki M, Amengual O, Kataoka H, Horita T, et al. Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(6):1030-5.
- 5) Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, et al.

- Autoantibodies against a complement component 1 q subcomponent contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology* (Oxford). 2016;55(8):1403-11.
- 6) Seshan SV, Franzke CW, Redecha P, Monestier M, Mackman N, Girardi G. Role of tissue factor in a mouse model of thrombotic microangiopathy induced by antiphospholipid antibodies. *Blood*. 2009;114(8):1675-83.
 - 7) Katsumata Y, Miyake K, Kawaguchi Y, Okamoto Y, Kawamoto M, Gono T, et al. Anti-C1q antibodies are associated with systemic lupus erythematosus global activity but not specifically with nephritis: a controlled study of 126 consecutive patients. *Arthritis Rheum*. 2011;63(8):2436-44.
 - 8) Gaboriaud C, Frachet P, Thielens NM, Arlaud GJ. The human c1q globular domain: structure and recognition of non-immune self ligands. *Front Immunol*. 2011;2:92.
 - 9) Kleer JS, Rabatscher PA, Weiss J, Leonardi J, Vogt SB, Kieninger-Grafitsch A, et al. Epitope-Specific Anti-C1q Autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 2021;12:761395.
 - 10) Csorba K, Schirmbeck L, Dubler D, Trendelenburg M. Anti-C1q Autoantibodies: Standard Quantification and Innovative ELISA. *Methods Mol Biol*. 2021;2227:107-14.
 - 11) Trouw LA, Groeneveld TW, Seelen MA, Duijs JM, Bajema IM, Prins FA, et al. Anti-C1q autoantibodies deposit in glomeruli but are only pathogenic in combination with glomerular C1q-containing immune complexes. *J Clin Invest*. 2004;114(5):679-88.
 - 12) Belmont HM, Hopkins P, Edelson HS, Kaplan HB, Ludewig R, Weissmann G, et al. Complement activation during systemic lupus erythematosus. C3a and C5a anaphylatoxins circulate during exacerbations of disease. *Arthritis Rheum*. 1986;29(9):1085-9.
 - 13) Oku K, Nakamura H, Kono M, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, et al. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2016;15(10):1001-4.
 - 14) Chaturvedi S, Braunstein EM, Brodsky RA. Antiphospholipid syndrome: Complement activation, complement gene mutations, and therapeutic implications. *J Thromb Haemost*. 2021;19(3):607-16.
 - 15) Sugiura-Ogasawara M, Nozawa K, Nakanishi T, Hattori Y, Ozaki Y. Complement as a predictor of further miscarriage in couples with recurrent miscarriages. *Hum Reprod*. 2006;21(10):2711-4.
 - 16) Girardi G, Redecha P, Salmon JE. Heparin prevents antiphospholipid antibody-induced fetal loss by inhibiting complement activation. *Nat Med*. 2004;10(11):1222-6.
 - 17) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T, Mizutani E. Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod*. 2012;27(8):2297-303.
 - 18) Ohmura K, Oku K, Kitaori T, Amengual O, Hisada R, Kanda M, et al. Pathogenic roles of anti-C1q antibodies in recurrent pregnancy loss. *Clin Immunol*. 2019;203:37-44.
 - 19) Abe N, Oku K, Amengual O, Fujieda Y, Kato M, Bohgaki T, et al. Potential therapeutics for

antiphospholipid antibody associated thrombocytopenia: A systematic review and meta-analysis. *Mod Rheumatol.* 2020;30(1):116-24.

- 20) Broome CM, Roth A, Kuter DJ, Scully M, Smith R, Wang J, et al. Safety and efficacy of classical complement pathway inhibition with sutimlimab in chronic immune thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2023;7(6):987-96.
- 21) Shindo R, Abe R, Oku K, Tanaka T, Matsueda Y, Wada T, et al. Involvement of the complement system in immune thrombocytopenia: review of the literature. *Immunol Med.* 2023;46(4):182-90.
- 22) Hopkins P, Belmont HM, Buyon J, Philips M, Weissmann G, Abramson SB. Increased levels of plasma anaphylatoxins in systemic lupus erythematosus predict flares of the disease and may elicit vascular injury in lupus cerebritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31(5):632-41.
- 23) Neunert CE, Arnold DM, Grace RF, Kuhne T, McCrae KR, Terrell DR. The 2022 review of the 2019 American Society of Hematology guidelines on immune thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2024;8(13):3578-82.