

Proceeding of the Complement Symposium
Vol. 48 (2011)



会 期：2011 年 9 月 2 日（金）・3 日（土）

会 場：名古屋市立大学医学部／研究棟 1 1F 講義室 A

集会長：名古屋市立大学大学院医学研究科免疫学分野
岡田 則子

〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1

TEL: 052-853-8184 / FAX: 052-842-0149

E-MAIL : immunol@med.nagoya-cu.ac.jp

第 48 回補体シンポジウム参加案内

- 会 場 名古屋市立大学医学部／医学研究棟 11F 講義室 A
〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
(名古屋市営地下鉄桜山駅 3 番出口すぐ)
- 受 付 第 1 日 9 月 2 日 (金) 12 時 00 分より
名古屋市立大学医学研究棟 11 階にて
参加費 一般 5,000 円 学生 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。
PC は集会事務局で用意しますので、PowerPoint で作成したプレゼンテーション
ファイル (ファイル名は演題番号+氏名) を CD-R または USB メモリーにて
お持ちください (CD-RW および DVD によるデータの持ち込みはご遠慮ください)。
事務局で用意する PC と互換ソフトウェアは下記の通りです。
Windows (XP) : PowerPoint2007
Windows (7) : PowerPoint2010
Mac (OS10.5) : Powerpoint2008
プログラム進行の都合上、持ち込みによるプレゼンテーションは不可とします。
動画を含むなどファイルの互換性に問題が予想される場合は、必ず事前に事務局
までご相談下さい。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。講演会場である医学研究棟 11 階講義室 A 前の受付
横にプレゼンテーションファイル受付カウンターがあります。
- 運営委員会 第 2 日 9 月 3 日 (土) 8 : 00 ~ 9 : 00 (医学研究棟 2 階第二会議室)
- 総会 第 2 日 9 月 3 日 (土) 13 : 30 ~ 14 : 15 (医学研究棟 11 階講義室 A)
- 懇親会 第 1 日 9 月 2 日 (金) 18 : 00 ~ 20 : 30 (旧西棟 1F サクラサイドテラス)
- 優秀賞 第 48 回補体シンポジウムに応募された演題発表者の中から、第 48 回補体
シンポジウム優秀賞を選考し、賞状と副賞 (10 万円 : 複数の場合は折半) を
贈呈します。
- 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。該当者は集会長に
ご連絡ください (E-mail: immunol@med.nagoya-cu.ac.jp)
- 年会費 会員で年会費を未納の方、および新たに入会される方は、シンポジウム会場受
付に補体研究会事務局受付を併設いたしますので、そちらでご納入ください。
一般 : 5,000 円
学生 : 3,000 円 (学生証等の身分証明をご用意ください)

【補体研究会事務局】

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-3
地方独立行政法人大阪府立病院機構
大阪府立成人病センター研究所分子遺伝学部門内
事務局長 : 井上徳光
Tel: 06-6972-1181 (ext.4101) Fax: 06-6973-5691
E-mail: hotai-kenkyukai@umin.ac.jp

交通アクセス

■ JR、名鉄、近鉄名古屋駅から

↓ 名古屋市営地下鉄 桜通線 「徳重」 行き乗車→「桜山」 駅下車 3 番出口
(約 16 分)

■ 中部国際空港から

↓ 名古屋鉄道ミュースカイ or 快速特急 or 特急乗車→「金山」 駅下車
↓ 市営バスに乗り換え

[7 番のりば]

金山 11 「池下」 行き乗車→「桜山」 下車 (乗車時間: 約 15 分)

金山 16 「瑞穂運動場東」 行き乗車→「桜山」 下車 (約 15 分)

金山 12 「金山」 行き乗車→「市立大学病院」 下車 (約 20 分)

金山 12 「妙見町」 行き乗車→「市立大学病院」 下車 (約 20 分)

[8 番のりば]

金山 14 「瑞穂運動場東」 行き乗車→「市立大学病院」 下車
(約 20 分)



会場周辺のご案内

- シンポジウム会場：マップ③ 医学部研究科・医学部研究棟 11F 講義室 A
 運営委員会会場： マップ③ 医学部研究科・医学部研究棟 2階第二会議室
 懇親会会場： マップ⑭ 旧西棟 1F サクラサイドテラス



日程表

9月2日（金） 12:00 開場

| | |
|-------------|--|
| 12:55~13:00 | 開会の辞 岡田則子 |
| 13:00~14:15 | セッションA：レクチン・サイトカイン・制御因子 座長：松下 操・若宮伸隆 |
| 14:15~14:30 | 休 憩 |
| 14:30~15:45 | セッションB：アナフィラトキシン 座長：山本哲郎・遠藤雄一 |
| 15:45~16:30 | セッションC：進化・系統発生 座長：藤田禎三・中尾実樹 |
| 16:30~16:45 | 休 憩 |
| 16:45~17:45 | 特別講演1：Mechanisms behind gain-of-function mutations in complement activating proteins which cause atypical hemolytic uremic syndrome or dense deposit disease 演者 Claire L Harris 座長 松尾清一 |
| 18:00~20:30 | 懇親会 「サクラサイドテラス」 名市大医学部施設内 |

9月3日（土） 8:30 開場

| | |
|-------------|---|
| 9:00~11:30 | 特別企画シンポジウム：補体研究：基礎から臨床へ 座長：水野正司・今井優樹 |
| 11:30~11:45 | 休 憩 |
| 11:45~12:30 | 特別講演2：The role of properdin in complement alternative pathway-mediated disease 演者 Takashi Miwa 座長 野中 勝 |
| 12:30~13:30 | ランチョンセミナー：C1インヒビター製剤の臨床 演者 板橋妙 藤川岳 堀内孝彦 座長 大井洋之 |
| 13:30~14:15 | 総会および優秀賞表彰式* |
| 14:15~15:15 | セッションD：臓器障害、補体活性化 座長：井上徳光・畑中道代 |
| 15:15~15:45 | セッションE：補体異常 座長：遠藤守人 |
| 15:45~16:00 | 休 憩 |
| 16:00~16:45 | 特別講演3：ペプチド創薬の展望 演者 岡田秀親 座長 木下タロウ |
| 16:45~ | 閉会の辞 岡田則子 |

*総会開催前にシンポジウム参加者の全体写真を撮影予定です。

第 48 回補体シンポジウム・学術プログラム

第 1 日 9 月 2 日 (金)

セッション A : レクチン・サイトカイン・制御因子

13:00~14:15

座長 松下 操・若宮伸隆

- A-1 *Trypanosoma brucei brucei* 昆虫型原虫のラット正常血清による溶解
藪 義貞, 伊藤奈緒子, 高岡大樹, 岡田則子
名市大・医・免疫
- A-2 コレクチン CL-K1 のヒト血中濃度
大谷克城¹、吉崎隆之¹、森健一郎¹、本村亘¹、松田泰幸¹、黄仁秀¹、
吉田逸朗¹、金然旭¹、鈴木定彦²、若宮伸隆¹
¹旭川医科大学・医学部・微生物学講座、
²北大人獣共通感染症リサーチセンター・国際疫学部門
- A-3 H1N1 インフルエンザの重症化における補体アナフィラトキシン及び HMGB1 の
関与
太田里永子¹、伊藤嘉規²、鳥居ゆか²、木村 宏³、岡田則子¹、今井優樹¹
¹名市大・医・免疫、²名大・医・小児科、³名大・医・ウイルス
- A-4 抗がん免疫療法のターゲットとしての乳酸シグナル経路の可能性
井上徳光¹、大橋敏充^{1,2}、藪 政彦¹、赤澤 隆¹
¹大阪府立成人病センター・分子遺伝、²岐阜大学・医・耳鼻咽喉科
- A-5 MBL による C2 バイパスを介する第二経路活性化
立石恒一郎¹、寺林一幸²、Norafila Humrawali²、松下 操^{1,2,3}
東海大学・¹大学院総合理工学研究科、²大学院工学研究科、
³工学部生命化学科

座長 山本哲郎・遠藤雄一

B-1 慢性白血病 K562 細胞脱核モデル系の確立

西浦弘志、山本哲郎

熊本大学・大学院生命科学研究部・分子病理分野

B-2 プロカルボキシペプチダーゼ R 欠損はコンカナバリン A 誘発性肝炎による致死率を雌マウスにおいて増大させる

朝井鈴佳¹、金原紀章¹、多田豊廣²、今井優樹¹、William Campbell^{1,3}

岡田秀親⁴、岡田則子¹

¹名市大・医・免疫、²名市大・看・病理、³福祉村病院・長寿研、
⁴蛋白科学研究所

B-3 カルボキシペプチダーゼ R 生成を阻害する相補性ペプチド

河村剛至^{1,2}、堀川康一郎¹、岡田秀親³、岡田則子²

¹日薬大・薬・臨床薬学教育センター、²名市大・医・免疫、
³(株)蛋白科学研究所

B-4 急性腹膜障害に対する C5a の関与と C5a 阻害薬の有用性

水野智博^{1,4}、水野正司^{2,3}、櫛田真由⁴、野田幸裕⁴、山田清文¹、今井優樹⁵

岡田秀親⁶、岡田則子⁵、丸山彰一³、松尾清一³、伊藤恭彦^{2,3}

¹名大・医・医療薬、²名大・医・腎不全総合治療学、
³名大・医・腎臓、⁴名城大・薬・病態解析、⁵名市大・医・免疫、
⁶長寿医学研

B-5 臍島移植における C5a 阻害ペプチドの作用機序に関する検証

中西 渉¹、後藤昌史^{1,2}、稲垣明子²、戸子台和哲³、岡田則子⁴、

岡田秀親^{4,5}、里見 進¹

¹東北大学先進外科、²東北大学未来科学技術共同研究センター、
³仙台社会保険病院外科、⁴名古屋市立大学医学部免疫学、
⁵医療法人福祉村病院長寿医学研究所

座長 藤田禎三・中尾実樹

C-1 節足動物における TEP ファミリー遺伝子の進化

関口玲生、野中 勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

C-2 コイ C3 アイソタイプの機能解析

一木智子¹、鷗木（加藤）陽子²、杣本智軌²、中尾実樹²

¹九州大学大学院生物資源環境科学府、²九州大学大学院農学研究院

C-3 コイ補体成分 C4 アイソタイプ (C4-1, C4-2) の結合特異性の解析

山本 暁¹、一木智子¹、杣本智軌²、中尾実樹²

¹九州大学大学院生物資源環境科学府、²九州大学大学院農学研究院

特別講演 1

座長 松尾清一

16:45~17:45

Mechanisms behind gain-of-function mutations in complement activating proteins which cause atypical hemolytic uremic syndrome or dense deposit disease.

Claire L Harris

Cardiff University School of Medicine, Cardiff, UK

第2日 9月3日(土)

特別企画シンポジウム：補体研究：基礎から臨床へ

9:00~11:30

座長 水野正司・今井優樹

S-1 MASP1 遺伝子産物の多機能性について

高橋 実¹、岩城大輔¹、遠藤雄一²、藤田禎三³

¹福島県立医大・医・免疫、²福島県立医大・医・RI、

³福島県立総合衛生学院

S-2 発作性夜間血色素尿症をはじめとする GPI 欠損症について

村上良子¹、井上徳光²、七島勉³、太田里永子¹、野地秀義³、

前田裕輔¹、西村純一⁴、木下タロウ^{1,5}

¹大阪大・微研・免疫不全、²大阪府立成人病センター・免疫学

³福島県立医大・循環器・血液内科、⁴大阪大・医・血液腫瘍内科

⁵大阪大・IFRec・糖鎖免疫

S-3 補体と腎移植：最近の知見から

小林孝彰

名古屋大学医学部免疫機能制御学寄附講座

S-4 A CDC-enhancing anti-CD20 antibody mediating potent antitumor activity in the humanized NOG mouse lymphoma model.

石田高司

名古屋市立大学医学部腫瘍・免疫内科学

S-5 An acetylated anti-C5a complementary peptide reduced cytokines storm and prolonged survival time in a neonatal sepsis model.

Mohamed Hamed Hussein^{1,2,4}, Ghada Abdel-Hamid Daoud³, Tatenobu Goto¹, Shin Kato¹, Masanori Nobata¹, Hiroki Kakita¹, Haruo Mizuno¹, Tetsuya Ito¹, Ineko Kato¹, Satoshi Suzuki¹, Noriko Okada⁵, Takashi Hashimoto⁴, Hidechika Okada^{5,6}, Hajime Togari¹

¹Department of Pediatrics and Neonatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, ²Research Center and

³Department of Obstetrics and Gynecology, VACSERA, Giza, Egypt,

⁴Department of Pediatric Surgery, Fujita Health University School of Medicine, ⁵Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, ⁶Choju Medical Institute,

Fukushima Hospital

特別講演 2

座長 野中 勝

11:45~12:30

The role of properdin in complement alternative pathway-mediated disease

Takashi Miwa

University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, USA

共催 CSLベーリング (株)

ランチョンセミナー 座長 大井洋之

12:30~13:30

「C1インヒビター製剤の臨床」

HAE～国内現況と課題～

板橋 妙、藤川 岳、篠原直樹

CSL ベーリング株式会社・マーケティング本部

突発性浮腫の鑑別と治療

堀内孝彦

九州大学免疫・膠原病・感染症内科

共催 CSLベーリング (株)

座長 井上徳光・畑中道代

D-1 IgA 腎症の腎組織における C3 沈着部位と臨床的意義の検討

大澤 勲、草場 岳、石井雅也、佐藤信之、井下博之、恩田紀更、
鈴木日和、堀越 哲、大井洋之、富野康日己

順天堂大学医学部腎臓内科

D-2 IgA 腎症における血清 IgA・C3 値の変動とその意義

鈴木日和、恩田紀更、児玉史子、石井雅也、草場岳、佐藤信之
長町誠嗣、大澤勲、大井洋之、富野康日己

順天堂大学医学部腎臓内科

D-3 腹膜擦過後の Zymosan 投与により誘導される補体依存性の高度の腹膜炎症
ラットモデルにおける、低血清培養脂肪由来間葉系幹細胞の有用性

金恒秀、水野正司、古橋和弘、勝野敬之、安田香、尾崎武徳、坪井直毅、
伊藤恭彦、松尾清一、丸山彰一

名古屋大学医学部腎臓内科

D-4 腹膜透析に関わる組織障害への補体関与の解析と、腹膜障害に対する抗補体療法
の可能性

水野正司

名大・医・腎臓総合治療学寄附講座

座長 遠藤守人

E-1 本邦における遺伝性血管性浮腫（HAE）：その臨床と基礎

堀内孝彦¹、塚本 浩¹、田平知子²、山本哲郎³

¹九州大学免疫・膠原病・感染症内科、²九州大学生体防御医学研究所

³山本診療所

E-2 aHUS 患者における Factor H の解析

向井早紀¹、廣田雅子¹、日高義彦²、松田和之¹、山内一由³、
菅野光俊¹、本田孝行^{1,4}

¹信州大学医学部附属病院・臨床検査部、

²信州大学医学部附属病院・小児科、

³筑波大学大学院人間総合科学研究科・臨床医学系、

⁴信州大学医学部・病態解析診断学講座

特別講演3

座長 木下タロウ

16:00~16:45

ペプチド創薬の展望

岡田秀親

株式会社蛋白科学研究所

Memo

Mechanisms behind gain-of-function mutations in complement activating proteins which cause atypical hemolytic uremic syndrome or dense deposit disease

Claire L Harris

Complement Biology Group, Department of Infection, Immunity & Biochemistry,
Cardiff University School of Medicine, Heath Park, Cardiff, CF14 4XN. UK.

Maintenance of complement homeostasis involves equilibrium between activation and control. This delicate balance can be disturbed by small changes in the central proteins of the complement alternative pathway: C3, factor B and factor H. These changes can be minor changes, such as common polymorphisms, or less subtle modifications, such as loss-of-function mutations in regulators or gain-of-function mutations in activating components. These amino acid substitutions can cause uncontrolled complement activation and inflammation and have been associated with renal diseases such as atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) and dense deposit disease (DDD).

It has been known for over a decade that insufficient control of complement by factor H elicits renal pathology. Deficiency of factor H is associated with complement consumption and development of DDD; whereas mutations in factor H, particularly at the carboxy-terminus, are frequently associated with aHUS. We describe here the disease-causing mechanisms behind mutations in the complement activating proteins, C3 and factor B, and explore why they trigger either aHUS or DDD. Functional analyses demonstrated that the D279G and K323E gain-of-function mutations in factor B resulted in enhanced formation of the C3-cleaving enzyme, C3bBb, and increased resistance to inactivation by complement regulators. These mutations collaborated with polymorphisms in the membrane-associated regulators, to trigger aHUS. Similarly, some mutations in the central component C3 (R161W, I1157T, R592W) caused surface dysregulation and aHUS by altering control by membrane cofactor protein (MCP). In contrast, a novel C3 mutant, C3_{923.DG}, lacking just two amino acids and carried in heterozygosity, was completely penetrant for DDD. Using proteomics, the

mutant protein, C3_{923.DG}, was identified as the predominant circulating C3 protein in patients. It was activated at a low level in plasma due to the natural process of 'tickover' and thioester hydrolysis, whereupon it formed an active enzyme which cleaved and activated all normal C3 produced by the wild-type allele. C3_{923.DG} was not itself a substrate for the C3-cleaving enzyme and was also resistant to control by complement regulators found in the fluid phase in plasma. However, in contrast to those other mutants described above, it was normally controlled by cell surface-associated regulators. These characteristics caused a fluid phase-restricted (plasma) dysregulation where C3 produced by the normal C3 allele was continuously activated and consumed.

These data provide conclusive evidence in humans that fluid phase-restricted complement dysregulation, resulting in the continuous generation of C3b in plasma, plays a major role in DDD pathogenesis. They also highlight the importance of insufficient control of complement at the membrane in the context of sufficient fluid phase regulation for pathogenesis of aHUS. Moreover, these findings expose structural requirements in C3 that are critical for the recognition of the substrate, C3, by the alternative pathway C3 convertase and for the regulatory activities of factor H, DAF and MCP that have implications for the development of therapeutics.

The role of properdin in complement alternative pathway-mediated disease

Takashi Miwa

Department of Pharmacology and Institute for Translational Medicine and Therapeutics, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA

The complement system is an integral part of host immune system against microbes. However, activated complement can act as a double-edge sword leading to autologous tissue injury. Amongst the three pathways of complement system, the alternative pathway (AP) is constitutively active and must be regulated by host proteins to prevent autologous tissue injury. Dysfunction of AP regulatory proteins has been linked to several human inflammatory disorders. Properdin is a positive regulator of AP complement activation that has been shown to extend the half-life of cell surface-bound C3 convertase C3bBb; it may also initiate AP complement activation. In this presentation, I will review some of the recent progress by our group. Our research focus is to investigate the role of properdin in AP complement activation and tissue injury and explore the strategy of anti-properdin therapy in murine models of complement-dependent disease. We first generated properdin knockout mice, and have found that properdin deficiency abrogated AP complement activation in the mouse serum induced by LPS, a prototypical AP complement activator. Importantly, we identified that the main source of properdin in blood is derived from myeloid lineage cells by utilizing global, tissue-specific properdin knockout mice and BM chimeric mice. We next examined whether properdin plays a role in inflammatory diseases such as immune-mediated embryo destruction, arthritis, renal ischemia reperfusion injury (IRI) and membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN). Our studies have revealed the following:

(1) Crry (complement receptor related gene / protein Y) is a membrane-bound complement activation regulator and its deficiency is known to be susceptible to AP complement-mediated extravascular hemolysis. Our recent report demonstrated that the factor properdin (fP) deficiency rescued the embryonic lethality phenotype caused by Crry deficiency. Thus, while no live Crry^{-/-} mice could be produced by Crry^{+/-} breeding due to AP complement injury as found previously, Crry^{-/-} mice were born at the expected frequency from Crry^{+/-}fP^{-/-} breeding. Surprisingly, lack of properdin failed to prevent plasma AP complement consumption in Crry^{-/-} mice and also unable to clear Crry-deficient erythrocytes.

(2) In the K/BxN adoptive transfer arthritis model, known to be mediated by AP complement, we found that properdin deficiency significantly attenuated arthritis development. Administration of antibodies that block properdin into wild-type (WT) mice similarly ameliorated arthritis development, whereas reconstitution of properdin knockout mice with exogenous properdin restored arthritis sensitivity. These data indicate systemic (circulating) properdin as a key contributor to the development of arthritis, and support the development of anti-properdin therapy for arthritis.

(3) We previously established an exacerbated renal IRI model in DAF^{-/-}CD59a^{-/-} mice (22 min ischaemia/24 h reperfusion). In this model, both C3- and fB-deficiency completely rescued the exacerbated renal IRI phenotype of DAF^{-/-}CD59a^{-/-} mice, whereas C4-, Ig-, and MBL-A/C-deficiency had no significant impact. Notably, properdin-deficiency also significantly ameliorated renal IRI in DAF^{-/-}CD59a^{-/-} mice. These data suggest that exacerbated renal IRI in DAF^{-/-}CD59a^{-/-} mice is mediated by properdin and the alternative pathway complement, with no or minimal contribution from the classical or the lectin pathway of complement.

(4) In contrast to other experimental models showing the protective effect of properdin deficiency, our recent studies in factor-H (fH) deficient mice revealed lack of properdin causes the detrimental effect in the development of C3 glomerulopathy. fH^{-/-} mice demonstrate that uncontrolled AP activation results in severe depletion of plasma C3 and development of a late onset C3 glomerulopathy that resembled type I MPGN with sub-endothelial electron dense deposits. In a recent study, the fH^{-/-}fB^{-/-} mice, generated by Dr. Pickering's group showed normal levels of plasma C3 and intact renal function and histology compared to wild type animals. The blockade of C3 activation *in vivo*, due to factor-B deletion in those mice, prevented the development of MPGN. Surprisingly, in contrast to the protective effect of fB deficiency, we found that properdin deficiency resulted in a significant worse outcome in the setting of fH deficiency. Thus, fH^{-/-}fP^{-/-} mice developed an early-onset C3 glomerulopathy that showed features of MPGN type II with intramembranous dense deposits, heavy proteinuria and severe podocyte injury. The disease rapidly progressed to diffuse crescentic glomerulonephritis

and all $fH^{-/-}fP^{-/-}$ mice died prematurely. Moreover, severe reduction of plasma C3 and plasma AP complement consumption in $fH^{-/-}$ mice could not be rescued by properdin deficiency. Taken together with the study of $fH^{-/-}fP^{-/-}$ mice, our findings suggest that properdin does not affect consumptive AP complement activation in the fluid phase caused by an unregulated alternative pathway.

Collectively, our studies indicate that properdin contributes to the pathogenesis of AP complement-mediated autologous tissue damage, and may lead to the development of anti-properdin agents as therapeutic drugs for human patients.

Anti-properdin therapy may also be extended to other AP complement-mediated diseases such as age-related macular degeneration, atypical hemolytic uremic syndrome and antineutrophil cytoplasmic antibody-associated diseases. However, considering the effect of deficiency in the MPGN model, our studies illustrated the double-edged sword of anti-properdin therapy, showing that in some circumstances, such as alternative complement pathway dysregulation because of dysfunctional CFH or C3NeF exist, therapeutic properdin inhibition can have adverse outcomes.

ペプチド創薬の展望

岡田秀親

(株)蛋白科学研究所

A perspective on therapeutic peptide drugs.

Hidechika Okada

Institute for Protein Science Co.

【研究開発経過の概要】

- (1) 1992～1995年 我々は蛋白質分子ペプチド鎖内に、相互にアンチセンスペプチドとして対応する配列が散在することを発見し、アンチセンスホモロジーボックス (AHB) と命名した^{1,2)}。
- (2) 1995～1998年 AHB部分のペプチド断片で、蛋白質の機能を阻害できた^{3,4)}。分子内AHBがタンパク質分子の構造形成や維持に役割を果たしているとする我々の作業仮説を支持する治験である。
- (3) 1998～2002年 AHB理論を基に任意のペプチド鎖に対する相補性ペプチドを自動設計するプログラムを開発した^{5,6)}。
- (4) 2002～2004年 設計した相補性ペプチドは、約30%の成功率で標的タンパク質に特異的に反応し活性を抑えた。すなわち、HIVの逆転写酵素、トロンボモジュリン⁷⁾、C5aアナフィラトキシン⁸⁾などを特異的に阻害する相補性ペプチドを創生することができた。C5aアナフィラトキシンを阻害する相補性ペプチドであるPepAは極めて低濃度でヒトC5aの活性を抑制し、ラットにショック死を起こす動物実験モデルにおいて救命効果を認めた⁹⁾。

【C5a阻害ペプチドの開発】

- (5) 2004～2005年 PepAのアミノ末端(N末)のアラニンをアセチル化して改良したAcPepAはPepAよりも優れた効果を発揮し、致死量のLPSを投与してショック症状を呈したカニクイザルでの治療実験で救命治療効果を発揮した。この研究開発は(株)蛋白科学研究所が中心となって、名古屋市立大学、国立感染症研究所筑波医学研究用霊長類センター(現(独)医薬基盤研究所・霊長類医学研究センター)及び福祉村病院長寿医学研究所の共同研究として実施した¹⁰⁾。
- (6) 2006～2007年 以上の研究は名古屋市立大学分子医学研究所が中心になって成果を挙げたものである。その成果を事業化するために設立したベンチャー企業の(株)蛋白科学研究所の所長に岡田秀親(名古屋市立大学名誉教授)が定年退職に伴って就任した。脳梗塞で課題となる虚血再還流障害をC5aアナフィラトキシンが防止する効果を発揮することをカニクイザルの脳梗塞モデルで認めた。脳梗塞患者の救命にも血栓溶解剤であるtPA(tissue plasminogen activator)との併用で大きな治療効果を発揮できることを示す知見である。

【高病原性鳥インフルエンザ感染鶏の救命】

(7) 全身性炎症反応症候群 (SIRS) は高病原性鳥インフルエンザ感染でも起こると考えられたので、AcPepA などに H5N1 高病原性インフルエンザウイルス感染鶏に対する救命効果を期待した。AcPepA には救命効果を認めなかったが、エンドセリン阻害ペプチドである ETR-P1/f1 には H5N1 高病原性インフルエンザ感染鶏に対する救命効果を認めた¹¹⁾。

C5a 阻害ペプチドやエンドセリン阻害ペプチドなどは、SIRS 病態の患者救命に有用であると期待できるが、生体内での半減期が短いために、長期の治療には不向きであろう。しかし、SIRS 病態の緊急時にペプチド剤を投与して救命する際に、半減期が短いことは残留副作用にリスクが少なく臨床現場では使い易いはずである。急場をしのいだ後は、投薬を中止すれば薬剤は速やかに消失するので、ペプチド剤の短所とされてきた短い半減期は、かえって長所として使いやすい薬剤となる。

相補性ペプチドが標的アミノ酸配列に反応するメカニズムは未だ明らかではない。分子力学的研究を展開し、その解明を目指したい。

[文献]

- 1) Baranyi L. et al. Nat. Med. 1: 894 (1995)
- 2) 岡田秀親 他、特許第 4053616 号 (1996)
- 3) Baranyi L. et al. Peptides, 19: 211 (1998)
- 4) 岡田秀親 他、特許第 3923515 号 (1994)
- 5) Campbell W. et al. Microbiol. Immunol. 46:211 (2002)
- 6) 岡田秀親 他、特許第 4712282 号 (2003)
- 7) 岡田秀親 他、特開 2004-262910
- 8) 岡田秀親 他、特許第 4106691 号 (2004)
- 9) Fujita E et al. J. Immunol. 172: 6382 (2004)
- 10) Okada H. et al. Anticancer Res. 31: 2516 (2011)
- 11) Okada N. et al. Nat. Precedings (<http://precedings.nature.com/documents/3425/version/1>) (2009)

Memo

MASP1 遺伝子産物の多機能性について

高橋 実¹⁾、岩城大輔¹⁾、遠藤雄一²⁾、藤田禎三³⁾

¹⁾福島県立医大・医・免疫、²⁾福島県立医大・医・RI、³⁾福島県立総合衛生学院

A multifunctional feature of the gene products from *MASP1* gene

Minoru Takahashi¹⁾, Daisuke Iwaki¹⁾, Yuichi Endo²⁾, Teizo Fujita³⁾

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

²⁾ Radioisotope Center, Fukushima Medical University School of Medicine

³⁾ Fukushima Pref. School of Nursing, Midwifery and Public Health

私どもの教室では基礎医学の観点から補体レクチン経路の活性化機構を分子レベルで明らかにすることを目的に研究を進めてきた。その活性化酵素である MASP (MBL-associated serine protease) を発見し、古典経路の C1s と同様に C4, C2 を活性化する酵素であることも報告した¹⁾。しかし MASP に関する研究が進むにつれて、複雑さが増している。それはプロテアーゼ活性を有する MASP が哺乳類において3種類同定されたからである。この MASP-1, MASP-2 及び MASP-3 はそれぞれ何をしているのか? MASP-2 は C1s と同様に C4 と C2 を基質として補体を活性化する酵素であることは多くの結果により証明されている。MASP-1 と MASP-3 は共通の *MASP1* 遺伝子から選択スプライシングにより生合成される。MASP-1 と MASP-3 はセリンプロテアーゼドメインが異なり、N 末の重鎖は共通である。我々は MASP-1 および MASP-3 の機能を解明する目的で MASP1/3 ノックアウトマウス (MASP1/3KO) を作った²⁾。以前、本シンポジウムで報告したように MASP1/3KO ではレクチン経路の活性化能が低値であった。この時、MASP-2 の活性化が遅延することがわかり、MASP-1 が MASP-2 の活性化を促進していることが確認できた。

さらに MASP1/3KO の異常を調べてみると意外な異常が観察された。それは MASP1/3KO では補体第二経路が活性化されなかったのである。詳細に調べて

みると正常マウスでは D 因子が活性型として循環しているのに対して、MASP1/3KO では D 因子は前駆体の状態で循環しており、第二経路が活性化されることがわかった。この結果は、MASP-1 が D 因子を基質として活性化し、第二経路にも関与していることを初めて明らかにした³⁾。

また MASP-1 が fibrinogen、第 XIII 因子、PAR4 といった血液凝固に関わる分子を基質にできることがわかっている。

最近の話題として様々な発育異常が見られる常染色体劣性遺伝の 3MC 症候群の家系で MASP1 遺伝子、特に MASP-3 領域の変異が見つかったことである⁴⁾⁵⁾。

このように MASP-1/3 プロテアーゼは補体系だけでなく、様々な生命現象に関与することがわかりつつある。この意義について基礎医学的な観点から概説したい。

1) M. Matsushita et al., *J Exp Med*, 176, 1497 (1992)

2) M. Takahashi et al., *J Immunol*, 180, 6132 (1998)

3) M. Takahashi et al., *J Exp Med*, 207, 29 (2010)

4) A. Sirmaci et al., *AJHG*, 87, 679 (2010)

5) C. Rooryck et al., *Nat Genet*, 43, 197 (2011)

発作性夜間血色素尿症をはじめとする GPI 欠損症について

村上良子¹⁾、井上徳光²⁾、七島勉³⁾、太田里永子¹⁾、野地秀義³⁾、前田裕輔¹⁾、西村純一⁴⁾、木下タロウ^{1),5)}

¹⁾阪大・微研・免疫不全 ²⁾大阪府立成人病センター・免疫学 ³⁾福島県立医大・循環器・血液内科

⁴⁾阪大・医・血液腫瘍内科 ⁵⁾阪大・IFRec・糖鎖免疫

GPI deficiency including paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Yoshiko Murakami¹⁾, Norimitsu Inoue²⁾, Tsutomu Shichishima³⁾, Rieko Ohta¹⁾, Hideyoshi Noji³⁾,

Yusuke Maeda¹⁾, Junichi Nishimura⁴⁾, and Taroh Kinoshita^{1),5)}

¹⁾Department of Immunoregulation, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

²⁾ Department of Molecular Genetics, Osaka Medical Center for Cancer

³⁾Department of Cardiology and Hematology, Fukushima Medical University

⁴⁾Department of Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine

⁵⁾Laboratory of Immunoglycobiology, Immunology Frontier Research Center, Osaka University

[はじめに]

発作性夜間血色素尿症(PNH)は、1つの造血幹細胞の *PIG-A* 遺伝子に体細胞突然変異がおこり GPI アンカー欠損細胞となり、それがクローン性に増殖することにより発症する疾患である¹⁾。GPI アンカー型蛋白質である DAF や CD59 といった補体制御因子が欠損しているために、赤血球が補体により破壊されて、溶血性貧血を来す。我々は GPI アンカー欠損細胞の増殖機序として、良性腫瘍性増殖を起こす遺伝子変異が関与していると考えている。我々は GPI 欠損細胞においてのみ 12 番染色体に異常を持つ 2 人の PNH 患者の染色体切断部位の解析から、クローン拡大に関与する候補遺伝子 *HMG2* を同定し、この 2 症例については *HMG2* の高発現が PNH 細胞の腫瘍性増殖に関与していることを報告した²⁾。*HMG2* は胎児期みに発現する転写促進因子であるが良性腫瘍で高発現し腫瘍性増殖に関係していることが知られており、その 3' UTR に miRNA の *let7* が結合し発現を制御していることがわかっている³⁾。我々は染色体異常を

持たない PNH 患者において、そのクローン性増殖に *HMG2* が関与しているか、患者の末梢血・骨髄を使ってその発現を解析した。さらに実際に *HMG2* の発現亢進が造血幹細胞のクローナルな増殖を来すか、動物実験によって検証した。

また以前に先天性 GPI 欠損症として *PIGM* 欠損症⁴⁾を報告したが、最近の次世代シーケンサーを使ったゲノムシーケンスにより新たに *PIGV* 欠損症⁵⁾が見つかり、他のグループから *PIGN*⁶⁾欠損症も報告されている。これらの先天性 GPI 欠損症では赤血球における GPI 欠損が軽微であるために溶血発作はみられない。以前から高アルカリフォスファターゼ (ALP) 血症・精神発達遅滞・異常顔貌の 3 主徴を呈する遺伝性疾患が Mabry syndrome として報告されているが *PIGV* がその責任遺伝子であることが明らかになった。*PIGV* 欠損症で見られる高 ALP 血症の発症機序について解析したので報告する。

[方法]

1. 各協力機関および、当研究所の倫理委員会の承

認をもとに、患者のインフォームドコンセントを得て、患者サンプルを解析した。

2. 末梢血と骨髄を RNA の安定化剤が入っている Paxgene 採血管で採取し、全血から RNA を抽出して定量 RT-PCR を行った。協力機関から末梢血の顆粒球における GPI 欠損細胞の割合が 60%以上の患者の末梢血、骨髄血の提供を受け、上記の方法により、解析した。
3. マウスの Lin⁻ 骨髄細胞にレトロウィルスベクターを使って HMGA2 と GFP を高発現させた後、致死レベルの放射線照射をした複数のレシピエントマウスに移植した。Lin⁻ 骨髄細胞に GFP のみを高発現させて移植したマウスも、コントロールとして作製し、両者の末梢血における GFP 陽性細胞の割合を FACS で経時的に解析した。
4. PIGV 欠損症については、患者で見つかった 5 種類のアミノ酸変異を入れた PIGV 発現ベクターを作製し PIGV 欠損 CHO 細胞に導入して細胞表面の GPI アンカー型蛋白質の発現を解析した。ALP は GPI アンカー型蛋白質であるが、レポータータンパク質としてそのアイソフォームである Placental Alkaline Phosphatase (PLAP) を GPI 生合成の各ステップの遺伝子欠損 CHO 細胞株に導入し、培養上清中の PLAP の活性を測定した。

[結果および考察]

1. PNH 患者 24 人、正常人 11 人の両者の末梢正常人の末梢血において 3' UTR を欠く短い splice variant が優位に発現していたが、そのうち PNH 患者 16 人が正常人より有意に高い発現量を示した (relative mRNA expression > control +2SD)。一方、PNH 患者 17 人、正常人 7 人の骨髄では両者とも full transcript が優位に発現し、その発

現量は両者に有意差はなかった。

2. HMGA2 を高発現させた骨髄をマウスに移植した 2 回の実験で、1 回目は 3 匹中 2 匹が、2 回目は 4 匹中 3 匹が移植後 8 週から 20 週で顆粒球、単球、T, B リンパ球、赤血球において GFP⁺ 細胞の割合が増加し 50%~80%に拡大したが、コントロールマウスでは 20%以下であった。このことより HMGA2 を高発現した造血幹細胞がクローナルに増殖することが明らかになった。以上の結果より HMGA2 の発現が亢進した異常クローンが良性腫瘍様増殖を起こし、PNH 発症に関与する可能性が示唆された。
3. PIGV 欠損症については、患者で見つかった 5 種類のアミノ酸変異のすべてが、PIGV 蛋白質の発現を著しく低下させることにより部分的な GPI 欠損症を起こしていることが明らかになった。また PIGV 欠損細胞では PLAP の蛋白部分が GPI トランスアミダーゼ依存的に切断され培養液中に遊離されることが明らかになり、これは患者の高 ALP 血症の発症機序を示唆するものである。培養液中への PLAP の遊離は GPI 生合成の後期ステップの遺伝子欠損細胞で効率よくおこることから GPI トランスアミダーゼはマンノースの付加後の GPI 後期中間体を認識し効率よく切断することが示唆された。

[参考文献]

- 1) Takeda, J. et al. Cell 73: 703 (1993)
- 2) Inoue, N. et al. Blood 108: 4232 (2006)
- 3) Lee, Y.S. et al. Genes Dev. 21:1025 (2007)
- 4) Almeida, A.M. et al. Nat Med 12:846 (2006)
- 5) Krawitz, P.M. et al. Nat Genet 42:827 (2010)
- 6) Maydan, G. et al. J Med Genet doi:10.1136 (2011)

補体と腎移植：最近の知見から

小林孝彰

名古屋大学医学部免疫機能制御学寄附講座

Recent findings on complement in renal transplantation.

Takaaki Kobayashi

Department of Applied Immunology, Nagoya University School of Medicine

移植領域において補体の役割は古くから研究されており、炎症、免疫、凝固反応において移植臓器に影響を及ぼすことが知られている。臓器移植では、ドナーからの臓器摘出、保存、虚血再灌流時の傷害、そして Innate Immunity (自然免疫)、次には Adaptive Immunity (獲得免疫：T 細胞関連型・抗体関連型拒絶反応)、さらには移植臓器の終末像として慢性炎症 (間質の線維化) を考慮しなければならない。これらの全ての局面において、補体は関与している。

最近の Microarray 解析により、死体ドナーからの腎臓グラフトでは、生体ドナーと比較して補体成分の mRNA が高発現しており、とくに摘出時の状態、保存時間の長さに関連し、局所で発現する補体が、短期、長期的なグラフト機能に影響を及ぼすことが報告されている。C3a, C5a と抗原提示細胞、樹状細胞、T 細胞に発現するレセプターとの相互作用は、CD28, CD40L の発現、T 細胞反応性 (増殖) に影響し、制御性 T 細胞、Th17 細胞への分化にも関与する。最近では、C1q が樹状細胞を介して T 細胞の活性化に関与すると報告されている。抗体関連型拒絶反応では、抗体接着後に、補体は内皮細胞を活性化し、炎症、凝固反応を亢進させ、移植グラフトを機能廃絶に導く。臨床現場では、抗体関連型拒絶反応の有効な診断法として C4d の検出が開発され、広く用いられて

いる。

補体を Biomarker とした臨床研究では、MBL (Mannose Binding Lectin) の血中レベルや多型性と感染症、拒絶反応など予後と関連について、また死体ドナーの血中の補体 (C5b-9) レベルと移植後の急性拒絶反応との関連が報告されている。拒絶反応の程度は、抗ドナー HLA 抗体の量だけに規定されているのではない。抗体の補体活性化能の違いを評価することも重要であり、C1q を検出する解析方法 (Flow cytometry, Luminex) も開発されている。グラフトに発現する補体制御因子 (CD55, CD46 など) と Accommodation (ドナーに対する抗体の存在下でも拒絶されない状態) との関連も示唆されている。

抗体関連型拒絶反応の治療では、補体抑制作用をもつ免疫グロブリン静注療法 (IVIg) が用いられてきたが、最近では夜間発作性血色素尿症の治療で用いられる C5 モノクローナル抗体 (Eculizumab) が試みられている。動物実験では C1, C3a, 5a をターゲットとした虚血再灌流傷害の抑制効果が示されており、C5a 阻害ペプチドの臨床応用も期待される。

補体は、臓器移植と深く関わっており、長期成績のさらなる向上のために、より精度の高い診断方法の開発、効果的に制御する治療法が開発が進められている。

A CDC-enhancing anti-CD20 antibody mediating potent antitumor activity in the humanized NOG mouse lymphoma model

石田 高司

名古屋市大 医 腫瘍・免疫内科

Takashi Ishida

Department of Medical Oncology and Immunology,
Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Purpose: Engineering the Fc region of monoclonal antibodies (mAb) to enhance effector functions is likely to be a promising approach for next-generation mAb therapy. 113F, a complement-dependent cytotoxicity-(CDC)-enhancing variant of rituximab is such an antibody.¹⁾ The first of the three major aims of the present study was to identify tumor-associated factors influencing tumor susceptibility to 113F-induced CDC, especially focusing on complement regulatory proteins (CRPs). The second aim of the present study was to compare 113F-induced CDC against primary lymphoma cells with rituximab in vitro. A current crucial problem in the field of human immunotherapy research, including antibody therapy, is the lack of suitable small animal models for in vivo preclinical testing. With respect to antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC), we have established a human tumor-bearing mouse model, using NOD/Shi-*scid*, IL-2R γ ^{null} (NOG) mice as recipients, in which human immune cells are engrafted and mediate ADCC.^{2), 3)} On the other hand, there is no mouse model in which human CDC can be evaluated. Thus, the third and final aim of the present study was to establish a mouse model in which it is human complement that mediates CDC against human tumor cells. Using this model, we assessed the

therapeutic potential of 113F in comparison with rituximab.

Experimental Design: Rituximab- and 113F-induced human CDC was compared in vitro, and in vivo using NOG mice with human complement.

Results: First, we determined that tumor-associated factors influencing tumor susceptibility to 113F-induced CDC included the quantity of CRPs such as CD55 and CD59 on the cell surface, as observed in rituximab-induced CDC. Second, we found that 113F mediated highly enhanced CDC against primary CD20-expressing lymphoma cells from patients, greater than rituximab. Finally, a novel human tumor-bearing mouse model has been developed in which human complement functions in CDC. NOG mouse serum is defective in its capacity to induce CDC against human cells, and endogenous immune cells from NOG mice are unable to mediate ADCC of therapeutic antibodies with an Fc region consisting of human IgG. Thus, we were able to evaluate purely human CDC without interference from endogenous mouse immune cells or complement-mediated mAb induced antitumor effects in this NOG mouse model. The present observation of significant therapeutic efficacy of rituximab together with pooled human serum (PHS)

compared to rituximab with inactivated PHS indicated that human complement does function in rituximab-induced CDC in these mice in vivo. The finding of specific localization of human C1q on CD20-expressing tumor cell membranes indicated that human CDC indeed contributed to the antitumor effect in this model. In addition, enhanced therapeutic efficacy of 113F together with PHS compared to rituximab with PHS in this mouse model was observed in vivo. In the cell proliferation assay, viability of the target cell line was not affected by rituximab or 113F alone, and thus no significant difference between these mAbs was observed in vitro. Therefore, the present in vivo observation emphasizes the concept of this type of CDC-enhancing antibody. Furthermore, the more abundant, denser signals of C1q at the tumor cell membrane in these human serum-bearing mice receiving 113F compared with rituximab, are consistent with the Fc region of the former having a much higher C1q binding affinity than the latter. These findings are concordant with the present observation of the greater therapeutic efficacy of 113F compared to rituximab in vivo.

Conclusions: This animal model overcomes the limitations of preclinical in vivo investigations of CDC caused by species incompatibilities between humans and mice. This model also makes it possible to reconstitute the human complement system during mAb-based immunotherapy and to perform more appropriate preclinical evaluations of novel therapeutic mAb which mediate CDC. In the present study, highly enhanced human CDC mediated by this type of CDC-enhancing mAb was demonstrated both in vitro and in a humanized mouse model in vivo. In the near future, the efficacy of the type of CDC-enhancing antibody described

here will be established in planned clinical trials in humans.

Presented in part at the 52nd ASH ANNUAL MEETING AND EXPOSITION, ORLANDO, FL, DECEMBER 4-7, 2010.

References

1. A Natsume et al., *Cancer Res*, 68, 3863 (2008).
2. A Ito et al., *Cancer Immunol Immunother*, 58, 1195 (2009).
3. A Ito et al., *J Immunol*, 183, 4782 (2009).

An acetylated anti-C5a complementary peptide reduced cytokines storm and prolonged survival time in a neonatal sepsis model

Mohamed Hamed Hussein^{1,2,4)}, Ghada Abdel-Hamid Daoud³⁾, Tatenobu Goto¹⁾, Shin Kato¹⁾, Masanori Nobata¹⁾, Hiroki Kakita¹⁾, Haruo Mizuno¹⁾, Tetsuya Ito¹⁾, Ineko Kato¹⁾, Satoshi Suzuki¹⁾, Noriko Okada⁵⁾, Takashi Hashimoto⁴⁾, Hidechika Okada^{5,6)}, and Hajime Togari¹⁾

Department of Pediatrics and Neonatology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,¹⁾ Research Center²⁾ and Department of Obstetrics and Gynecology, VACSERA, Giza, Egypt³⁾ Department of Pediatric Surgery, Fujita Health University School of Medicine,⁴⁾ Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences,⁵⁾ Choju Medical Institute, Fukushima Hospital⁶⁾

Objective:

To evaluate whether a novel acetylated complement C5a inhibitor (AcPepA) can suppress pathophysiological events and prolong survival time in a neonatal sepsis cecal ligation and perforation (CLP) model.

Material and methods:

Twenty one three-day-old piglets were anesthetized and mechanically ventilated. Seven underwent CLP, seven underwent CLP and AcPepA treatment starting 30 min after CLP, and seven constituted a sham (control) group. Mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), arterial blood gas (ABG), hematocrit, serum total hydroperoxide (TH), tumor necrosis factor (TNF)- α , interferon (IFN) - γ , interleukin (IL)-6, IL-10, and high mobility group box-1 (HMGB-1) were measured before CLP and at 1, 3, 6, and 9h after CLP. Measurements continued in AcPepA and sham groups at 12 and 18h after CLP.

Results:

Compared to the CLP group, the AcPepA and sham

groups exhibited higher MAP at 6 and 9h, and oxygen saturation, base excess, and hematocrit at 3, 6 and 9 h, but lower HR at 1 and 3 h, TH at 1 h, TNF- α at 1, 3, 6, and 9 h, IL-6 at 3, 6, and 9 h, HMGB-1 at 3 and 9 h, and IFN- γ at 9 h. Only the AcPepA group exhibited lower IL-10 at 3 and 9 h compared to the sham and CLP groups, respectively. The MAP, oxygen saturation, base excess, hematocrit, TH, TNF- α , and IFN- γ did not differ between the AcPepA and sham groups. Survival times were longer in the AcPepA group than in the CLP group (19.3 h \pm 2.7 h vs. 9.9 h \pm 0.7 h, $p < 0.005$).

Conclusion:

It is thus evident that AcPepA suppressed free radicals, delayed the HMGB-1 surge, and prevented TNF- α , IL-6, and IFN- γ elevation, thereby maintaining MAP and ABG levels, which resulted in prolonged survival times in a neonatal sepsis CLP model.

References:

1. Reidermann NC, et al, *Nat Med*, 2003, 9: 517-524.
2. Okada N, et al, *Mol Immunol*, 2007, 51: 439-443.
3. Kato T, et al, *Shock* 2004, 21: 329-335.

C1 インヒビター製剤の臨床 HAE～国内現況と課題～

板橋 妙、藤川 岳、篠原直樹

CSL ベーリング株式会社・マーケティング本部

C1-inhibitor Concentrates in Clinical Practice -Current Status and Problem of HAE-

Tae Itabashi, Takeshi Fujikawa, Naoki Shinohara

Marketing Division, CSL Behring K.K.

HAE の多彩な症状ゆえに携わる診療科は多岐に渡るが、それでも HAE を疑い C1-INH 活性を測定するケースが増え、新規症例が着実に増加している（2009 年 94 例, 2011 年 6 月時点 148 例, CSL Behring 社 data）。これには補体研究会より 2010 年 2 月に作成された“HAE: 遺伝性血管性浮腫ガイドライン 2010” が拠所となり診療と疾患啓発に寄与してきた。

しかしながら患者が症状を我慢し受診しない、不定期的に受診するなど、On-demand 療法（患者が必要とする際に C1-INH 製剤投与により症状が消失する）が適切に受けられずにいるのが現況である。一方で欧州とくにドイツでは On-demand 療法、さらには定期補充療法や在宅補充療法が普及しているのだが¹⁾、この背景には HAE 専門チームが診療する HAE センター施設の存在がある。本邦においては、2011 年 2 月に HAE 専門のウェブサイト”HAE 情報センター”〈<http://www.hae-info.jp>〉を稼動し、様々な情報が入手可能となった。診断し得る医師が増えつつある今日において、本サイトは On-demand 療法を可能にするため大きな意義を成すと考える。

さらに潜在患者への啓発をウェブ上で行うことは、多様化する情報発信チャンネルの一つとして非常に有用である。ウェブ上でのユーザー傾向は、その疾患に対する認知度や関心の高さのひとつの指標とし

て用いることができることから、ウェブ上で疾患啓発を行うと同時にユーザー傾向を解析し診療の参考に活用できるデータ蓄積をしていく。

ウェブサイトのアクセス解析結果から、地域別で見ると、関東圏・関西圏の都市部からのアクセスが約 53% を占めていた。また、ページ別総訪問数の約 21% が『HAE の症状について』のページにアクセスしており、そのうちの約 6% が『医療機関検索』のページにアクセスしていた。

このことは、ユーザーがウェブ上で自身の症状と重ね合わせて近医への受診へと繋がるケースが考えられた。すなわち、本疾患に類似する症状を呈した患者が地域差なくある一定の割合で存在することが示唆された。

HAE の疫学や治療法の進歩は、基礎研究と臨床医の共同作業「from bench to the bedside」の典型との記載がある²⁾。On-demand 療法や疾患啓発への課題だけでなく、最近の課題である HAE 症例集積を軸にした病態の解明と症例発掘を上手く連動していきたいと考える。

[文献]

- 1) Kreuz W et al., [Article in Press] *Transfusion*, (2011).
- 2) Bernstein I.L., *Ann Allergy Asthma Immunol*, 100, S2 (2008)

突発性浮腫の鑑別と治療

堀内孝彦

九州大学免疫・膠原病・感染症内科

Differential diagnosis and treatment of recurrent episodic edema

Takahiko Horiuchi

Kyushu University Hospital, Department of Clinical Immunology, Rheumatology and Infectious Diseases

浮腫（むくみ）は日常ありふれた症候のひとつであり、その大部分は慢性に生じる。心疾患、腎疾患、肝疾患がその代表であるがそのほかにもさまざまな原因で起きる。浮腫のなかで発作性に局所的に出現して数日で消失するものを突発性浮腫（あるいは血管性浮腫）と呼ぶ。突発性浮腫は、表面から見える皮膚だけでなく、喉頭や腸管など様々な部位にも突然生じるため、窒息や激しい腹痛（急性腹症）などの重症な状態で救急を受診することも稀ではない。突発性浮腫の原因はHAEをはじめ様々な疾患があり、それぞれ対処法も異なるため、鑑別を的確に行うことが重要である。本稿では、鑑別が必要な疾患を挙げ、これらを見分けるために役立つポイント、治療のポイントを提示する。

「むくみ」について一般の関心は高い。なんらかの突発性浮腫は欧米では一般集団の15%に生じるとする報告もあり、臨床の現場でも鑑別を知っておくことは有意義である。その中でもHAEは原因特異的な治療法が確立しており、稀少疾患ではあるが決して見逃してはならない。

何よりも大事な診断のきっかけは「HAEという病気の存在を知っている」ことであり、「突発性浮腫＝クインケ浮腫＝原因不明だが予後良好」として安易に片づけられないように更なる啓蒙が必要である。

参考文献

- 1) 堀内孝彦：突発性浮腫への対応—遺伝性血管性浮腫(HAE)の鑑別診断と治療— 日本医事新報 No.4545 73-79、2011

Trypanosoma brucei brucei 昆虫型原虫のラット正常血清による溶解

藪 義貞, 伊藤奈緒子, 高岡大樹, 岡田則子

名古屋市・医・免疫

Role of lectin pathway activation in the complement-mediated lysis of *Trypanosoma brucei brucei* procyclic insect form.

Yoshisada Yabu, Naoko Ito, Taiju Takaoka and Noriko Okada

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

[はじめに]
アフリカ睡眠病の病原体である *Trypanosoma brucei brucei* の血流型原虫である bloodstream form は実験動物に感染するが媒介昆虫中腸型である procyclic form は感染しない。さらに、この procyclic form 原虫はラットやモルモットの正常新鮮血清により短時間で溶解され、血清の非働化によりこの活性は失活することから補体の関与が示唆されている。補体の活性化経路には古典経路、第二経路が知られていたが、1992年に第三の活性化経路であるレクチン経路が発見された¹⁾。その活性化経路は血清中のマンナン結合タンパク質 (MBP) と呼ばれる動物レクチンがカルシウムイオン依存的にセリンプロテアーゼと結合し C4、C2 を活性化する経路である。この procyclic form 原虫膜上には GPI アンカー型タンパク質である PARP (procyclic acidic repetitive protein)²⁾があり Con A、WGA、RCA などのレクチンにより凝集する³⁾ことからこの実験動物正常血清による原虫の溶解現象には補体レクチン経路が関与している可能性を予想し実験を行った。

[方法]

Trypanosoma brucei brucei procyclic form: *T. b. brucei* (GUTat 3.1 株) 昆虫型原虫 (procyclic form) は 10% FBS 加 SDM79 medium⁴⁾を用い 27°C、5% CO₂ 存在下継体維持した。
血清: 実験動物血清の中で一番強い活性を示すラッ

ト血清を用いた。6週令 Wistar ラットから採血後血清を分離し-80°Cに保存、使用前に融解し用いた。血清はペロナール緩衝液 (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺含) にて 16-32 倍希釈した。

原虫溶解試験: *T. b. brucei* procyclic form 浮遊液 (2 x 10⁷/ml) と等量の希釈血清を混和し 37°C、15 分インキュベートし原虫溶解%を下記のように計算した。

溶解 % = 100 (1 - X_{Exp}/X_{Cont}) % X_{Exp}: 実験群の生原虫数; X_{Cont}: 対照群の生原虫数。

血清の非働化による影響: ラット血清を 56°C、30 分加熱後原虫溶解活性を調べた。

Cobra venom factor による影響: ラットに Cobra venom factor (CVF, 50 Unit)を腹腔内投与し 24 時間後採血しその影響を調べた⁵⁾。

カルシウムおよびマグネシウムイオンの影響:

EDTA および EGTA 処理血清、および EGTA + Ca⁺⁺、EGTA + Mg⁺⁺ 処理血清を用いカルシウムおよびマグネシウムイオンの原虫溶解活性への影響を調べた。

糖による影響: 血清を D-Mannose, GlucNAc, D-Fucose などで 37°C、30 分処理し原虫溶解活性への影響を調べた。

蛍光抗体法: 原虫を 4% PFA 固定後、新鮮血清、56°C、30 分非働化血清と 37°C、30 分インキュベートし、FITC 標識抗ラット C3 抗体と反応後蛍光顕微鏡にて観察した。同様に処理原虫を FITC 標識抗ラット

IgM + IgG 抗体と反応後蛍光顕微鏡にて観察した。
[結果と考察]

T. b. brucei procyclic form は 16 倍、32 倍希釈血清と混和後 37°C インキュベートするとそれぞれ 15、30 分以内にすべての原虫の溶解が見られたが 56°C、30 分非働化した血清では原虫の溶解は観察されなかった。原虫を PFA 固定後 16 倍希釈新鮮血清および非働化血清、EDTA 処理血清および 200 mM マンノース処理血清とインキュベートし洗浄後 FITC 標識抗ラット C3 抗体、抗ラット IgM + IgG 抗体で染色すると新鮮血清とインキュベートした原虫膜上には鮮明に C3 の沈着が確認されたが非働化血清、EDTA 処理血清およびマンノース処理血清では C3 の沈着は確認されなかった。さらに、新鮮血清とインキュベートした原虫膜上にはラット IgM、IgG 共に検出されなかった。補体活性化経路において、古典経路およびレクチン経路ではカルシウムが第二経路においてはマグネシウムイオンが活性化に必須である。EGTA + Ca⁺⁺ 処理血清において原虫溶解活性の回復が見られたが EGTA + Mg⁺⁺ 処理血清では原虫溶解活性の回復は観察されなかった。この事実はラット血清による原虫溶解現象に補体系の古典経路またはレクチン経路の活性化が関与することが示唆された。さらに血清を D-Mannose, GlucNAc, Fucose で処理すると D-Mannose, GlucNAc 処理血清において原虫溶解活性の減少が観察された。ラット血清による原虫溶解現象において自然抗体の関与は否定され、糖により抑制がみられたことから原虫の溶解現象には補体系レクチン経路の活性化が関与することが証明された。

[文献]

- 1) M. Matsushita and T. Fujita, *J Exp Med*, 176, 1467 (1992).
- 2) M. A. J. Ferguson et al., *Biochem J*, 291, 51 (1993).
- 3) L. A. Mutharia and T. W. Pearson, *Mol Biochem Parasitol*, 23, 165 (1987).

- 4) R. Brun and M. Schonenberg, *Acta Trop*, 36, 289 (1979).
- 5) P. R. Maroko et al., *J Clin Inv*, 61, 661 (1978).

コレクチン CL-K1 のヒト血中濃度

大谷克城¹⁾、吉崎隆之¹⁾、森健一郎¹⁾、本村亘¹⁾、松田泰幸¹⁾、黄仁秀¹⁾、吉田逸朗¹⁾、金然旭¹⁾、
鈴木定彦²⁾、若宮伸隆¹⁾

¹⁾旭川医大・医・微生物、²⁾北大人獣共通感染症リサーチセンター・国際疫学部門

Collectin CL-K1 level in human blood

Katsuki Ohtani¹⁾, Takayuki Yoshizaki¹⁾, Kenichiro Mori¹⁾, Wataru Motomura¹⁾, Yasuyuki Matsuda¹⁾, Insu Hwang¹⁾,
Itsuro Yoshida¹⁾, YounUck Kim¹⁾, Yasuhiko Suzuki²⁾ and Nobutaka Wakamiya¹⁾

¹⁾ Department of Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University

²⁾ Department of Global Epidemiology, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University

[はじめに]

コレクチンは、コラーゲン様構造と糖認識領域を有しており、多量体を形成して異物の糖鎖をパターン認識し、排除する自然免疫機能分子として知られている。血中には肝臓で産生されるコレクチン MBL が存在し、補体活性化のレクチン経路を担う重要な分子であると考えられている。これまでの研究により CL-K1 は MBL と同様のドメイン構造を有しており、血中に存在することを明らかにしている¹⁾。今回、我々は、ヒト CL-K1 ELISA システムを構築し、約 200 人について血中濃度の測定を行った²⁾ので、その結果について報告する。

[方法]

大腸菌発現系により部分ヒト CL-K1、CHO 細胞発現系により完全長ヒト CL-K1 組換えタンパク質を作製し、3 種類の抗ウサギポリクローナル抗体と 20 種類の抗マウスモノクローナル抗体を得た。これらの抗体を用いて全ての組み合わせで、サンドイッチ ELISA の固相化抗体および検出用抗体として、最も適切に CL-K1 を検出できる組み合わせを選抜した。標準品としては、初期検討時は完全長組換えヒト CL-K1 を用いたが、最終的にプール血漿を用いた ELISA システムとして構築した。

ヒトの血中 CL-K1 濃度を明らかにするために、220

名（男性 110 名、女性 110 名）の健常人について測定を行った。同時に血中 MBL 濃度についても、大谷らによる MBL ELISA システムにて測定を行い、それらの相関性についても解析を行った。

[結果と結論]

測定の結果、MBL の血漿中濃度は、既報³⁾とほぼ同等の $1.72 \pm 1.51 \mu\text{g/mL}$ であったが、CL-K1 は、 $0.34 \pm 0.13 \mu\text{g/mL}$ と低値を示し、MBL 遺伝子で見られる SNPs による広範な濃度分布は見られず、濃度分布は正規分布を示し、ほぼ一定であることが明らかとなった。また、年齢や性差も見られず、MBL の血漿中濃度との相関は示されなかった。

最近、CL-K1 が補体活性化のレクチン経路に関わることが報告され⁴⁾、さらに 2011 年 3 月に Nature Genetics 誌に CL-K1 及び MASP1 遺伝子の変異により 3MC 症候群が引き起こされることが報告された⁵⁾。それらを含めて CL-K1 の生理的機能について概説する。

[文献]

- 1) H. Keshi et al., *Microbiol. Immunol*, 50, 1001 (2006).
- 2) T. Yoshizaki et al., *J Biochem*, in press
- 3) 芥子宏行 他、医学のあゆみ 194, 957 (2000).
- 4) S. Hansen et al., *J Immunol*, 185, 6096 (2010).
- 5) C. Rooryck et al., *Nat Genet*, 43, 197 (2011).

H1N1 インフルエンザの重症化における 補体アナフィラトキシン及び HMGB1 の関与

太田里永子¹⁾, 伊藤嘉規²⁾, 鳥居ゆか²⁾, 木村宏³⁾, 岡田則子¹⁾, 今井優樹¹⁾

¹⁾名市大・医・免疫, ²⁾名大・医・小児科, ³⁾名大・医・ウイルス

Complement Anaphylatoxin and HMGB1 involvement in the infection with complicated H1N1 influenza.

Rieko Ohta¹⁾, Yoshinori Ito²⁾, Yuka Torii²⁾, Hiroshi Kimura³⁾, Noriko Okada¹⁾ and Masaki Imai¹⁾

¹⁾Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

²⁾Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine

³⁾Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine

〈はじめに〉

2009-2010 年における H1N1 型インフルエンザは、日本に置いても全国的に流行した^{1), 2)}。感染患者のうち、15歳以下の小児において重症化した症例が多数報告された³⁾。

感染防御において、補体は重要な役割を果たしているが、過剰な補体活性化による補体分解産物 C5a アナフィラトキシンの過剰産生は、炎症細胞膜上に発現誘導される C5aR や C5L2 を介して high-mobility group box 1 (HMGB1) の放出を過剰にさせ、サイトカインストームを引き起こし、敗血症や多臓器不全等の重篤な病態を引き起こす要因のひとつであると考えられる。⁴⁾⁻⁶⁾

前回の補体シンポジウムで、アナフィラトキシンがインフルエンザの病態の重症化に関与するかどうかを報告した。重症化の要因としてアナフィラトキシンの関与を示唆する結果は得られなかったが、インフルエンザ感染により過剰な補体活性化によるアナフィラトキシンの過剰産生が認められ、それらは炎症性物質の産生増大に関与することが推察された。そこで今回我々は、インフルエンザ感染患者を重症肺炎群、急性脳症群、重症肺炎と急性脳症の合併群、及び合併症のないコントロール群の4つに分類し、アナフィラトキシンに加え、HMGB1 及び炎症性サイトカインが、H1N1 型インフルエンザの病態によりど

のように変化しているか解析した。

〈方法〉

RT-PCR 法により H1N1 型インフルエンザに感染したと診断された 91 症例について、重症肺炎群、急性脳症群、重症肺炎と急性脳症の合併群、及び合併症のないコントロール群の4つに分類し、血清中のアナフィラトキシン (C5a, C4a, C3a) と HMGB1 の濃度を、それぞれ Anaphylatoxin ELISA kit (BD) と HMGB1 ELISA kit (Shino-test) にて測定した。またサイトカイン濃度は multiplex beads-based assay (Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Beads Assay) で測定した。

〈結果と考察〉

合併症のないコントロール群と比較して、重症肺炎群、急性脳症群、重症肺炎と急性脳症の合併群において、アナフィラトキシンに有意な差は認められなかった。今回用いた ELISA での測定方法では、不活化型 C5a-desArg、C4a-desArg、C3a-desArg と、活性化型 C5a、C4a、C3a を区別することはできない。補体反応は、ウイルス感染初期に即時的に増幅されるため、今回解析に用いた発熱から3日以内の血清では、活性化型と不活化型が混在する状態であると考えられるため、重症化群とコントロール群で差が認められなかったと推察される。

一方、HMGB1 は重症肺炎群と重症肺炎+急性脳症の

合併群において、コントロール群と比較して、有意な上昇が認められた（重症肺炎群 $p=0.005$ 、重症肺炎+急性脳症の合併群 $p<0.0001$ ）。

また、IL-1 β ($p=0.006$)、IL-2 ($p<0.0001$)、IL-6 ($p<0.0001$)、IL-10 ($p<0.0001$)、IL-12p70 ($p=0.012$)、TNF- α ($p=0.013$)、IFN- γ ($p=0.013$)は、重症肺炎群において、コントロール群と比較して、有意な上昇が認められた。HMGB1はIL-1 β ($p=0.0008$, $r=0.347$)、IL-8 ($p=0.013$, $r=0.259$)及びIL-12p70 ($p<0.0001$, $r=0.424$)、TNF- α ($p=0.013$, $r=0.258$)と相関が認められたことから、HMGB1が重症肺炎において proinflammatory cytokine としての作用を持つことが示唆された。

C4aはHMGB1と相関が認められたことから ($p=0.041$, $r=0.412$)、H1N1型インフルエンザウイルス感染における重症化の要因としてアナフィラトキシンの関与を示唆する結果は得られなかったが、重症肺炎において、アナフィラトキシンを介してHMGB1が炎症性物質の産生増大に関与することが推察された。

<参考文献>

- 1) F. S. Dawood et al., *Engl J Med*, 360, 2605 (2009).
- 2) C. Fraser et al., *Science*, 324, 1557 (2009).
- 3) T. Kamigaki., *PLoS Curr Influenza*, RRN1139 (2009)
- 4) M. A. Flierl et al., *FASEB J*, 22, 3483 (2008).
- 5) D. Rittirsch et al., *Nat Med*, 14, 551 (2008).
- 6) J. C. Schefold et al., *Shock*, 28, 418 (2007).

抗がん免疫療法のターゲットとしての乳酸シグナル経路の可能性

井上徳光¹⁾、大橋敏充¹⁾²⁾、藪政彦¹⁾、赤澤 隆¹⁾

¹⁾大阪府立成人病センター・分子遺伝, ²⁾岐阜大学・医・耳鼻咽喉科

Lactic acid signal pathway as a possible target for anti-cancer immunotherapy

Norimitsu Inoue, Toshimitsu Ohashi, Masahiko Yabu and Takashi Akazawa

¹⁾Molecular Genetics, Osaka Medical Center for Cancer,

²⁾Otolaryngology, Gifu University Graduate School of Medicine

[はじめに]

がんの三大治療法として、外科療法、化学療法、放射線療法が知られているが、第4の治療法として免疫療法が期待されている。また、化学療法や放射線療法には、免疫的な抗がん作用が重要である事が報告されている。しかし、免疫療法は、未だ、確立された方法とはなっていない。多くの場合、がんは、免疫からエスケープし、自身の成長を促進させるのに、免疫細胞をうまく利用している。実際、がん組織には、多くの免疫細胞が浸潤し、IL-23などの炎症性サイトカインの分泌や、C5aやS100A8/A9による抑制性骨髄細胞(MDSC)の誘導は、がんの成長に促進的に働いている事が知られている。

私たちは、解糖系の亢進(Warburg効果)によりがんから多量に分泌される乳酸が、単なる終末代謝産物だけでなく、IL-23/IL-17炎症経路を活性化し、炎症メディエーターとして働く事を示した(1, 2)。今回、乳酸産生や分泌を阻害する薬剤の免疫細胞に与える影響を、in vitroとin vivoで検討した。

[方法]

(1) MHCクラスIIに提示されたOvalbumin(OVA)ペプチドを認識するTCRトランスジェニックOT-IIマウス脾臓細胞を、OVAペプチドと乳酸で刺激し、培養上清中に分泌されたIL-17AやIFN γ を測定した。その際、解糖系(Pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor, DCA; LDH inhibitor, Sodium oxamate)

や乳酸分泌(MCT1 inhibitor, α CHCA)などを阻害する薬剤を投与し、その影響を検討した。

(2) 担癌マウスにおいて、これらの乳酸をターゲットにした薬剤の腫瘍内や脾臓の免疫細胞に与える影響を検討した。

[結果と考察]

解糖系や乳酸分泌に関わる蛋白の阻害剤は、乳酸によるIL-17産生を著しく阻害した。特に、抗がん剤や乳酸アシドーシスの治療薬として既に臨床で使用されているDCAは、IFN γ 産生には影響せず、乳酸によるIL-17産生増強のみを抑制した。In vivoにおいても、DCAは、TLR2リガンドによるIL-17産生を抑制し、IFN γ 産生を増強した。

一般的に化学療法は、造血細胞の増殖を抑制するため、効果的な免疫療法を望む事ができない。しかし、最近、Gemcitabineが、MDSCを抑制し、免疫療法の効果を増強する事が報告され、ペプチドワクチンとの併用療法が試みられている。今回、私たちは、乳酸シグナル経路をターゲットにする事により、がん周囲の炎症誘導を抑制し、抗がん免疫療法を増強する可能性を示した。今後、さらに、in vivoでの乳酸シグナルをターゲットにした治療法の免疫アジュバント療法に与える効果を検討していきたい。

[文献]

1) Shime, H. et al., *J Immunol* 180, 7175 (2008)

2) Yabu, M. et al., *Intl Immunol* 23, 29 (2011)

MBLによるC2 バイパスを介する第二経路活性化

立石恒一郎¹⁾、寺林一幸²⁾、Norafila Humrawali²⁾、松下 操^{1,2,3)}

東海大学・¹⁾大学院総合理工学研究科、²⁾大学院工学研究科、³⁾工学部生命化学科

Alternative pathway activation by MBL via a C2 bypass

Koichiro Tateishi¹⁾, Kazuyuki Terabayashi²⁾, Norafila Humrawali²⁾, Misao Matsushita^{1,2,3)}

¹⁾Graduate School of Science and Technology, ²⁾Graduate School of Engineering, ³⁾Department of Applied Biochemistry, School of Engineering, Tokai University

[目的]

マンノース結合レクチン (MBL) は三種類の MASP (MASP-1, -2, -3)、それらの短縮型蛋白質の sMAP および MAp44 と複合体を形成しており、糖鎖に結合するとレクチン経路を活性化する。この時、MASP-2 により C4 と C2 が活性化される。MBL は *Salmonella* のオリゴ糖に結合すると、C4 と MASP-2 の関与なしに第二経路を活性化する¹⁾。昨年の本シンポジウムで報告したように、マンナン結合 MBL も第二経路を活性化し、そのメカニズムは C4 依存的な C2 バイパスと推定された。本研究においてこれを検証した。また、L-ficolin による第二経路活性化についても検討した。

[方法]

1) ヒト血清より、MBL-MASP, MBL, MASPs, MASP-1/3, MASP-2 を精製した。
2) MBL によるレクチン経路と第二経路の活性化は ELISA 法により検討した。マンナンコートウェルに各種 MBL (MBL-MASP, MBL など) を反応させた後、各種 MASP を反応、MBL 除去 C2 欠損血清 (MC2DS) を反応させ、C3b および C4b のウェルへの沈着量を測定した。MC2DS から C4 を除去した血清 (MC42DS) についても同様の実験を行った。

[結果]

1) MBL-MASP はマンナン結合後に MC2DS 中の C4 と C3 を活性化した。MBL と MASP の再構成では、MBL と MASPs、MBL と MASP-2 の組み合わせにより、共に MBL 単独に比べて強い C4 と C3 の活性化が見られた。

2) MBL と MASP の再構成後に C4 を反応させ、その後 MC42DS を反応させると、MBL と MASPs、MBL と MASP-2 の組み合わせの時に C4 と C3 の強い活性化が起きた。しかし、C4 非存在下では活性化は起きなかった。

3) L-ficolin のリガンドであるアセチル化 LDL をコートしたウェルに C2 欠損血清を反応させると C3 の活性化が起きた。

[考察]

Salmonella のオリゴ糖と異なり、マンナン結合 MBL による第二経路活性化には MASP-2 と C4 を必要とした。従って、この活性化は MASP-2 の作用により生成する C4b が引き金となり第二経路が活性化される C2 バイパスを介するものであり²⁾、MBL のリガンドにより第二経路の活性化のメカニズムが異なることが考えられる。また、L-ficolin はアセチル化 LDL に結合すると第二経路を活性化する可能性がある。

[文献]

- 1) Selander, B. et al. J. Clin. Invest. 116:1425 (2006)
- 2) Matsushita, M & Okada, H. J. Immunol. 136:2994 (1986)

慢性白血病 K562 細胞脱核モデル系の確立

西浦 弘志、山本 哲郎
熊本大学・大学院生命科学研究部・分子病理分野

Establishment of the enucleation model of chronic leukemia K562 cells

Hiroshi Nishiura, Tetsuro Yamamoto

Dept. of Mol. Pathol., Faculty of Life. Sci., Kumamoto Univ., Kumamoto, Japan

【はじめに】

S19 リボソーム蛋白質(RP S19)は、赤血球成熟不全ダイヤモンドブラックファン貧血症の原因遺伝子である。RP S19単量体は、蛋白合成装置リボソームの構成成分であるため、その機能不全は細胞にアポトーシスを誘導する。この機能不全が赤血球幹細胞に重く作用することで、貧血症が説明された[1]。

一方、我々は、アポトーシス細胞より放出される RP S19多量体が単球 C5a 受容体に細胞遊走を指示しアポトーシス終焉に貢献することを発見していた[2]。この機構が、マクロファージに核を貪食されることで成熟を完了する赤血球分化に応用されていると考えた。

今回、この仮説を証明するために慢性白血病 K562 細胞脱核モデル系を確立する。

【モデル 1】

(Day0) 単球系白血病 THP-1 細胞を phorbol myristate acetate 刺激によりマクロファージ様に、赤色・緑色蛍光でそれぞれ核・細胞質を標識した慢性白血病 K562 細胞を hemin 刺激により赤芽球様に、別々のプレートで分化誘導した。

(Day3) プレートに接着したマクロファージ様細胞に、赤芽球様細胞を共培養した。

(Day9) マクロファージ様細胞に接着しない赤芽球様細胞は洗浄した。

(Day15) マクロファージ様細胞は赤色核を貪食し、上清に浮遊した細胞は緑色であることを FACS およびレーザー顕微鏡で確認した。

【モデル 2】

(Day-6) 赤色・緑色蛍光でそれぞれ核・細胞質を標識した慢性白血病 K562 細胞を hemin 刺激により赤芽球様に分化誘導した。

(Day-3) 単球系白血病 THP-1 細胞を phorbol myristate acetate 刺激によりマクロファージ様に、

タイムラプス用プレートで分化誘導した。

(Day0) プレートに接着したマクロファージ様細胞に、赤芽球様細胞を 3 日間共培養した。マクロファージ様細胞は赤色核を貪食し、上清に浮遊した細胞は緑色であることを OLYMPUS LCV110 で確認した。

【追加実験】 マクロファージ様細胞による赤芽球様細胞核の貪食作用に対する阻害実験

(Day0) プレートに接着したマクロファージ様細胞に、赤芽球様細胞を 3 日間共培養した。培養液中に、コントロール溶媒、抗 RP S19 抗体、C5aR アンタゴニスト (PMX-53) または C3aR アンタゴニストを添加した。

【結果・考察】

K562 赤芽球様細胞は、THP-1 マクロファージ様細胞により脱核を誘導された。この過程に、RP S19 多量体・C5aR・C3aR の関与が示唆された。

【文献】

[1] Flygare J, Karlsson S. Diamond-Blackfan anemia: erythropoiesis lost in translation. *Blood*. 2007;109:3152-3154.

[2] Nishiura H, Zhao R, Yamamoto T. The role of the ribosomal protein S19 C-terminus in altering the chemotaxis of leukocytes by causing functional differences in the C5a receptor response. *J Biochem* 2011;in press.

プロカルボキシペプチダーゼ R 欠損はコンカナバリン A 誘発性肝炎に よる致死率を雌マウスにおいて増大させる

朝井鈴佳¹⁾, 金原紀章¹⁾, 多田豊廣²⁾, 今井優樹¹⁾,
William Campbell³⁾, 岡田秀親⁴⁾, 岡田則子¹⁾

¹⁾名市大・医・免疫, ²⁾名市大・看・病理, ³⁾福祉村病院・長寿研, ⁴⁾蛋白科学研究所

Procarboxypeptidase R Deficiency Causes Increased Lethality in Concanavalin A -induced
Hepatitis in Female Mice

Suzuka Asai¹⁾, Noriaki Kimbara¹⁾, Toyohiro Tada²⁾, Masaki Imai¹⁾, William Campbell³⁾, Hidechika
Okada⁴⁾ and Noriko Okada¹⁾

¹⁾ Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

²⁾ Department of Pathology, Nagoya City University School of Nursing

³⁾ Choju Medical Institute, Fukushima Hospital

⁴⁾ Institute for Protein Science Co.

[目的]

プロカルボキシペプチダーゼ R (proCPR) は血液中に存在し、炎症や血液凝固が起こった際に、トロンビンやトロンボモジュリンによって活性化型であるカルボキシペプチダーゼ (CPR) となる。CPR は C3a や C5a のほか、トロンビンによって切断型となったオステオポンチン (cleaved N-OPN) の C 末端アルギニンを切断し、これらの炎症性蛋白質を不活性化させる^{1),2)}。

一方、コンカナバリン A (ConA) をマウスへ投与すると劇症肝炎が引き起こされることが知られている。このモデルにおいては、肝臓において cleaved N-OPN が NKT 細胞を活性化し、様々な細胞成分の浸潤や炎症性サイトカインの放出を誘導するために、肝炎が増幅されると唆されている³⁾。さらに、ConA 誘発性の肝炎では、雄マウスよりも雌マウスにおいて炎症のレベルがより高度であることも報告されている^{4),5)}。

われわれは以前、全身性に高度な炎症が生じた場合

には、proCPR 欠損マウスの致死率が野生型と比べ有意に高くなることを見出し、proCPR が炎症の抑制に大きな役割を果たしていることを明らかにした⁶⁾。そこで今回、proCPR 欠損マウスへ ConA を投与し、血液中の炎症性サイトカインの濃度および致死率を野生型と比較することで、劇症肝炎における CPR の重要性を検討した。

[方法]

5～8 週齢の proCPR 欠損マウスに ConA (500μg/mouse) を静脈内投与し、雌雄それぞれの致死率を調べた。ConA 投与後の血液中 CPR の活性レベルは、野生型マウスを用いて測定した。

雌マウスにおいては ConA (400μg/mouse) 投与から 4 時間後に、肝炎の指標としての AST、ALT および ALP の血液中濃度を測定した。また、炎症性サイトカインである MIP-2、HMGB1 及び IFN-γ の血液中濃度も ELISA にて測定した。比較対照には系統が同じマウスの野生型を用いた。

[結果と考察]

ConA を投与した後の致死率を調べたところ、雄のマウスでは proCPR 欠損マウスと野生型マウスとの間に有意な差は見られなかった。しかしながら、雌のマウスでは proCPR 欠損マウスの致死率が野生型マウスと比較して有意に高かった。

血液中の CPR の活性レベルを、野生型マウスを用いて調べたところ、ConA 投与後 1 時間内には CPR の活性が投与前と比較して有意に下がっていたことから、短時間のうちに CPR が消費されたと考えられた。

雌マウスにおいては、proCPR 欠損マウスの AST、ALT および ALP の血液中の濃度は、野生型と比較して有意な差は見られなかった。しかしながら、全ての数値について、proCPR 欠損マウスの方が野生型よりも高い傾向にあった。

炎症性サイトカインである MIP-2 および IFN- γ の血液中濃度についても、proCPR 欠損マウスと野生型マウスとの間に有意な差は見られなかったものの、HMGB1 については proCPR 欠損マウスの方が野生型マウスよりも高い傾向にあった。

[結論]

以上のことから、ConA 投与直後の炎症急性期において、proCPR が肝臓での炎症増大を抑制している可能性が高く、特に雌では致命的な状態からの回避に proCPR が重要であることが示唆された。

劇症肝炎における proCPR と cleaved N-OPN の関わりについては、今後さらに詳細に調べる必要があると考えられる。

[文献]

- 1) Campbell W. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 162,933 (1989)
- 2) Myles T. et al., *J. Biol. Chem.*, 278,51059 (2003)
- 3) Diao H. et al., *Immunity*, 21, 539 (2004)
- 4) Mimura S. et al., *J. Gastroenterol.*, 39, 867 (2004)
- 5) Takamoto S. et al., *Hepatol. Res.*, 27, 221 (2003)
- 6) Asai S. et al., *J. Immunol.*, 173, 4669 (2004)

カルボキシペプチダーゼ R 生成を阻害する相補性ペプチド

河村剛至¹⁾²⁾、堀川康一郎¹⁾、岡田秀親³⁾、岡田則子²⁾

¹⁾日薬大・薬・臨床薬学教育センター, ²⁾名市大・医・免疫, ³⁾(株)蛋白科学研究所

A peptide inhibitor of procarboxypeptidase R activation by thrombin-thrombomodulin complex
Takeshi Kawamura¹⁾²⁾, Koichiro Horikawa¹⁾, Hidechika Okada³⁾ and Noriko Okada²⁾

¹⁾Clinical Pharmacy Education Center for integrative medicine, Nihon Pharmaceutical University

²⁾Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

³⁾Institute for Protein Science Co.Ltd

[はじめに]

プロカルボキシペプチダーゼ R (ProCPR) は別名で TAFI (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor) として知られている。血液中に存在する ProCPR はトロンビン・トロンボモジュリン複合体により切断され、活性型であるカルボキシペプチダーゼ R (CPR) が生じる。CPR は生体内で 2 つの役割が示唆されており、一つはアナフィラトキシン等の炎症性ペプチドの C 末端アルギニンを除去して不活性化を行い、炎症反応を制御することである¹⁾²⁾。もうひとつはフィブリンの C 末端リジンを切断してプラスミノゲンのフィブリンへの結合を阻害し、線溶反応を阻害することである³⁾。今回、ProCPR の生体内での役割をより明らかにし、血栓性病態⁴⁾の治療へ応用する目的で、ProCPR 活性化を制御するペプチドの開発を試みた。

[方法]

ProCPR 活性化を阻止するためには、トロンビン・トロンボモジュリン複合体による ProCPR の 92 番目のアルギニンのカルボキシ側の切断を阻止する必要がある。そこで、ProCPR の 92 番目のアルギニン付近 (87-DTVSP⁹²RASASYEQYHSLNE-106・20 残基) に結合するペプチドを設計合成した。ペプチドの設計方法は、コンピュータプログラム MIMETIC を用いて、標的ペプチドに対して疎水性パターンが逆の値になって相補性になっていること、対応する位置のアミノ酸側鎖の容積が対応し、アミノ酸同士の α 炭素が 5 Å 以内に接近できること、ペプチド骨格のバックボーン並列性の一致などを指標にアミノ酸配列を選定した。このように設計合成されたペプチドを相補性ペプチド (C-peptide) と名付けた。

ペプチドが CPR 生成を阻害する効果は CPR 活性を測定し、評価した。予め proCPR 画分とペプチドを混合し室温で 5 分反応させた後、トロンビン・トロン

ボモジュリンを加え、室温で proCPR 活性化反応を行った。トロンビン阻害剤と CPR の基質 (ヒプリルアルギニン) を加えて 1 時間反応を行い、基質分解により生成した馬尿酸量を塩化シアヌルを加えて、405 nm の吸光度で測定した。

[結果]

相補性ペプチド濃度 2 μ M 以上で CPR 生成活性が阻害された。このペプチドを VGG と名付けた。proCPR に対するモノクローナル抗体を用いたウエスタンブロットティングを行ったところ、VGG 濃度 2 μ M 以上で proCPR のバンドが検出され、proCPR 活性化を阻害していることが明らかとなった。

CPR 活性測定系にトロンビンの蛍光酵素基質を加え、酵素基質の分解と CPR 生成活性を同時に測定したところ、VGG はトロンビンの酵素活性に影響を与えなかった。VGG のアミノ酸配列の順序を入れ替えたペプチドはほとんど CPR 生成を阻害しなかった。VGG は 30% ヒト血漿に於いても CPR 生成を阻害した。PVDF 膜に VGG を結合させ、ヒト血漿と作用させた後、proCPR に対するモノクローナル抗体を用いて検出したところ、VGG と proCPR の結合が検出された。

[考察]

proCPR の活性化を阻害するため、ProCPR の 92 番目のアルギニン付近に結合するよう設計合成した VGG は、実験で proCPR に結合し、トロンビン・トロンボモジュリン複合体による活性化を阻害することが明らかとなった。CPR に対する阻害剤は線溶を速めるため、抗血栓治療薬の標的分子として世界中で注目されているが、ProCPR の活性化 (CPR の生成) 阻害剤は新しい作用機作であり、新規血栓溶解薬の創生が期待される。

[結論]

今回の ProCPR 活性化を例に、MIMETIC で設計されたペプチドは、標的分子に相互作用することが明らか

かになった。このことは、制御したい蛋白質の機能的に重要な部位のアミノ酸配列情報より、蛋白質の機能を制御するペプチドを設計することが出来ることを示唆する。遺伝子から推測されるタンパク質のアミノ酸の一次配列情報で阻害剤を作成できることは創薬、分子間相互作用を考える上で有用であり、今後の発展性が期待される。

[文献]

- 1) W. Campbell et al., Microbiol. Immunol, 46, 131 (2002)
- 2) R. Park et al., Korean J Hematol, 45(4), 264 (2010)
- 3) A. Reditz et al., J. Clin Invest, 96, 2534, (1995)
- 4) A. Silveira et al., Thromb Haemost, 84(3), 364 (2000)

急性腹膜障害に対する C5a の関与と C5a 阻害薬の有用性

水野智博^{1,4)}, 水野正司^{2,3)}, 櫛田真由⁴⁾, 野田幸裕⁴⁾, 山田清文¹⁾, 今井優樹⁵⁾,
岡田秀親⁶⁾, 岡田則子⁵⁾, 丸山彰一³⁾, 松尾清一³⁾, 伊藤恭彦^{2,3)}

¹⁾名大・医・医療薬, ²⁾名大・医・腎不全総合治療学, ³⁾名大・医・腎臓, ⁴⁾名城大・薬・病態解析, ⁵⁾名市大・医・免疫, ⁶⁾長寿医学研

Anti-C5a complementary peptide and C5a receptor antagonist ameliorate acute peritoneal damage.
Tomohiro Mizuno^{1,4)}, Masashi Mizuno^{2,3)}, Mayu Kushida⁴⁾, Yukihiro Noda⁴⁾, Kiyofumi Yamada¹⁾,
Masaki Imai⁵⁾, Hidechika Okada⁶⁾, Noriko Okada⁵⁾, Shoichi Maruyama³⁾, Seiichi Matsuo³⁾, Yasuhiko
Ito^{2,3)}

¹⁾Department of Neuropsychopharmacology and Hospital Pharmacy, Nagoya University Graduate School
of Medicine

²⁾Department of Renal replacement Therapy, Nagoya University Graduate School of Medicine

³⁾Department of Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine

⁴⁾Department of Clinical Sciences and Neuropsychopharmacology, Meijo University

⁵⁾Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

⁶⁾Chochu Medical Institute

[はじめに]

腹膜線維症の発症予防は、腹膜透析の長期施行において、極めて重要である。線維化の進展予防には、炎症反応のコントロールが重要であるが、炎症を惹起させる要因は多岐に渡る。

補体活性系は、生体内における自然免疫の重要な役割を果たしているが、活性系の制御を失うと、炎症を増悪させることが分かっている。異常な補体活性から身を守るため、細胞表面には膜補体制御因子が存在しており、ラットにおける膜補体制御因子には Crry (complement rodentregulator), CD55, CD59 の存在が確認されており、それぞれ C3 レベル、C9 レベルで補体活性経路を抑制している。膜補体制御因子の機能が破綻することで、自然発生的に組織障害が惹起されることが知られているが¹⁾⁻²⁾、腹膜における膜補体制御因子の機能的役割は解明されていなかった。近年、我々は、膜補体制御因子に対して、

中和抗体を用いて、腹膜における膜補体制御因子の役割を検討したところ、Crry と CD59 の機能を同時に抑制することで、補体依存性に、急性腹膜障害が惹起されることを報告した³⁾。

今回我々は、腹膜の炎症と C5a に着目し、急性腹膜障害に対する C5a の関与を検討した。C5a に直接働き、失活させる AcPepA (ASGAPAPGPAGPLRPMF)⁴⁾ と、C5a レセプター (C5aR) 拮抗作用のあるペプチド⁵⁾⁻⁶⁾を用いて、C5a 作用を阻害することで、腹膜障害の軽減に繋がるかどうか検討を行った。

[方法]

1. 7 週齢の雄性 SD ラットを使用した。ラット Crry とラット CD59 の機能を中和する抗体として、mAb 5I2 と mAb 6D1 を使用した。
2. mAb 5I2 と mAb CD59 を腹膜透析液と共に腹腔内投与を行うことで、24 時間後に急性腹膜炎を起こす³⁾。

この急性腹膜炎モデルに、抗体の投与の10分前に、C5aに対する拮抗作用のあるAcPepAを0.66mg/body投与（低用量AcPepA投与群）、AcPepAを1.33mg/bodyで投与（高用量AcPepA投与群）、または、C5aR拮抗剤（NMePhe-Lys-Pro-dCha-Trp-dArg）（C5aRA投与群⁵⁾を、経静脈的に投与を行った。コントロールにはvehicleとして生理食塩水を投与した。中和抗体5I2と6D1を投与し、膜補体制御因子のCrryとCD59を同時に抑制し、急性の腹膜炎に対するの障害抑制効果について検討した。評価は中和抗体投与24時間後の肉眼的腹膜炎変化、HE染色を用いた組織障害の定量的評価、炎症細胞（ED-1、LCA陽性細胞）の集積の程度の評価、腹膜炎組織へのC3沈着の程度の評価を行った。

[結果]

1. 光学顕微鏡下で観察したところ、コントロール群と比較して、AcPepA投与群では、投与量依存的に腹膜炎が有意に減少していた。補体沈着については、C3の沈着が障害程度の軽減に伴い、有意に減少していた。炎症細胞の集積について、LCA陽性細胞、ED-1陽性細胞、共に、AcPepAの投与量依存的に、有意に抑制された。
2. 次に、C5aRA投与群と高用量AcPepA投与群を比較したところ、ほぼ同様に、腹膜炎の抑制効果、C3の沈着の減少、炎症細胞集積の抑制が認められた。

[考察]

C5aに拮抗作用のあるAcPepA、C5aレセプターに対して拮抗作用を持つC5aRAの両者共に、急性の腹膜炎に対して、有意な炎症の抑制効果を示した。

C5aは強力なアナフィラトキシンであり、各種炎症に対して、血管の透過性亢進や炎症細胞の遊走など、炎症に関わっている。種々の疾患に対する治療のターゲットともなっている。

我々の結果より、腹膜炎の炎症についても、C5aが

関わっていること、そして、C5aでもC5aRの、どちらも同様に腹膜炎に対する治療のターゲットと成りえると考えられた。

[結論]

補体活性を介した急性腹膜炎に対してC5aが関与していることが示された。また、急性腹膜炎に対するAcPepAもしくはC5aRAの抑制効果が示された。

[文献]

- 1) Matsuo S et al., *J Exp Med.* 180, 1619 (1994).
- 2) Mizuno M et al., *Arthritis Rheum.* 153, 4200 (2001).
- 3) Mizuno T et al., *Nephrol Dial Transplant.* 26, 1821 (2011)
- 4) Okada N et al., *Microbiol Immunol.* 51, 439 (2007).
- 5) Mizuno M et al., *J Immunol.* 162, 5477 (1999).
- 6) Konteatis ZD et al., *J Immunol.* 153, 4200 (1994).

膵島移植における C5a 阻害ペプチドの作用機序に関する検証

中西 渉¹⁾ 後藤昌史¹⁾²⁾ 稲垣明子²⁾ 戸子台和哲³⁾ 岡田則子⁴⁾ 岡田秀親⁴⁾⁵⁾ 里見 進¹⁾

1) 東北大学先進外科 2) 東北大学未来科学技術共同研究センター 3) 仙台社会保険病院外科

4) 名古屋市立大学医学部免疫学 5) 医療法人福祉村病院長寿医学研究所

A precise analysis of C5a Inhibitory Peptide on islet transplantation.

Wataru Nakanishi¹⁾, Goto Masafumi¹⁾²⁾, Akiko Inagaki²⁾, Kazuaki Tokodai¹⁾, Noriko Okada⁴⁾, Hidechika Okada⁴⁾⁵⁾ and Susumu Satomi¹⁾

¹⁾The Division of Advanced Surgical Science and Technology, Tohoku University

²⁾New Industry Creation Hatchery Center Tohoku University

³⁾The Division of Surgery, Sendai Shakai Hoken Hospital

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

⁵⁾The choju Medical Institute Fukushima Hospital

[はじめに]

我々は C5aIP (C5a inhibitory peptide) が膵島移植において、凝固活性の制御を介し早期膵島障害を軽減させることにより、移植成績を向上させることを報告してきた¹⁾。今回我々は、その機序について詳細な検証を行い、①C5aIP が凝固活性を制御するメカニズムの解明 ②C5aIP が膵島移植後に発生する炎症性サイトカインへ及ぼす影響について新しい知見を得たので報告する。

[方法]

①ラット門脈内膵島移植モデルにおいて、移植後 1h にて肝白血球の分離を行い、Tissue Factor の発現について FACS 解析を行った。また分離膵島における Tissue Factor の発現の解析も行った。②マウス門脈内膵島移植モデルにおいて、移植後 0、6、24h における血清サンプルを採取し、炎症性メディエーターの解析を行った。また移植後 6h において肝内白血球の分離を行い、IFN γ の産生について FACS による解析を行った。

[結果と考察]

①C5aIP 群にてレシピエントの肝内白血球における Tissue Factor の発現が有意に抑制されていた。一方、分離膵島における Tissue Factor の発現は抑制されていなかった。Host の Tissue Factor を抑制することは凝固系と補体系の cross talk を遮断することにつながるため、早期膵島障害を軽減する機序と考えられる。②C5aIP の炎症性サイトカインに対する有意な制御効果は確認されなかった。また肝内白血球における IFN γ の産生に対しても、制御効果を認めなかった。以上から C5aIP が host の炎症性サイトカインに影響を及ぼしているとは確認できなかった。

[結論]

C5aIP のグラフト生着促進効果は、凝固系と補体系の cross talk を遮断することに起因すると考えられる。

[文献]

1) Tokodai K. et al. Transplant Proc. 42. 2102 (2010).

節足動物における TEP ファミリー遺伝子の進化

関口玲生、野中勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Evolution of the TEP family genes in arthropod

Reo Sekiguchi, Masaru Nonaka

Department of Biological Science, Graduate School of Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

[はじめに]

脊椎動物の補体系は自然免疫の一員として、獲得免疫系の抗体等と共に感染防御に中心的役割を果たしている。補体系の中心成分である C3 は分子内チオエステル結合を有し、その構造を共有する非補体成分の α 2-マクログロブリン (α 2M) 等とともに TEP (thioester-containing protein) ファミリーを形成している。TEP ファミリーは C3 サブファミリーと α 2M サブファミリーに二分され、C3 サブファミリーには C3, C4, C5 が、 α 2M サブファミリーにはプロテアーゼインヒビターである α 2M、GPI アンカー結合型膜タンパク質の CD109、昆虫において自然免疫を担うことが明らかになっている insect TEP (iTTP) を含む、節足動物特有の TEP (aTEP) などがある。

節足動物門は鋏角、多足、甲殻、六脚類で構成される。鋏角類のカブトガニに C3, α 2M 遺伝子が存在する一方で、ゲノム解析が完了している六脚類のショウジョウバエやハマダラカには C3 遺伝子が存在しない代わりにオプソニン活性を持つ iTTP が確認されている。iTTP は C3 との系統関係はないにも関わらず、C3 様分子と呼ばれることもあり、節足動物内の TEP 遺伝子の系統関係を不明なものにしていた。

本研究では、鋏角類に属するアダンソンハエトリグモ (*Hasarius adansonii*) と、多足類に属するマクラギヤ

スデ (*Niponia nodulosa*) について TEP 遺伝子の網羅的クローニングを行い、節足動物における TEP 遺伝子の進化を明らかにすることを目的とした。

[方法]

既知の TEP 遺伝子間で保存されているチオエステル領域の配列に基づいて作製した縮退プライマーを用いて RT-PCR を行い、TEP cDNA の部分塩基配列約 200bp を得た。この部分配列に基づく BLAST search により TEP 遺伝子の種類を推定した後、RACE-PCR による各 TEP 遺伝子の全長配列の決定とアミノ酸配列による系統樹の作製を行った。

[結果、考察]

アダンソンハエトリグモから 4 種類の TEP 配列 C3-1, C3-2, α 2M, aTEP (1738aa, 1695aa, 1717aa, 1440aa) を同定した。得られた TEP と他動物の TEP のアミノ酸配列をアラインし作製した系統樹から、脊椎動物の CD109 と節足動物の aTEP はクラスターを形成し互いにオーソログな関係にあることが示唆された。これまで前口動物において C3, α 2M, aTEP/CD109 の各遺伝子が揃って確認された種はなくアダンソンハエトリグモが初めての例となった。また、マクラギヤスデについても、クローニングにより 4 種の TEP 遺伝子を持つことが推測できており、現在 RACE-PCR による全長配列の決定を行っている。

コイ C3 アイソタイプの機能解析

一木智子¹⁾、鶴木(加藤)陽子²⁾、杣本智軌²⁾、中尾実樹²⁾

¹⁾九州大学大学院生物資源環境科学府、²⁾九州大学大学院農学研究院

Functional analysis of carp (*Cyprinus carpio*) C3 isotypes

Satoko Ichiki¹⁾, Yoko Kato-Unoki²⁾, Tomonori Somamoto²⁾, Miki Nakao²⁾

¹⁾ Graduate school of Bioresource and Bioenvironment Science, Kyushu University, Japan

²⁾ Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan

[はじめに]

補体系の中心成分である C3 は、活性化されると異物表面に結合し、補体溶解経路を活性化させたり、貪食細胞の食作用を促進するなど、様々な生体防御活性を誘導する。C3 はチオエステル部位という特殊な構造を介して異物へ結合することができ、哺乳類の C3 は、チオエステルと異物表面の水酸基/アミノ基への結合反応が分子内 His 残基によって触媒される¹⁾。

一方硬骨魚類の補体系には、複数の C3 アイソフォームが存在し^{2, 3)}、上記のような His タイプ C3 に加え、触媒性 His が他のアミノ酸に置換した non-His タイプ C3 が含まれることが報告されている。この位置のアミノ酸置換はチオエステルの結合特異性をアミノ基に限定すると考えられている。

我々は、これらチオエステルの結合特異性が異なる 2 種の C3 は、魚類の生体防御において異なる役割を果たすのではないかと考え、硬骨魚類であるコイにおいて機能解析を行った。コイでは、His タイプの C3-H1 と non-His タイプの C3-S がコイ血清中の主要なアイソタイプとして存在している。我々は、これら 2 種のコイ C3 アイソタイプに対するモノクローナル抗体 (以下 MAb と略す。) を樹立し、

魚病細菌を含む様々な異物への結合スペクトルを解析し、両 C3 アイソタイプが機能分化を遂げている可能性を示唆してきた。しかし今回我々は、2 つの特徴的な C3 アイソタイプが、魚類の生体防御において、並列的に働いているというよりはむしろ、共役して働いている可能性を見いだしたことをここに報告する。

[方法]

- 1) コイ血清と抗 C3-S MAb、抗 C3-H1 MAb もしくはマウス IgG (アイソタイプコントロール) をあらかじめインキュベートした後、ウサギ赤血球 (Er) に対する溶血反応を行い、各抗体による溶血活性阻害効果を調べた。
- 2) コイ血清と各 MAb もしくはマウス IgG を反応させた後、Protein G Sepharose ビーズで免疫沈降させ、血清中から各 C3 アイソタイプの除去を試みた。各 MAb 処理血清の残存 C3 量と Er に対する残存溶血活性を測定した。
- 3) 2) で得られた免疫沈降物を SDS-PAGE サンプルバッファーで溶出し、ウェスタンブロットで分析した。

[結果]

- 1) 抗 C3-S MAb は用量依存的に溶血反応を阻害し、コイ血清の Er に対する溶血活性を完全に抑制した。一方、抗 C3-H1 MAb はマウスコントロール抗体と同様に、同じ溶血反応を全く阻害しなかった。
- 2) 抗 C3-S MAb による免疫沈降で、C3-S は血清から完全に除去された一方で、抗 C3-H1 MAb による免疫沈降では C3-H1 を除去することはできなかった。また、C3-S 除去血清は Er に対する溶血活性を完全に失っていることが確認された。
- 3) 抗 C3-S MAb による免疫沈降物中にウェスタンブロットで C3-H1 も検出され、C3-S と C3-H1 が共沈していることが判明した。

[考察]

我々は以前の研究で C3-H1 と C3-S の様々な異物に対する結合スペクトルを調べ、ウサギ赤血球に対しては両 C3 アイソタイプが結合することを確認している (Table 1)。それにもかかわらず、Er に対する溶血活性を完全に失活させることができたのは、抗 C3-S MAb だけである点は興味深い。

抗 C3-S MAb による免疫沈降で、C3-S と C3-H1 が共沈することは、この 2 つの C3 アイソタイプが血清中では複合体を形成していることを示唆する。また、抗 C3-H1 MAb をコイ血清に加えても何ら溶血活性を阻害しないのは、抗 C3-H1 MAb が血清中の C3-H1 には結合できないためと推察される。抗 C3-H1 MAb のエピトープは、C3-H1 の C3d 領域内にあるので、C3-H1 はその C3d 部分を介して C3-S と相互作用している可能性がある。

「C3-S と C3-H1 が血清中では複合体を形成して存在している。」という仮説によって、C3 アイソタイプの結合特異性解析 (Table 1) で、non-His タイ

プである C3-S が、水酸基に富んだグリコーゲンやマンナン、LPS にも良く結合できた理由を説明できるかもしれない。すなわち、C3-S が C3-H1 と複合体を形成し、C3-H1 のチオエステル部位を介して異物へ結合している可能性が考えられる。

現在我々は、コイ血清中から C3-S / C3-H1 複合体の分離と同定を試みている。

[文献]

- 1) Law S. K. and Dodds A. W. *Protein Sci.* 6: 263-274 (1997)
- 2) Sunyer J. O. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 8546-8551 (1996)
- 3) Nakao M. et al. *Eur. J. Immunol.* 30(3): 858-866 (2000)

Table 1: Binding spectrum of carp C3 isotypes

| Target | C3-H1 | C3-S |
|--------------------------------|-------|------|
| Oyster glycogen | + | + |
| Yeast Mannan | + | + |
| LPS (<i>E. coli</i> O111: B4) | + | + |
| LPS (<i>E. coli</i> O55: B5) | + | + |
| Poly-L-Lysine | - | + |
| Carp erythrocyte | - | - |
| Rabbit erythrocyte | + | + |
| Sheep erythrocyte | - | + |
| Baker's yeast | + | + |
| <i>E. coli</i> | + | + |
| <i>S. aureus</i> | - | + |
| <i>A. hydrophila</i> | + | + |
| <i>A. salmonicida</i> | - | + |
| <i>E. tarda</i> | - | ± |

+ : Bound, - : Unbound

コイ補体成分 C4 アイソタイプ(C4-1, C4-2)の結合特異性の解析

山本 暁¹⁾、一木智子¹⁾、杣本智軌²⁾、中尾実樹²⁾

¹⁾九州大学大学院生物資源環境科学府、²⁾九州大学大学院農学研究院

Binding specificity analysis of complement component C4 in carp

Akira Yamamoto, Satoko Ichiki, Tomonori Somamoto, and Miki Nakao

¹⁾Graduate school of Bioresource and Bioenvironment Science, Kyushu University, Japan

²⁾Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan

[はじめに]

補体系は様々な生体防御応答を引き起こす血清タンパク質のカスケードである。魚類の補体系は、多くの補体成分が複数のアイソタイプに分かれて存在しているという特徴を有しており、補体成分 C4 についても二つのアイソタイプ (C4-1, C4-2) がコイで同定されている。特に両アイソタイプの異物に対する結合特異性に影響を与えるとされる、触媒部位のアミノ酸が C4-1 と C4-2 では異なることから、両者の標的異物への結合特異性が異なっていることが予想される。そこで本研究ではこの二つの C4 アイソタイプの細菌と LPS に対する結合性の違いを解明することを目的とした。

[方法]

(1) コイの C4-1 および C4-2 アイソタイプの NTR ドメインを pCold-I ベクターと大腸菌 *origami* 株を利用して組み換えタンパク質として発現させ、これらでウサギを免疫してポリクローナル抗体を作製した。
(2) 魚病菌 *Aeromonas hydrophila* の UV 死菌をコイに腹腔内注射して抗血清を得た。その抗血清で感作した *A. hydrophila* 菌体を NCS (normal carp serum) とインキュベートし、菌体に結合した C4-1 と C4-2 を、それ

ぞれ 抗コイ C4-1、抗コイ C4-2 を用いた Flow Cytometry によって検出した。抗コイ C1q-A 鎖を加え古典経路をブロックした NCS と、EDTA を加えた NCS もコントロールとして供試した。

(3) LPS (*E. coli* 055:B5) を固相化した ELISA プレートに NCS を反応させ、結合した C4-1, C4-2 を前述の抗体で検出した。

[結果]

(2) *A. hydrophila* を抗コイ C1q-A 鎖を加えた NCS と反応させた場合、C4-1, C4-2 共に同程度の弱い結合が検出された。両アイソタイプの *A. hydrophila* への結合は、菌体をコイ抗体で感作すると著しく増強され、両アイソタイプ間に結合性の違いは確認されなかった。(3) LPS に対しても C4-1, C4-2 共に強い結合性を示した。

[考察]

(2) C4-1 と C4-2 間で *A. hydrophila* に対する結合性の違いは確認されず、レクチン経路と古典経路に両アイソタイプは同程度に関与することが示唆された。(3) LPS だけでなく、アミノ基や水酸基のモデルとなる物質を用いて結合試験を行い、C4 アイソタイプの標的異物への結合の違いを解明していきたい。

IgA 腎症の腎組織における C3 沈着部位と臨床的意義の検討

大澤 勲、草場 岳、石井雅也、佐藤信之、井下博之、
恩田紀更、鈴木日和、堀越 哲、大井洋之、富野康日己
順天堂大学腎臓内科

Significance of extraglomerular C3 deposits in patient with IgA nephropathy
Isao Ohsawa, Gaku Kusaba, Masaya Ishii, Nobuyuki Sato, Hiroyuki Inoshita, Kisara Onda,
Hiyori Suzuki, Satoshi Horikoshi, Hiroyuki Ohi, Yasuhiko Tomino
Division of Nephrology, Department of Internal Medicine,
Juntendo University Faculty of Medicine

【はじめに】

IgA 腎症 (IgAN) は腎生検により確定診断されるが、組織所見には多様性が認められる。一方、IgAN に対する薬物治療は、レニン・アンジオテンシン系阻害薬、血小板凝集抑制薬投与などの保存的治療が行われていたが、近年免疫学的な治療として扁桃腺摘出 (T) と副腎皮質ステロイドパルス療法 (C) の併用が広く行われるようになり、短期的には一定の効果が得られている¹⁾。しかし、治療法を選択に一定の基準はなく、長期的な予後は不明である。今後は IgAN と診断された症例を分類し、適切な治療法を検討していくことが重要である。今回我々は、腎生検組織の蛍光抗体法 (IF) による C3 沈着部位の違いに着目し、臨床的な背景と治療経過の比較検討を行った。

【方法】

IgAN 170 症例 (M:F=88:82, 32.8±11.1 歳) を対象に、IF で糸球体のみに C3 が沈着している群 (A 群 79 例) と、糸球体に加え糸球体以外 (ボウマン囊、細動脈) に C3 が沈着している群 (B 群 91 例) に分類し、腎生検時の背景と最終観察後のデータの推移を比較した。さらに、両群を保存的治療で 3 年間経過観察をした群

(TC 無群) と扁桃腺摘出手術と副腎皮質ステロイドホルモン療法の両者あるいはどちらかの治療を行い 3 年間の経過観察をした群 (TC 有群) に分け、患者背景とデータの推移を比較検討した。

【結果】

A 群と B 群の臨床的背景の比較では、B 群において尿蛋白 (uPro)・尿中赤血球数 (uRBC)・腎機能 (eGFR) は悪い傾向があったが、有意な差は認めなかった。B 群の拡張期血圧 (68.8±11.0mmHg)、総コレステロール (Tcho:203.8±39.2mg/dL)、中性脂肪 (TG:125.4±68.6mg/dL)、LDL コレステロール (LDLc:134.6±37.3mg/dL) は、A 群 (66.5±10.9mmHg, 108.7±73.2mg/dL, 123.3±35.0mg/dL) に比べ有意に高かった。4 年間の観察後に比較すると、uPro, uRBC, eGFR の変化は、両群間で有意な差がみられた。

A 群のうち TC 有が 23 例 (A-TC 有群)、TC 無が 34 例 (A-TC 無群)、B 群のうち TC 有が 30 例 (B-TC 有群)、TC 無が 47 例 (B-TC 無群) であった。4 群の背景を比較すると、uPro は B-TC 有群 (1.7±2.1g/gCr) が B-TC 無群 (0.6±0.6g/gCr) と A-TC 無群

($0.6 \pm 0.8 \text{g/gCr}$) よりも有意に多く、body mass index (BMI) は B-TC 無群 (23.1 ± 3.2) が B-TC 有群 (21.0 ± 2.7) と A-TC 有群 (20.6 ± 2.9) よりも有意に高かった。C3 値と CH50 は、B-TC 無群 ($104.0 \pm 17.8 \text{mg/dL}$, $43.8 \pm 7.5 \text{U/mL}$) が A-TC 無群 ($93.4 \pm 15.5 \text{mg/dL}$, $39.2 \pm 6.9 \text{U/mL}$) よりも有意に高かった。3 年間の経過観察で比較すると、uPro と uRBC は 4 群すべてにおいて改善し、uRBC は両群とも TC 有群で治療 1 年後から良好な改善結果が得られた。しかし eGFR 低下率は A-TC 有群のみで保たれ、それ以外の群では低下した。特に、B-TC 有群の eGFR 低下率が最も大きかった (図)。

【考察】

IgAN においてボウマン嚢や細動脈に C3 が沈着する場合は、糸球体だけに C3 が沈着する場合に比べ腎症状は悪い傾向があり、4 年後の腎症状の推移は有意に違いがあった。このことから IF による C3 の沈着部位によって、IgAN を二つに分類し検討を進めた。また両者において、拡張期血圧と脂質検査で有意な差が認められたことから、IgAN における C3 の沈着機序に免疫学的機序以外の因子も関与している可能性を示唆していると考えられた。

扁桃腺摘出やステロイド療法は uPro が多く、比較的腎機能が良い症例に行われていた。3 年間の経過を比較すると、uPro と uRBC は扁桃腺摘出やステロイド療法を行うことで、早期から治療効果を示し、炎症を抑制する意義が認められた。しかし eGFR の推移は、糸球体だけに C3 の沈着があり扁桃腺摘出やステロイド療法が行われた群でのみ保たれており、ボウマン嚢や細動脈に C3 の沈着を認める群では、治療効果が持続せず eGFR は最も低下した。以上より、糸球体以外に C3 沈着を認める

群は、あきらかに臨床経過の異なるグループとして認識するべきであり、治療法を再検討する必要があると考えられた。

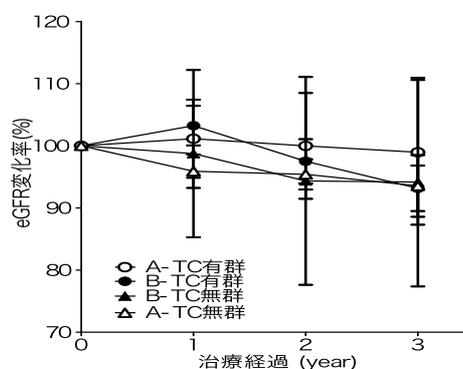
IgAN において、ボウマン嚢や細動脈に免疫複合体が沈着する機序は不明であるが、細動脈の C3 沈着は、高血圧症の症例に多いとする報告もある²⁾。我々の結果では、糸球体以外に C3 沈着を認めた群は、拡張期血圧・Tcho・TG・LDLc が有意に高く、さらに保存的治療が選択された群では、治療前の段階で BMI・C3・CH50 が有意に高かった。これらの因子は、メタボリック症候群と血清 C3 濃度の相関を検討する際のパラメーターであり³⁾、IgAN の増悪にメタボリック症候群の関与が示唆される。

【結論】

糸球体以外に C3 が沈着する IgAN では、腎機能が悪化しやすく、新たな治療計画を考案する必要がある。

【文献】

- 1) 厚生労働省難治性疾患克服事業、進行性腎障害に関する調査研究班 IgA 腎症分科会 (2011)
- 2) Zidar N. et al., *Kidney. Int.* 42, 1444 (1992)
- 3) Ohsawa I. et al., *J. Clin. Lab. Med.* 24, 113 (2010)



IgA 腎症における血清 IgA・C3 値の変動とその意義

鈴木日和 恩田紀更 児玉史子 石井雅也 草場岳
佐藤信之 長町誠嗣 大澤勲 大井洋之 富野康日己
順天堂大学腎臓内科

Significance of serum IgA and C3 in patients with IgA Nephropathy

Hiyori Suzuki, Kisara Onda, Fumiko Kodama, Masaya Ishii, Gaku Kusaba, Nobuyuki Sato, Seiji Nagamachi,
Isao Ohsawa, Hiroyuki Ohi, Yasuhiko Tomino
Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Juntendo University Faculty of Medicine

【はじめに】IgA 腎症は成人の慢性糸球体腎炎の約半数を占める。確定診断は組織所見によってなされ、腎糸球体メサンギウム領域へのIgAとC3の沈着を特徴とする。血清IgA値は約50%の症例で315mg/dl以上を示すが、血清C3は基準値範囲内である¹⁾。IgA腎症の組織における補体活性経路は、主にAlternative pathwayを介し、症例によってはLectin pathwayを介することが知られている²⁾³⁾。以前私達は、IgA腎症では非IgA腎症と比較して有意に血清IgAの上昇、C3の低下、IgA/C3比の上昇を認め、慢性腎炎症候群において、血清IgA/C3比3.01以上がIgA腎症の非侵襲的な診断根拠の一つであると報告した⁴⁾⁵⁾。さらに、IgA腎症では、健常者に比べて各補体成分が上昇しているが、血清C3は上昇していないということから、IgA腎症では血清C3が他の成分に比べて強く活性化を受けている可能性がある⁶⁾。今回私達は血清IgAとC3値が診断後の治療経過でどのように変動するかについて検索し、その意義を検討した。

【方法】1992年から2004年にかけて、当科で腎生検を行いIgA腎症と診断した122例の患者を対象とした。診断時および観察終了時の血清IgA・C3と臨床データ（尿所見、血清Cr値、組織所見）の比較検討およびステロイド投与の有無、レニン・アンジオテンシン系阻害薬投与の有無で群別の解析を行った。

【結果】平均観察期間は6.7年で、血清IgA/C3比の平均値は診断時 3.9 ± 1.59 から観察終了時 3.19 ± 1.04 へと低下した($p < 0.001$)。血清IgAは 347.9 ± 120.6 mg/dlから 313.0 ± 102.4 mg/dlへと低下し($p < 0.001$)、血清C3は 93.2 ± 19.1 mg/dlから 98.7 ± 16.0 mg/dlへと上昇した($p = 0.003$)。観察終了時もIgA/C3比は3.01以上を示した。血尿消失群ではIgAが有意に低下し、C3は有意に上昇したが、血尿持続群や改善群ではこれらの傾向はみられなかった。蛋白尿が持続した群、陰転化した群、もともと陰性であった群では、いずれもIgAは有意に低下したが、陰転化した群のみ有意にC3の上昇がみられた。腎機能が維持できた群・増悪した群では両群ともにIgAは有意に低下し、腎機能が維持できた群でのみ有意にC3の上昇がみられた。組織所見別では、いずれもIgAは有意に低下し、C3は有意に上昇した。ステロイドの有無別では、両群ともにIgAは有意に低下し、ステロイド無し群でのみC3の上昇がみられた。レニン・アンジオテンシン系阻害薬の有無別では両群ともに、IgAは有意に低下したがC3の上昇はみられなかった。

【考察】IgA腎症における補体活性経路はAlternative pathwayのみならず、Lectin pathwayによる補体活性化が生じていると考えられ、両経路ともC3の活性化が起こる経路である。

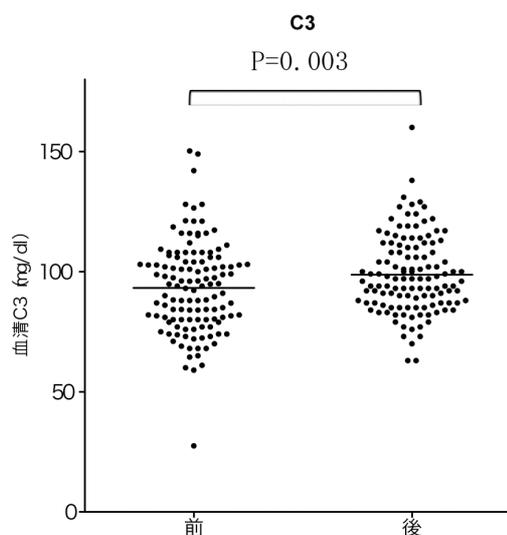
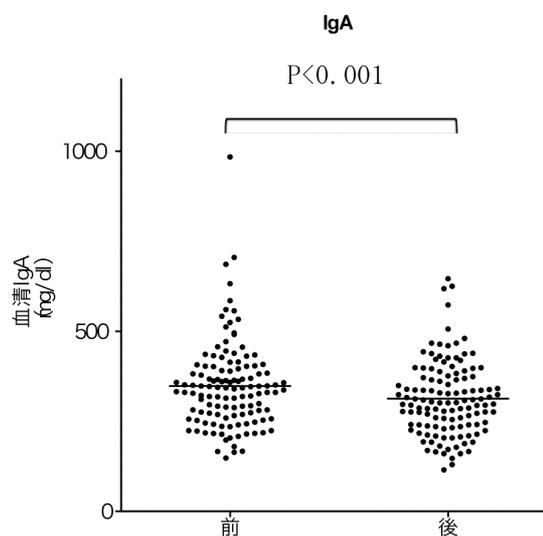
今回の検討により IgA 腎症において発症初期の血清 IgA 産生亢進は、治療にかかわらず時間の経過とともに低下すると考えられた。血尿・蛋白尿といった尿所見が改善した群と、腎機能が保たれていた群では、血清 C3 が有意に上昇したことより、IgA 腎症の病態が改善してくるとともに、C3 の消費が減少していくと考えられた。

【結論】IgA 腎症において血清 C3 が上昇する例では、IgA 腎症の病態が改善している可能性が示唆された。

【文献】

- 1) Tomino Y et al: Measurement of serum IgA and C3 may predict the diagnosis of patients with IgA nephropathy prior to renal biopsy. J ClinLab Anal 14:220-223(2000)
- 2) Endo M et al: Regulation of in situ compliment activation via the lectin pathway in patients with IgA nephropathy. Clin Nephrology 55:185-191(2001)
- 3) Oortwijn BD et al: The Role of Secretory IgA and Complement in IgA Nephropathy. Seminars in Nephrology 28:58-65(2008)
- 4) Nakayama K et al: Prediction of diagnosis of immunoglobulin A nephropathy prior to renal biopsy and correlation with urinary sediment findings and prognostic grading. J Clin Lab Anal 22:114-118(2008)
- 5) Maeda A et al: Significance of serum IgA levels and serum IgA/C3 ratio in diagnostic analysis of patient with IgA nephropathy. J Clin Lab Anal 17:73-76(2003)

6) Onda K et al: Hypercomplementemia in adult patients with IgA nephropathy. J Clin Lab Anal 21:77-84(2007)



<血清 IgA、C3 の変化>

| | n (人) | 血清 IgA (前) | 血清 IgA (後) | P | 血清 C3 (前) | 血清 C3 (後) | P |
|-----------|-------|-------------|-------------|--------|-----------|------------|-------|
| 尿蛋白持続群 | 42 | 318.9±90.1 | 293.7±84.7 | <0.01 | 97.5±16.7 | 100.7±17.1 | NS |
| 尿蛋白陰転化群 | 40 | 350.6±110.9 | 316.3±97.1 | <0.001 | 87.6±19.9 | 99.6±13.4 | <0.01 |
| 尿蛋白持続的陰性群 | 40 | 374.3±153.2 | 325.3±127.3 | <0.001 | 95.1±20.5 | 97.2±18.0 | NS |

腹膜擦過後の Zymosan 投与により誘導される補体依存性の高度の腹膜炎症 ラットモデルにおける、低血清培養脂肪由来間葉系幹細胞の有用性

金恒秀¹⁾, 水野正司¹⁾, 古橋和広¹⁾, 勝野敬之¹⁾, 安田香¹⁾, 尾崎武徳¹⁾,
坪井直毅¹⁾, 伊藤恭彦¹⁾, 松尾清一¹⁾, 丸山彰一¹⁾

¹⁾名古屋大学医学部 腎臓内科

Low serum cultured adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate
zymosan induced fungal peritonitis model in rat

Hansu Kimu¹⁾, Masashi Mizuno¹⁾, Kazuhiro Furuhashi¹⁾, Takayuki Katsuno¹⁾, Kaoru Yasuda¹⁾
Takenori Ozaki¹⁾, Naotake Tsuboi¹⁾, Yasuhiko Ito¹⁾, Seiichi Matsuo¹⁾, Shoichi Maruyama¹⁾

¹⁾ Department of Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine

[はじめに]

腹膜透析は末期腎不全における重要な腎代替療法の一つであるが除水不全や感染症による離脱で長期継続が困難となるという問題点がある。感染症の中でも、真菌性腹膜炎は腹膜透析を中止した後にも腹膜肥厚が進行し被嚢性腹膜硬化症に陥る可能性もある重大な合併症の一つであり治療に難渋する。

一方、間葉系幹細胞は骨や軟骨への分化能によって再生医療に適応し始められたが、近年その免疫調整能に新たな注目がよせられ、様々な炎症性疾患にも応用され臨床治験も行われている。我々のグループでは、この間葉系幹細胞を脂肪より採取し、低血清濃度での培養を行うことによって免疫調整能のより優れたものへ改良し (low serum cultured adipose-derived mesenchymal stromal cell; 以下、LASC と略) 各種疾患モデルへの投与にて良好な結果を得ている^{1) -2)}。

今回我々は、腹膜擦過後にザイモザン投与を行うことでおこる、補体の活性化を伴ったラットの高度腹膜炎症モデル^{3) -4)} に対してその効果を、補体の活性化に焦点をあてて検討することとした。

[方法]

7 週齢の雄性 SD ラットの腹膜擦過後、Day 0 から 4 までの 5 日間ザイモザン 5mg/ day を腹腔内投与して得られるラット腹膜炎モデルに対して、LASC 6×10^6 個/day/body を腹膜透析液 (1.5% glucose・中性液) とともに腹腔内へ連日を投与した群 (LASC 群) と Vehicle のみを投与した群 (Control 群) の 2 群に分けて、Day 5 における腹膜組織の障害された腹膜表面を覆う中皮細胞層の修復の程度、腹膜肥厚、炎症細胞数、補体沈着 (C3 および membrane attack complex (MAC)) を比較検討した。

In vitro の実験では、ラット腹膜中皮細胞プライマリーカルチャーと LASC を共培養 (直接、またはトランスウェルを用いて) しその相互作用を観察した。

[結果]

Day 5 において、LASC 群は Control 群に比較して、有意に腹膜の肥厚・炎症浸潤細胞の集積・補体の沈着 (C3 および MAC) が軽減していた。また、腹膜表面の中皮細胞層の修復が LASC 群において有意に進んでいることが確認された。一方 in vitro の実験では、腹膜中皮細胞と LASC を直接、または、トランス

ウェルで共培養を行うと、共に腹膜中皮細胞の増殖が有意に促進することを確認した。

[考察]

ザイモザン投与の腹膜炎モデルへ LASC を投与することで、腹膜の肥厚と炎症細胞の集積を軽減しており、LASC により腹膜炎進展抑制される可能性が示唆された。また、腹膜中皮層の修復が LASC 群で有意に進んでいて、同部分では補体の沈着も少なく、腹膜障害も軽減していたことから、もともと膜補体制御因子に富んでいる腹膜中皮細胞層の再生を促すことで、過剰な補体活性化を抑制し、結果として組織障害を軽減できた可能性が考えられた。LASC と中皮細胞の関係については、細胞同士の直接作用というよりは、LASC から産生される成長因子などによる間接的作用が可能性の一つとして考えられ、現在検討中である。

[結論]

腹膜擦過後にザイモザン投与で起こるラットの高度腹膜炎モデルに対しての低血清培養脂肪由来間葉系幹細胞 (LASC) の投与により、腹膜障害を軽減できた。投与された LASC が、膜補体制御因子に富んだ腹膜表層の中皮細胞の修復(再生)を促すことで、過剰な補体活性化を抑制し、このため、炎症が軽減した可能性が示唆された。

[文献]

- 1) Iwashima S et al, Stem Cells Dev.18(4),533(2009)
- 2) Saka Y et al, Xenotransplantation. 18(3),196(2011)
- 3) Hayato N et al. Am J Physiol Renal Physiol 294, F1084(2008)
- 4) Mizuno M et al., J Immunol, 162, 5477 (1999).

腹膜透析に関わる組織障害への補体関与の解析と、腹膜障害に対する抗補体療法の可能性

水野正司

名大・医・腎臓総合治療学寄附講座

Roles of complement activation system for peritoneal injuries associated with peritoneal dialysis therapy and possibility of anti-complement therapy.

Masashi Mizuno

Renal Replacement Therapy, Nagoya University Graduate School of Medicine

2010 年末現在日本には、29 万 7 千人を超えた透析人口が存在するが、ほとんどが血液透析を行っており、腹膜透析の日本での普及率は、依然として高くない。その理由として、患者および医療スタッフの教育が不十分であることや、腹膜炎による早期の離脱が決して少なくないことが上げられる。また、致死率の高い合併症である被嚢性腹膜硬化症 (encapsular peritoneal sclerosis; EPS) 発生のリスクも腹膜透析選択を躊躇する問題の一つである。この EPS は未だに全貌が明らかになっておらず、確立した治療法も存在しないのが現状である。EPS のリスクとして長期間の腹膜透析、反復する腹膜炎、高浸透圧の透析液の使用が上げられる。これらの背景因子として、持続する、もしくは反復する腹膜炎が関与していると考えられる。炎症が関与しているのであれば、そこには、補体活性系の関与が疑われる。詳細に検討することにより、腹膜障害に対する新たな予防および治療として、抗補体療法を新たな選択肢に加えることができる可能性がある。

そこで、我々は、腹膜の障害と補体の関係を調べるために、腹膜炎の中でも予後が悪く、一回の感染

でも EPS に陥る可能性のある真菌性腹膜炎に着目して、真菌の菌体成分であり、補体活性化能も併せ持つ Zymosan を用いて、ラットの腹膜に補体活性化を介して、持続する高度の腹膜障害が誘発されることを示した。また、この障害の初期に、抗補体薬を投与することで、腹膜障害を軽減することから、腹膜障害コントロールの一つの strategy としての抗補体療法の可能性を示した。腹膜が障害を受けることにより、腹膜中皮細胞の障害が発生し、このために腹膜表層での膜補体制御因子 (CReg) 発現の低下による補体活性化制御機能の低下につながり、制御を失った補体活性化による腹膜障害が加わる可能性が考えられる。これを確認するために、実際に正常ラットの腹膜に発現している CReg の機能を、CReg の中和抗体により block することで調べたところ、Crry と CD59 の機能を同時に抑制することで、確かに腹膜での補体活性化が生じ、その結果として腹膜に急性炎症が発生した。このことより、腹腔内での補体の活性化は、異物処理等本来の働きのため、微妙な活性化と活性化の抑制のバランスが保たれていて、このバランスのために CReg が重要な役割を

果たしていることがわかる。これは、先の **zymosan** 誘導の腹膜炎モデルにおいて、さらに **CReg** 機能を **block** することで、補体の過剰な活性化がさらに進み、**EPS** 初期段階の一部と考えられている **fibrin** 析出につながることを示したことで、腹膜上の膜補体制御因子の重要性はわかる。

次に現在の腹膜透析患者に使用している腹膜透析液がもたらす可能性について考えてみる。これまでも、腹膜透析液を腹腔内に貯留することが、慢性的に腹膜を刺激し、腹膜障害をもたらすとされている。この腹膜透析液貯留が、腹膜の補体制御にどのような影響を与えるかを、ラットと其中皮細胞の **primary culture** を用いて補体の面から解析した。特に透析液の **pH** と浸透圧に注目したところ、現在使用されている腹膜透析液そのものが、腹膜上の **CReg** の発現と補体の活性化に影響を与えることを明らかにしつつある。これらの実験結果に基づいて、現在、腹膜透析患者における影響について検討を開始している。

EPS に至るためには、基本となる持続性の腹膜への障害、そして、これを **EPS** へと誘導する過程が加わる必要があるという、**two-hit theory** が唱えられているが、この両方の過程に、大なり小なり体活性系が関与していることが、これまでの我々の研究結果から疑われる。このため、今後も、さらに詳細な検討を行い、長期にわたりより安全に腹膜透析継続が可能にすることを目標に、**EPS** の予防・治療の一つの手段としての抗補体療法の可能性を模索していきたいと考える。

参考文献：

- 1) Mizuno M, Ito Y, Hepburn N, *et al.* J Immunol. 183:1403-1412, 2009.
- 2) Mizuno T, Mizuno M, Morgan BP, *et al.* Nephrol Dial Transplant. 26:1821-1830, 2011.

本邦における遺伝性血管性浮腫 (HAE) : その臨床と基礎

堀内孝彦、塚本浩、田平知子¹⁾、山本哲郎²⁾

九州大学免疫・膠原病・感染症内科、¹⁾九州大学生体防御医学研究所、²⁾山本診療所

Hereditary angioedema in Japan

Takahiko Horiuchi, Hiroshi Tsukamoto, Tomoko Tahira, Tetsuro Yamamoto

Kyushu University Hospital, Department of Clinical Immunology, Rheumatology and Infectious Diseases, ¹⁾ Kyushu University Medical Institute of Bioregulation, ²⁾ Yamamoto Clinic

<はじめに>

突発性に局所的に生じる浮腫は従来「クインケ浮腫」という病名でひとくくりに扱われ、「原因不明であるが予後の良い浮腫」としてしばしば放置されてきた。実は、「クインケ浮腫」は様々な病気で生じ、その中には致命的になりうる遺伝性血管性浮腫 (Hereditary angioedema : HAE) が隠れているのである。HAE は反復する限局性の浮腫を主徴とし、しばしば激的な腹痛や、致命的な喉頭浮腫を呈する。その病因は C1 インヒビター (C1-INH) の欠損もしくは機能異常による遺伝性疾患である。本邦をはじめとしたアジアでは HAE の実態はほとんどわかっていない。HAE の認知度を高め、診断、治療を円滑に行うために、補体研究会では昨年、「HAE ガイドライン 2010」を作成した。本邦における HAE 患者の実態をあきらかにするために過去の本邦 HAE 報告のレビューを行うとともに、遺伝子解析を進めた¹⁾。

<方法>

1) 本邦 HAE 報告のレビュー : 1969 年の最初の報告以来 2010 年 12 月までのすべての報告 (132 名 / 論文 84 編、学会報告 48

篇) を解析した。

2) 遺伝子解析 : HAE13 家系の患者末梢血から DNA を抽出し、C1-INH の全領域について変異の有無を解析した。

<結果ならびに考察>

1) 本邦 HAE 報告のレビュー : 1 型 HAE は 87.5%、2 型は 12.5% であった。家族歴は 78% に認められた。皮膚症状は 91%、腹部症状は 45%、呼吸器症状は 47% にみとめ、15% に挿管や気管切開を経験していた。診断までに平均 19 年を要していた。

2) 遺伝子解析 : 我々は昨年の本学会で HAE6 家系の解析結果を報告したが、今回新たに解析した 7 家系を加え、合計 13 家系の C1-INH 遺伝子異常を明らかにした。過去に報告された 10 家系をあわせ本邦で明らかになったすべての C1-INH 遺伝子異常 (23 家系) をまとめて提示する。

現時点における本邦 HAE の実態が明確になった。

1) Yamamoto T, Horiuchi T, et al. Hereditary angioedema in Japan: Genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am J Med Sci* 2011 in press

aHUS 患者における Factor H の解析

向井早紀¹⁾, 廣田雅子¹⁾, 日高義彦²⁾, 松田和之¹⁾, 山内一由³⁾, 菅野光俊¹⁾, 本田孝行¹⁾⁴⁾

¹⁾信州大学医学部附属病院 臨床検査部, ²⁾信州大学医学部附属病院 小児科,

³⁾筑波大学大学院人間総合科学研究科 臨床医学系, ⁴⁾信州大学医学部 病態解析診断学講座

Analysis of complement factor H in aHUS patients

Saki Mukai¹⁾, Masako Hirota¹⁾, Yoshihiko Hidaka²⁾, Kazuyuki Matsuda¹⁾,

Kazuyoshi Yamauchi³⁾, Mitsutoshi Sugano¹⁾, Takayuki Honda¹⁾⁴⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Shinshu University Hospital

²⁾Department of Pediatrics, Shinshu University Hospital

³⁾Department of Medicine, Molecular Clinical Pathology, Graduate School of Comprehensive Human Sciences,
University of Tsukuba

⁴⁾Department of Laboratory Medicine, Shinshu University School of Medicine

[はじめに]

溶血性尿毒症症候群(HUS)は溶血性貧血、血小板減少、急性腎不全を主徴とする血栓性微小血管障害である。HUSの多くは、病原性大腸菌の感染による下痢症状のあるHUSであるが、病原性大腸菌に感染しておらず下痢症状のないHUSは atypical HUS (aHUS)と呼ばれており、予後不良である。近年 aHUS の発症に、Factor H、Membrane cofactor protein、Factor I のような補体制御因子の遺伝子変異や抗 Factor H 抗体が関与することが報告されている^{1,2)}。Factor H は分子量 150kDa で、67 個のアミノ酸が 2ヶ所で S-S 結合した Short Consensus Repeat (SCR)が 20 個連なった構造で、Factor H の N 末端領域に存在する SCR1-4 には C3 転換酵素の解離を促進し、Factor I の補助因子として働く機能を有しており、C 末端領域である SCR19-20 は C3b、シアル酸および内皮細胞の結合部位を含んでいる³⁾。

今回 aHUS と診断された患者 10 例について、Factor H の遺伝子解析と、タンパク機能解析として

ヒツジ赤血球溶血試験を行った。また、家族性 aHUS が疑われた 2 家系(家系 A: 患者 1、両親、父方叔父、および父方祖母、家系 B: 患者 2、患者 3、患者 2 母、患者 3 母および母方伯母)について Factor H の遺伝子解析を行ったので報告する。

[方法]

(1)Factor H 遺伝子解析: 末梢血より QIAamp DNA Blood Mini Kit(QIAGEN)を用いて DNA を抽出し、PCR 法により増幅した。プライマーは aHUS 関連遺伝子多型と報告されている⁴⁾ promoter、SCR11、16、および変異の hot spot である SCR19、20 に設定した。PCR 産物を精製後、Big Dye terminator 法によってシーケンス反応を行い、3100 Genetic Analyzer (ABI PRISM)を用いて塩基配列を決定した。

(2)ヒツジ赤血球溶血試験⁵⁾: $5.00 \times 10^6 / \mu\text{l}$ に調製し、緩衝液にて 100 倍希釈したヒツジ赤血球と、生理食塩水で希釈系列を作成した患者血清を等量加え、37°C 30 分間の反応後、遠心分離した上清を波長 414 nm で吸光度測定した。

[結果]

aHUS 患者 10 例中 4 例において Factor H 遺伝子変異が認められた。患者 1、2、3 は G3717A (Arg1215Gln)、患者 4 は C3645T (Ser1191Leu) の変異であり、いずれも SCR20 に存在していた。この 4 例のヒツジ赤血球溶血試験の結果、患者 1、3、4 が陽性であった。

患者 1 を含む家系 A では、患者 1 の父に同様の遺伝子変異が認められ、患者 1 と母に aHUS 関連遺伝子多型がヘテロ接合体で認められた。父方叔父および父方祖母の遺伝子解析を行ったことから、血栓性血小板減少性紫斑病により 48 歳で死亡した父方祖父の遺伝子配列が推定でき、遺伝子変異は父方祖父から遺伝していることが明らかとなった。重症である患者 1 と死亡した父方祖父が同様の遺伝子変異と aHUS 関連遺伝子多型(ヘテロ)を保有していた。

患者 2、3 を含む家系 B では、患者 2、3 の遺伝子変異はそれぞれの母から遺伝していた。重症である患者 2 と若年発症腎不全により 42 歳で死亡した母方の祖父が同様の遺伝子変異と aHUS 関連遺伝子多型(ヘテロ)を保有していたと推定された。患者 3 と患者 2、3 の母は遺伝子変異を有していたが、aHUS 関連遺伝子多型は保有していなかった。また間欠的に腎不全を起こしていた既往のある母方伯母は、aHUS 関連遺伝子多型をホモ接合体で有していた。

[考察]

今回解析した aHUS 患者 10 例のうち 4 例が Factor H の遺伝子変異を有しており、そのうち 3 例で溶血試験陽性となった。Factor H を添加して溶血が抑制されたことから、遺伝子変異による Factor H の機能異常により、C3b あるいは内皮細胞との結合が不十分となり溶血試験が陽性になったと考えられた。家族性 aHUS が疑われた 2 家系では、10 例中 6

例に遺伝子変異が認められた。このことから、Factor H の遺伝子変異が aHUS の発症に強く関与していることが示唆された。さらに遺伝子変異と aHUS 関連遺伝子多型をヘテロ接合体で有していた 2 症例は重症例であったことより、aHUS 関連遺伝子多型も aHUS の発症あるいは重症度に関与している可能性があると思われた。

一方、家系 A の患者 1 の父や家系 B の患者 2、3 の母のように遺伝子変異を持っていても aHUS を発症しないケースも認められることより、aHUS の発症には、遺伝子変異に加えて、感染症や妊娠など補体系を活性化させるような引き金や、まだ解明されていないなんらかの要因が必要であるのではないかと考える。

[文献]

- 1) Caprioli. J et al., *Blood*, 108, 1267 (2006).
- 2) Dragon-Durey. M. A et al., *J Am Soc Nephrol*, 16, 555 (2005).
- 3) Ault. B. H et al., *Pediatr Nephrol*, 14, 1045 (2000).
- 4) Caprioli. J et al., *Hum. Mol. Genet*, 12, 3385 (2003).
- 5) Sánchez-Corral P et al., *Mol Immunol*, 41, 81 (2004).

賛助・広告掲載会社一覧

第48回補体シンポジウムへのご支援を賜りました。厚く御礼申し上げます。

第48回補体シンポジウム
集会長 岡田 則子

【共催セミナー】

CSL ベーリング株式会社

【協賛】（50音順）

エーザイ株式会社
大塚製薬株式会社
協和発酵キリン株式会社
宏輝株式会社
中外製薬株式会社
ファイザー株式会社
持田製薬株式会社

【広告】（50音順）

協和発酵キリン株式会社
興和創薬株式会社
三洋電機株式会社
ジェンザイム・ジャパン株式会社
第一三共株式会社
大日本住友製薬株式会社
武田薬品工業株式会社
田辺三菱製薬株式会社
中外製薬株式会社
ノバルティスファーマ株式会社
バイエル薬品工業株式会社



MIRCERA[®]
epoetin beta pegol



新発売

持続型赤血球造血刺激因子製剤

生物由来製品、劇薬、処方せん医薬品^注 薬価基準収載

ミルセラ[®] 注シリンジ 25 μ g、50 μ g、75 μ g
100 μ g、150 μ g、200 μ g、250 μ g

MIRCERA[®] Injection Syringe 25 μ g, 50 μ g, 75 μ g, 100 μ g, 150 μ g, 200 μ g, 250 μ g

エポエチンベータペゴル(遺伝子組換え)注

注)注意—医師等の処方せんにより使用すること

® F. ホフマン・ラ・ロシュ社(スイス)登録商標

※効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意等については、製品添付文書をご参照下さい。
<http://www.chugai-pharm.co.jp>

製造販売元



中外製薬株式会社
〒103-8324 東京都中央区日本橋室町2-1-1

(資料請求先) 医薬情報センター
TEL.0120-189706 FAX.0120-189705

 ロシュグループ

2011年7月作成



HMG-CoA還元酵素阻害剤

リバロ錠 2mg
1mg

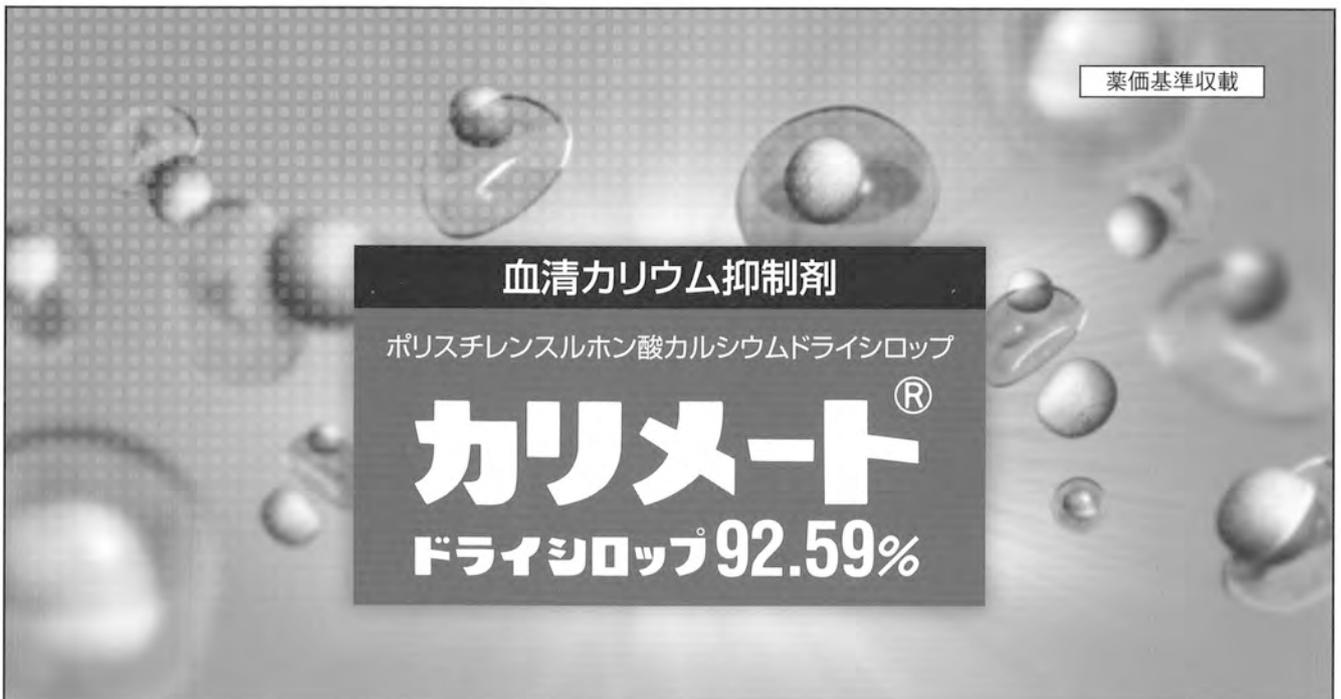
処方せん医薬品：注意—医師等の処方せんにより使用すること
(ヒタバスタチンカルシウム製剤) 薬価基準収載

●効能・効果、用法・用量、禁忌・使用上の注意等は添付文書をご参照ください。



製造販売元 (資料請求先)
興和株式会社
東京都中央区日本橋本町三丁目4-14
販売元
興和創薬株式会社
東京都中央区日本橋本町三丁目4-14
提携
日隆化学工業株式会社

09.6 作成



薬価基準収載

血清カリウム抑制剤

ポリスチレンスルホン酸カルシウムドライシロップ

カリメート®

ドライシロップ92.59%

効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意等については添付文書をご参照ください。



製造販売元 (資料請求先)
興和株式会社
〒103-8433 東京都中央区日本橋本町三丁目4-14

販売元
興和創薬株式会社
〒103-0023 東京都中央区日本橋本町三丁目4-14

10.2作成

POWER & PROTECTION

世界のイルベサルタン、アバプロとして日本へ。

承認110カ国・発売88カ国(2009年2月現在)



長時間作用型 ARB

薬価基準収載

アバプロ[®] 錠 50mg
100mg

一般名 **イルベサルタン錠 AVAPRO[®]**

処方せん医薬品 (注意—医師等の処方せんにより使用すること)

■禁忌(次の患者には投与しないこと)

- (1) 本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者
- (2) 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人〔添付文書の妊婦、産婦、授乳婦等への投与〕の項参照〕

■効能・効果 ●高血圧症

■用法・用量 ●通常、成人にはイルベサルタンとして50~100mgを1日1回経口投与する。なお、年齢、症状により適宜増減するが、1日最大投与量は200mgまでとする。

■使用上の注意(抜粋) 1.慎重投与(次の患者には慎重に投与すること) (1) 両側性腎動脈狭窄のある患者又は片腎で腎動脈狭窄のある患者〔「重要な基本的注意」の項参照〕 (2) 高カリウム血症の患者〔「重要な基本的注意」の項参照〕 (3) 重篤な腎機能障害のある患者(過度の降圧により腎機能を悪化させるおそれがある。)(4) 肝障害のある患者、特に胆汁性肝硬変及び胆汁うっ滞のある患者〔本剤は主に胆汁中に排泄されるため、これらの患者では血中濃度が上昇するおそれがある。〔添付文書の薬物動態〕の項参照〕 (5) 脳血管障害のある患者(過度の降圧が脳血流不全を引き起こし、病態を悪化させるおそれがある。)(6) 高齢者〔添付文書の高齢者への投与〕の項参照) 2.重要な基本的注意 (1) 両側性腎動脈狭窄のある患者又は片腎で腎動脈狭窄のある患者においては、腎血流量の減少や糸球体過剰の低下により急速に腎機能を悪化させるおそれがあるため、治療上やむを得ないと判断される場合を除き、使用は避けること。(2) 高カリウム血症の患者においては、高カリウム血症を増悪させるおそれがあるため、治療上やむを得ないと判断される場合を除き、使用は避けること。また、腎機能障害、コントロール不良の糖尿病等により血清カリウム値が高くなりやすい患者では、高カリウム血症が発現するおそれがあるため、血清カリウム値に注意すること。(3) 本剤の投与によって、一過性の急激な血圧低下を起こすおそれがあるため、そのような場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。また、特に次の患者では低用量から投与を開始し、増量する場合は患者の状態を十分に観察しながら徐々に行うこと。1) 血液透析中の患者 2) 利尿剤投与中の患者 3) 厳重な減塩療法中の患者 (4) 本剤を含むアンジオテンシンⅡ受容体拮抗剤投与中に重篤な肝機能障害があらわれたとの報告がある。肝機能検査を実施するなど観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止するなど適切な処置を行うこと。(5) 降圧作用に基づきめまい、ふらつきがあらわれることがあるため、高所作業、自動車の運転等危険を伴う機械を操作する際には注意させること。(6) 手術前24時間は投与しないことが望ましい。

3.相互作用 併用注意(併用に注意すること)

薬剤名等
カリウム保持性利尿剤:スピロラクトン、トリウムテレン等
カリウム補給剤:塩化カリウム

4.副作用 承認時における副作用(自覚症状)は、安全性評価対象例898例中117例(13.0%)に認められた。主なものは、めまい24例(2.7%)、咳嗽14例(1.6%)、頭痛10例(1.1%)であった。また、臨床検査値の異常変動は、臨床検査値が評価された安全性評価対象例896例中140例(15.6%)に認められた。主なものは、CK (CPK) 上昇32例(3.6%)、ALT (GPT) 上昇21例(2.3%)、AST (GOT) 上昇18例(2.0%)であった。(1) 重大な副作用 1) 血管浮腫(頻度不明):顔面、口唇、咽頭、舌等の腫脹を症状とする血管浮腫があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。2) 高カリウム血症(頻度不明):重篤な高カリウム血症があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には、直ちに適切な処置を行うこと。3) ショック、失神、意識消失(頻度不明):ショック、血圧低下に伴う失神、意識消失があらわれることがあるので、観察を十分に行い、冷感、嘔吐、意識消失等があらわれた場合には、直ちに適切な処置を行うこと。特に血液透析中、厳重な減塩療法中、利尿剤投与中の患者では低用量から投与を開始し、増量する場合は患者の状態を十分に観察しながら徐々に行うこと。4) 腎不全(頻度不明):腎不全があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。5) 肝機能障害、黄疸(0.1~1%未満):AST (GOT)、ALT (GPT)、ALP、γ-GTPの上昇等の肝機能障害、黄疸があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。6) 低血糖(頻度不明):低血糖があらわれることがある(糖尿病治療中の患者であらわれやすい)ので、観察を十分に行い、脱力感、空腹感、冷汗、手の震え、集中力低下、痙攣、意識障害等があらわれた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。7) 横紋筋融解症(頻度不明):筋肉痛、脱力感、CK (CPK) 上昇、血中及び尿中ミオグロビン上昇を特徴とする横紋筋融解症があらわれることがあるので、観察を十分に行い、このような場合には直ちに投与を中止し、適切な処置を行うこと。

●使用上の注意等の詳細は製品添付文書をご参照ください。

製造販売元(資料請求先)

大日本住友製薬株式会社

〒541-0045 大阪市中央区道修町2-6-8

(製品に関するお問い合わせ先)

くすり情報センター

☎0120-034-389

受付時間/月~金 9:00~18:30(祝・祭日を除く)
【医療情報サイト】<http://ds-pharma.jp/>



持続性アンジオテンシンII受容体拮抗剤
処方せん医薬品[※]

薬価基準収載



ブロプレス錠[®] 2・4 8・12

(カンデサルタン シレキセチル錠)

持続性アンジオテンシンII受容体拮抗剤/利尿薬配合剤
処方せん医薬品[※]

薬価基準収載



エカード[®] 配合錠 15

(カンデサルタン シレキセチル/ヒドロクロチアジド配合錠)

持続性アンジオテンシンII受容体拮抗剤/持続性Ca拮抗薬配合剤
劇薬・処方せん医薬品[※]

薬価基準収載



ユニシア[®] 配合錠 15

(カンデサルタン シレキセチル/アムロジピンベシル酸塩配合錠)

注) 注意—医師等の処方せんにより使用すること

◆ 効能・効果、用法・用量、使用上の注意、および取扱い上の注意等については、添付文書をご参照ください。

[資料請求先]

武田薬品工業株式会社 〒540-8645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号
<http://www.takeda.co.jp/>

(1006)T



抗ヒトTNF α モノクローナル抗体製剤

薬価基準収載

レミケード[®]点滴静注用100

REMICADE[®] for I.V. Infusion100 (インフリキシマブ(遺伝子組換え)製剤)

生物由来製品 | 劇薬 | 処方せん医薬品 (注意-医師等の処方せんにより使用すること)

※効能・効果、用法・用量、警告、禁忌を含む使用上の注意等については、添付文書をご参照ください。



製造販売元(資料請求先)
田辺三菱製薬株式会社
 大阪市中央区北浜2-6-18

2009年10月作成

ネスプ ここに完成。

腎性貧血の保存期から透析期まで

持続型赤血球造血刺激因子製剤

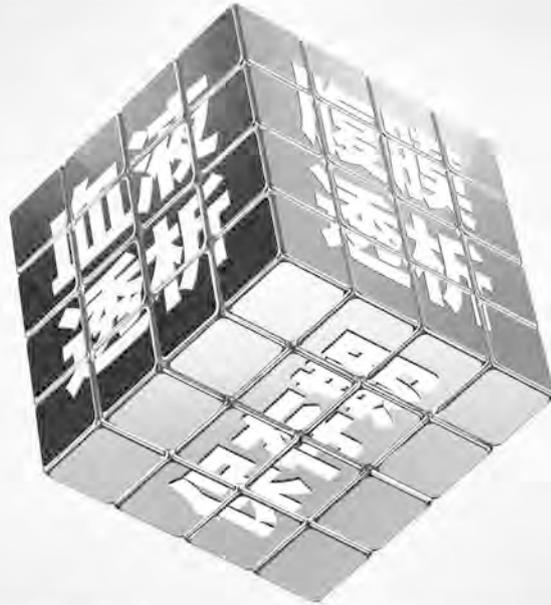
生物由来製品、劇薬、
処方せん医薬品・注意・医師等の処方せんにより使用すること

ネスプ[®]

注射液 プラシンジ

10・15・20・30・40 μ g/1mL 60・120 μ g/0.6mL 180 μ g/0.9mL

薬価基準収載 一般名:ダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)



【禁忌】(次の患者には投与しないでください)
本剤の成分又はエリスロポエチン製剤に過敏症の患者

●効能又は効果 腎性貧血

●用法及び用量

<血液透析患者>

●初回用量 通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、週1回20 μ gを静脈内投与する。

●エリスロポエチン〔エポエチンアルファ(遺伝子組換え)、エポエチン ベータ(遺伝子組換え)等〕製剤からの切替え初回用量 通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、週1回15～60 μ gを静脈内投与する。

●維持用量 貧血改善効果が得られたら、通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、週1回15～60 μ gを静脈内投与する。週1回投与で貧血改善が維持されている場合には、その時点で1回の投与量の2倍量を開始用量として、2週に1回投与に変更し、3週に1回30～120 μ gを静脈内投与することができる。

なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、最高投与量は、1回180 μ gとする。

<腹膜透析患者及び保存期慢性腎臓病患者>

●初回用量 通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、2週に1回30 μ gを皮下又は静脈内投与する。

●エリスロポエチン〔エポエチンアルファ(遺伝子組換え)、エポエチン ベータ(遺伝子組換え)等〕製剤からの切替え初回用量 通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、2週に1回30～120 μ gを皮下又は静脈内投与する。

●維持用量 貧血改善効果が得られたら、通常、成人にはダルベポエチン アルファ(遺伝子組換え)として、2週に1回30～120 μ gを皮下又は静脈内投与する。2週に1回投与で貧血改善が維持されている場合には、その時点で1回の投与量の2倍量を開始用量として、4週に1回投与に変更し、4週に1回60～180 μ gを皮下又は静脈内投与することができる。

なお、いずれの場合も貧血症状の程度、年齢等により適宜増減するが、最高投与量は、1回180 μ gとする。

<用法及び用量に関連する使用上の注意>

貧血改善効果の目標値は学会のガイドライン等、最新の情報を参考にすること。

1. 切替え初回用量 下表を参考に、切替え前のエリスロポエチン製剤投与量から本剤の投与量及び投与頻度を決定し、切り替えること。(1)エリスロポエチン製剤が週2回あるいは週3回投与されている患者 切替え前1週間のエリスロポエチン製剤投与量を合計し、下表を参考に本剤の初回用量を決定し、週1回から投与を開始する。(2)エリスロポエチン製剤が週1回あるいは2週に1回投与されている患者 切替え前2週間のエリスロポエチン製剤投与量を合計し、下表を参考に本剤の初回用量を決定し、2週に1回から投与を開始する。

| 切替え前1週間あるいは2週間のエリスロポエチン製剤投与量の合計 | 3,000IU以下 | 4,500IU | 6,000IU | 9,000IU | 12,000IU |
|---------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 本剤投与量 | 15 μ g | 20 μ g | 30 μ g | 40 μ g | 60 μ g |

2. 投与量調整

投与初期にヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値に適度な上昇がみられなかった場合や、維持投与中にヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が2週連続して目標範囲から逸脱した場合など、用量調整が必要な場合には、下表を参考に投与量を増減すること。なお、増量する場合には原則として1段階ずつ行うこと。

静脈内投与時の投与量調整表(血液透析患者、腹膜透析患者及び保存期慢性腎臓病患者)

| 段階 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|-------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 本剤投与量 | 10 μ g | 15 μ g | 20 μ g | 30 μ g | 40 μ g | 50 μ g | 60 μ g | 80 μ g | 100 μ g | 120 μ g | 140 μ g | 160 μ g | 180 μ g |

皮下投与時の投与量調整表(腹膜透析患者及び保存期慢性腎臓病患者)

| 段階 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|-------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| 本剤投与量 | 15 μ g | 30 μ g | 60 μ g | 90 μ g | 120 μ g | 180 μ g |

3. 投与間隔変更時

(1)本剤の投与間隔を変更する際には、投与間隔を延長する前のヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値の推移を十分に観察し、同一の投与量でヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が安定した推移を示していることを確認した上で、週1回から2週に1回あるいは2週に1回から4週に1回に変更すること。変更後にはヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値の推移を確認し、適宜調整を行うこと。

(2)1回あたり180 μ gを投与してもヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が目標範囲に達しない場合には、投与量を1/2とし、投与頻度を2週に1回から週1回あるいは4週に1回から2週に1回に変更すること。

●使用上の注意

1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること) (1)心筋梗塞、肺梗塞、脳梗塞等の患者、又はその既往歴を有し血栓塞栓症を起こすおそれのある患者〔エリスロポエチン製剤において血液粘稠度が上昇すると報告があり、血栓塞栓症を増悪あるいは誘発するおそれがあるため観察を十分にすること〕(2)高血圧症の患者〔本剤投与により血圧上昇を認める場合があり、また、高血圧性脳症があらわれるおそれがあるため観察を十分にすること〕(3)薬物過敏症の既往歴のある患者(4)アレルギー素因のある患者 2. 重要な基本的注意 (1)本剤の投与は貧血症に伴う日常生活

活動の支障が認められる腎性貧血患者に限定すること。なお、投与初期における投与対象は、血液透析患者ではヘモグロビン濃度で10g/dL(ヘマトクリット値で30%)未満を目安とし、活動性の高い比較的若年の血液透析患者、腹膜透析患者及び保存期慢性腎臓病患者ではヘモグロビン濃度で11g/dL(ヘマトクリット値で33%)未満を目安とする。(2)本剤の投与に際しては、腎性貧血であることを確認し他の貧血症(失血性貧血、汎血球減少症等)には投与しないこと。(3)ショック等の反応を予測するため十分な問診をすること。投与に際しては、必ずショック等に対する救急処置のとれる準備をしておくこと。また、投与開始から投与終了後まで、患者を安静な状態に保たせ、十分な観察を行うこと。特に、投与開始直後は注意深く観察すること。なお、投与開始時あるいは休業後の初回投与時には、本剤の少量を静脈内あるいは皮下に注入し、異常反応の発現しないことを確認後、全量を投与することが望ましい。(4)腎性貧血の治療におけるヘモグロビン濃度に関連して、以下の臨床試験成績が報告されている。本剤投与中はヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値を定期的に観察し、学会のガイドライン等、最新の情報を参考に、必要以上の造血作用(血液透析患者においてはヘモグロビン濃度で12g/dL超あるいはヘマトクリット値で36%超を目安とする)があらわれずに十分注意すること。1)心不全や虚血性心疾患を合併する血液透析患者において、目標ヘモグロビン濃度を14g/dL(ヘマトクリット値42%)に維持した群では、10g/dL(ヘマトクリット値30%)前後に維持した群に比べて死亡率が高い傾向が示されたとの報告がある。2)保存期慢性腎臓病患者における腎性貧血に対する赤血球造血刺激因子製剤による治療について、目標ヘモグロビン濃度を13.5g/dLに設定した患者では、11.3g/dLに設定した患者と比較して、有意に死亡及び心血管系障害の発現頻度が高いことが示されたとの報告がある。3)2型糖尿病で腎性貧血を合併している保存期慢性腎臓病患者において、目標ヘモグロビン濃度を13.0g/dLに設定して赤血球造血刺激因子製剤が投与された患者とプラセボが投与された患者(ヘモグロビン濃度が9.0g/dLを下回った場合に赤血球造血刺激因子製剤を投与)を比較したところ、赤血球造血刺激因子製剤群ではプラセボ群に比較して有意に脳卒中の発現頻度が高いことが示されたとの報告がある。(5)本剤投与開始時及び用量変更時には、ヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が目標範囲に到達し、安定するまでは週1回から2週に1回程度ヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値を確認すること。必要以上の造血作用を認めた場合は、休業等の適切な処置をとること。(6)本剤投与により血圧上昇を認める場合があり、また、高血圧性脳症が報告されているので、血圧、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値等の推移に十分注意しながら投与すること。特に、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値は徐々に上昇させるよう注意すること。また、本剤は持続型製剤であり、エリスロポエチン製剤と比較して造血作用が長時間持続する。臨床試験において投与中止後もヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値の低下に時間を要する症例が認められていることから、ヘモグロビン濃度あるいはヘマトクリット値が回復するまで観察を十分に行うこと。(7)本剤投与により抗エリスロポエチン抗体産生を伴う赤芽球病があらわれることがあるので、本剤の使用中に貧血の改善がない、あるいは悪化する場合は同疾患を疑い、赤芽球病と診断された場合には本剤の投与を中止すること。また、エリスロポエチン製剤への切替えは避け、適切な処置を行うこと。(8)本剤投与により高カリウム血症を認める場合があるため、食事管理を適切に行うこと。(9)本剤の効果発現には鉄の存在が重要であり、鉄欠乏時には鉄剤の投与を行うこと。(10)血液透析患者においては、シャントの閉塞や血液透析装置内の残血を認める場合があるため、シャントや血液透析装置内の血流量には十分注意すること。このような場合にはシャントの再造設、抗凝固剤の増量等の適切な処置をとること。(11)保存期慢性腎臓病患者に対し本剤を用いる場合には次の事項を考慮すること。1)保存期慢性腎臓病患者においては水分の調節が困難であるため、水分量と電解質の収支及び腎機能並びに血圧等の観察を十分に行うこと。2)慢性腎臓病の進展に伴い、本剤の貧血改善効果が減弱する可能性があるため、本剤投与中は血清クレアチニン濃度やレチナクリアランス等の経過を適宜観察し、増量あるいは投与中止等の適切な処置をとること。3)副作用 延べ1462例中471例(32.2%)に副作用が認められた。主な副作用は血圧上昇248例(17.0%)、シャント血栓閉塞44例(3.0%)、頭痛28例(1.9%)、倦怠感20例(1.4%)であった。〔ネスプ注射液承認時〕(1)重大な副作用 1)脳梗塞(0.9%) 脳梗塞があらわれることがあるので、観察を十分に行い異常が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置を行うこと。2)脳出血(0.1%) 脳出血があらわれることがあるので、観察を十分に行い異常が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置を行うこと。3)肝機能障害、黄疸(0.1%) ALT(GPT)、 γ -GTPの上昇を伴う肝機能障害、黄疸があらわれることがあるので、観察を十分に行い異常が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置を行うこと。4)高血圧性脳症(頻度不明) 高血圧性脳症があらわれることがあるので、血圧等の推移に十分注意しながら投与すること。5)ショック、アナフィラキシー様症状(頻度不明) ショック、アナフィラキシー様症状(呼吸困難、唇腫、口唇浮腫、咽頭浮腫等)を起すことがあるので、観察を十分に行い異常が認められた場合には、投与を中止し、適切な処置を行うこと。6)赤芽球病(頻度不明) 抗エリスロポエチン抗体産生を伴う赤芽球病があらわれることがあるので、その場合は投与を中止し、適切な処置を行うこと。7)心筋梗塞、肺梗塞(頻度不明) 心筋梗塞、肺梗塞があらわれることがあるので、観察を十分に行い異常が認められた場合には、投与を中止するなど適切な処置を行うこと。

●その他の使用上の注意の詳細は最新の添付文書をご参照ください。

製造販売元

【資料請求先】

協和発酵キリン株式会社

東京都千代田区大手町一丁目6番1号 〒100-8185

www.kksmile.com

2010年6月作成

登録商標

NOVARTIS



選択的AT₁受容体ブロッカー/利尿薬合剤 薬価基準収載
コディオ[®]配合錠 EX MD
処方せん医薬品 注意 - 医師等の処方せんにより使用すること
Co-DIO Combination Tablets バルサルタン/ヒドロクロチアジド配合錠
 ●コディオホームページ www.co-dio.jp



選択的AT₁受容体ブロッカー 薬価基準収載
ディオバン[®]錠 160mg
 80mg
 40mg
処方せん医薬品 注意 - 医師等の処方せんにより使用すること
DIOVAN Tablets バルサルタン錠
 ●ディオバンホームページ www.diovan.jp

効能・効果、用法・用量、禁忌、使用上の注意等については、製品添付文書をご参照ください。

製造販売

(資料請求先)

ノバルティス ファーマ 株式会社

東京都港区西麻布4-17-30 〒106-8618

NOVARTIS DIRECT

☎ 0120-003-293

受付時間: 月~金 9:00~18:00

2010年7月作成

NOVARTIS



選択的AT₁受容体ブロッカー/持続性Ca拮抗薬合剤 薬価基準収載
エックスフォージ[®]配合錠
創薬 | 処方せん医薬品^(注)
EXFORGE[®] Combination Tablets バルサルタン/アムロジピンベシル酸塩配合錠
(注) 注意 - 医師等の処方せんにより使用すること

エックスフォージ[®] 配合錠は、バルサルタン80mgとアムロジピン5mgを含有する配合剤です。
 効能・効果、用法・用量、禁忌、使用上の注意等については、製品添付文書をご参照ください。

製造販売

(資料請求先)

ノバルティス ファーマ 株式会社
 東京都港区西麻布4-17-30 〒106-8618

NOVARTIS DIRECT

☎ 0120-003-293
 受付時間: 月~金 9:00~18:00
www.exforge.jp

2010年11月作成



ECO運転モードで省エネ運転！

サンヨー デュアル冷却システム搭載！超低温フリーザ

省エネ運転（ECOモード運転）

コンプレッサA/Bをそれぞれ個別に独立制御。フリーザの負荷状態を監視、エネルギー消費を最小限に抑え、《考えながら》運転、高い省エネを実現。
※JIS C 9801(2006年度版)年平均電力消費量測定方法の測定(周囲温度30℃、-80℃設定、無負荷、50Hz)
 ※当社基準で測定しています。扉の開閉、設置環境など使用条件により省エネ率が変動します。

メンテナンスフリー（フィルタレス構造）

-70℃まで冷却可能な独立冷凍回路2基(A/B)で-85℃の超低温域をつくり出します。万が一側側冷凍回路にトラブルが発生しても、もう一方の冷凍回路で約-70℃を維持します。

ユーザーヒリティー（陰圧解除ポート）

新開発冷凍回路により、フィルタレスを実現。面倒なフィルター清掃が不要、メンテナンスが容易になりました。

リスク回避（デュアル冷却システム）

扉開閉直後、陰圧により扉が開かない！
 本体左側面の陰圧解除ポートを開ける事で、扉開閉直後、庫内と庫外の温度差で生じる陰圧による扉の締め込みを解除できます。
※ポートを開放状態にしておく。扉開閉後外気を吸い込み、電付による過負荷閉塞の原因になります。必要時以外は常に閉めた状態にしてください。

- 仕様及びデザインは性能改善のため予告なく変更する場合があります。
- 弊社は製品の故障について一定の条件下で修理を保証しますが、内容物である試料、試薬等についてはその責任を負いかねますのであしからずご了承ください。



MDF-U400VX/U500VX

MDF-U700VX

| 品番 | MDF-U400VX | MDF-U500VX | MDF-U700VX |
|------------|-----------------------------|---------------------|----------------------|
| 外形寸法 | W770 × D867 × H1990 | W770 × D867 × H1990 | W1010 × D870 × H2010 |
| 内容量 / 製品質量 | 411L / 312kg | 159L / 320kg | 728L / 375kg |
| 冷却性能 | -85℃ / 片側運転時-70℃(周囲温度: 30℃) | | |
| 電源 | 三相200V 20A (50/60Hz) | | |

三洋電機株式会社 panasonic.co.jp/sanyo/

コマースカンプニー バイオメディカ事業部
 〒113-8434 東京都文京区本郷3丁目10番15号

東日本営業部
 北海道営業所 TEL 011-231-7113 FAX 011-271-0714
 東北営業所 TEL 022-266-2131 FAX 022-215-5582
 中部営業所 TEL 029-879-1700 FAX 029-879-1701
 関東営業所 TEL 03-5803-4040 FAX 03-5803-4037
 南関東営業所 TEL 045-978-5134 FAX 045-978-5150

西日本営業部
 中部営業所 TEL 052-551-0822 FAX 052-551-3490
 近畿営業所 TEL 06-6994-4742 FAX 06-6994-3593
 中国営業所 TEL 082-247-7532 FAX 082-240-2701
 九州営業所 TEL 092-292-7719 FAX 092-291-5353

記載内容は2011年7月現在のものです。

薬価基準収載

ファブリー病は、さまざまな症状を来す 進行性の病気です。



遺伝子組換えファブリー病治療剤 生物由来製品 / 創薬 / 処方せん医薬品

ファブラザイム® 点滴静注用 5mg
 点滴静注用 35mg

アガルシダーゼ ベータ(遺伝子組換え)静注用凍結乾燥剤

効能・効果、用法・用量、警告、禁忌、使用上の注意等につきましては、製品添付文書をご参照ください。

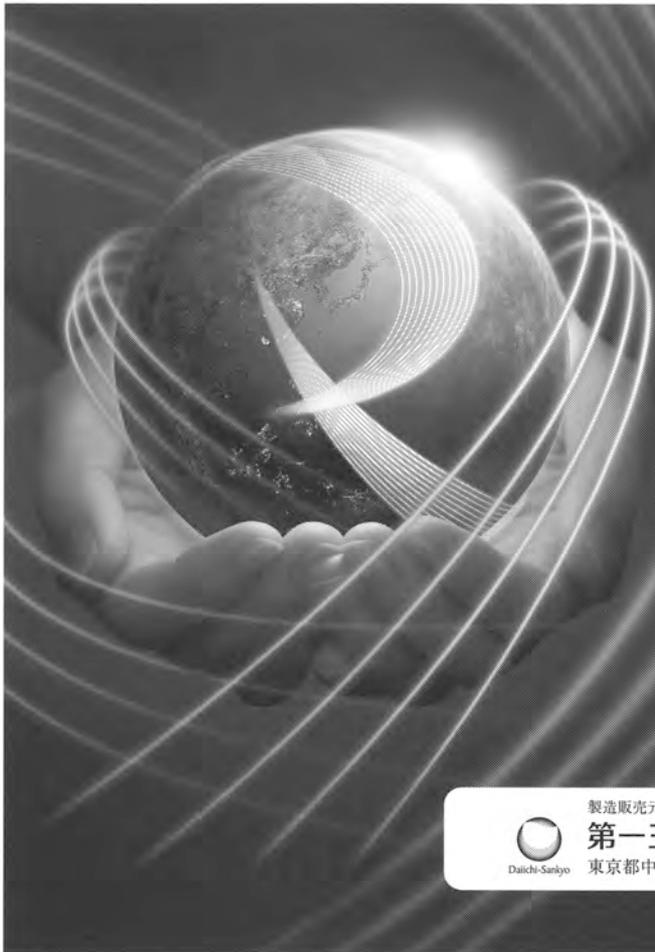
注)注意—医師の処方せんにより使用すること。



ひとつでも多くの笑顔のために



資料請求先: ジェンザイム・ジャパン株式会社 バイオ医薬品事業本部
 〒107-6337 東京都港区赤坂五丁目3番1号 TEL03-3560-4410 FAX03-3560-4401 URL <http://www.genzyme.co.jp/>



高親和性ARB/持続性Ca拮抗薬配合剤 薬価基準収載

レザルタス® 配合錠LD

処方せん医薬品：注意—医師等の処方せんにより使用すること
オルメサルタン メドキシミル/アゼルニジピン配合錠

Rezaltas

レザルタス配合錠LD：オルメサルタン メドキシミル10mg/アゼルニジピン8mg
レザルタス配合錠HD：オルメサルタン メドキシミル20mg/アゼルニジピン16mg

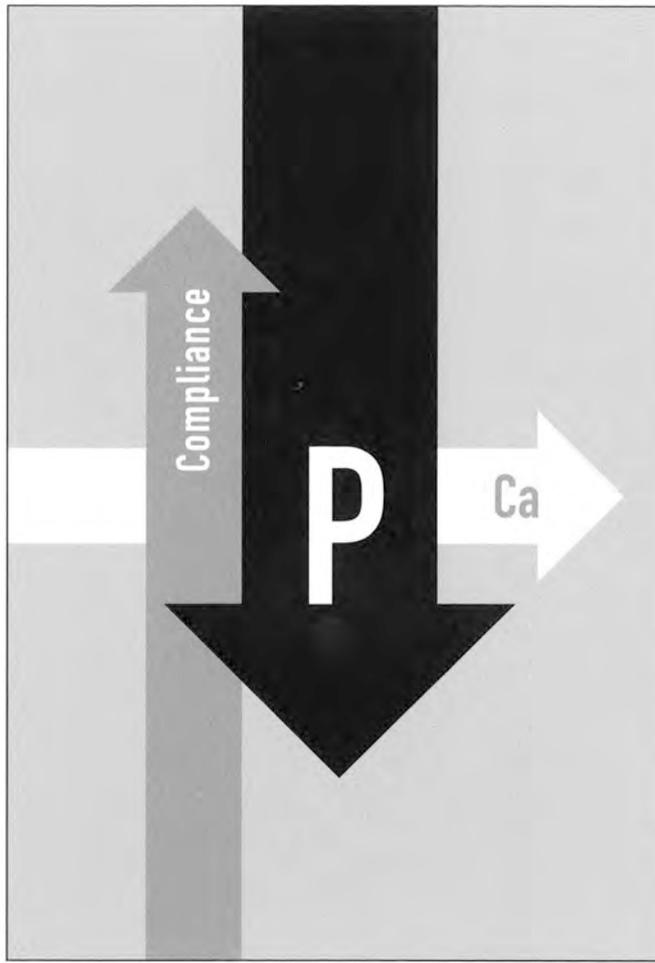
◆効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意、効能・効果に関連する使用上の注意、用法・用量に関連する使用上の注意については製品添付文書をご参照ください。

製造販売元(資料請求先)



第一三共株式会社
東京都中央区日本橋本町3-5-1

2011年4月作成 (1105)



高リン血症治療剤

ホスレノール® チュアブル錠

250mg 500mg

(炭酸ランタン水和物チュアブル錠) 薬価基準収載

処方せん医薬品注) 注)注意—医師等の処方せんにより使用すること

本剤の「効能・効果」、「用法・用量」、「用法・用量に関連する使用上の注意」、「禁忌を含む使用上の注意」等については製品添付文書をご参照ください。



Bayer HealthCare
Bayer Schering Pharma

資料請求先
バイエル薬品株式会社
大阪市北区梅田2-4-9 〒530-0001
<http://www.bayer.co.jp/byl>

2011年1月作成 FOS-11-4002

補体研究会（補体シンポジウム）会則

I 総則

- (1) 本会は補体研究会（The Japanese Association for Complement Research）という。
- (2) 本会は補体研究ならびにこれに関連する分野の進歩発展を図ることを目的とする。
- (3) 本会は前条の目的を達成するため、次に定める事業を行う。
 - 1) 年1回以上にわたる総会ならびに学術集会（補体シンポジウム）の開催
 - 2) 内外の関連学術団体との連絡及び協力
 - 3) その他の必要な事業

II 会員

- (4) 本会は、補体研究ならびにこれに関連する分野の学問の研究を志す人々、及びそれに賛同する賛助会員を以て組織される。
- (5) 本会に会員として入会を希望する者は、所定の申込書に必要事項を記入し、会費を添えて本会事務局に提出するものとする。
- (6) 本会の会費については細則で定める。
- (7) 会員は学術集会において、その実績を発表できると共に、その抄録集の配布を受ける。
- (8) 会員で故なくして2年間会費を滞納したものは退会とみなす。
- (9) 本会の名誉を著しく毀損した会員は、運営委員会の議を経て除名することが出来る。
- (10) 本会に特に功労のあった方で、細則に定める規定により推薦された方を名誉会員とする。

III 役員

- (11) 本会に次の役員をおく。

| | |
|--------------------|-------|
| 会長 | 1名 |
| 運営委員 | 10名程度 |
| 監事 | 2名 |
| 補体シンポジウム当期および次期集会長 | 2名 |

- (12) 会長は、本会を代表し、運営委員会を召集する。会長の選出は運営委員会が行い、総会での承認を得て決定する。任期は4年とし、2期を限度とする。ただし再任後の任期は2年とする。
- (13) 会長は必要に応じ、運営委員会の承認を得たうえで、自身の任期の範囲内の任意の任期を有する会長補佐を任命することができる。
- (14) 運営委員は会員から選挙により選出し、任期は4年とし連続の再任は認めない。細則で定めるところの選挙規定に従って2年毎に選挙を行い、半数ずつ交代するものとする。
- (15) 監事は、運営委員経験者の中から運営委員会が選出し、総会での承認を得て決定する。
- (16) 監事は会計および選挙等を監査する。監事の任期は4年とし、連続の再任は認めない。任期中監事を辞退するものが生じた際には、所定の手続きを経て速やかに後任を補充するものとし、その際の任期は前任者の残留期間とする。

- (17) 運営委員会の構成員は、運営委員、監事、補体シンポジウム集会長（当期および次期）、会長、および会長補佐とする。
- (18) 運営委員会は、構成員の過半数の出席を要する。
- (19) 運営委員会は、会務の審議、本会の運営に当たる。
- (20) 補体シンポジウムの集会長は、運営委員会が選出決定する。
- (21) 補体シンポジウム集会長は、補体シンポジウムを主宰する。
- (22) 補体シンポジウム集会長の任期は、前期補体シンポジウム開催時に始まり、主宰補体シンポジウム終了時に終る。

IV 学術集会・総会

- (23) 年次集会（補体シンポジウム）を行う。時宜に応じて必要な集会を開催することが出来る。
- (24) 運営委員会は、補体シンポジウム開催中または必要に応じて会長がこれを召集する。
- (25) 総会は年1回、補体シンポジウム開催中に当期集会長が召集し、運営委員会決定事項の報告と必要な討議を行い、承認を求める。

V 会計

- (26) 経理会計は事務局において行うほか、必要に応じてシンポジウム集会長もこれにたずさわる。
- (27) 本会の経費は、会費・寄付金・その他の収入および利子をもってこれにあてる。
- (28) 補体シンポジウムにおいては、出席会員から参加費を徴収することが出来る。
- (29) 本会の会計年度は1月1日に始まり、12月31日に終わり、総会において会計報告を行う。
- (30) 監事は会計の監査を行い、その結果を総会において報告する。

VI 会則変更

- (31) 本会の会則を変更する場合は、総会出席会員の3分の2以上の賛成を必要とする。

付則

この会則は昭和60年3月1日より施行する。

平成2年8月7日 一部改訂

平成4年7月23日 一部改訂

平成5年7月21日 一部改訂

平成16年8月21日 一部改訂

平成22年9月11日 一部改訂

細 則

I 会費

- (1) 本会の年会費は当分の間年額5,000円とする。但し学生会員（学部学生および大学院生）は3,000円とする。学生会員は、学生証の写し等を毎年事務局へ提出し、確認を受けるものとする。賛助会員の会費は年間1口30,000円とする。

II 選挙規定

運営委員の選出は当分の間次の規定に従って行う。

- (2) 運営委員の定数は10名を原則とする。
- (3) 選挙事務は事務局において行う。
- (4) 運営委員の選挙にあたり、運営委員候補者名簿を作成する。
- (5) 運営委員候補者として、任期満了の運営委員は3名、運営委員経験者は1名を推薦することが出来る。
- (6) 事務局は、運営委員候補者名簿および投票用紙を、会員に総会開催2ヶ月前までに郵送し、会員はそれにもとづき、所定の日時までに3名連記で投票を行う。ただし、候補者以外のものに投票しても差し支えない。
- (7) 開票には、少なくとも監事1名の立会いを必要とする。監事は、開票結果にもとづいて、得票数の上位3名の運営委員と次点1名を定め、運営委員会および総会に報告する。
- (8) 次点者は運営委員に欠損が生じた場合に、その任に当たる。

III 事務局

- (9) 本会の事務局は会長の指名する事務局長のもとに置く。

IV 名誉会員

- (10) 名誉会員の候補者の推薦は、運営委員2名以上の推薦によって成立する。名誉会員候補者は運営委員会において選考され、総会の承認を得て名誉会員に決定される。

付則

細則（1）は昭和62年度より、賛助会員については平成5年度より施行する。

平成2年8月7日 一部改訂

平成4年7月23日 一部改訂

平成5年7月21日 一部改訂

平成22年9月11日 一部改訂

補体研究会賛助会員

(五十音順)

アレクシオン ファーマ株式会社
エーザイ株式会社
田辺三菱製薬株式会社
CSL ベーリング株式会社
明治製菓株式会社

補体研究会

会 長 木下タロウ
会長補佐 野中 勝

運営委員 藤田 禎三
松下 操
岡田 則子
瀬谷 司
山本 哲郎
堀内 孝彦
遠藤 雄一
畑中 道代
若宮 伸隆
水野 正司

監 事 岡田 秀親
松本美佐子

事務局長 井上 徳光

集会長 岡田 則子
次期集会長 井上 徳光