

補体

Vol. **54**
No.1
2017

■ **第54回 日本補体学会学術集会講演集** …… 集会長 関根英治
Proceedings of the 54th Japanese Complement Symposium

招待講演 「Targeted complement inhibition
- a therapy for all stages of organ transplantation.」
…… Carl Atkinson

ランチョンセミナー 「PNHの多様な臨床病態とその対策」
…… 七島 勉

補体学会企画 「補体検査システムの構築
- 日本補体学会の取り組み -」
…… 井上徳光・日高義彦・大谷克城

ミニシンポジウム 「補体関連疾患の新展開
～補体の関与と新規治療戦略の可能性～」
… 本村政勝・楠 進・藤原一男・佐藤 滋・水野正司



日本補体学会

The Japanese Association for Complement Research

補体 VOL. 54. No.1 (2017)

目次

■ 第54回日本補体学会学術集会講演集

日本補体学会学術集会の開催によせて	関根英治 … 1
参加案内	… 2
日程表・プログラム	… 5
招待講演 「Targeted complement inhibition - a therapy for all stages of organ transplantation.」	Carl Atkinson … 15
ランチョンセミナー 「PNHの多様な臨床病態とその対策」	七島 勉 … 17
補体学会企画 「補体検査システムの構築 -日本補体学会の取り組み-」	井上徳光・日高義彦・大谷克城 … 19
ミニシンポジウム 「補体関連疾患の新展開 ~補体の関与と新規治療戦略の可能性~」	本村政勝・楠 進・藤原一男・佐藤 滋・水野正司 … 27
一般演題	… 33
■ 日本補体学会優秀賞候補者募集のお知らせ	… 65
■ 日本補体学会入会のご案内	… 66
■ 会員登録事項変更届	… 68
■ 一般社団法人日本補体学会定款	… 69
■ 一般社団法人日本補体学会補体学会細則	… 84
■ 一般社団法人日本補体学会学会誌の転載許諾基準および転載許諾申請方法	… 87
■ 一般社団法人日本補体学会賛助会員・理事一覧	… 91
■ 編集後記	… 92

第 54 回日本補体学会学術集会の開催によせて

第 54 回日本補体学会学術集会 集会長

関根 英治

福島県立医科大学 免疫学講座

この度、平成 29 年 9 月 1（金）、2（土）日に、福島市・コラッセふくしまにおいて、第 54 回日本補体学会学術集会を開催させていただき運びとなりました。福島での開催は、東日本大震災前の 2010 年に補体シンポジウムとして開催されてから 7 年ぶりとなります。これまでに全国の皆様からのあたたかいご支援を得て、元気になった “うつくしま、ふくしま。” をお見せすることができ、この誌面をお借りして感謝申し上げます。また本学会では、補体学の基礎的な研究から、創薬、臨床研究まで幅広く演題を応募頂き、誠にありがとうございました。

プログラムの概要ですが、昨今の補体学では、抗補体薬が遺伝性血管性浮腫（HAE）や発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）を対象に使用されてから、新たな疾患に対する抗補体薬の効果を追求する流れが見えてきます。その流れを受け、今回の特別企画として「補体関連疾患の新展開」と題し、重症筋無力症やギラン・バレー症候群、視神経脊髄炎、固形臓器移植後 TMA、C3 腎症などを対象に、各疾患への補体の関与と抗補体薬の可能性をご講演頂くミニシンポジウムを企画しました。シンポジストの本村政勝先生、楠 進先生、藤原一男先生、佐藤 滋先生、水野正司先生の各先生からは、この分野における最新の知見を二日目の午後にご講演頂く予定です。

また、初日の招待講演には、米国サウスカロライナ医科大学の Carl Atkinson 先生をお招きして、脳死ドナーの臓器で引き起こされる傷害への補体の関与と抗補体薬の可能性についてご講演頂く予定です。

二日目のランチョンセミナーでは、長年にわたり PNH の臨床研究に携わっておられます七島 勉先生に、PNH の病態メカニズムや抗補体薬の効果と限界について、ご解説頂く予定です。

さらに学会企画として、日本補体学会主導で取り組まれている補体検査システムの構築状況について、二日目の午後にご報告がございます。

懇親会は、日本 100 名山の吾妻山を遠くに望む、会場最上階の展望レストラン「Ki-ichigo（きいちご）」で開催されます。絶景をお楽しみ頂くため、17:30 からの開始とさせていただきます。会場では福島の名酒とともに、皆様をお待ちしております。

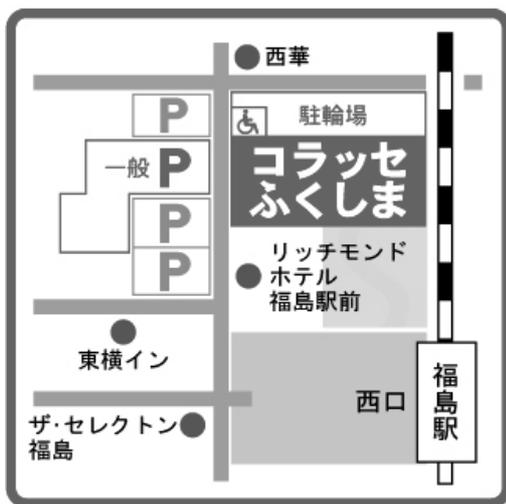
第 54 回日本補体学会学術集会参加案内

- 会 場 コラッセふくしま 4階 多目的ホール (次ページの図をご覧ください)
<http://www.corasse.com/>
〒960-8053 福島市三河南町1番20号
TEL : 024-525-4089 (代)
- 受 付 第1日 9月1日 (金) 12:00より
第2日 9月2日 (土) 8:30より
コラッセふくしま 4階 多目的ホール前にて
参加費 一般 5,000 円 学生 (研修医) 2,000 円
懇親会費 3,000 円
- 発表方法 全て口頭発表、PC プレゼンテーションで行います。一般演題は討論も含めて 15 分間を予定しています。演題は、ご自身の PC または PowerPoint で作成したプレゼンテーションファイルで受付することができます。Mac 使用の方は、コネクターも忘れずにお持ちください。
集会事務局で準備できる PC および PowerPoint のバージョンは、以下の通りです。
Windows : PowerPoint 2010
Mac : PowerPoint 2011
ファイルは USB メモリーでお持ちください。(ファイル名は、演題番号+氏名)
動画を含む場合、あるいはファイルの互換性に問題が予想される場合は、ご自身の PC をお持ち下さい。
ファイルの受付は、必ず発表があるセッションが始まる前までにお済ませ下さい。
講演会場である 4 階に演題受付カウンターがあります。
- 理 事 会 9月2日 (土) 7:30 ~ 8:30
ザ・セレクトン福島 2階 部屋未定 (福島市太田町 13-73 / TEL : 024-531-1111)
- 総 会 9月2日 (土) 11:15 ~ 11:40
コラッセふくしま 4階 多目的ホール (学会場)
- 懇 親 会 9月1日 (金) 17:30 ~ 19:30
展望レストラン「Ki-ichigo (きいちご)」 (TEL:024-536-6158)
(コラッセふくしま 12階 (最上階))
- 優 秀 賞 第 54 回日本補体学会学術集会に応募された演題発表者の中から、原則 1 名を優秀賞として選考し、顕彰します。優秀賞受賞者には、賞状と副賞 (10 万円 : 複数の場合は折半) を賞与します。今回は、懇親会で表彰式を行います。
- 交通費補助 学生参加者 (筆頭発表者) には交通費の補助があります。該当者は、第 54 回日本補体学会学術集会事務局に連絡下さい (immunol@fmu.ac.jp : o の後の l は L の小文字です)。

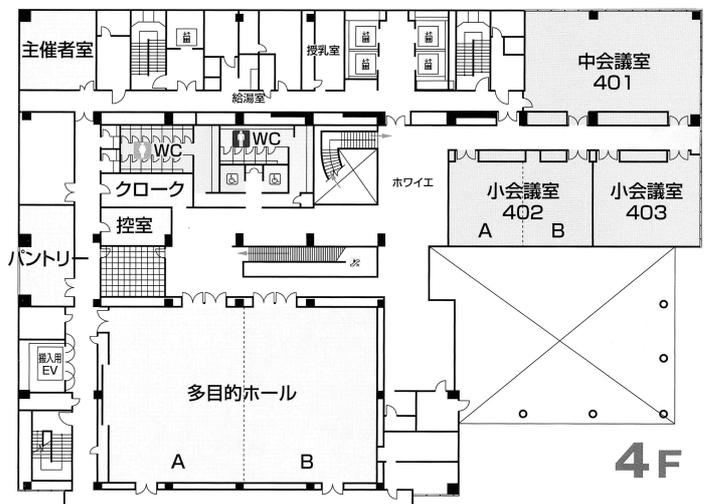
年会費 会員で年会費未納の方、および新たに入会される方は、学術集会会場受付に、日本補体学会事務局受付を併設致しますので、そちらでご納入下さい。
 一般：5,000 円 学生：3,000 円（学生証等身分証明をご用意下さい）

【一般社団法人 日本補体学会 事務局】
 〒541-8567 大阪府中央区大手前3丁目1番69号
 地方独立行政法人大阪府立病院機構
 大阪国際がんセンター研究所 腫瘍免疫学部門内
 事務局長 井上徳光 E-mail: hotai-gakkai@umin.ac.jp
 TEL: 06-6945-1127 FAX: 06-6945-1362

アクセス コラッセふくしま（福島駅西口から北へ 300 m）
 詳細は、コラッセふくしまホームページ内（<http://www.corasse.com/>）の「交通・アクセス」をご参照下さい



コラッセふくしま周辺図



コラッセふくしま4階 見取り図
 学会会場は4階・多目的ホールです。1階からは、エスカレーターでのアクセスが便利です。

- ◆ 東京駅 → JR 福島駅西口
 (JR 東北新幹線で約 1 時間 40 分)
- ◆ 仙台空港・徒歩・仙台空港駅 → JR 仙台駅 → JR 福島駅西口
 (仙台空港アクセス線で約 25 分) (JR 東北新幹線で約 30 分)
- ◆ 福島空港 → JR 福島駅西口
 (乗合タクシー(要予約)で約 1 時間 20 分)
 (<http://www.fks-ab.co.jp/access/taxi.html>)
- ◆ 福島空港 → JR 郡山駅 → JR 福島駅西口
 (リムジンバスで約 40 分) (JR 東北新幹線で約 15 分)

Proceedings of the 54nd Japanese Complement Symposium

(2017)



第 54 回
日本補体学会
学術集会
講演集

会 期 : 2017年9月1日(金)・2日(土)

会 場 : コラッセふくしま 4階 多目的ホール
(福島市三河南町1番20号)

集会長 : 福島県立医科大学 医学部

免疫学講座

関根 英治

〒960-1295 福島県福島市光が丘1

TEL : 024-547-1111 (代)、024-547-1148 (ダイヤルイン)

FAX : 024-548-6760

E-Mail : immunol@fmu.ac.jp (oの後のlはLの小文字です)

日 程 表

9月1日（金） 12:00 開場

13:00-13:10	開会の辞 関根英治
13:10-14:10	セッション A : 免疫・動物モデル 座長 : 西浦弘志、今井優樹
14:10-14:20	休憩
14:20-15:20	セッション B : PNH・HAE 座長 : 村上良子、大澤 勲
15:20-15:30	休憩
15:30-16:00	セッション C : 創薬 座長 : 岡田秀親
16:00-16:10	休憩
16:10-17:10	招待講演 : Targeted complement inhibition - a therapy for all stages of organ transplantation. 演者 : Carl Atkinson 座長 : 藤田禎三
17:10-17:30	休憩・移動
17:30-19:30	懇親会&表彰式「Ki-ichigo (きいちご)」(学会会場 12 (最上) 階)

9月2日(土) 8:30 開場

9:00-9:30	セッションD: 魚類の補体 座長: 大谷克城
9:30-10:15	セッションE: C3腎症 座長: 水野正司
10:15-10:30	休憩
10:30-11:15	セッションF: 補体関連疾患 座長: 塚本 浩
11:15-11:40	総会
11:40-12:00	休憩
12:00-12:40 (昼食のご用意がございます)	ランチョンセミナー: PNHの多様な臨床病態とその対策 演者: 七島 勉 座長: 木下タロウ
12:40-13:00	休憩
13:00-13:45	補体学会企画: 補体検査システムの構築 -日本補体学会の取り組み- 座長: 中尾実樹
13:45-13:50	休憩
13:50-16:20	ミニシンポジウム: 補体関連疾患の新展開 ~補体の関与と新規治療戦略の可能性~ 演者: 本村 政勝 楠 進 藤原 一男 佐藤 滋 水野 正司 座長: 若宮伸隆、井上徳光
16:20-16:30	閉会の辞 関根英治

第54回日本補体学会学術集会・学術プログラム

第1日 9月1日(金)

セッションA：免疫・動物モデル

13：10～14：10

座長：西浦弘志、今井優樹

- A-1 スカベンジャー受容体 CL-P1 は、Pentraxin を介して補体系を活性化する
ロイ ニタイ¹⁾、大谷克城¹⁾、日高義彦²⁾、天野芳郎³⁾、松田泰幸¹⁾、森健一郎¹⁾、黄 仁秀¹⁾、
井上徳光⁴⁾、若宮伸隆¹⁾
¹⁾旭川医科大学・医学部・微生物学、²⁾信州大学・医学部・小児医学、
³⁾長野赤十字病院・小児科、⁴⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門
- A-2 細胞外小胞による細胞間情報伝達における補体の役割
押海裕之¹⁾²⁾、岡本将明¹⁾、福島 好¹⁾
¹⁾熊本大学大学院・生命科学研究部・免疫学分野、²⁾JST さきがけ
- A-3 C5、C5a は細胞外ヒストンにより誘発された致死性血栓症を増悪する
水野智博¹⁾、吉岡憲吾¹⁾、水野正司²⁾、清水美衣³⁾、長野文彦¹⁾、奥田知将⁴⁾、坪井直毅⁵⁾、
丸山彰一⁵⁾、永松 正¹⁾、今井優樹⁶⁾
¹⁾名城大学薬学部 薬効解析学、
²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学、
³⁾名城大学薬学部 環境科学、
⁴⁾名城大学薬学部 薬物動態学、
⁵⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、
⁶⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学
- A-4 137 番グルタミンをグルタミン酸に変異した S19 リボソーム蛋白質遺伝子を
ノックインした C57BL 雌マウスの全身性エリテマトーデス様病態の解明
西浦弘志、山田直子、中庄恵二、山根木康嗣
兵庫医科大学・病理学講座

座長：村上良子、大澤 勲

B-1 PIGT-PNH 患者における自己炎症メカニズムの解明 その1

患者検体からの検討

村田祥吾¹⁾²⁾、村上良子¹⁾、大里真幸子¹⁾³⁾、植田康敬³⁾、西村純一³⁾、井上徳光⁴⁾、川本未知⁵⁾、
幸原伸夫⁵⁾、木下タロウ¹⁾

¹⁾大阪大学微生物病研究所 難本難病解明寄附研究部門、

²⁾和歌山県立医科大学 血液内科、

³⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、

⁴⁾大阪国際がんセンター研究所 腫瘍免疫学部門、

⁵⁾神戸市立医療センター中央市民病院 神経内科

B-2 PIGT-PNH 患者における自己炎症メカニズムの解明 その2

ヒト単球細胞株での解析

大里真幸子¹⁾、村上良子²⁾、村田祥吾²⁾、植田康敬¹⁾、西村純一¹⁾、金倉 譲¹⁾、木下タロウ²⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、

²⁾大阪大学微生物病研究所 免疫不全疾患研究分野

B-3 発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療におけるエクリズマブ時代の新たな課題

植田康敬、高森弘之、大里真幸子、西村純一、金倉 譲

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

B-4 遺伝性血管性浮腫患者の抜歯時における乾燥濃縮人C1インアクチベーター製剤の急性発作の発症抑制効果の検討

藤本 翔¹⁾、三苫弘喜¹⁾、塚本 浩²⁾、中野翔太¹⁾、村上哲晋¹⁾、綾野雅宏¹⁾、赤星光輝¹⁾、
有信洋二郎²⁾、新納宏昭、赤司浩一²⁾、堀内孝彦⁴⁾

¹⁾九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、

²⁾九州大学医学研究院 病態修復内科学、

³⁾九州大学医学研究院 医学教育学、

⁴⁾九州大学病院別府病院 内科

座長：岡田秀親

C-1 補体活性化による腫瘍の分子標的治療薬の開発

太田里永子¹⁾、葛島清隆¹⁾、藤田禎三²⁾、岡田秀親³⁾、今井優樹⁴⁾

¹⁾愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫学部、

²⁾福島県立総合衛生学院、

³⁾樹蛋白科学研究所、

⁴⁾名古屋市立大学大学院医学系研究科 免疫学

C-2 補体レクチン経路と第二経路を標的とする新規抗補体薬 sMAP-fH の開発

高住美香、高橋 実、大森智子、町田 豪、石田由美、関根英治

福島県立医科大学医学部 免疫学講座

座長：藤田禎三

Targeted complement inhibition - a therapy for all stages of organ transplantation.

Carl Atkinson

Lee Patterson Allen Transplant Immunobiology Laboratory,

Medical University of South Carolina, SC, USA.

第2日 9月2日(土)

セッションD：魚類の補体

9：00～9：30

座長：大谷克城

D-1 コイ補体 Properdin アイソタイプの機能解析

黒木将武、吉岡和紀、長澤貴宏、柚本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

D-2 コイ補体 C7 アイソタイプの機能解析

野口真代、長澤貴宏、柚本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

セッションE：C3腎症

9：30～10：15

座長：水野正司

E-1 小児期発症 C3 腎症における予後不良因子の解析

川崎幸彦、前田 亮、大原信一郎、陶山和秀、細矢光亮

福島県立医科大学医学部 小児科

E-2 小児の膜性増殖性糸球体腎炎、C3 腎症患者における C3 腎炎因子測定を試み

澤井俊宏¹⁾、奥田雄介¹⁾²⁾

¹⁾滋賀医科大学 小児科

²⁾Division of Nephrology and Hypertension, University of California, Irvine

E-3 全ゲノム解析により *CFHR* 領域の新規融合遺伝子を認めた C3 腎症例

菅原有佳¹⁾、加藤秀樹¹⁾、藤澤まどか¹⁾、吉田瑤子¹⁾、内田裕美子²⁾、小亀浩市²⁾、宮田敏行²⁾、
秋岡祐子³⁾、三浦健一郎³⁾、服部元史³⁾、南学正臣¹⁾

¹⁾東京大学医学部、

²⁾国立循環器病研究センター、

³⁾東京女子医科大学

座長：塚本 浩

F-1 抗リン脂質抗体症候群における補体制御因子の解析

中村浩之、奥 健志、藤枝雄一郎、加藤 将、坊垣暁之、アメングアル オルガ、保田晋助、
渥美達也

北海道大学大学院医学院 医学研究院 免疫・代謝内科学教室

F-2 真菌性腹膜炎を発症した PD 患者腹膜組織における補体制御因子の発現分布

福井聡介¹⁾、多和田光洋¹⁾、鈴木康弘¹⁾、松川宜久²⁾、今井優樹³⁾、丸山彰一¹⁾、水野正司¹⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、

²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 泌尿器科学、

³⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学

F-3 肝移植後早期の血小板数がレシピエント予後を決める“LTx-TMA” Score の提唱

秦 浩一郎¹⁾、田中宏和¹⁾、遠藤佳代子²⁾、日下部治郎¹⁾、平尾浩史¹⁾、久保田豊成¹⁾、

田嶋哲也¹⁾、岡村裕輔¹⁾、玉木一路¹⁾、Nigmat Yermek¹⁾、吉川潤一¹⁾、後藤 徹¹⁾、清水 章²⁾、
上本伸二¹⁾

¹⁾京都大学大学院 医学系研究科 肝胆膵・移植外科

²⁾京都大学医学部附属病院 臨床研究総合センター

座長：木下タロウ

PNH の多様な臨床病態とその対策

七島 勉

福島労働保健センター

座長：中尾実樹

「補体検査システムの構築 -日本補体学会の取り組み-」

補体学会企画-1

補体関連疾患に対する網羅的な補体検査システムの構築

井上徳光^{1,2,3)}、日高義彦²⁾、大谷克城^{3,4)}、大塚泰史²⁾、澤井俊宏²⁾、宮田敏行²⁾、大澤 勲³⁾、
岡田秀親³⁾、木下タロウ³⁾、関根英治³⁾、塚本 浩³⁾、中尾実樹³⁾、水野正司³⁾、村上良子³⁾、
堀内孝彦³⁾、若宮伸隆^{3,4)}

¹⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門、

²⁾TMA レジストリーチーム、

³⁾日本補体学会理事会、

⁴⁾旭川医科大学 医学部 微生物学

補体学会企画-2

補体関連遺伝子検査

日高義彦^{1,3)}、井上徳光^{2,3)}、大塚泰史³⁾、澤井俊宏³⁾、宮田敏行³⁾、若宮伸隆²⁾

¹⁾信州大学医学部 小児医学教室、

²⁾日本補体学会理事会、

³⁾日本補体学会 TMA レジストリーチーム

補体学会企画-3

補体関連タンパク質検査

大谷克城¹⁾、井上徳光²⁾、若宮伸隆¹⁾

¹⁾旭川医科大学 医学部 微生物学、

²⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門

座長：若宮伸隆、井上徳光

「補体関連疾患の新展開 ～補体の関与と新規治療戦略の可能性～」

ミニシンポジウム-1

重症筋無力症の病態・治療と補体学

本村 政勝

長崎総合科学大学・医療工学コース／長崎大学病院

ミニシンポジウム-2

ギラン・バレー症候群の新規治療としての抗補体療法

楠 進¹⁾、桑原 聡²⁾

¹⁾近畿大学医学部 神経内科学、

²⁾千葉大学大学院医学研究院 神経内科学

ミニシンポジウム-3

視神経脊髄炎(NMO)における補体の病態及び治療的意義

藤原 一男^{1,2)}

¹⁾福島県立医科大学多発性硬化治療学講座、

²⁾一般財団法人 脳神経疾患研究所 多発性硬化症・視神経脊髄炎センター

ミニシンポジウム-4

腎移植後早期発生 TMA の経験と統計調査、そして補体学会との共同研究

佐藤 滋

秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター

ミニシンポジウム-5

C3 腎症の最近の診断と治療についての話題

水野 正司

名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学 腎臓内科

Targeted complement inhibition - a therapy for all stages of organ transplantation.

Carl Atkinson, PhD.

Lee Patterson Allen Transplant Immunobiology Laboratory, Medical University of South Carolina, USA.

Primary graft failure, chronic rejection and immunosuppressive drug toxicity remain the major limitations to short and long-term graft survival. The course, severity and onset of chronic rejection have changed little since the inception of transplantation, despite improvements in T cell immunosuppression. The precise mechanisms involved in the development of primary graft failure and chronic rejection are not well understood. Here, we investigated the role of complement in donor brain death (BD)-induced injury and ischemia reperfusion injury (IRI), two unavoidable consequences of organ transplantation that are known to influence the development of rejection. Brain death-induced injury and IRI are major clinical problems thought to play important roles in both short-term and long-term graft survival. Natural self-reactive IgM and complement play a major role in both types of injury, and here we

investigated a novel approach of using graft-targeted IgM blockade and complement inhibition, administered as an acute immunosuppressant after transplantation, to determine how acute post-transplant inflammation and injury modulates the development of rejection. We also investigated how complement inhibition affects the development of rejection in the context of subtherapeutic T cell immunosuppressive therapy (cyclosporine), and how the use of complement inhibition as an adjuvant therapy modulates rejection. We present data demonstrating that brain death exacerbates early graft injury and intensifies acute rejection responses, and we further show how complement inhibition, targeted to the graft during brain death and post transplantation, improves post transplant outcomes and facilitates the use of immunosuppressive sparing regimes.

PNH の多様な臨床病態とその対策

七島 勉¹⁾²⁾

1) 福島労働保健センター 2) 福島県立総合衛生学院

Diversity of clinical pathophysiology and treatment for the pathophysiology in PNH

Tsutomu Shichishima¹⁾²⁾

1) Fukushima Prefecture Labor Health Center

2) Fukushima Prefecture General Hygiene Institute

1866 年、Gull が発作性夜間ヘモグロビン尿症 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH) の第一例目と思われる症例を報告した。その後百年間は、主に PNH の溶血メカニズムについての研究がなされ、補体溶血による生物学的な機序が解明された。近年、PNH においても分子遺伝学的研究がなされ、1983年、Nicholson-Wellerらが DAF (Decay accelerating factor: CD55)、1989年、Holguinらが Membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL: CD59) の PNH 赤血球膜上における欠損を見出し、分子レベルでの補体溶血機序が明らかとなった。1993年、Takeda らが PNH 顆粒球での PIG-A (Phosphatidylinositol glycan-class A) 遺伝子の体細胞突然変異を発見した。この発見に伴い、PNH 血球における GPI (Glycosylphosphatidylinositol) アンカー蛋白欠損の原因が解明された。これらのことから、PNH は PIG-A 遺伝子に後天的変異を持った造血幹細胞がクローン性に拡大した結果、各種血液細胞において GPI アンカー蛋白が欠損し、補体による血管内容血などを起こす造血幹細胞疾患であると定義されるに至った。1992年、Young は PNH が骨髄不全症候群 (骨髄低形成・クローン性造血・前白血病状態を有する疾患群) に属する疾患である事を指摘した。

PNH は臨床的には血管内容血、血栓症、骨髄不全を主徴とする後天性・慢性の血液疾患と捉えられ

ている。主徴の組み合わせや程度は症例ごとに異なり、多様性がある。血管内容血と血栓症は補体溶血により、骨髄不全は自己免疫学的機序により起こると考えられている。血管内容血に起因する慢性腎臓病 (Chronic kidney disease: CKD)、血栓症、肺高血圧症は死に至る事もある合併症である。また本邦の PNH 症例の死因として骨髄不全に由来する感染症と出血は高頻度である。2010年、Eculizumab (C5 ヒト化モノクローナル抗体) が本邦においても保険適応となった。Eculizumab は PNH の補体溶血に由来する臨床病態に著効を呈する事から革新的な治療薬として注目を集めており、現在までに 400 例を超える PNH 症例で使用されている。一方、Eculizumab の使用に伴う血管外溶血、不応例の存在が明らかとなった。また 2016 年には本邦では経験のなかった髄膜炎菌感染症例も一例報告された。

本講演においては上述した PNH の主病態である血管内容血、血栓症、骨髄不全などの発症メカニズムを解説すると共に、その治療薬として著効を呈する Eculizumab の効果と限界についても述べたい。さらに PNH に関する最近の話題についても若干触れてみたいと思う。

[キーワード]

PNH、臨床病態、血管内容血、血栓症、骨髄不全、多様性、Eculizumab

補体関連疾患に対する網羅的な補体検査システムの構築

井上 徳光^{1,2,3)}、日高 義彦²⁾、大谷 克城^{3,4)}、大塚 泰史²⁾、澤井 俊宏²⁾、宮田 敏行²⁾、大澤 勲³⁾、岡田 秀親³⁾、木下 タロウ³⁾、関根 英治³⁾、塚本 浩³⁾、中尾 実樹³⁾、水野 正司³⁾、村上 良子³⁾、堀内 孝彦³⁾、若宮 伸隆^{3,4)}

¹⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門、²⁾TMA レジストリーチーム、³⁾日本補体学会理事会
⁴⁾旭川医科大学 医学部 微生物学

Establishment of Comprehensive complement examination system for complement-related diseases.
Norimitsu Inoue^{1,2,3)}, Yoshihiko Hidaka²⁾, Katsuki Ohtani^{3,4)}, Yasufumi Ohtsuka²⁾, Toshihiro Sawai²⁾, Toshiyuki Miyata²⁾, Isao Osawa³⁾, Hidechika Okada³⁾, Taroh Kinoshita³⁾, Hideharu Sekine³⁾, Hiroshi Tsukamoto³⁾, Miki Nakao³⁾, Masashi Mizuno³⁾, Yoshiko Murakami³⁾, Takahiko Horiuchi³⁾, and Nobutaka Wakamiya^{3,4)}

¹⁾Tumor Immunology, Osaka International Cancer Institute,

²⁾TMA registry team, ³⁾Board, The Japanese Association for Complement Research

⁴⁾Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University

[はじめに]

日本においては、50年以上前に補体研究会が組織されて以来、医学系研究者が中心となって、補体研究の分野で多くの重要な発見がなされてきた¹⁾。その中で、補体関連因子の異常によってさまざまな疾患が生じることが解明されたが、選択的な抗補体薬が長らく上市されなかった事もあり、補体検査が、臨床現場から消え研究室レベルで行われてきた。しかし、近年、選択的な抗補体薬の開発により、Hereditary angioedema (HAE), Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), atypical Hemolytic uremic syndrome (aHUS), 様々な自己抗体誘導性の疾患などの難治性疾患の治療に、本薬剤が画期的効果を示すことが次々と報告され注目されている。これらの補体関連疾患の診断には、現在、臨床検査で行われているC3, C4, CH50等の検査だけでは役に立たないため、どのような検査をするのが病態や病勢を正確に理解する事ができるのかを検討する必要がある。また、補体関連疾患は、皮膚科、

血液内科、腎臓内科、神経内科、小児科など、多くの診療科にまたがっており、これら診療科での連携や情報の共有が不可欠と考えられる。そこで、日本補体学会では、学会主導の形で、「新しい補体検査システムの構築による補体関連疾患の包括的登録と治療指針確立」という新しい補体検査を再構築する研究を、2015年1月の理事会で決議した²⁾。今回、この2年半の間に構築してきたシステムに関し報告する。

[方法]

以下の4つの柱で補体関連疾患検査システムを構築する。

- (1) 補体関連遺伝子検査システムの構築
- (2) 補体関連タンパク質検査システムの構築
- (3) 補体関連疾患レジストリーの構築
- (4) 補体関連疾患に関する医療従事者サポートシステムの構築

製薬企業等から委託研究費として資金を集め、上記の4つの方向性で、補体検査システムを構築する。

さらに、より検体を系統的に集めるために、補体検査プロジェクトを立ち上げ、他学会や他組織と共同で検査を進めるシステムを構築する。

[結果]

補体関連疾患検査システムを構築した。現在、図に示すような流れで検体回収、検査、結果のフィードバックを行っている（図1）。

(1) 補体関連遺伝子検査システムの構築

当初、補体関連 75 遺伝子を含む 98 遺伝子解析からスタートしたが、第 2 経路を制御する CTRP6 ファミリー遺伝子等を加え 115 遺伝子とし、その後、HAE 関連遺伝子を加え、現在、136 遺伝子を検査対象として解析を行っている。現在、検査は次世代シーケンサーを用いて、ファルコバイオシステムズ社に委託して行っている（日高ら報告）。

(2) 補体関連タンパク質検査システムの構築

世界標準 20 項目を目指し、旭川医科大学での検査システムを構築した（大谷ら報告）。現在、11 項目を測定するシステムを構築した。

(3) 補体関連疾患レジストリーの構築

米国 Vanderbilt 大学が開発した REDCap システムを利用して、大阪市立大学日本 REDCap コンソーシアムを設立した同大新谷歩教授の支援のもと、補体関連疾患患者情報登録システムを構築した。

(4) 補体関連疾患に関する医療従事者サポートシステムの構築

TMA に関して、サポートチームを形成し、主治医に検査結果を返却するシステムを構築した。現在までに（平成 29 年 6 月末現在）、TMA 症例 48 例を含む 117 例の相談に対応している。

さらに、系統的な補体関連疾患の解析を行うために、他学会や他組織と共同で検査を行う補体検査プロジェクトを募集し、理事会で審査後、系統的に補体検査を受け付けるシステムを構築した。それによって、サポートチームの構築と系統的な検体の登録を可能にした。現在、腎移植後 TMA、C3 腎症、HAE などの疾患がプロジェクトとして採用され、検査体制の構築が行われている。

[考察]

今回、学会が主導する形で、新規の補体検査システムを構築した。まだまだ、問題点はあるが開始から 2 年間を経て、漸く検査体制が整ってきた。しかしながら、疾患の解明には、発見された新規遺伝子異常の機能解析やより効果的な検査方法の開発などが必要と考えられる。また、本研究では、遺伝子検査を含むため、どうしても倫理審査申請を必要とし、系統的な検体の回収を行う事が困難である。より系統的な疾患登録システムが必要と考えられる。

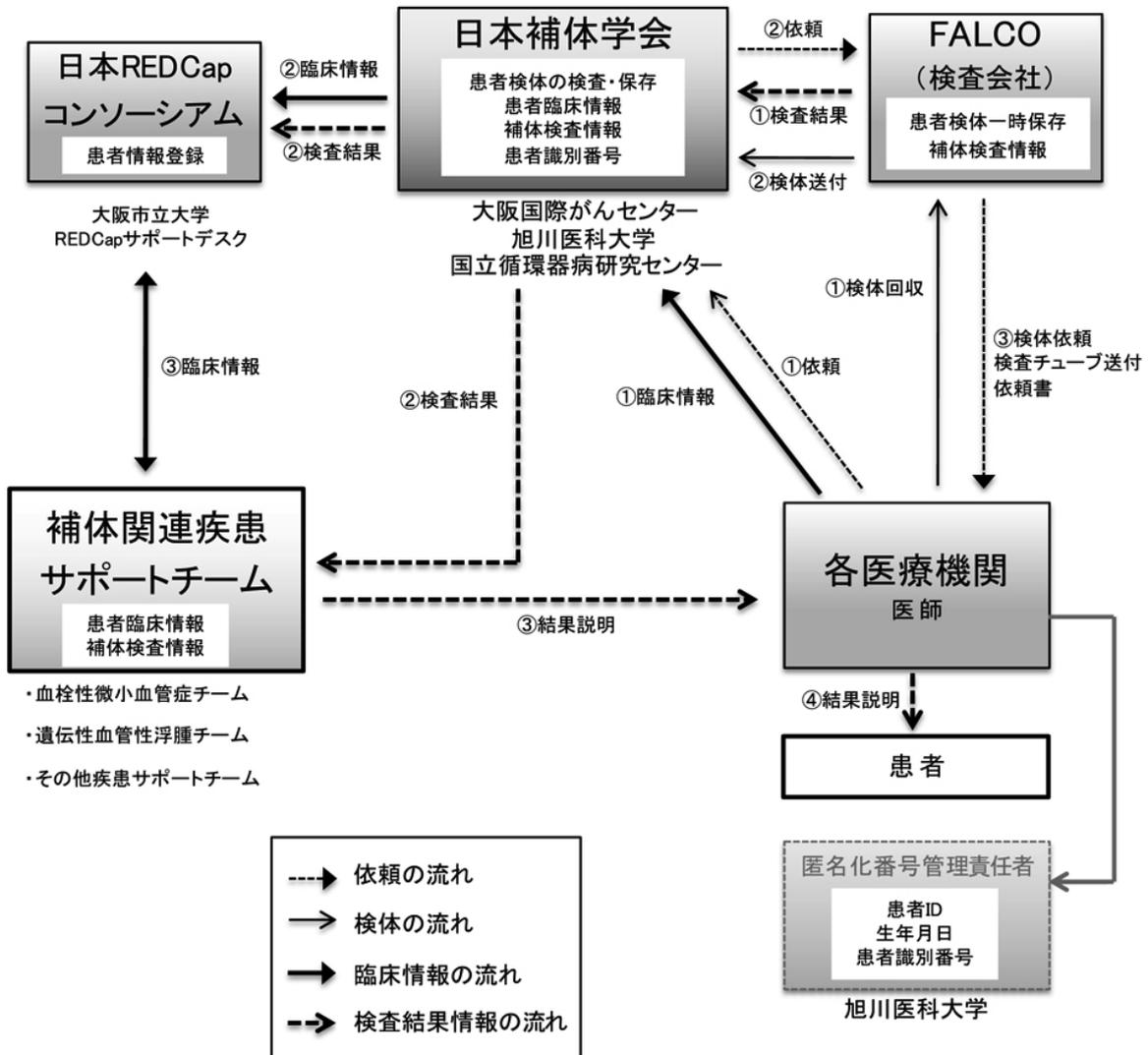
[COI 開示]

本研究は、アレクシオンファーマ合同会社及び CSL ベーリング株式会社との受委託研究により行われている。

[文献]

- 1) 北村肇 補体シンポジウム 50 年の歴史、補体 51 (1): 6 (2014)
- 2) 若宮伸隆 補体関連疾患研究のための補体検査システムの構築、補体 52 (1): 26 (2015)...

補体検査と臨床情報の流れ



補体関連遺伝子検査

日高 義彦^{1,3)}、井上 徳光^{2,3)}、大塚 泰史³⁾、澤井 俊宏³⁾、宮田 敏行³⁾、若宮 伸隆²⁾

¹⁾信州大学医学部小児医学教室、²⁾日本補体学会理事会、³⁾日本補体学会 TMA レジストリーチーム

Examination system for complement-related genes.

Yoshihiko Hidaka^{1,3)}, Norimitsu Inoue^{2,3)}, Yasufumi Ohtsuka³⁾, Toshihiro Sawai³⁾, Toshiyuki Miyata³⁾,
Nobutaka Wakamiya²⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto

²⁾Board, The Japanese Association for Complement Research

³⁾TMA registry team, The Japanese Association for Complement Research

[はじめに]

近年、先天的または後天的な補体制御異常が、血栓性微小血管症 (TMA) に分類される非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) や、腎組織への C3 の優位な沈着を特徴とする C3 腎症を惹起することが明らかとなったこと、抗補体薬の登場により遺伝性血管性浮腫 (HAE) や発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)、aHUS の治療成績が飛躍的に向上したことなどから、補体関連検査の重要性や必要性が高まっている。

日本補体学会では、2015 年から補体関連疾患の病態解明や新規診断法開発のための新規の補体関連検査体制 (1.補体関連タンパク質検査、2.補体関連遺伝子検査、3.補体関連疾患レジストリー、4.医療関係者へのサポートシステム) の構築を遂行しており、同年 12 月からは補体関連遺伝子検査を開始した。

[方法]

補体関連疾患に対する遺伝学的アプローチとして、2015 年 12 月から、補体関連因子と凝固関連因子の 98 遺伝子で遺伝子検査を開始した (aHUS 発症の原

因遺伝子として、凝固関連因子も判明していたため)。その後、検査対象遺伝子は、第二経路を制御する CTRP6 ファミリー遺伝子等が加わり 115 遺伝子となり、さらに HAE 関連遺伝子が加わり、現在 136 遺伝子となっている (図)。検査は、ファルコバイオシステムズ社に委託して次世代シーケンサー (イルミナ社 MiSeq) にて行っており、aHUS で重要とされる 8 遺伝子 (*CFH*, *CFI*, *MCP*, *CFB*, *C3*, *THBD*, *PLG*, *DGKE*) のアレル頻度 0.005 未満の稀なバリエーションについては、国立循環器病センター (宮田先生) にてサンガー法で再度確認している。バリエーションの評価には、データベースとして Human Genetic Variation Database (HGVD)、Exome Aggregation Consortium (ExAC) を使用し、タンパク質機能予測には PolyPhen2、Conservation Score を使用している。

[結果]

これまで (2017 年 6 月末時点) に 62 例の遺伝子検査を受け付けており、内訳は aHUS を含む TMA 36 例、C3 腎症 13 例、補体欠損症疑い 7 例、HAE

4例、PNH 1例、重症筋無力症 1例であった。

遺伝子解析が終了したのは31例で、TMAでは20例中、疾患原因と断定できる既知のバリエーションは同定されなかったが、4例で疾患原因の可能性のある稀なバリエーション（アレル頻度0.005未満）が認められた。また、C3腎症では7例中2例で、補体欠損疑いでは2例中1例で、HAEでは3例中2例で、稀なバリエーションが認められた。

[考察]

遺伝子のバリエーションの評価では、アミノ酸置換を伴うものでも疾患の発症に直結するとは限らず、アミノ酸置換によるタンパク質の機能変化と疾患との関連を検討しなければならないが、容易ではない。Richards Sらは、アミノ酸置換を伴う遺伝子バリエーションについて、Pathogenic、Likely pathogenic、Benign、Likely benign、Uncertain significance、の5段階で評価することを推奨している。われわれは、①病的バリエーションの可能性が高い、②病的バリエーションの可能性のある、③病的バリエーションか不明、④病的バリエーション

はみられない、の4段階での評価を試みているが、今回の遺伝子解析においては、アミノ酸置換と疾患との関連が不明で、上記③と判断されるものが多かった。また、人種により遺伝子バリエーションの頻度に差があることも判明してきており、今後のわが国における症例解析の蓄積と、補体関連因子のアミノ酸置換とそのタンパク質機能変化と疾患との関連を多角的に検討していくことが必要と考えられた。

[利益相反]

本研究は、アレクシオンファーマ合同会社及びCSLベリング株式会社との受委託研究により行われている。

[文献]

- 1) Richards S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 17:405-24 (2015)

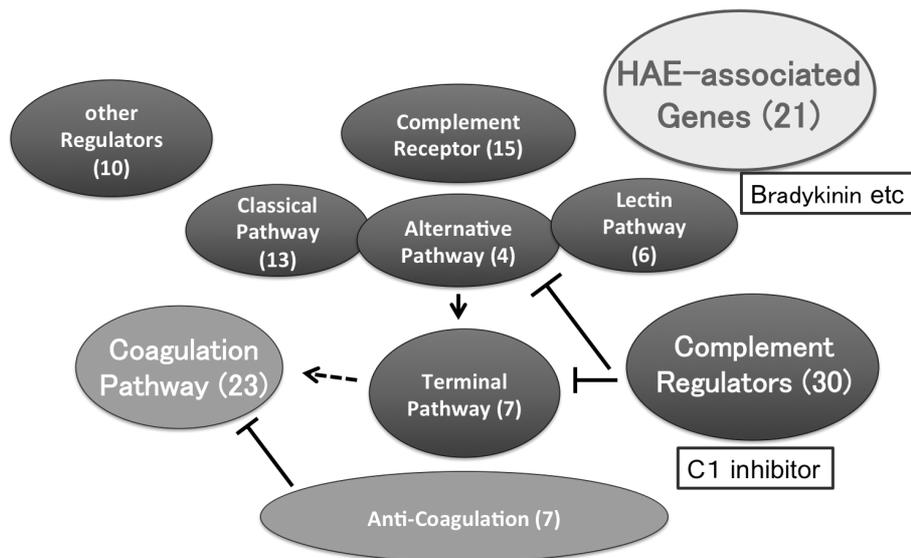


図. 検査対象 136 遺伝子

補体関連タンパク質検査

大谷 克城¹⁾、井上 徳光²⁾、若宮 伸隆¹⁾

¹⁾旭川医科大学 医学部 微生物学、²⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門

Examination system for complement-related proteins.

Katsuki Ohtani¹⁾, Norimitsu Inoue²⁾, Nobutaka Wakamiya¹⁾

¹⁾ Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University

²⁾ Tumor Immunology, Osaka International Cancer Institute

[はじめに]

日本における補体の特殊検査は、最近まで神戸常盤大学保健科学部医療検査学科補体チームのボランティアによって担われてきたが、2015年3月で終了した。そこで日本補体学会は、学会主導の形で「新しい補体検査システムの構築による補体関連疾患の包括的登録と治療指針確立」を2015年1月の理事会で決議し、補体検査を再構築する研究を開始した。その後、血液等を用いる補体因子及び補体機能測定検査は、旭川医大が補体タンパク質検査センターとなってその役割を担うこととなった。

[方法と結果]

1) 補体因子及び補体機能測定検査の現状

現在日本では、補体系検査が必要と判断された際にC3、C4、CH50検査が、一般的に行われている。補体系は、その活性化経路が非常に複雑であることから、残念ながら現時点で、補体関連疾患において、どの分子を測定するのが病態や病勢把握に正しいのかよくわかっていない。さらに、人種によって、補体因子の遺伝子アレルの頻度も異なっているため、国外のデータをそのまま日本人に当てはめることができない事実もある。

このような状況から国際補体学会は、世界標準として次の①～⑤の5つのサブクラスに分けて、約20項目の補体関連検査を整備することを提案している。

- ① Function analysis: CH50, AH50, Lectin pathway analysis
- ② Complement factors: C3, C4, C1q
- ③ Complement regulators: CFH, CFI, C1-inhibitor (activity and protein)
- ④ Activation products: C3dg, C3a, Bb (Ba), sC5b-9, C5a
- ⑤ Auto antibodies: Anti-C1q, Anti-C1-inhibitor (G/A/M), Anti-CFH, C3Nef

2) 補体因子及び補体機能測定検査体制の整備

2016年度において8項目(① CH50、② C3、C4、③ CFH、④ Ba、sC5b-9、C5a、⑤ Anti-CFH)の検査体制の整備は終了し、健常人24人のサンプルを用いて基準値を設定した。2017年度はさらに健常人の数を増やし、11項目(① CH50、② C3、C4、③ CFH、CFI、C1-inhibitor (activity and protein)、④ Ba、sC5b-9、C5a、⑤ Anti-CFH)の検査体制の整備とその基準値を求めることを計画している。具体的な整備状況について以下に簡単に報告する。血液補体検査では、血液を採取後、血漿(EDTA添加血、クエン酸添加血)、血清の3種類に分けて、速やかに凍結し、ドライアイス同封による冷凍輸送を行い、補体タンパク質検査センター(旭川医大)と中央保存センター(大阪国際がんセンター)の2カ所に集積され、そこでバーコード管理し、-80度に

て保存される。補体タンパク質検査センターでは、さらに血液を小分注して凍結保存する。また、それぞれの検査方法や検査キットの採用を決定するに当たっては、詳細な文献検索を行い、もっとも標準とされる方法を選択した。血液の凍結融解の影響を検討する為に5回凍結融解した標準サンプル(5人分)を作成し、それらを用いて、検査法の再現性と安定性、血液補体成分の安定性評価を行った。

3) 補体検査の妥当性評価について

2016年1月 Standardization of Complement Measurements に参加した。本会議では、2010年から始まった国際補体学会の外部評価会議(External Quality Assessment=EQA1-5)からの教訓と EQA5 の成果が示された。2016年10月に EQA6 が開始された。EQA6 では、各国の参加者が INSTAND 社に検査項目を登録し、INSTAND 社から検査サンプルが発送され、参加者がそれらを検査し結果を報告する。INSTAND 社は集まった検査データを解析し、検査の妥当性評価を返却する。日本補体学会も EQA6 に参加し、C3, C4, CH50, sC5b-9 について定量検査を anti-CFH では定性検査に関して、妥当性の Certificate を受けた。

4) 新しい補体検査について
 現在、それぞれの検査は ELISA 等の個別のキットを用いて行っており、補体関連タンパク質は多項目であることから検査にかなりの検体量と時間を要する欠点がある。新生児や小児も対象となりさらに、1回の検査で終わるわけではなく、継時的な検査が必要な場合もあり、少量の検体量で短時間で検査ができることが求められ

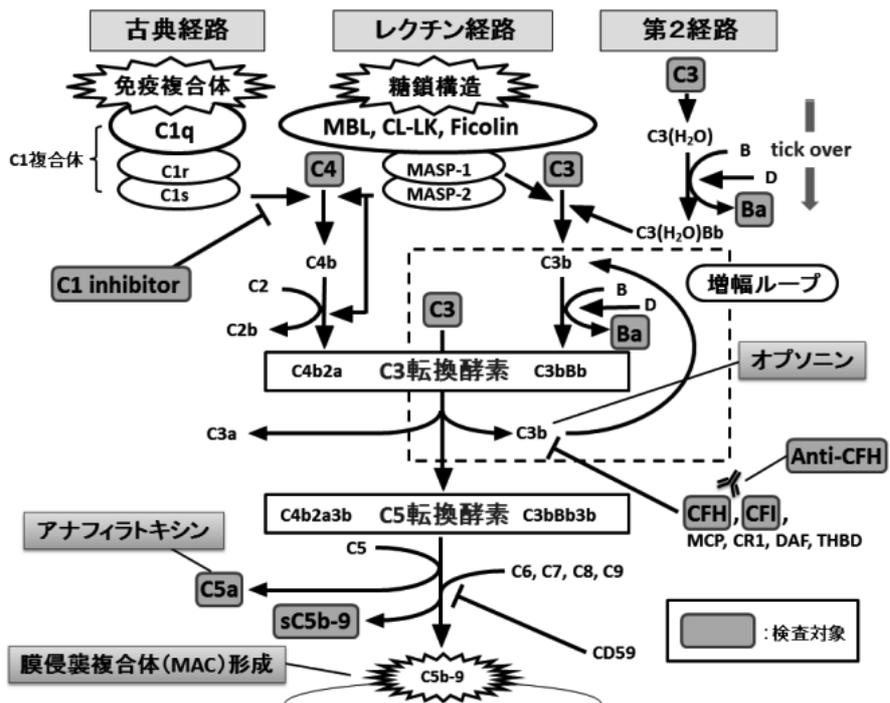
ている。そこで、次世代の補体タンパク質検査としては、Luminex 等を用いた Multiplex システムでの一括補体検査が一つの候補であると考えている。検体中の補体関連タンパク質を1度に複数項目定量できることが利点である。サイトカインなどでは、定量性と再現性のある研究手法として利用されており、国際補体学会においても期待される手法として挙げられていることから現在検討を進めている。

[考察]

日本補体学会の一次目標としては、世界標準の20項目の補体関連検査を整備することである。さらに、補体因子迅速検査に対応するには、新しい一括補体検査システムの構築が必要である。しかしながら、真の意味での、次世代の補体機能検査は未だ開発されておらず、本開発研究が最重要課題であると考えられる。

[COI 開示]

本研究は、アレクシオンファーマ合同会社及び CSL ベーリング株式会社との受委託研究により行われている。



重症筋無力症の病態・治療と補体学

本村 政勝

長崎総合科学大学・医療工学コース／長崎大学病院

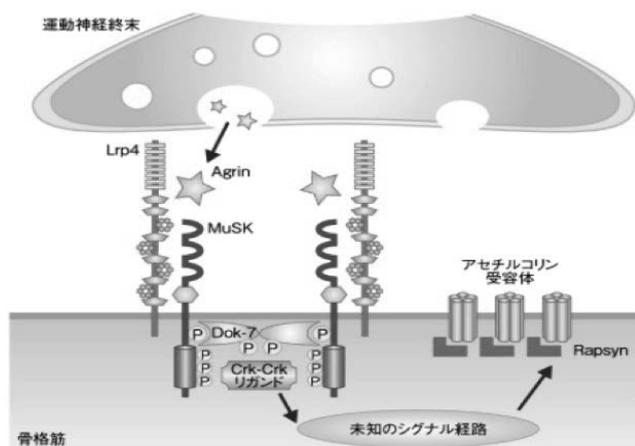
Pathology and treatment of myasthenia gravis, and Complement research.

Masakatsu Motomura

Medical Engineering Course, Nagasaki Institute of Applied Science /

Department of Neurology and Strokology, Nagasaki University Hospital

重症筋無力症 (myasthenia gravis; MG) は、神経筋接合部 (neuromuscular junction; NMJ) のシナプス後膜上の運動終板にあるいくつかの標的抗原に対する病原性自己抗体の作用により NMJ の刺激伝達が障害されて生じる自己免疫疾患と定義される (MG 診療ガイドライン 2014)。近年、アセチルコリン受容体 (acetylcholine receptor; AChR) を運動終板に凝集させるために、Agrin-Lrp4-MuSK-DOK7 などのタンパク質が重要な役割を果たしていることが解明されてきた (図 1)。これらの基礎研究 Agrin-Lrp4-MuSK-DOK7 signaling を介する AChR 凝集



をもとに、MG の臨床研究領域で新しい自己抗体が発見されてきた。現在、MG は病原性自己抗体の種類によって、①AChR 抗体陽性 MG-その頻度は全体の 85-90%、②筋特異的チロシンキナーゼ (muscle specific tyrosine kinase; MuSK) 抗体陽性 MG-

全体の 5%、③低比重リポ蛋白質受容体関連蛋白質 4 (low density lipoprotein-receptor related protein 4; Lrp4) 抗体陽性 MG-全体の 1%以下、④前記の抗体が検出されない seronegative MG-全体 10%以下に分類されている。本シンポジウムでは、補体学の立場から各病原性自己抗体の病態と治療を考察する。

1976 年に Lindstrom らが免疫沈降法で AChR 抗体測定法を開発し、71 人の MG 患者の血清の 87% が陽性と報告した。近年、従来の免疫沈降法に代わりに cell-based assay が開発されて陽性率が高くなった。これらの 2 つの抗体測定を用いれば、MG 全体の 90% は AChR 抗体を検出できる。NMJ 生検所見から、IgG1 抗体サブクラスが主体の AChR 抗体が補体介在性に運動終板を破壊し、AChR の数を減少させることで MG 症状が出現すると推測されている。さらに、AChR α サブユニットの最上部・外側端にある 67-76 領域を含む N 末端領域が補体介在性膜破壊を引き起こす主要免疫病原性領域と推測されている。最近開発されている抗 C5 モノクローナル抗体などの補体阻害薬は補体介在性膜破壊を抑える薬で、その臨床応用が期待されている。

2001 年に Hoch らが AChR 抗体陰性の一部の MG 患者から、MuSK 抗体を報告した。その後、世界中で多くの臨床研究が為され、動物モデルの成功により、その臨床像と病原性は確定した。NMJ 生検所見では、上腕二頭筋の運動終板の AChR 量は減

少しておらず、補体が関与する免疫複合体の沈着を認めなかった (Shiraishi et al, Ann Neurol, 2005)。MuSK 抗体は補体活性能を持たない IgG4 サブクラスが主体であり、Agrin-Lrp4-MuSK-DOK7 signaling を介する AChR 凝集を抑制することがその主たる病態機序と考えられている。

2011 年本邦から、運動終板に位置する Lrp4 の細胞外領域に対する自己抗体が AChR 抗体陰性の MG 患者血清中に存在することが報告された (Higuchi

et al, Ann Neurol, 2011)。その後、幾つかの臨床研究が追試され、さらには、動物モデルの報告がなされた。しかしながら、Lrp4 抗体は筋萎縮性側索硬化症などの他の神経疾患患者からも報告されており、その疾患特異性が問題となっている。以上より、補体学の立場からは、AChR 抗体陽性 MG の治療には補体を抑制することが重要であるが、MuSK 抗体陽性 MG には補体阻害薬が無効であると考察される。

ギラン・バレー症候群の新規治療としての抗補体療法

楠 進¹⁾、桑原 聡²⁾

¹⁾近畿大学医学部 神経内科学、²⁾千葉大学大学院医学研究院 神経内科学

Anti-complement therapy; as a novel treatment for Guillain-Barré syndrome.

Susumu Kusunoki¹⁾, and Satoshi Kuwabara²⁾

¹⁾ Neurology, Kindai University Faculty of Medicine,

²⁾ Neurology, Chiba University Graduate School of Medicine

ギラン・バレー症候群 (Guillain-Barré syndrome, GBS) は、急性単相性の経過をとる自己免疫性末梢神経障害である。急性期に、血漿浄化療法あるいは経静脈的免疫グロブリン療法 (intravenous immunoglobulin, IVIg) を行うことにより、極期の重症度が軽減し回復が早まることが報告されており、有効な治療として確立している。しかし、そうした治療を行っても、人工呼吸器が必要となる重症例や、自力歩行不能の状態に固定する難治例は存在する。したがって、そのような症例に対して有効な新規治療法の開発が求められている。GBS には、脱髄が主たる病態である acute inflammatory demyelinating polyneuropathy (AIDP) と、軸索をプライマリーに障害する acute motor axonal neuropathy (AMAN) が存在するが、どちらにおいても剖検で補体の沈着が報告されている。また GBS 急性期には高頻度に抗糖脂質抗体が陽性となるが、そのような抗糖脂質抗体による神経障害は補体介在性であることが、抗 Gal-C 抗体による脱髄モデルや、抗 GM1 抗体による軸索障害モデル、抗 GQ1b 抗体による神経筋接合部伝達障害モデルで示されている。

従って、GBS の神経障害の病態には補体が深く関わっていると考えられる。また抗 GQ1b 抗体により呼吸筋麻痺をきたしたマウスのモデルでは、補体系をブロックする分子標的薬である抗 C5 モノクローナル抗体によりその障害が軽減することが報告された¹⁾。抗 C5 モノクローナル抗体は発作性夜間ヘモグロビン尿症や非典型溶血性尿毒症候群に対して既に臨床の場で使用されている薬剤である。以上より、GBS の急性期治療として、抗 C5 モノクローナル抗体の有用性が考えられた。そこで、GBS 急性期に対する IVIg と抗 C5 モノクローナル抗体の併用療法が、IVIg 単独治療を対照とする第二相試験として、英国と我が国で行われたが、英国の試験は十分な症例が集まらなかった。一方わが国の試験は、34 例が登録され、予定通りに行われた。この結果に基づき、第三相試験を経て臨床応用につながることを期待される。

[文献]

- 1) Halstead, S.K. et al. *Brain* 131:1197-1208 (2008)

視神経脊髄炎(NMO)における補体の病態及び治療的意義

藤原 一男^{1,2)}

¹⁾福島県立医科大学多発性硬化治療学講座、

²⁾一般財団法人 脳神経疾患研究所 多発性硬化症・視神経脊髄炎センター

Pathogenetic and therapeutic roles of complements in neuromyelitis optica (NMO).

Kazuo Fujihara^{1,2)}

¹⁾ Multiple Sclerosis Therapeutics, Fukushima Medical University School of Medicine,

²⁾ Multiple Sclerosis & Neuromyelitis Optica Center, Southern TOHOKU Research Institute for Neuroscience

[はじめに]

視神経脊髄炎(neuromyelitis optica, NMO)は重症の視神経炎と3椎体以上の長い横断性脊髄炎を主徴とする中枢神経の再発性炎症性疾患である。1894年に剖検例を報告した Eugène Devic にちなんで Devic 病とも呼ばれる。一方、我が国をはじめ特にアジア諸国では、多発性硬化症(multiple sclerosis, MS)の一型として視神経脊髄型 MS と長く呼ばれてきた。しかし、2004年に Mayo Clinic と我々のグループにより NMO-IgG という本疾患に特異な自己抗体が報告され、翌年にその標的抗原が中枢神経特にアストロサイトの足突起に密に発現している水チャネルであるアクアポリン 4(aquaporin 4, AQP4)である(すなわち NMO-IgG = AQP4-IgG)ことがわかってから本疾患の解明が一気に進んだ¹⁾。現在は、本疾患において視神経炎、脊髄炎以外に脳症候群も起こるため疾患全体を NMO Spectrum Disorders (NMOSD)と呼ぶことが提唱されている。また最近、AQP4-IgG 陰性 NMOSD の一部にミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)に対する抗体がみつき、NMOの研究は新たな展開を見せている。

[NMOSDの病態における補体の関与]

NMOSDの病態において、AQP4-IgGは主に IgG1

でアストロサイトの足突起に発現する AQP4 に結合し、補体を活性化して complement-dependent cytotoxicity によりアストロサイトを破壊する。また補体は complement-dependent cellular cytotoxicity によっても細胞傷害を引き起こす。NMOSD では二次的にオリゴデンドロサイトが障害され脱髄も起こるが、これにはアストロサイトと異なり、オリゴデンドロサイトが補体制御因子である CD59 を持っていないことが関与しているとの報告がある。一部の NMOSD 症例で高 Creatine Kinase 血症も起こるが、これも CD59 遺伝子の多型による筋細胞の脆弱性かもしれない。MOG-IgG も主に IgG1 で補体結合能があり、complement-dependent cytotoxicity によりミエリン障害を惹起する可能性が実験的研究や脳生検の病理学的解析から示唆されている。

[NMOSDにおける補体抑制療法]

抗 C5 モノクローナル抗体の治療では、難治性の AQP4-IgG 陽性 NMOSD の再発が著明に抑制された。したがって補体の阻害は NMOSD の病態及び予後を改善する有用な機序であることが示唆されている。

本講演では、NMOSDにおける補体の意義を概説したい。

腎移植後早期発生 TMA の経験と統計調査、そして補体学会との共同研究

佐藤 滋

秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター

Our experience and statistical survey of early-onset TMA after kidney transplantation,
and collaborative research with the Japanese Association for Complement Research.

Shigeru Satoh

Center for Kidney Disease and Transplantation, Akita University Hospital

術中、移植腎への血流再開直後、一時的に移植腎表面の色調は良好であったが、徐々に色調・緊満度が悪化。血流障害が発生し graft loss に至った症例を、2 例連続して経験した。秋田大で 1998 年より再開した腎移植において 305・306 例目で経験した、初の術直後の graft loss であり、原因の検証が必要と考えた。当初は、灌流液内への異物混入なども想定し、学内外で検査を行ったが異物の混入はなかった。

同様の経験をした他施設の情報を得たことから、移植学会と臨床腎移植学会で調査委員会を設置し、全国の腎移植施設にアンケート調査を行った。対象は 2010 年から 2015 年に施行した腎移植で、移植後 1 週間以内に TMA が発生したと担当医が判断した症例とした。6 年間の腎移植総数 9,558 (生体 8,496、献腎 1,062) 例、移植施設数 168、アンケート回収 143

施設 (85.1%)、アンケート回収移植数 8,956 (生体 8,022、献腎 934) 例 (93.7%)。このうち、TMA を経験した施設 30 (21.0%)、TMA と判断された症例は生体 62 例 (0.8%)、献腎 68 例 (7.3%)、さらに graft loss は生体 16 例 (TMA 症例中 25.8%)、献腎 18 例 (TMA 症例中 26.5%) であった。

予想以上に TMA 症例があること、また造血幹細胞移植や腎移植のみならず、すべての臓器移植で TMA 症例の報告があること、TMA に補体異常が関与する可能性があること、などから日本移植学会と日本補体学会による共同研究を提言した。「腎移植後早期に発生した TMA 患者を対象とした多施設共同後方視的要因解析研究」と「臓器移植後 TMA と補体関連因子の関連性を評価する多施設共同研究」について紹介する。また、臓器移植での TMA 症例・原因の可能性・治療にかかわる報告も紹介する。

C3 腎症の最近の診断と治療についての話題

水野 正司

名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学 腎臓内科

Recent topics of C3 glomerulopathy associated with diagnosis and therapeutic effects including anti-complement therapy.

Masashi Mizuno¹⁾

Renal Replacement Therapy, Nephrology, Nagoya University Postgraduate School of Medicine

[はじめに]

近年、補体学領域の研究の展開は目を見張るものがある。特に C1 インヒビター、抗 C5 抗体の臨床応用が始まってからは、これまで基礎研究で病態に補体関連が報告されてきた様々な領域で臨床研究も試みられている。腎臓病領域においても、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)をはじめ、血管炎、C3 腎症といった疾患に対して、既に臨床応用されていたり、臨床研究が進められていたりしている。

aHUS の概念、診断が、これまでに変化してきているように、C3 腎症も変化している。特に C3 腎症はその病因について、どのあたりまで純粋に補体関連の疾患として考えてよいのか、その分類も曖昧である。C3 腎症は、現在 dense deposit disease (DDD; membranous proliferative glomerulonephritis

(MPGN) type II) と C3 腎炎 (MPGN type 1, type II)の2つに分類され、これまで若年者発症の DDD に中に補体制御系の遺伝子異常が多いとされていた。また、C3 腎炎は、当初は IgG 沈着が無く C3 が沈着する MPGN 様変化を伴うものとされていたが、最近では IgG 沈着がある場合もあり MPGN 様変化を伴わない場合もあるとさらに拡大解釈されるようになり、形態学のみでの確定診断はさらに困難となってきたいて、今後補体関連検査の重要性が注目されるようになると考えられる。

ここでは、C3 腎症に focus を当てて、診断、治療についての話題を概説する。また、今年度より開始している MPGN/C3 腎症コホート研究について紹介したい。

スカベンジャー受容体 CL-P1 は、Pentraxin を介して補体系を活性化する

ロイ ニタイ¹⁾、大谷 克城¹⁾、日高 義彦²⁾、天野 芳郎³⁾、松田 泰幸¹⁾、森 健一郎¹⁾、
黄 仁秀¹⁾、井上 徳光⁴⁾、若宮 伸隆¹⁾

¹⁾旭川医科大学 医学部 微生物学、²⁾信州大学 医学部 小児医学、³⁾長野赤十字病院 小児科
⁴⁾大阪国際がんセンター研究所・腫瘍免疫学部門

CL-P1 utilizes pentraxins for a complement activation pathway

Nitai Roy¹⁾, Katsuki Ohtani¹⁾, Yoshihiko Hidaka²⁾, Yoshiro Amamo³⁾, Yasuyuki Matsuda¹⁾,
Kenichiro Mori¹⁾, Insu Hwang¹⁾, Norimitsu Inoue⁴⁾, and Nobutaka Wakamiya¹⁾

¹⁾ Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University,

²⁾ Pediatrics, Shinshu University School of Medicine,

³⁾ Pediatrics, Nagano Red Cross Hospital,

⁴⁾ Tumor Immunology, Osaka International Cancer Institute

[はじめに]

CL-P1 は糖認識領域 (CRD) とコラーゲン様領域を有するコレクチンであり、スカベンジャー受容体 SR-AI と類似のドメイン構造の併せ持ち、生体内においては血管内皮をはじめ多様な臓器に発現する膜結合型タンパク質である¹⁾。機能として糖認識領域による糖鎖との結合およびコラーゲン様領域の陽性荷電を介した結合によりリガンド分子と結合することを明らかにした²⁾。近年、CL-P1 に急性期蛋白質 CRP が結合することを見出し、CL-P1 発現細胞上で CRP 依存性に補体活性化が起こることを報告した³⁾。今回、この現象が CRP を含むペントラキシンファミリー蛋白質 PTXs (CRP、serum amyloid protein (SAP)、PTX3) に普遍的にみられるのかどうかを検討したので報告する⁴⁾。

[方法]

まず、PTXs と CL-P1 の細胞外領域との結合について ELISA 系を用いて、細胞膜上での結合について CL-P1 の真核細胞発現系 (HEK293/CL-P1 細胞) を用いて検討を行った。さらに、結合後の補体活性

化についてヒト補体血清を用いて評価した。同様の系において、各種補体因子欠損血清や精製補体等の添加実験を行い、補体活性化の抑制系について検討した。最後にそれぞれの制御因子欠損血清を用いた実験およびその補填実験、活性化抑制因子添加実験により、終末経路までの補体活性化について検討を行った。

[結果と考察]

ELISA 系および CL-P1 の真核細胞発現系において CRP 同様 SAP、PTX3 と CL-P1 の結合を明らかにした。さらに、ヒト補体血清を用いた実験では、どちらの系においても PTXs 依存性に補体活性化が認められた。また、この活性化は、CRP 同様に補体因子 C1q 依存的に起こることを明らかにした。しかし、ヒト補体血清を用いた実験では、終末経路への補体活性化の進展は見られなかった。同様の系で、各種補体因子欠損血清や精製補体等の添加実験を行い、補体活性化の抑制系について検討した結果、CRP、PTX3 は、CFH 因子が関与して終末経路への進展を制御すること、SAP では C4BP により制御さ

れていることが明らかになった。最後に、それぞれの制御因子欠損血清を用いた実験やその補填実験及び活性化抑制因子添加により、本補体活性化は終末経路まで進む可能性を有することを明らかにした。

以上の結果から、急性炎症タンパク質 PTXs 分子の発現が、急激に亢進した際には、CL-P1 のような PTXs を補足する分子が血管や組織に存在すると局所で PTXs が補足され、PTXs 依存性の補体活性化が起こる可能性が示唆された (図 1)。しかし、通常の宿主では、自己細胞膜上での補体活性化が起こらないように液性や膜型の補体制御因子が存在し、自己の組織ダメージを惹起する補体活性化が阻害されている。近年、この補体制御因子の遺伝子異常により、腎臓や網膜などで補体活性化亢進が起こり、血

管の炎症や破壊が惹起される疾患 (aHUS、加齢性黄斑変性症) が報告され、この機序と疾患との関連性について今後、検討を行いたいと考えている。

[文献]

- 1) Katsuki Ohtani et al. *J. Biol. Chem.* 276: 44222 (2001)
- 2) Kenichiro Mori et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1840: 3345 (2014)
- 3) Nitai Roy et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1860: 1118 (2016)
- 4) Nitai Roy et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1861: 1 (2017)

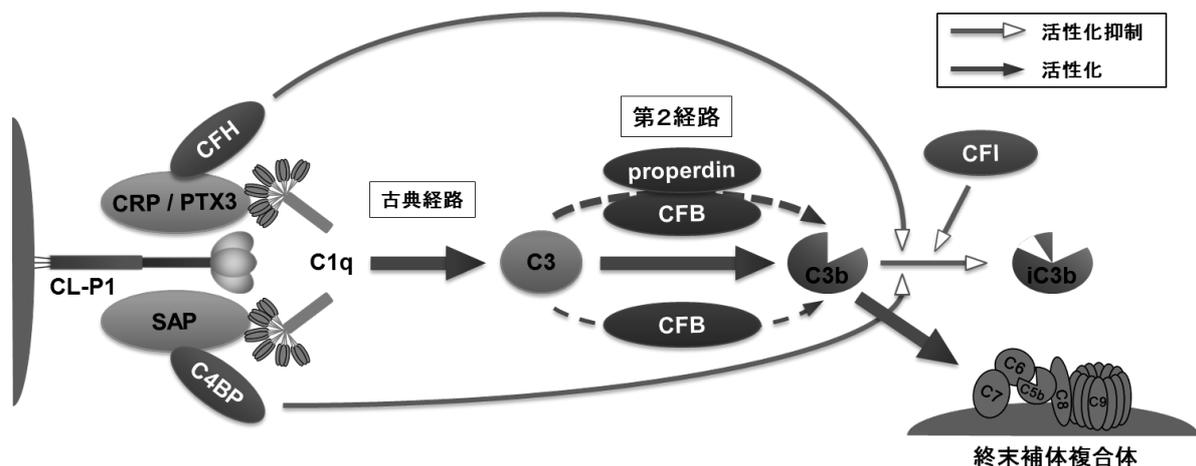


図 1 ペントラキシンを介した CL-P1 による補体活性化の制御メカニズム (参考文献 4 改変)

細胞外小胞による細胞間情報伝達における補体の役割

押海 裕之^{1),2)}、岡本 将明¹⁾、福島 好¹⁾

¹⁾熊本大学大学院生命科学研究部 免疫学分野, ²⁾JST さきがけ

Role of complement in extracellular vesicle-mediated intercellular communication

Hiroyuki Oshiumi^{1),2)}, Masaaki Okamoto¹⁾, and Yoshimi Fukushima¹⁾

¹⁾ Department of Immunology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University,

²⁾ PRESTO JST

[はじめに]

エクソソームなどの細胞外小胞は機能的 RNA を伝達することから、近年、細胞間情報伝達を担うことが明らかとなってきた。この細胞外小胞により伝達される機能的 RNA の一つに microRNA が知られている。我々はこれまで、この細胞外小胞内の microRNA が自然免疫応答に非常に重要な役割を果たすことを明らかとした¹⁾。興味深いことに細胞外小胞の膜表面にはホスファチジルセリンが存在する。補体の C1q はホスファチジルセリンと結合することが知られているが、細胞外小胞が担う情報伝達にどのように関与するのかはほとんど解明されていない。本研究では、この細胞外小胞が自然免疫応答に果たす役割と、この過程に補体成分がどのように関与するのかを調べた。

[方法]

健常人の末梢血より血清を調整し、得られた血清でヒト細胞を培養したのち、ワクチン成分に対する自然免疫応答を調べた。血清は非働化したものと非働化しないものを用いた

[結果]

単球様の THP-1 細胞と、マクロファージへ分化

させた THP-1 細胞、あるいは A549 や HepG2 細胞で、血清中の細胞外小胞内の microRNA の取り込みを調べたところ、特定の microRNA のみがマクロファージに取り込まれること、これは単球やその他の細胞ではほとんど生じないことを明らかとした。また、細胞外小胞内の microRNA がマクロファージに取り込まれることで、マクロファージの自然免疫応答が制御されることを発見した。一方で、我々はこの過程に補体成分が関与する傍証をえた。

[考察]

細胞外小胞による細胞間情報伝達の過程に補体成分が関与することが示唆されたことから、補体の異常が原因となる病態の解明において、細胞外小胞の役割を解明することが今後重要になると期待される。

[結論]

本研究から、細胞外小胞による細胞間情報伝達に補体成分が関与することが示唆され、補体と細胞外小胞との関連の解明が今後重要になると期待される。

[文献]

1) Takahisa Kouwaki et al. *Front. Immunol.* 7:335 (2016)

C5、C5a は細胞外ヒストンにより誘発された致死性血栓症を増悪する

水野 智博¹⁾、吉岡 憲吾¹⁾、水野 正司²⁾、清水 美衣³⁾、長野 文彦¹⁾ 奥田 知将⁴⁾、坪井 直毅⁵⁾、丸山 彰一⁵⁾、永松 正¹⁾、今井 優樹⁶⁾

¹⁾名城大学薬学部 薬効解析学、²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学、³⁾名城大学薬学部 環境科学、⁴⁾名城大学薬学部 薬物動態学、⁵⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、⁶⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学

C5 and C5a promotes lethal thrombosis induced by extracellular histones.

Tomohiro Mizuno¹⁾, Kengo Yoshioka¹⁾, Masashi Mizuno²⁾, Mie Shimizu³⁾, Fumihiko Nagano¹⁾, Tomoyuki Okuda⁴⁾, Naotake Tsuboi⁵⁾, Shoichi Maruyama⁵⁾, Tadashi Nagamatsu¹⁾, and Masaki Imai⁶⁾

¹⁾ Analytical Pharmacology, Meijo University faculty of Pharmacy,

²⁾ Renal Replacement Therapy, Nagoya University graduate school of Medicine,

³⁾ Environmental Sciences, Meijo University faculty of Pharmacy,

⁴⁾ Drug Delivery Research, Meijo University faculty of Pharmacy,

⁵⁾ Nephrology, Nagoya University graduate school of Medicine,

⁶⁾ Immunology, Nagoya City University graduate school of Medicine

[はじめに]

播種性血管内凝固症候群 (Disseminated intravascular coagulation: DIC) 患者では血漿中のヒストン濃度が上昇することが確認されている¹⁾。細胞外ヒストンは血小板凝集と好中球遊走を促進し、凝固系の過度な亢進とそれに伴う線溶系の相対的な活性化をもたらす。最終的には血漿中の凝固因子が枯渇し、線溶系優位となり、出血傾向を示す。

ヒストンによって惹起された塞栓症と血小板凝集の基本的なメカニズムは、先行研究によって明らかにされてきたが、ヒストンに由来する DIC の病態について、病理学的メカニズムは不明な点が多い。補体および凝固系の各因子が相互作用することが報告されているが²⁾、ヒストンにより誘発された致死性血栓症に補体系がどのように関与するか、詳細な検討はなされていない。そこで本研究では、C5 および

C5a がヒストンによって惹起された致死的塞栓症に伴う肝障害を促進するかどうか検討した。

[方法]

9~12 週齢の DBA/1JLmsSlc 雄性マウス (正常マウス) および DBA/2CrSlc 雄性マウス (C5 欠損マウス) を使用した。正常マウスおよび C5 欠損マウスに未分画ヒストンを尾静脈内投与し (0, 45, 60, 75 µg/g 体重)、投与直後から 72 時間観察し、生存曲線を作成した。ヒストン 45 µg/g 体重投与から 1, 3, 6, 12 時間後に白血球数、赤血球数、血小板数、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、および乳酸脱水素酵素 (LDH) を測定した。同様にヒストン投与から 1, 3, 6 時間後にプロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。血小板白血球複合体 (PLA) および

CD11b 発現解析は、ヒストン投与から 1 時間後に全血を採取し、CD45、CD11b、CD41 について、フローサイトメトリー法を用い、それらについて発現解析を行った。また、上記解析に使用した検体より得られた血しょうを用い、C5a 濃度を測定した。

肝血流を評価するため、正常マウスおよび C5 欠損マウスにヒストンを同様に投与し、1 時間後に Indocyanine green (ICG) を 10 µg/body で尾静脈内投与した。その後、ICG が肝臓に蓄積することを利用し、肝血管の塞栓状態を解析した。致死性の塞栓症に対する C5a 受容体拮抗薬の効果を検討するため、正常マウスに PMX205 および生理食塩水を尾静脈内投与し (50 µg/body)、その 10 分後に未分画ヒストン (45 µg/g 体重) を同様に投与した。ヒストン投与から 1 時間後に血液を採取し、肝機能、PLA 率を測定した。

[結果]

ヒストンは用量依存的に致死性の塞栓症を誘発し、正常マウスでは、60 µg/g 体重以上のヒストン投与後の生存率が非投与群に比べ、有意に低下した。また、正常マウスにおいて、白血球数はヒストン投与 1 時間後で上昇していたが、血小板数は C5 欠損マウスと比較して、減少していた。正常マウスにおいて、APTT は未分画ヒストン投与 1, 3 時間後にて、ヒストン非投与群に比べて延長したが、C5 欠損マウスではこれらの所見は認められなかった。ヒストン投与 3、6 時間後、正常マウスでは、C5 欠損マウスに比して AST、ALT、LDH 値が高値であった。正常マウスでは、C5 欠損マウスに比して、肝臓における ICG の蛍光強度が有意に低値を示し、組織所見と合わせて、肝塞栓の存在が示唆された。PLA 率および CD11b 発現についても、C5 欠損マウスに比して、正常マウスでは高値を示し、血しょう中

の C5a 濃度もヒストン投与により上昇していた。上記所見のうち、AST、ALT、PLA 率、Cd11b 発現は PMX205 投与により低下した。

[考察]

DIC の予防・治療には、凝固、炎症の双方を制御することが重要である。C5 および C5a はこれらの系を活性化させるが、ヒストンによって誘発される致死性の塞栓症において、補体の役割は不明であった。本研究より、C5 はヒストンによる血小板凝集 (血小板減少)、血栓形成に伴う肝塞栓および肝障害、線溶系亢進に関与し、致死性の血栓症の発症および進展に重要な役割を果たすことが示唆された。また、C5a の増加に伴い、白血球数および CD11b の発現が増加したことから、C5a による白血球活性化作用が確認され、それに伴う PLA 産生促進が示唆された。そこで、C5a 受容体を阻害したところ、ヒストンによる肝障害、白血球活性化および PLA 産生が抑制されたことから、C5 のみならず C5a もヒストンによる致死性の血栓症の治療ターゲットとなることが示唆された。すでに抗 C5 抗体は発作性夜間血色素尿症に対して使用されており、C5a 受容体も治験段階であることから、DIC に伴う致死性の血栓症に対する上記薬剤の臨床応用が期待される。

[結論]

本研究は、C5 または C5a の阻害が、細胞外へのヒストン放出に起因する致死性の塞栓症に対する有効な治療法である可能性を示した。

[文献]

- 1) Kim J.E et al. *Thrombosis research*. 135:1064-1069 (2015)
- 2) Foley, J. H et al. *Thrombosis research*. 141: 30365-30366 (2016)

137番グルタミンをグルタミン酸に変異したS19リボソーム蛋白質遺伝子をノックインしたC57BL雌マウスの全身性エリテマトーデス様病態の解明

西浦 弘志、山田 直子、中庄 恵二、山根木 康嗣
兵庫医科大学・病理学講座

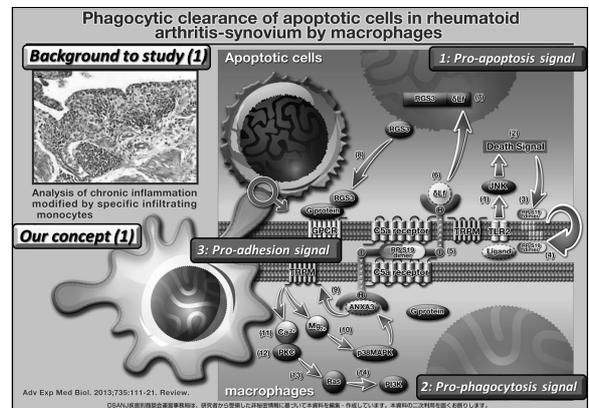
Analysis of systemic lupus erythematosus-like syndrome in the Gln137Glu mutant RP S19 gene knock-in C57BL/6J female mice.

Hiroshi Nishiura, Naoko Yamada, Keiji Nakasho and Koji Yamanegi

Department of pathology, Hyogo collage of medicine

[はじめに]

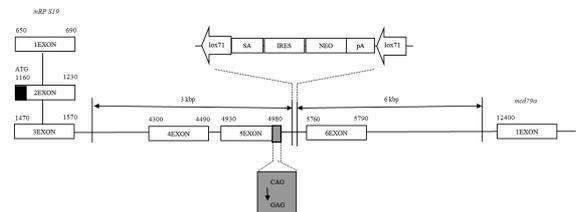
関節リウマチ滑膜炎の病態は、優位に浸潤する単球が産生するサイトカインストームによる慢性炎症と提唱された¹⁾。我々は、関節リウマチ滑膜炎の抽出液を準備し、単球走化因子が蛋白質合成装置リボソームの構成成分S19 (RP S19) のK122とQ137がトランスグルタミナーゼにより架橋化された多量体と同定した²⁾。一方、Q137以外のQを用いたRP S19多量体に単球走化能がないことを発見した³⁾。さらに、アポトーシス細胞が産生するRP S19多量体がオートクライン作用でアポトーシス細胞上のG蛋白質共役型受容体に属するC5a受容体に結合した時にはアポトーシス促進作用を惹起すること⁴⁾、同時に、パラクライン作用でRP S19多量体の別のC5a受容体結合モチーフがマクロファージに接着した時には貪食促進作用を惹起すること⁵⁾、等のアンタゴニスト・アゴニストのデュアル機構を報告してきた(図1)。



近年、アポトーシス関連因子の欠損によるマウスへの自己免疫疾患の誘導が示唆された⁶⁾。だが、詳細な自己免疫疾患誘導機構の解明には至っていない。

[方法]

① Q137E 変異 RP S19 遺伝子をノックインするC57BL/6J マウスを作製した(図2)。

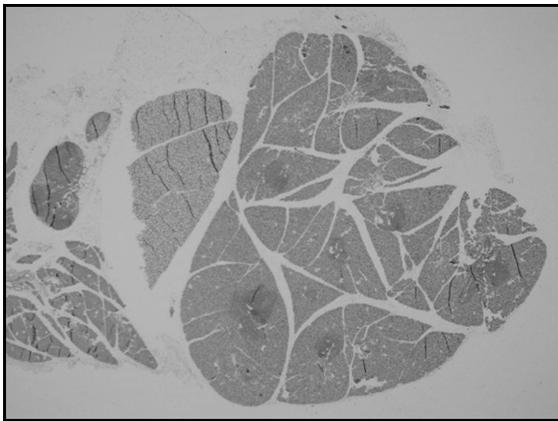


② 8/12/24/30/40 週齢の雌ノックインマウスを準備し、体重を測定後、全血を心臓から回収し、臓器(脳・顎下腺・胸腺・肺・心臓・肝臓・脾臓・膵臓・小腸・大腸・大腿骨)をホルマリンで固定した。

- ③ 各臓器をヘマトキシリン・エオジンで染色し、病理組織学的に観察した。
- ④ プロテオミクス法を用いて、血清中の自己抗体を検索した。
- ⑤ 8/40 週齢の雌ノックインマウスの脳・肝臓・脾細胞の遺伝子発現を次世代シーケンス法で比較検討した。

[結果]

- ① 24 週齢雌ノックインマウスの顎下腺にリンパ球浸潤と組織破壊を病理組織学的に観察した(図 3)。



- ② 24 週齢雌ノックインマウスの血清中に抗 α アミラーゼ抗体を確認した。
- ③ 40 週齢雌ノックインマウスの肺・肝臓・腎臓にリンパ球浸潤と組織破壊を病理組織学的に観察した。
- ④ 40 週齢の雌ノックインマウスの脳・肝臓・脾細胞で全身性エリテマトーデス様病態に依存した遺伝子発現を確認した。

[考察]

現在、生態の外的・内的環境因子のバランスをベースにオープンシステムサイエンスによる個別臓器への直接的・間接的な影響を重視した特異的疾患の出現説が提唱されている⁷⁾。しかし、疫学的な研究に

は膨大な費用と期間が必要とされる。今回、40 週間で加齢に伴う全身性エリテマトーデス様病態を雌特異的に再現する画期的なモデルマウスを用いてオープンシステムサイエンスをベースに新しい疾患発症説を提唱する。

[結論]

加齢に伴い雌特異的に全身性エリテマトーデス様病態に関与する老化因子を確認した。

[文献]

1. Alam J. et al. Biomed. Pharmacother. 92: 615 (2017)
2. Nishiura H. et al. J. Biol. Chem. 271(2): 878 (1996)
3. Nishiura H. et al. Int. Immunopharmacol. 10(12): 1541 (2010)
4. Nishiura H. et al. Immunobiology. 220(9): 1085 (2015)
5. Nishiura H. et al. Exp. Mol. Pathol. 97(2): 241 (2014)
6. Miyanishi M. et al. Int. Immunol. 24(9): 551 (2012)
7. Yokoshi N. et al. Phys. Rev. Lett. 118(20): 203601 (2017)

PIGT-PNH 患者における自己炎症メカニズムの解明 その 1 患者検体からの検討

村田 祥吾¹⁾²⁾、村上 良子¹⁾、大里 真幸子¹⁾³⁾、植田 康敬³⁾、西村 純一³⁾、
井上 徳光⁴⁾、川本 未知⁵⁾、幸原 伸夫⁵⁾、木下 タロウ¹⁾

¹⁾大阪大学微生物病研究所 難本難病解明寄附研究部門、²⁾和歌山県立医科大学 血液内科、
³⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、⁴⁾大阪国際がんセンター研究所 腫瘍免疫学部門、
⁵⁾神戸市立医療センター中央市民病院 神経内科

Elucidation of autoinflammatory mechanism in PIGT-PNH. Part 1, Studies with patient samples
Shogo Murata¹⁾²⁾, Yoshiko Murakami¹⁾, Makiko Osato¹⁾³⁾, Yasutaka Ueda³⁾, Jun-ichi Nishimura³⁾,
Norimitsu Inoue⁴⁾, Michi Kawamoto⁵⁾, Nobuo Kohara⁵⁾, and Taroh Kinoshita¹⁾

¹⁾Yabumoto Department of Intractable Disease Research, Research Institute for Microbial Disease,
Osaka University, ²⁾Department of Hematology/Oncology, Wakayama Medical University,
³⁾Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Osaka University,
⁴⁾Department of Tumor Immunology, Osaka International Cancer Institute,
⁵⁾Department of Neurology, Kobe City Medical Center General Hospital

[はじめに]

発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)は、通常、X染色体遺伝子である *PIGA* の体細胞突然変異により、GPI(グリコシルホスファチジルイノシトール)アンカーの生合成を欠損した造血幹細胞がクローン性に拡大し発症する(以後 *PIGA*-PNH と表記)。GPI アンカー型の補体制御因子である *DAF* と *CD59* の欠損による血管内容血、血栓ならびに GPI アンカー欠損クローン拡大に関与する骨髄不全を 3 主徴とする。一方、2013 年に 20 番染色体上の *PIGT* 遺伝子の生殖細胞性変異と体細胞変異に起因する PNH (以後 *PIGT*-PNH と表記)が報告され¹⁾、我々は本邦で診断した第 2 例目を以前報告した(第 52 回日本補体学会学術集会 2015)。2 症例とも *PIGA*-PNH に見られない強い炎症症状(発熱、関節痛、蕁麻疹、反復性の無菌性髄膜炎)が特徴的で、インフラマソームの活性化による自己炎症性疾患に類似していた。*PIGT* 変異では *PIGA* 変異と異なり、タンパク質付加のない

GPI(以後 free GPI と表記)が細胞膜表面に蓄積し、これを認識する T5 4E10 抗体を使った FACS 解析により確認することができる。また、炎症症状は抗 C5 抗体のエクリズマブ治療により改善を認めた。以上より、free GPI の蓄積と補体活性化に着目し、*PIGT*-PNH におけるインフラマソーム活性化メカニズムの解明を試みたので報告する。

[方法]

- 1) *PIGT*-PNH 患者、*PIGA*-PNH 患者、健常人の末梢血から密度勾配遠心分離法により単核球を分離した。
- 2) 1)で分離した単核球をインフラマソームの活性化に必要な以下の 1 次、2 次シグナル因子と 37°C でそれぞれ 4 時間、0.5-4 時間共培養し、刺激した。
1 次シグナル: Pam3CSK4, Staphylococcal lipoteichoic acid (LTA), 酸性化ヒト血清

2 次シグナル: ATP, Monosodium urate (MSU), 酸化ヒト血清

- 3) 2)で刺激後の上清を用いて、ELISA 法により単核球より分泌された IL-18 を測定した。
- 4) 2)で刺激後の上清ならびに単核球溶解産物を用いて、ウエスタンブロット法にて pro-IL-18、IL-18 を測定した。

[結果]

1) ELISA 法による解析

PIGT-PNH 患者において、Pam3CSK4 または LTA と ATP または MSU 刺激の組み合わせにより、PIGA-PNH 患者と比較し 45-60 倍の IL-18 発現の増加を認め、健常人と比較しても高値であった。一方で、酸化ヒト血清による刺激では、PIGT-PNH 患者で明らかな IL-18 発現の増加は認めなかった。また、PIGT-PNH 患者における IL-18 の発現は Pam3CSK4 の濃度依存性の増加を認めた。

2) ウエスタンブロット法による解析

PIGT-PNH 患者では、健常人と比較し IL-18 の発現は増加しており、Pam3CSK4 濃度依存性の変化を認めた。

[考察]

PIGA 変異と PIGT 変異では細胞表面の補体制御因子をはじめとする GPI アンカー型タンパク質が欠損している点は共通しているが、生化学的な異常には大きな違いがある。PIGA は GPI 生合成の最初のステップに関与する因子なので、PIGA 変異細胞では、GPI 生合成は全く起こらない。一方、PIGT は GPI をタンパク質に付加するステップに働くため、PIGT 変異細胞では、合成された GPI が使われずに free GPI として蓄積する²⁾。PIGT-PNH 患者における特異的な炎症症状の原因として、この異常蓄積した free GPI の関与が疑われる。実際 PIGT-PNH 患者の単球は、インフラマソームの刺激

により PIGA-PNH 患者の単球の 50 倍以上の IL-1 β の分泌を認めた。Pam3CSK4、LTA はいずれも Toll like receptor 2 (TLR2) のリガンドであり、その刺激には GPI アンカー型タンパク質である CD14 を必要とする³⁾。よって、PIGT-PNH 患者の単球には CD14 欠損の影響を乗り越える刺激が入っていることになり、何らかの因子が PIGT-PNH 患者の TLR2 の感受性亢進ならびにインフラマソームの易活性化に寄与していることが示唆される。その因子が異常蓄積した free GPI であるのか、もしくは全く別の因子であるのかを、今後明らかにしていくことが課題である。

今回の解析では、酸化ヒト血清刺激によるインフラマソーム活性化の証拠は得られなかった。しかし、抗 C5 抗体であるエクリズマブにより PIGT-PNH 患者の炎症症状が改善していることから、補体の活性化が炎症に関与していることは明らかであり、さらなる詳細な検討を要する。

[結論]

PIGT-PNH 患者に見られる特徴的な炎症症状の背景にはインフラマソームの活性化が関与していると考えられる。インフラマソーム活性化の要因としては、free GPI の蓄積や補体活性化が挙げられるが、今後さらに詳細な検討を行い、明らかにしていく必要がある。

[文献]

- 1) Krawitz PM et al. *Blood*. 122(7):1312 (2013)
- 2) Kinoshita T et al. *J Biochem*. 144(3):287 (2008)
- 3) Lee et al. *Nat. rev. immunol* 12(3):168 (2012)

PIGT-PNH 患者における自己炎症メカニズムの解明

その2 ヒト単球細胞株での解析

大里 真幸子¹⁾、村上 良子²⁾、村田 祥吾²⁾、植田 康敬¹⁾、西村 純一¹⁾、金倉 譲¹⁾、木下 タロウ²⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、²⁾大阪大学微生物病研究所 免疫不全疾患研究分野

Elucidation of autoinflammatory mechanism in PIGT-PNH.

Part 2, Studies with human monocyte cell lines

Makiko Osato¹⁾, Yoshiko Murakami²⁾, Shogo Murata²⁾, Yasutaka Ueda¹⁾, Jun-Ichi Nishimura¹⁾,
Yuzuru Kanakura¹⁾, and Taroh Kinoshita²⁾

¹⁾Department of Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine,

²⁾Research Institute for Microbial Disease and World Premier International Immunology

Frontier Research Center, Osaka University

[はじめに]

発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)は造血幹細胞のPIGA遺伝子の突然変異により発症する血液疾患で溶血発作を主症状とする。最近PIGTを原因遺伝子とするPIGT-PNHが報告され¹⁾、PIGA-PNHに見られない長期間持続する炎症症状が特徴的である。この症状の違いは、PIGA欠損ではGPI合成の最初のステップで止まるのに対し、PIGTは前駆タンパク質にGPIアンカーを付加する反応に関わるのでその欠損では蓄積したタンパク質の付かないGPIアンカー(free GPI)が細胞表面に発現しており、補体活性化と共にインフラマソームの活性化をきたし炎症を呈していると考えた。本研究では、その機序をヒト単球細胞株THP-1のPIGT欠損株、コントロールとしてPIGA欠損株を用いて解析した。

[方法]

ヒト単球細胞株THP-1のPIGT欠損株、コントロールとしてPIGA欠損株をCRISPR/Cas9の系を

用いて作製し、それぞれcDNAでレスキューした細胞を作製した。

これら細胞をPMA(Phorbol12-myristate13-acetate)でマクロファージに分化させた。インフラマソームの活性化によるIL-18等のサイトカインの分泌には、NF- κ Bを活性化してサイトカイン前駆体(pro-IL-18)や不活性型NLRP3等の転写・翻訳を誘導するプライミングシグナル(1stシグナル)と、pro-IL-18等を切断して分泌させる活性化シグナル(2ndシグナル)が必要である。これらの細胞に活性化補体源として酸性化血清を単独で、あるいはPam₃CSK₄による1stシグナルと共に、あるいはATPによる2ndシグナルと共に与え37°Cで5時間培養した。IL-18の培養液中の濃度をELISAにて測定した。またReal-time PCRを用いて、IL-18とNLRP3のmRNA発現量を測定した。

[結果]

酸性化血清による単独刺激のPIGT欠損株では培

養液中の IL-18 が有意に高値を示し、PIGA 欠損株の約 2 倍、野生株の約 50 倍であった。この増加は血清を熱処理、あるいは抗 C5 モノクローナル抗体添加により抑制された。これらの細胞株にそれぞれ PIGT、PIGA 遺伝子を戻すと、培養液中の IL-18 は野生株同様低値となった。Pam₃CSK₄による 1st シグナルと共に、あるいは ATP による 2nd シグナルと共に酸性化血清を加えた場合も同様の傾向が見られた。Real-time PCR では、PMA 刺激のみで野生株、PIGT 欠損株、PIGA 欠損株、これらのレスキュー株で pro-IL-18、NLRP3 の mRNA が発現するが、さらに酸性化血清による単独刺激を加えても、それぞれの細胞株での pro-IL-18 と NLRP3 の mRNA 発現量は、同程度であった。

[考察]

活性化補体源である酸性化血清の単独刺激により PIGT 欠損株で IL-18 が高値を示し、これは血清の熱処理で抑制されたことから、インフラマソームの活性化への補体の関与が示唆された。PIGT 欠損株と PIGA 欠損株では、共に GPI アンカー型タンパク質である補体制御因子の欠損により、酸性化血清の添加で補体の活性化が起こると考えられるが、PIGT 欠損株がより高い IL-18 を示したことから、PIGT 欠損株のみで発現している free GPI の関与が示唆された。抗 C5 モノクローナル抗体を酸性化血清に添加したところ、PIGT 欠損株における培養液中の IL-18 は抑制されたことから C5 以降の補体の活性化が関与していることが示唆された。C5a の添加では酸性化血清を置き換えることはできず、C5a 受容体アンタゴニストの添加では IL-18 を抑制できなかったことから C5a 受容体からのシグナルの関与は少ないと考えられ、むしろ後期の MAC の

関与が示唆される。

Real-time PCR では、野生株、PIGT 欠損株、PIGT レスキュー株における IL-18 と NLRP3 の mRNA 発現量は、同程度であったことから 1st シグナルは、同程度に入っていると考えられるが、培養液中の IL-18 が PIGT 欠損株で高値を示したことから free GPI は少なくとも 2nd シグナルを促進していると考えられる。今後そのメカニズムについて解析を進める予定である。

[結論]

PIGT 欠損株における IL-18 誘導には、free GPI と補体活性化の関与が示唆された。1st シグナルにおける IL-18 の mRNA 発現量が野生株と同程度であったことから、free GPI は少なくとも 2nd シグナルに関与していると考えられる。

[文献]

- 1) Krawitz PM et al. Blood. 122(7): 1312 (2013)

発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療におけるエクリズマブ時代の新たな課題

植田 康敬、高森 弘之、大里 真幸子、西村 純一、金倉 謙
大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

Emerging issues in the era of eculizumab treatment with PNH: an institutional experience and review
Yasutaka Ueda, Hiroyuki Takamori, Makiko Osato, Jun-ichi Nishimura and Yuzuru Kanakura
Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine

[はじめに]

抗 C5 抗体であるエクリズマブは、補体介在性血管内溶血に起因する貧血ならびに血栓症等の諸症状を改善し、発作性夜行性ヘモグロビン尿症 (PNH) 患者の予後を劇的に改善した。エクリズマブは非常に効果的な薬剤であるが、これまでに見落とされていたさまざまな課題も明らかとなった。我々は日本での AEGIS 臨床試験開始以来 8 年間の自験例をレビューし、エクリズマブ治療下での新たな課題を検討した。

[方法]

2008 年に行われた日本でのエクリズマブ臨床試験 (AEGIS) ¹⁾以来、大阪大学医学部附属病院でエクリズマブによる治療を継続している患者をレビューし、エクリズマブ開始後の問題点について検討した。

[結果]

PNH 患者 27 症例中 13 例がエクリズマブ投与を受けており、投与期間の中央値は約 80 ヶ月であった。(血管外溶血) エクリズマブ投与症例のうち 3 例では貧血の改善が十分でなく、血清 LDH が施設基準値を上回っており、網状赤血球の増加と間接ビリルビンの上昇が認められた。(不応例) 46 歳男性は C5 の

遺伝子多型 (c. 2654G>A) が原因でエクリズマブに不応であった ²⁾。(妊娠例) 35 歳女性は、エクリズマブ投与下に安全に出産を経験した。(自己免疫疾患の顕在化) 49 歳男性は、エクリズマブ投与によりステロイド投与が中止可能となったが、同時に潰瘍性大腸炎が顕在化した。(寛解例) 54 歳男性の顆粒球における PNH クローンサイズは、エクリズマブ投与下で 79.40%から 0.04%まで減少し、エクリズマブの中止に成功した。

[考察]

エクリズマブは溶血を阻止することで PNH 患者の生活の質を著しく改善したが、骨髄不全を含む以前は見落とされていた諸問題も顕在化させた。

[結論]

エクリズマブ投与により貧血と溶血に伴う諸症状は改善するが、新たに出現した諸問題については個別の対応を要する。

[文献]

- 1) Kanakura Y. et al. *Int. J. Hematol.* 98(4):406 (2013)
- 2) Nishimura J. et al. *N. Engl. J. Med.* 370(7):632 (2014)

遺伝性血管性浮腫患者の抜歯時における乾燥濃縮人C1インアクチベーター製剤の急性発作の発症抑制効果の検討

藤本 翔¹⁾、三苫 弘喜¹⁾、塚本 浩²⁾、中野 翔太¹⁾、村上 哲晋¹⁾、綾野 雅宏¹⁾、赤星 光輝¹⁾、有信 洋二郎²⁾、新納 宏昭、赤司 浩一²⁾、堀内 孝彦⁴⁾

¹⁾九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、²⁾九州大学医学研究院 病態修復内科学、

³⁾九州大学医学研究院 医学教育学、⁴⁾九州大学病院別府病院 内科

Analysis of effects of purified C1 esterase inhibitor on prevention of acute attacks at tooth extraction in patients with hereditary angioedema.

Sho Fujimoto¹⁾, Hiroki Mitoma¹⁾, Hiroshi Tsukamoto²⁾, Tesshin Murakami¹⁾, Ayano Masahiro²⁾, Akahoshi Mitsuteru¹⁾, Yojiro Arinobu²⁾, Hiroaki Niiro³⁾, Koichi Akashi²⁾, and Takahiko Horiuchi⁴⁾

¹⁾ Department of Clinical Immunology and Rheumatology / Infectious Disease, Kyushu University Hospital,

²⁾ Department of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences,

³⁾ Department of Medical Education Faculty of Medical Sciences, Kyushu University,

⁴⁾ Department of Internal Medicine, Kyushu University Beppu Hospital

[はじめに]

乾燥濃縮人C1インアクチベーター製剤(ベリナート®)(以下C1-INH製剤)が侵襲を伴う処置による遺伝性血管性浮腫(以下HAE)の急性発作の発症抑制に対して、2017年3月に本邦で初めて適応が承認された。それに伴い当院ではHAE患者が侵襲的処置を受ける場合にはC1-INH製剤の予防投与を行っている。当施設では承認以降、HAE患者3症例で抜歯に際してC1-INH製剤を予防投与した。その効果について文献的考察を踏まえ報告する。

[方法と結果]

(症例1)

49歳女性。高度の慢性歯周炎があり、近医歯科に通院していた。非侵襲的歯科処置時に口腔内浮腫を繰り返し、HAEを疑われ九州大学病院別府病院を紹介となった。C4低値、C1-INHの活性は25%以下と

低下しており、C1-INHの遺伝子変異を認め、I型HAEと診断した。トラネキサム酸の内服を開始したが、非侵襲的歯科治療後にも口腔内の発作を繰り返した。また腹痛や手の腫脹などの発作も数ヶ月に一度あり、C1-INH製剤投与を受けていた。慢性歯周炎の進行に伴って5本抜歯が必要と判断され、近医歯科より当院全身管理歯科へ紹介となった。抜歯1時間前にC1-INH製剤1500単位点滴静注を行い、精神的ストレスを軽減する目的で静脈麻酔下に抜歯を行った。抜歯時、抜歯後に口腔内、咽頭喉頭浮腫は認めず、他の急性発作も認めなかった。

(症例2)

20歳男性。15歳時に腹痛、嘔吐を繰り返し、母(症例1)がI型HAEであったため同疾患を疑われた。C1-INH活性低下があり、母と同じ部位に遺伝子変異を認め、I型HAEと診断した。発作の頻度は数年に1回と多くはなかった。智歯周囲炎のため智歯4

本の抜歯が必要であり、健常者も口腔内の腫脹をきたす侵襲の高い処置が予定された。治療 1 時間前に C1-INH 製剤 1500 単位の点滴を行い、静脈麻酔下に智歯 4 本を抜歯した。抜歯時、抜歯後に口腔内、咽頭喉頭浮腫は生じなかった。C1-INH 製剤に伴う有害事象も認めなかった。

(症例 3)

12 歳時に繰り返す腹痛発作で精査され、I 型 HAE と診断された。トラネキサム酸、ダナゾールの定期内服を行っているが、2~3 ヶ月に一度腹痛発作で C1-INH 製剤 1000 単位を静注していた。歯牙欠損による抜歯のため、当院全身管理歯科に紹介となった。抜歯 1 時間前に C1-INH 製剤 1500 単位を静注した。術後口腔内浮腫、腹痛発作を起こすことなく治療ができた。

[考察]

侵襲的歯科治療は機械的刺激と精神的ストレスが誘引となり、口腔内や咽頭喉頭浮腫をきたす。特に喉頭浮腫は窒息に至ることがあり、歯科治療を受ける HAE 患者にとって致命的となりうる病態である。Landerman らは、HAE 患者 358 例中 119 例(33%)は浮腫発作が原因で死亡しており、そのうち 92 例が喉頭浮腫による窒息死で、刺激を受けてから数時間から 24 時間後に発現すると報告している²⁾。Bork らは歯科治療時の C1-INH 製剤による短期的予防に

ついて検討し、非予防群は 577 例中 124 例(21.5%)で浮腫が出現したのに対し、予防群は 128 例中 16 例(12.5%)と有意に急性発作を予防できたと報告している²⁾。今回提示した 3 症例でも C1-INH 製剤の予防投与により、歯科治療を安全に施行できた。また症例 1, 2 は精神的ストレスを軽減するため、静脈麻酔下に抜歯を行った。急性発作の高リスク群では C1-INH 製剤の予防投与に加えて、静脈麻酔による精神的ストレスの回避も発作の発症抑制には有用である可能性が示された。

[結論]

C1-INH 製剤の予防投与は侵襲的治療を受ける HAE 患者に対して、急性発作の抑制に有効な手段と考えられる。

[利益相反]

筆者は、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) Landerman NS et al. J Allergy. 33:316 (1962)
- 2) Bork K et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 112:58 (2011)

補体活性化による腫瘍の分子標的治療薬の開発

太田 里永子¹⁾、葛島 清隆¹⁾、藤田 禎三²⁾、岡田 秀親³⁾、今井 優樹⁴⁾

¹⁾愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫学部、²⁾福島県立総合衛生学院、³⁾㈱蛋白科学研究所、

⁴⁾名古屋市立大学大学院医学系研究科 免疫学

Enhancement of complement-dependent mechanisms of tumor cell lysis by targeted bispecific antibodies.

Rieko Ohta¹⁾, Kazuhiko Kuwahara¹⁾, Fujita Teizo²⁾, Okada Hidechika³⁾, Kiyotaka Kuzushima¹⁾, and Masaki Imai⁴⁾

¹⁾ Division of Immunology, Aichi Cancer Center Research Institute,

²⁾ Fukushima Prefectural General Hygiene Institute, ³⁾ Institute for Protein Science Co.,

⁴⁾ Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

[はじめに]

近年、癌細胞特異的な分子の機能や発現を制御する分子標的治療薬が新規癌治療薬として使用されるようになった。分子標的治療薬の代表的な物としてヒト型抗体がすでに医薬品として認可されている。抗体医薬品は抗原特異性及び親和性が高く、本来生体内に存在するため無毒で副作用が少ないのが特徴である。また、多種多様な抗原に対して高親和性持ったための技術や、遺伝子組み換え技術の進歩により、多様なターゲットにも対応でき、テーラーメイド的な医薬品としても期待されている。

補体系は、血清中の 30 種類以上の蛋白で構成され、補体活性化より、膜障害複合体形成やオプソニン化により病原体を排除する。通常、正常細胞においては細胞膜上の補体制御膜因子 CD55 (DAF) 及び CD59 が発現しており、自己補体の攻撃から守っている。腫瘍細胞においては、これらの補体制御膜因子が過剰に発現しているため、腫瘍が免疫監視機構からエスケープできる原因の一つである。そこで、腫瘍細胞上の補体制御膜因子の機能を阻害する目的で、補体制御因子を制御する機能を持った抗体と、大腸癌、前立腺癌、乳癌など多くの癌においてもその過剰発現している腫瘍抗原 MUC1^{1,2)}に対する抗

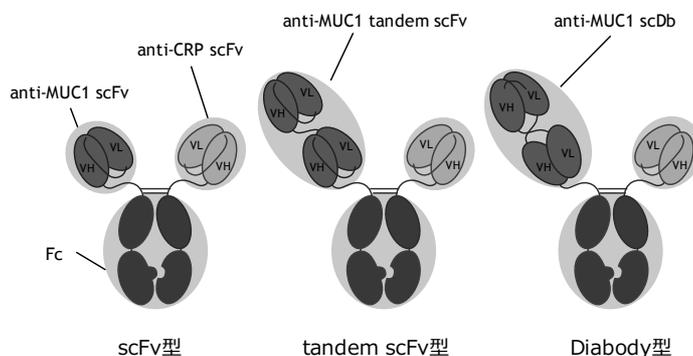
体を組み合わせた二重特異性抗体を作製することを試みた。

[方法]

ヒト CD55 及びヒト CD59 の機能を阻害する抗体と、MUC1 を認識する抗体を産生する抗体産生細胞より、それぞれ抗体遺伝子をクローニングし、単鎖可変領域 scFv を設計後、Knobs-into-holes technology³⁾を用いて、二重特異性抗体を作製した(図1)。作製した抗体の反応性はフローサイトメトリーを用いた蛍光抗体法により行った。

図 1. Knob-into-Hole による二重特異抗体

抗 MUC1scFv 部位は、一価の場合、結合が弱いので、tandem scFv 及び Diabody 型にしたものを作成した。



[結果]

MUC1 分子に対する単鎖抗体を発現するベクターを、CHO 細胞又は COS7 細胞に導入して抗 MUC1 単鎖抗体 (anti-MUC1 scFv) を作成した。MUC1 発現 CHO 細胞を用いて、MUC1 に対する結合性をフローサイトメーター法で確認したところ、scFv (一価) では、腫瘍細胞に対して親和性が弱く、腫瘍を標的化するには結合力を改善する必要があることが明らかになった。そこで、抗 MUC1 scFv 部位を二価型にする条件検討を行った。Diabody 型、及び tandem scFv 型の 2 種類作成し、フローサイトメーター及び ELISA 法により、結合性を確認したところ、どちらのフォームもワイルドタイプの抗体と同等の結合力を持っていることが確認できた。

そこで、二価型の抗 MUC1 結合部位を用いて、抗補体制御膜因子抗体を組み合わせた二重特異性抗体を作成した。作製した二重特異性抗体の抗原に対する反応性を検討したところ、補体制御膜因子と MUC1 の両方に反応することが確認できた。また、腫瘍細胞に、抗 MUC1 抗体又は抗補体制御膜因子抗体を作用させておくと、この二重特異性抗体が反応できないことから、この二重特異性抗体のエピトープは、元の抗体と同じであることが確認できた。

次に、補体制御膜因子を発現させた CHO 細胞と、MUC1 を発現させた CHO 細胞を混ぜ、この二重特異抗体で処理すると、細胞の結合形成が検出できた。一方、抗補体制御膜因子抗体と、抗 MUC1 抗体を同時に加え、処理した場合、細胞の結合形成は検出できなかった。このことから、今回作成した二重特異性抗体は、1 つの分子の中に、補体制御膜因子に結合する部分と、MUC1 に結合する部分を持っていることが確認できた。

[考察]

Knobs-into-holes technology を用いて、抗 MUC1 抗体と抗補体制御膜因子抗体の二重特異性抗体を作成した。今後、種々の腫瘍細胞株を用いて、腫瘍細胞上で補体活性化が十分に起こせるかどうかを検討する予定である。

[文献]

- 1) Acres B et al. *Expert Rev Vaccines*. 4, 493 (2005)
- 2) Burke PA et al. *Int J Oncol*. 29, 49 (2006)
- 3) Xie Z et al. *J Immunol Methods*. 296, 95 (2005)

補体レクチン経路と第二経路を標的とする新規抗補体薬 sMAP-fH の開発

高住 美香¹⁾、高橋 実¹⁾、大森 智子¹⁾、町田 豪¹⁾、石田 由美¹⁾、関根 英治¹⁾

¹⁾福島県立医科大学 医学部 免疫学講座

A novel complement inhibitor sMAP-fH targeting of the lectin and alternative complement pathways.

Mika Takasumi¹⁾, Minoru Takahashi¹⁾, Tomoko Omori¹⁾,

Takeshi Machida¹⁾, Yumi Ishida¹⁾, and Hideharu Sekine¹⁾

¹⁾ Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine

[はじめに]

補体系は異物としての微生物に対して、古典経路・レクチン経路・第二経路のいずれかを通じて活性化し、炎症を通じて最終的に異物を排除する自然免疫機構であるが、傷害を受けて変性した自己の細胞に対しても作用することがある。これまでの報告によると、臓器の虚血・再灌流障害¹⁻⁴⁾や加齢黄斑変性⁵⁾では、老化や酸化ストレスなどで傷害を受けた細胞に対してレクチン経路とそれに接続する第二経路が活性化し、補体系が炎症のトリガーとして作用することが示唆されている。よって、それらの疾患に対する治療戦略として、レクチン経路と第二経路を標的とする補体活性化の制御が有効と考えられた。

[目的]

レクチン経路の活性化を負に制御する補体因子 small MBL-associated protein(sMAP)と、第二経路の活性化を制御する補体 H 因子 (fH)の一部を融合させた融合ポリペプチド sMAP-fH を創出し、レクチン経路と第二経路活性化の阻害作用を検証する。

[方法]

マウス肝細胞由来の cDNA より sMAP 全長と fH の SCR1-5 をコードする領域をリンカー配列 (GGGG)₄ で融合する遺伝子を PCR クローニングし、C 末端側に PA タグが付加される発現ベクター

へ組み込んだ後、CHO 細胞へトランスフェクションし融合タンパク質を産生した。タンパク精製は PA タグビースを用いた。

sMAP-fH との比較対照として、同様の方法で C 末端側に PA タグを付加した sMAP を作製した。

in vitro での機能解析方法として、マンナンコートプレートを用いた C3 deposition assay と Flow cytometry による Zymosan assay を用い、レクチン経路と第二経路の阻害効果を測定した。また、*in vivo* での補体阻害作用を検証するため、sMAP-fH (500 μ g) をマウスへ腹腔内投与後に経時的 (1 時間、2 時間、4 時間、8 時間、24 時間) に眼窩静脈叢から採血し、その血清を用いてマンナンコートプレートを用いた C4 deposition assay と Flow cytometry を用いた Zymosan assay を行い、*in vivo* におけるレクチン経路と第二経路の阻害効果を測定した。また、同時に抗 PA 抗体を用いた ELISA にて血中濃度を測定した。

[結果]

in vitro での実験では、sMAP-fH は濃度依存的にマンナンコートプレートへの C3 deposition と (図 1)、Zymosan への C3 deposition を抑制し、その効果は sMAP 単独よりも強力であった。腹腔内投与後の血清中 sMAP-fH 濃度のカイネティクス解析では、投与 2 時間で最高濃度に達し、その後 48 時間で血清中からはほぼクリアランスされた (図 2)。腹腔内投与後

の血清を用いて *in vivo* でのレクチン経路と第二経路の阻害活性を測定した実験では、sMAP-fH の血清中濃度に相関してマンナンコートプレート上への C4 deposition(図 3)と、Zymosan への C3 deposition が抑制された。

[考察]

以上の結果から、sMAP-fH はレクチン経路と第二経路の活性化を阻害する作用を有していた。マンナンコートプレートを用いた C3 deposition assay では、sMAP 単独よりも強力に C3 deposition を抑制したことから、sMAP-fH は sMAP 部分がレクチン経路の活性化を抑制することに加えて、fH 部分が第二経路の活性化を抑制することで、より効率的に補体活性化を阻害していると考えられた。

[結論]

レクチン経路と第二経路の阻害作用を有する sMAP-fH は、それらの補体経路の活性化が病態に關与する疾患に対する抗補体薬として有望である。

[利益相反]

本研究は、株式会社キュラディムファーマとの共同研究により行われている。

[文献]

- 1) Hart ML, Ceonzo KA, Shaffer LA, et al. J Immunol, 174:6373-6380, 2005.
- 2) Morrison H, Frye J, Davis-Gorman G, et al. Curr Neurovasc Res, 8:52-63, 2011.
- 3) Jordan JE, Montalto MC, Stahl GL. Circulation, 104:1413-1418, 2001.
- 4) Chan RK, Ibrahim SI, Takahashi K, et al. J Immunol, 177:8080-8085, 2006.
- 5) Joseph K, Kulik L, Coughlin B, et al. J Biol Chem, 288:12753-12765, 2013.

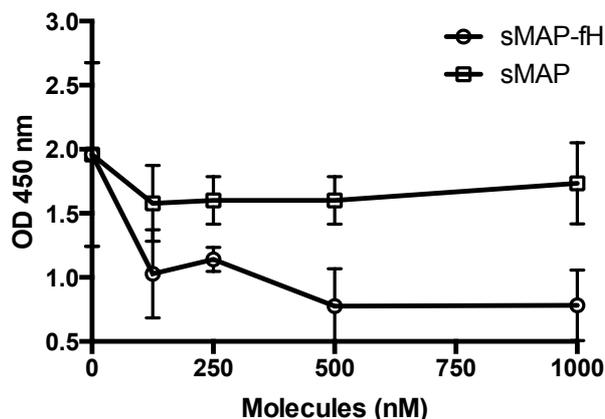


図 1 *in vitro* でのマンナンコートプレートを用いた C3 deposition assay

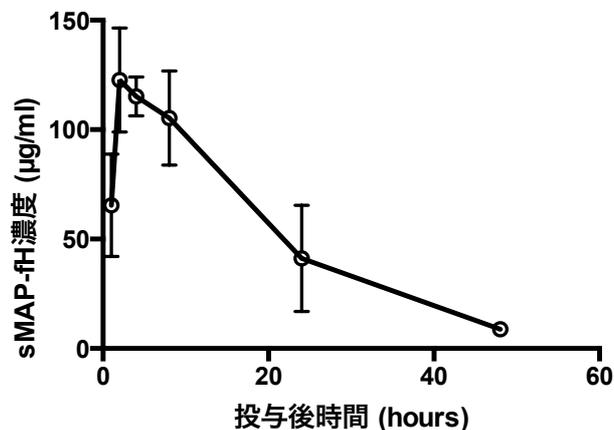


図 2 sMAP-fH 腹腔内投与後の血中濃度

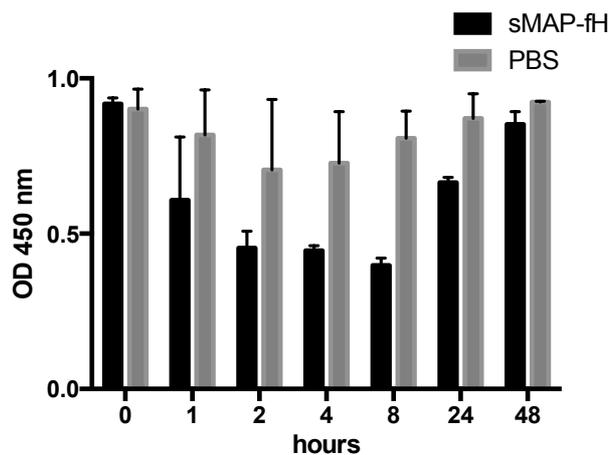


図 3 sMAP-fH 腹腔内投与後の血清を用いたマンナンコートプレートによる C4 deposition assay

コイ補体 Properdin アイソタイプの機能解析

黒木 将武、吉岡 和紀、長澤 貴宏、杣本 智軌、中尾 実樹

九州大学大学院農学研究院

Functional analysis of complement properdin isotypes in the common carp.

Shobu Kuroki, Kazuki Yoshioka, Takahiro Nagasawa, Tomonori Somamoto, and Miki Nakao

Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

[はじめに]

Properdin は、C3 の活性化型 (C3b) に結合して第二経路の活性化を正に制御する因子として知られている。その進化的な起源は硬骨魚類にまで遡ることができる。特にニジマスやコイでは複数の properdin アイソタイプが同定されているが、その機能分化は未解明である。そこで本研究では、コイで同定された2種の properdin アイソタイプ (CaPf1, CaPf2) の、コイの主要な C3 アイソタイプ (C3-H1, C3-S) との相互作用および各種微生物に対する直接的・間接的な結合能を解析・比較した。

[方法]

コイ血清より精製した主要な C3 アイソタイプ (C3-H1, C3-S) を、0.1 M hydrazine で処理して C3b 様の C3i-H1, C3i-S に変換後、Activated Thiol-Sepharose (ATS) に固定化した。これらを、小型シリンジを利用したカラムに充填した。また、iodoacetamide でブロックした ATS を充填した mock カラムも作成した。これらカラムを PBS で平衡化後、コイ血清より精製した properdin (CaPf1 と CaPf2 の混合物) を負荷し、PBS で溶出した。溶出液を 50 μ L ずつ分取し、抗 CaPf1 および抗 CaPf2 抗体を用いたウエスタンブロットに供試した。

一方、コイ血清および精製コイ properdin を Mg-EGTA 存在下で、パン酵母、*Edwardsiella tarda*、黄色ブドウ球菌、大腸菌、*Aeromonas hydrophila*、および *A. salmonicida* とインキュベート・洗浄後、結合した CaPf1 および CaPf2 をウエスタンブロットティングで検出した。

[結果]

(1) C3 アイソタイプとの相互作用 : mock カラムと C3i-H1 カラムと比較して、CaPf1, CaPf2 の C3i-S カラムからの溶出に遅れが認められ、両 Pf アイソタイプが C3i-S アイソタイプと選択的に相互作用することが示唆された。(2) 微生物との結合特異性:コイ血清を上記微生物とインキュベートすると、CaPf1 は供試したすべての微生物と結合したが、CaPf2 の結合は、*S. aureus* と *S. salmonicida* に対してのみ認められた。一方、精製 CaPf1、CaPf2 はいずれの微生物に対しても全く結合性を示さなかった。

[考察]

CaPf1 と CaPf2 の間で、C3 アイソタイプに対する結合性の違いは認められなかった。しかし、血清中では、両アイソタイプは微生物に対して異なる結合

スペクトルにを占めた点は興味深い。また、精製 properdin は直接微生物には結合しなかったことから、哺乳類で提唱された補体活性化の Properdin-Directed Pathway²⁾は、少なくとも魚類では機能していないと考えられる。

[文献]

- 1) Nakao M. et al. *Eur. J. Immunol.* 30: 858 (2000)
- 2) Kemper C. and Hourcade D.E. *Mol. Immunol.* 45: 4048 (2008)

コイ補体 C7 アイソタイプの機能解析

野口 真代、長沢 貴宏、柚本 智軌、中尾 実樹

九州大学大学院農学研究院

Functional analysis of C7 isotypes in carp complement.

Mayo Noguchi, Takahiro Nagasawa, Tomonori Somamoto, and Miki Nakao

Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

[はじめに]

C7は分子量約11万の血清タンパク質で、標的細胞の細胞膜を破壊する膜侵襲複合体(MAC)を形成する補体成分の一つである。硬骨魚類のC7には2種のアイソタイプが存在することが報告されているが^{1,2)}、これらの機能的な違いはほとんどわかっていない。そこで、硬骨魚類におけるC7アイソタイプ間の機能の違いをタンパク質レベルで解明することを目指して、コイC7アイソタイプ(C7-1、C7-2)に対する特異抗体を作成し、MACやSMAC形成への関与について調べた。

[方法]

コイC7-1、C7-2アイソタイプのC末端に位置するFIMAC-1,2ドメインをpGEX-4T-1ベクターを用いて、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)との融合タンパク質として発現させ、免疫原として用いてラットを免疫した。得られた抗血清をGST固定化カラムに通して抗GST抗体を吸収除去し、各C7アイソタイプに対する特異抗体を作成した。コイの正常血清とzymosan処理血清をSuperdex 200カラムで分画し、各フラクションを抗C7-1および抗C7-2を用いたウェスタンブロットに供試し、補体活性化後のC7アイソタイプの可溶性MAC(SMAC)形成への関与を調べた。またウサギ赤血球をコイ血清によって溶血させて調製した赤血球膜

ゴーストから、デオキシコール酸ナトリウム(DOC)でMACを抽出し³⁾、DOC存在下でSuperose 6カラムで精製後、同様なウェスタンブロットニングに供試して各C7アイソタイプのMACへの取込みを調べた。さらに、各アイソタイプに対する特異抗体による、コイ補体の溶血活性に対する阻害効果を検討した。

[結果]

zymosan処理によって補体を活性化させると、血清中のC7-1とC7-2は2% SDSでは解離しないほどの強固に凝集した高分子複合体として検出された。この複合体がSMACであると予測され、両C7アイソタイプはSMAC形成に関与すると考えられる。一方、標的細胞に形成されたMACからは、C7-2のみが検出された。またコイ正常血清中で、C7-1は単量体として存在しているのに対し、C7-2は二量体を形成していることがわかった。さらに溶血活性の阻害実験では抗C7-2によってのみ溶血活性の阻害が認められた。

[考察]

コイ正常血清中にはC7-1およびC7-2アイソタイプが存在しているが、少なくともMAC形成による異種赤血球の細胞溶解には、C7-2アイソタイプが選択的に関与すると考えられる。

[考察]

- 1) Papanastasiou A. D. and Zarkadis I. K.
Immunogenetics 57: 703 (2005)
- 2) Wang S. et al. *Fish Shellfish Immunol.* 45:
672 (2015)
- 3) Nakao M et al. *Mol. Immunol.* 33: 933 (1996)

小児期発症 C3 腎症における予後不良因子の解析

川崎 幸彦、前田 亮、大原 信一郎、陶山 和秀、細矢 光亮
福島県立医科大学 医学部 小児科

Predictive factors for poor outcome in pediatric C3 glomerulonephritis.

Yukihiko Kawasaki, Ryo Maeda, Shinichiro Ohara, Kazuhide Suyama, Mitsuaki Hosoya
Department of Pediatrics, Fukushima Medical University School of Medicine

[はじめに]

近年、補体第2経路異常に起因する新たな C3 腎炎(本症)が提唱されており、MPGN と比較して腎炎が遷延化しやすく予後不良例が多いことが示されている¹。

我々は本症の予後不良因子を明らかにするために本症の臨床症状、病理組織像、治療反応性と予後との関連性を解析した。

[方法]

1975 年から 2010 年まで当科にて腎生検を施行した 1832 例中本症と診断した 18 症例を ESRD 群と非 ESRD 群に分け、さらに非 ESRD 群を治療反応良好群と不良群に細分類し、各群間で発見動機、臨床症状、免疫染色を含めた病理組織像や治療反応性を比較検討した。

[結果]

1. ESRD 群は 4 症例認められ、非 ESRD 群と比較して発症時ネフローゼ状態を呈する症例が多かった。

2. ESRD 群では、発症時一日蛋白尿量が多く、腎機能低下例や腎生検での急性・慢性指数が高値である例が多くみられた。

3. 非 ESRD 群では治療反応不良群で発症時一日蛋白尿量が多く、血清アルブミン値が低値であった。

[考察]

本症の予後推測因子として初発時の腎炎の活動性が高いことや治療にても低補体血症が持続し活動性腎炎が持続することなどが挙げられた。

[文献]

1. Kawasaki Y, Ohara S, Suyama K, Hosoya M. Differences in clinical findings, pathology, and outcomes between C3 glomerulonephritis and MPGN. *Pediatric Nephrology* 2016, 31, 1091 – 1099.

[利益相反]

筆者は、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。

小児の膜性増殖性糸球体腎炎, C3腎症患者におけるC3腎炎因子測定を試み

澤井 俊宏¹⁾, 奥田 雄介¹⁾²⁾

¹⁾滋賀医科大学 小児科

²⁾Division of Nephrology and Hypertension, University of California, Irvine

Analysis of serum C3 nephritic factor in children with membranoproliferative glomerulonephritis and C3 glomerulopathy.

Toshihiro Sawai¹⁾, Yusuke Okuda¹⁾²⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Shiga University of Medical Science

²⁾Division of Nephrology and Hypertension, University of California, Irvine

[はじめに]

膜性増殖性糸球体腎炎(Membranoproliferative glomerulonephritis, MPGN)はメサングウム細胞・基質の増加, 糸球体糸球体の肥厚と二重化を病理組織学的な特徴とする慢性腎炎症候群である。今日に至っても確立した治療法はなく, 末期腎不全に陥ることも少なくない。血液検査では低補体血症が特徴的で, 1960年代には腎炎と低補体血症の関連が報告され, Spitzer らが代替経路を持続的に活性化させるC3腎炎因子(C3 Nephritic factor, C3NeF)を報告した¹⁾。C3NeFはC3bBbに結合して安定化させ, C3転換酵素としての活性を持続させる働きが知られている。この結果, 過剰のC3bが産生されMPGNの発症に関与すると考えられている。近年, 従来はMPGNと診断されてきた症例の中に, 蛍光抗体法で免疫グロブリンの沈着がなく, C3が有意に強く沈着する一群が報告され, C3腎症(C3 glomerulopathy, C3G)として新たな疾患群が確立された。C3Gは代替経路の制御異常によって発症すると考えられ, これまでの病理組織学的な分類にかわり, 病態生理に基づいた新たな分類として注目を集めている²⁾。

かつてMPGNと低補体血症, C3NeFの研究は精力的に行われたが³⁾, その後長く国内ではC3NeF測定が実施されていなかった。今回, 患者血清を用

いてC3NeF測定を試みたので報告する。

[方法]

腎生検でMPGNまたはC3Gと診断された18歳未満の小児例で, 滋賀医科大学小児科にC3NeFの測定依頼があった40例を対象とした。検体採取は原則として免疫抑制療法前に実施した。C3NeF測定はELISA法で行った⁴⁾。マイクロプレートに精製したC3bをコーティングし, 希釈した患者血清と精製B因子, D因子, プロパージンと反応させた。患者血清中にC3NeFが存在すればC3bBbが崩壊しにくいことを利用して, マウス抗ヒトBb抗体, HRP結合抗マウスIgG抗体で検出した。なお, 本研究は滋賀医科大学倫理委員会の承認を得て実施した。

[結果]

小児MPGN, C3G患者から得られた検体を用いて, C3NeFを測定した。これまでの検討では, 腎組織所見の重症度とC3NeFの有無について明らかな関連は認められなかった。今後は, MPGN, C3Gの臨床経過・治療反応性と腎組織所見・補体因子の関連を経時的に精査し, 診断や治療に有用な指標を見出したい。

[謝辞]

Dr. Rodríguez de Córdoba, Dr. López-Trascasa から C3NeF 陽性検体を供与された。本研究はアレクシオンファーマ、旭化成ファーマ、ノバルティスファーマからの研究助成を受けて実施した。

[利益相反]

開示基準に合致する利益相反はない。

[文献]

- 1) Roger E. Spitzer. et al. *Science* 164:436 (1969)
- 2) Matthew C Pickering. et al. *Kidney Int.* 84: 1079(2013)
- 3) 大井洋之. 日腎会誌, 54, 1006 (2012)
- 4) Danielle Paixão-Cavalcante. et al. *Kidney Int.* 82: 1084 (2012)

全ゲノム解析により *CFHR* 領域の新規融合遺伝子を認めた C3 腎症例

菅原 有佳¹⁾、加藤 秀樹¹⁾、藤澤 まどか¹⁾、吉田 瑤子¹⁾、内田 裕美子²⁾、
小亀 浩市²⁾、宮田 敏行²⁾、秋岡 祐子³⁾、三浦 健一郎³⁾、服部 元史³⁾、南学 正臣¹⁾

¹⁾東京大学医学部、²⁾国立循環器病研究センター、³⁾東京女子医科大学

Whole-genome sequencing revealed novel *CFHR* hybrid-gene in a familial case of C3 glomerulopathy.
Yuka Sugawara¹⁾, Hideki Kato¹⁾, Madoka Fujisawa¹⁾, Yoko Yoshida¹⁾, Yumiko Uchida²⁾, Koichi Kokame²⁾,
Toshiyuki Miyata²⁾, Yuko Akioka³⁾, Kenichiro Miura³⁾, Motoshi Hattori³⁾, Masaomi Nangaku¹⁾

¹⁾ The University of Tokyo School of Medicine, ²⁾ National Cerebral and Cardiovascular Center,

³⁾ Tokyo Women's Medical University School of Medicine

[はじめに]

昨今、C3 腎症の背景に補体制御異常があることが解明されつつある。原因として補体関連遺伝子の変異による先天性のものや、自己抗体による後天性のものなど様々なものがある。その中に complement factor H-related; *CFHR* 遺伝子の融合による先天性 C3 腎症があり、これまで 5 パターン 6 家系において報告されている¹⁻⁶⁾。今回、これまで報告がないパターンの *CFHR* 融合遺伝子をもつ C3 腎症家系を見出し、我々の検索した限りでは本邦における C3 腎症の *CFHR* 融合遺伝子の報告は本例が初めてであり、報告する。

[方法]

症例は、現時点では無症候性血尿を呈する 11 歳女兒。2 歳時より肉眼的血尿を認め、腎生検でメサンギウム増殖及びメサンギウム領域への C3 優位な沈着を認めた。患児の父及び父方叔母も腎生検で同様の所見を指摘され、現在は末期腎不全となり血液透析を受けている。3 名のうちいずれも C3 値の低下は認めなかった。妹及び母は、腎機能正常で尿所見異常は認めなかった。

患児、父、母、妹、父方叔母の血液検体と DNA を用いて、Sanger 法による補体関連遺伝子の解析、

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification; MLPA による *CFHR* gene 領域の DNA copy 数解析、Western blotting; WB による *CFHR* 蛋白分子量の検討を行った。患児の DNA 検体を用いて whole-exome sequencing; WES、血液透析中で血液検体採取が比較的容易である患児父の DNA 検体を用いて、whole-genome sequencing; WGS を行った。

[結果]

Sanger 法による補体関連遺伝子解析、WES では明らかな既知の補体関連遺伝子の原因変異は認めなかった。WB 法で血中 *CFHR1*~*5* 蛋白の分子量を検討したところ、罹患者において *CFHR1* 蛋白の分子量異常が示唆された。*CFH* および *CFHR* 遺伝子領域の MLPA では一部の *CFHR2* 遺伝子の heterozygous duplication を認めたため、*CFHR1* と *CFHR2* 遺伝子の融合変異を疑った。WGS を行い、discordant read pair と split read を用いて構造変異を検出するソフトウェア (Breakdancer-1.3.6) によって *CFHR2-CFHR1* の融合遺伝子の変異が疑われた。*CFHR2-CFHR1* 融合遺伝子特異的プライマーを用いて、罹患者のみに融合遺伝子が存在することを確認した。PCR 産物の direct sequence を行

い、融合部位の塩基配列を明らかにし、これまでに報告の無い *CFHR* 遺伝子領域の *rearrangement* であることを見出した。

[考察]

これまで C3 腎症で報告された融合遺伝子はいずれも *CFHR* 蛋白の N 末端が重複した構造を有し、N 末端が重複した変異 *CFHR* 蛋白が *CFH* と競合することで補体制御異常をきたし、C3 腎症を発症するという仮説が唱えられている⁷⁾。今回新規に見出した *CFHR2-CFHR1* 融合遺伝子も同様の特徴を認めた。本融合遺伝子はイントロン間での組み換えにより生じており、Sanger 法及び WES では検出できず、MLPA 及び WGS によって解明することが可能であった。MLPA 及び WGS が、遺伝性 C3 腎症における *CFHR* 領域の新しい *rearrangement* の検出に有用であり報告する。

[結論]

CFHR2-CFHR1 融合遺伝子という新たなパター

ンの融合遺伝子を家族性 C3 腎症の家系で見出した。C3 腎症における *CFHR* 遺伝子領域の融合遺伝子の報告は、本邦では初めてである。融合遺伝子の検出に、MLPA 及び WGS が有用と考えられた。

[文献]

- 1) Gale DP. et al. Lancet. 376: 794-801 (2010)
- 2) Malik TH. et al. J. Am. Soc. Nephrol. 23: 1155-60 (2012)
- 3) Tortajada A. et al. J. Clin. Invest. 123: 2434-64 (2014)
- 4) Chen Q. et al. J. Clin. Invest. 124: 145-55 (2014)
- 5) Medjeral-Thomas N. et al. Kidney. Int. 85: 933-937 (2014)
- 6) Xiao X. et al. Mol. Immunol. 77: 89-96 (2016)
- 7) Barbour TD. et al. Nephrol. Dial. Transplant. 31: 717-725 (2016)

抗リン脂質抗体症候群における補体制御因子の解析

中村 浩之、奥 健志、藤枝 雄一郎、加藤 将、坊垣 暁之、アメングアル オルガ、保田 晋助、渥美 達也
北海道大学大学院医学院・医学研究院 免疫・代謝内科学教室

Analysis of complement regulatory factors in patients with antiphospholipid syndrome.

Hiroyuki Nakamura, Kenji Oku, Yuichiro Fujieda, Masaru Kato, Toshiyuki Bohgaki,

Olga Amengual, Shinsuke Yasuda, and Tatsuya Atsumi

Department of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology,

Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University

[はじめに]

抗リン脂質抗体症候群(APS)において、補体活性化によって生ずるアナフィラトキシン(C3a, C5a)が向血栓性を惹起し、病態に関与すると考えられている¹⁾。APSにおける補体活性化の機序は不明な点が多く、補体3経路のうち免疫複合体による古典経路活性化が想定されるが、一方、代替経路に存在する補体制御因子(CRF)と呼ばれる活性化抑制蛋白群は、抗リン脂質抗体(aPL)の主要な対応抗原であるβ2グリコプロテインIと共通の蛋白モチーフを有する²⁾。我々はAPSにおけるCRF異常を仮定し、C3活性化を抑制する主なCRFである膜補因子蛋白(MCP)とH因子(FH)を評価した。

[方法]

2006年から2013年に北海道大学病院膠原病外来を受診した原発性APSの27例、SLE合併APSの20例、SLEの24例、非SLE膠原病の25例を対象とした。保存血清を用いてaPL、MCP、FHおよび抗FH抗体をELISAで測定した。C3、C4は標準化された免疫比濁法で測定した。

[結果]

原発性APS群において血清C3値(中央値: 82

mg/dL)およびC4値(中央値: 15 mg/dL)は低下していた。4群間で血清MCP値に有意な違いは認めなかったが、血清FH値はPAPS群で有意に低かった(中央値: 204 µg/mL)。またPAPS群において血清FH値は血清C3値と正相関($R = 0.55$)し、血清C4値とは有意な相関を認めなかった。血清FH値とaPL価には明らかな相関を認めず、抗FH抗体は全例で陰性だった。

[考察]

原発性APSにおいて血清C3値と相関した血清FH低値が確認され、血清FH低値による代替経路活性化の可能性が想定された。一方、血清FH低値の原因として抗FH因子抗体の存在やaPLの交叉反応を仮定したが、いずれも証明されなかった。

[結論]

FHの低下がAPSの補体代替経路活性化ひいては向血栓性に関与する可能性が示唆された。

[文献]

- 1) Oku K, et al. *ARD*. 68:1030 (2009)
- 2) Gropp K, et al. *Blood*. 118:2774 (2011)

真菌性腹膜炎を発症した PD 患者腹膜組織における補体制御因子の発現分布

福井 聡介¹⁾、多和田 光洋¹⁾、鈴木 康弘¹⁾、松川 宜久²⁾、今井 優樹³⁾、丸山 彰一¹⁾、水野 正司¹⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 泌尿器科学、

³⁾名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学

Expression and Distribution of membrane complement regulators in patient's peritoneum
with fungal peritonitis on peritoneal dialysis therapy.

Sosuke Fukui¹⁾, Mitsuhiro Tawada¹⁾, Yasuhiro Suzuki¹⁾, Yoshihisa Matsukawa²⁾, Masaki Imai³⁾,
Shoichi Maruyama¹⁾ and Masashi Mizuno¹⁾

¹⁾ Division of Nephrology, ²⁾ Division of Urology, Nagoya University Graduate School of Medicine

³⁾ Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medicine

[はじめに]

腹膜透析（以下 PD）は腎不全患者における在宅で可能な腎代替療法であるが、反面血液透析患者には見られない合併症を呈し得る。感染性腹膜炎は、難治化による PD 離脱や、致死的な被嚢性腹膜硬化症への進展の契機となり得るために重要な合併症の一つであり、中でも真菌性腹膜炎は特に重症例が多いことが知られている。

腹膜障害進展には補体活性化経路が関与しており、これまで我々はラットにザイモザン(真菌由来成分)を投与することで補体活性増大による炎症反応が惹起され、腹膜障害が長期にわたり遷延することを示した¹⁾。さらにラット腹膜において Crry および CD59 の二つの膜補体制御因子を同時に抑制することで腹膜障害が惹起され、補体活性の非制御が腹膜障害を増悪させることを報告した²⁾。

上記の動物実験等で腹膜障害と補体活性化経路の関連が明らかにされつつあることを受けて、今回本研究ではヒト腹膜における真菌性腹膜炎と腹膜補体制御因子の発現を評価した。

[方法]

名大病院及び関連病院に通院中の PD 患者のうち、

真菌性腹膜炎を発症してカテーテル抜去に至った際に採取した腹膜組織で腹膜表面の補体制御因子

(CD46, 55, 59) の発現を免疫染色で評価した(真菌性腹膜炎群)。また腹膜炎イベントを起こしていない患者、細菌性腹膜炎を発症した患者から採取した腹膜組織で同様に補体制御因子を評価(非真菌性腹膜炎群)し、各群間で比較を行った。

[結果]

1. 真菌性腹膜炎の PD 患者 5 名から採取した腹膜組織を光学顕微鏡下で観察したところ、真菌性腹膜炎群の腹膜生検組織では、表層に分布する腹膜中皮細胞の脱落が目立った。腹膜下層にも細胞浸潤を多く認めた。一方で、非腹膜炎群では、腹膜表層の腹膜中皮細胞層は良く保たれており、腹膜下層の細胞浸潤も乏しかった。
2. 上記 2 群について同じ組織を免疫染色で CRegs の分布を調べたところ、真菌性腹膜炎群では腹膜表層の CRegs の発現に乏しかった。これは中皮細胞の脱落と関係していた。腹膜下層では CRegs を発現する炎症細胞の集積を認めた。非真菌性腹膜炎群では、腹膜表層の CRegs の発現が比較的良好に保たれていた。

[考察]

我々の結果から、腹膜炎非罹患患者や細菌性腹膜炎患者から採取した腹膜組織と比較して、中皮細胞の脱落がより高度であり、それと同時に腹膜表面の補体制御因子の発現も低下が確認され、腹膜が補体活性化によって障害を受けやすい状況になっている可能性が示唆された。

これまでに我々は、動物モデルにて補体活性増大により腹膜障害が惹起されること¹⁾、補体制御因子の抑制が腹膜障害をより増悪すること²⁾を報告した。また炎症誘発目的の腹腔内ザイモザン投与を終了した後も経時的に腹膜障害が進行することを示した¹⁾。これらの結果は、真菌性腹膜炎では腹膜中皮細胞及びそこに発現する補体制御因子が障害を受けることで局所での補体活性化が遷延・持続し、これが腹膜障害の進展に大きく関わっている可能性を示唆する。また、PD患者から採取した腹膜中皮細胞の初代培養細胞を用いた結果より、腹膜中皮細胞上のCRegsの発現低下により中皮細胞自体が補体活性化の影響を受けやすいことも示した³⁾。

我々の結果から、PD関連真菌性腹膜炎患者の腹膜組織にて強い中皮細胞・補体制御因子の障害を認め、ヒトの実臨床から得られた病理組織においても、動物モデルで証明してきた上記の可能性を支持すると共に補体活性系が乱れている可能性を示唆するものと考えられた。

[結論]

PD患者における真菌性腹膜炎では、腹膜炎非罹患時や細菌性腹膜炎に比べて強い腹膜中皮細胞と膜補体制御因子の障害が確認され、補体活性亢進を伴う腹膜障害持続の経過を示すものと考えられる。

[文献]

- 1) Mizuno M, et al. J. Immunol. 183: 1403-1412 ; 2009.
- 2) Mizuno T, et al. Nephrol. Dial. Transplant. 26: 1821-1830 ; 2011.
- 3) Sei Y, et al. Mol Immunol 65: 302-309 ; 2015.

肝移植後早期の血小板数がレシピエント予後を決める ”LTx-TMA” Score の提唱

秦 浩一郎¹⁾、田中 宏和¹⁾、遠藤 佳代子²⁾、日下部 治郎¹⁾、平尾 浩史¹⁾、久保田 豊成¹⁾、田嶋 哲也¹⁾
 岡村 裕輔¹⁾、玉木 一路¹⁾、Nigmat Yermek¹⁾、吉川 潤一¹⁾、後藤 徹¹⁾、清水 章²⁾、上本 伸二¹⁾
¹⁾ 京都大学大学院 医学系研究科 肝胆膵・移植外科
²⁾ 京都大学医学部附属病院 臨床研究総合センター

Post-operative thrombocytopenia determines the fate of adult-to-adult living donor partial liver transplantation; Proposal of “Thrombotic Microangiopathy (LTx-TMA) Score”

Koichiro Hata¹⁾, Hirokazu Tanaka¹⁾, Kayoko Endo²⁾, Jiro Kusakabe¹⁾, Hirofumi Hirao¹⁾, Toyonari Kubota¹⁾, Tetsuya Tajima¹⁾, Yusuke Okamura¹⁾, Ichiro Tamaki¹⁾, Yermek Nigmat¹⁾, Junichi Yoshikawa¹⁾, Toru Goto¹⁾, Akira Shimizu²⁾, and Shinji Uemoto¹⁾

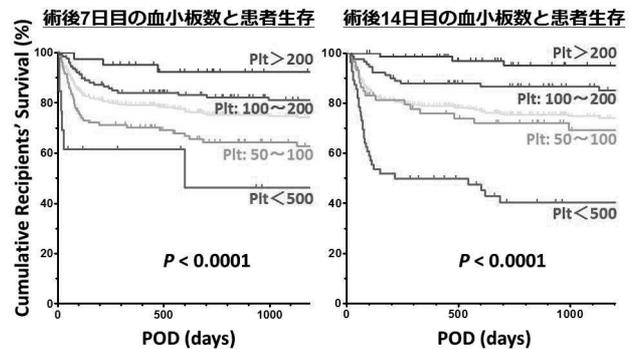
背景: 成人生体部分肝移植の周術期死亡率は依然高く、今日でもなお2割に達する。背景にある重篤な病態の解明が急務である。

結論: 他臓器移植と異なり、肝移植後には程度の差はあれほぼ全例でTMA様病態に陥っており(=”LTx-TMA”)、成績改善に向けて術後早期の本病態の克服が鍵を握ると考えられる。

対象と方法: 2006/4月～2013/3月までに当院で施行した初回成人生体肝移植 315 例の各種臨床因子、血液データを網羅的に解析。TMA 診断 4 基準(血小板減少, 破碎赤血球, 溶血性貧血, LDH 値)をスコア化(0～7 点)し、レシピエント生存率と比較・検討した。

結果: 肝移植後早期(<3 週)のデータでは、血小板数のみが患者生存と有意に相関し、血小板数が低い程生存率は低下($P < 0.0001$)した。TMA 診断基準は、血小板減少 87.2%、破碎赤血球 70.7%、溶血性貧血 93.4%、LDH 上昇 57.2%と肝移植後には非常に高率に陽性で、95%以上の症例で 2 項目以上を、75%以上で 3 項目以上を満たし、全項目陰性は 2 例のみ(0.006%)であった。1 年生存率はスコア: 0-2 点: 100%、3 点 92%、4 点 87.5%、5 点 76%、6 点 71%、7 点 34%とスコアが高くなる程悪化($P < 0.0001$)した。

術直後の血小板数で、肝移植レシピエントの予後は決まる



(京都大学成人生体肝移植症例 2006年4月～2013年3月, n=315)

図 1 成人生体部分肝移植(再移植例除く) 315 例の術後早期の末梢血血小板数(術後 7, 14 日目)とレシピエント累積生存率。術直後の血小板数が低ければ低い程、長期に渡って予後は悪化する。

・・・編集後記・・・

第54回日本補体学会学術集会の集会長を仰せつかった時、とんでもないことを引き受けてしまったなあ、というのが私の本音でした。7年前の福島での開催を思い出し、あれもやらなくては、これはどうすればよいのだろうか？と不安になりながら、過去の講演集を紐解き、そこで見えてくるのは日本補体学界の先達の努力と英知・・・その延長線がここにあり、そこに携わっている自分に気づいた時、不思議な幸福感に浸りました。

講演集の編集にあたり、日本補体学会会長の若宮先生、事務局の井上先生・高野慶子様、前集会長の水野先生には大変お世話になり、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。講演集には色々と不備な点も多いかと思いますが、何卒ご容赦くださいませ。

ふくしま・しのぶの里 より

(文責 関根英治)

補体 第54巻 第1号 (2017)

平成29年9月1日 発行

編集長 関根英治

発行者 若宮伸隆

発行所 一般社団法人日本補体学会

〒541-8567 大阪市中央区大手前 3-1-69

大阪国際がんセンター研究所 腫瘍免疫学部門内

一般社団法人 日本補体学会事務局

TEL: 06-6945-1181 (ext. 4213) Fax: 06-6945-1362

E-mail: hotai-gakkai@umin.ac.jp

URL: <http://square.umin.ac.jp/compl/index.html>

印刷所 丹治印刷株式会社

〒960-8204 福島市岡部字内川原 20-1

TEL: 024-525-0213 Fax: 024-533-1671

