

補体

Vol.53
No.1
2016

- 会長挨拶「日本補体学会の1年の歩み」 ······ 若宮伸隆
- 総説「S19リボソームタンパク質多量体
—C5a受容体システムの多彩な役割」 ······ 山本哲郎
- 総説「遺伝性血管性浮腫とその問題点」 ······ 大澤 勲
- 学会報告「XXVIth International Complement Workshopに参加して」
··· 今井優樹
- 学会報告～Awards～
- 教室紹介「九州大学大学院農学研究院 水族生化学研究室の紹介」
··· 中尾実樹
- 開催案内「第54回日本補体学会学術集会の開催にあたって」
··· 関根英治

一般社団法人
日本補体学会

日本補体学会
The Japanese Association for Complement Research

目 次

| | |
|---|-----------|
| ■ 会長挨拶「日本補体学会の1年の歩み」 | 若宮伸隆 … 1 |
| ■ 総説「S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体システムの多彩な役割」 | 山本哲郎 … 3 |
| ■ 総説「遺伝性血管性浮腫とその問題点」 | 大澤 勲 … 20 |
| ■ 学会報告「XXVI th International Complement Workshopに参加して」 | 今井優樹 … 31 |
| ■ 学会報告～Awards～ <Japanese Travel Award> | … 35 |
| ・奥田雄介「XXVI International Complement WorkshopでJapanese Travel Awardを受賞して」 | |
| ・本田大介「XXVI International Complement Workshop in Kanazawaに参加して」 | |
| ・原かおり「ICW2016に参加して」 | |
| ・児玉佳輝「XXVI International Complement Workshop (ICW) 2016 Kanazawaに参加して」 | |
| ・Harsha Prakash「Reporter: Harsha Prakash, Doctoral student, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, Japan」 | |
| ・坂井理恵子「ヒトDAFはSCR4ドメインを介してマクロファージによる異種細胞傷害および食食能を抑制する」 | |
| <Travel Award> | |
| ・黄 仁秀「初めての国際学会、ICW 2016 KANAZAWA」 | |
| <Poster Presenting Award> | |
| ・吉田瑠子「XXVI th International complement workshopに参加して」 | |
| ■ 教室紹介「九州大学大学院農学研究院 水族生化学研究室の紹介」 | 中尾実樹 … 52 |
| ■ 開催案内「第54回日本補体学会学術集会のご案内」 | 関根英治 … 55 |
| ■ 一般社団法人日本補体学会のご案内 | … 61 |
| ■ 一般社団法人日本補体学会入会申込書 | … 62 |
| ■ 会員登録事項変更届 | … 63 |
| ■ 一般社団法人日本補体学会定款 | … 65 |
| ■ 一般社団法人日本補体学会補体学会細則 | … 80 |
| ■ 論文投稿規定 | … 83 |
| ■ 一般社団法人日本補体学会賛助会員・役員 | … 86 |
| ■ 編集後記 | … 87 |

日本補体学会の1年の歩み

一般社団法人日本補体学会会長

若宮伸隆

旭川医科大学医学部微生物学講座

本年の補体学会の一番のイベントは、第 26 回国際補体学会 (26th ICW) の金沢開催でありました。学会は 2016 年 9 月 4 日から 5 日間で行われ、参加者は現時点の集計で正規の登録者 327 名(日本人 82 名、外国人 245 名)、その他展示関係者、初日の teaching day に参加した金沢大学生をいれると、350 名を超みました。ICW 本学会では、6 名の特別講演とその他 12 セッションで、口頭発表 58 演題、ポスター 156 演題が発表されました。前回のブラジルでの 25th ICW では、参加者 270 名で、この 1-2 年の厳しい円高と諸外国から離れているアジアでの開催で出席者の少ないことが懸念されましたが、例年以上の参加者を迎えるました。特に、海外からは、ヨーロッパやアメリカだけでなく、インドやタイ、中国等のアジア諸国を含む 22 カ国から 200 人以上の外国人研究者が参加しました。学会は、若手を中心とする活気ある発表と活発な質疑応答が随所で見られ、大盛況でした。特に、抗補体薬の作用機序や新規の薬剤開発を含め、多くの新規関連情報が発信され、参加者は各国の研究者と交流を育み、大変な満足を得られたという声を聞き、主催者としては大変うれしく思いました。これは、ひとえに日本補体学会の学会員の積極的な参加と、補体学会事務局を含めた Local organizing committee のメンバーの献身的なサポートによるもので、Chair 藤田先生と関係諸氏にここに深く感謝いたします。

2017 年は、コペンハーゲンで、European Meeting

on Complement in Human Disease (EMCHD) が、2018 年は、米国サンタフェで、27th ICW が開かれます。日本からも沢山の方が参加される事を期待しています。

また、第 53 回日本補体学会学術集会は、本国際学会と共に開催という形で施行されました。来年は、通常通りのスタイルに戻しますので、多くの皆様のご参加をよろしくお願いします。

さて、補体研究会は、平成 26 年 9 月より、日本補体学会に移行し、約 2 年になりますが、皆様に簡単に、一年の日本補体学会の歩みを、以下にお知らせしたいと思います。

1. 学術集会、講演会等の開催
 - 1) 平成 28 年 9 月 4 日-9 月 8 日、金沢で第 26 回国際補体学会 (26th ICW) と第 53 回日本補体学会学術集会を開催。
 - 2) 第 54 回日本補体学会学術集会は、集会長 関根英治氏 (福島医大) により、平成 29 年 9 月 1 日-2 日「コラッセふくしま」で開催予定。
 - 3) 第 55 回日本補体学会学術集会は、集会長 塚本浩氏 (新小倉病院) により、開催予定。
2. 学会誌等の発行に関しては、

学会誌「補体」第 53 卷 第 1 号を平成 28 年 12 月に発行予定。
3. 補体関連疾患の診断指針の作成と検査法向上の推進として

1) 研究課題「新しい補体検査システムの構築による補体関連疾患の包括的登録と治療指針確立への展開」を推進。

2) 「補体関連疾患に関する病態解明、それら疾患に対する新規診断方法および治療法の開発に関わる疫学研究、基礎研究、臨床研究」のテーマで、平成 27 年度委託研究を公募し、4 名を採択。

3) 補体タンパク質検査や補体関連遺伝子変異検査を、平成 27 年 12 月 11 日より受付開始。

4) アレクシオンファーマ合同会社と第一期事業終了後、平成 28 年 5 月 1 日より第二期事業開始。

5) CSL ベーリング社と受委託契約を平成 28 年 6 月 15 日締結し、平成 28 年 7 月 1 日より第一期事業開始。

6) 平成 28 年 6 月 24 日より新規の「補体検査プロジェクト」の募集開始。

7) 「補体関連疾患に関する病態解明、それら疾患に対する新規診断方法および治療法の開発に関わる疫学研究、基礎研究、臨床研究」として、平成 28 年度委託研究を公募し、3 名を採択。

4. 国際的な研究協力の推進として

1) 平成 27 年 7 月 12 日～7 月 14 日までオーストリアで行われた第 5 回 HUS & related disorders 国際カンファレンスに参加し、情報収集。

2) 平成 28 年 1 月 22 日～1 月 23 日までハンガリーで行われた 2nd Strategy Workshop on the Standardization and External Quality Assessment (EQA) of Complement Analysis に参加し、EQA 関連情報の収集と国際標準化について協議。

5. 理事の改選に伴い、新理事決定

理事：井上徳光、大澤勲、大谷克城、岡田秀親、木下タロウ、関根英治、塚本浩、中尾実樹、堀内孝彦、水野正司、村上良子、若宮伸隆

新役員：会長 若宮伸隆

副会長 堀内孝彦、井上徳光

監事 藤田禎三、山本哲郎

事務局長 井上徳光

日本補体学会は、上記のように一年間で着実に、「日本学術会議協力学術研究団体」指定の学会としての活動を進めることができます。これも、皆様方の温かいご支援とご協力の賜物であると考えております。若宮は、会長として 2 期目になりますが、今後も、改選により選出された新理事とともに、より一層、補体科学の研究を推進し、補体研究を通じての社会貢献を果たしていきたいと考えております。今後も、皆様方のますますのご支援をよろしくお願い申し上げます。

S19 リボソームタンパク質多量体—C5a 受容体システムの多彩な役割

山本哲郎

熊本総合医療リハビリテーション学院顧問

Diverse roles of ribosomal S19 oligomer-C5a receptor system

Tetsuro Yamamoto

Kumamoto College of Medical Care & Rehabilitation

関節リウマチにおける部位特異的な白血球浸潤像とそれを作り出す分子メカニズム：S19 リボソームタンパク質のリボソーム外機能

関節リウマチの白血球浸潤像には面白い特徴がある。関節液には多核球が主に浸潤している一方で、滑膜の肉芽巣には单球/マクロファージが浸潤して多核球はほとんど存在しない。この浸潤像の違いを作り出している分子機構を解明する研究を開始したことが、補体系さらには S19 リボソームタンパク質との出会いとなった。

まず関節液の方であるが、細胞を除いた遠心上清の中に、多核球と单球と共に走化させる因子と单球の走化だけを阻害する因子とが共存していた。つまり、この 2 因子の共存が多核球選択的な浸潤像を作り出しているのである。白血球走化因子の方は、既知のごとく補体 C5a であった。また、单球走化抑制因子を単離してアミノ酸配列を解析したところ、驚くべきことに C4a であった¹⁾。C4a は单球自身から走化抑制因子を遊離させることに寄与している^{2,3)}が、この最終的な抑制因子はまだ同定できていない。

一方、滑膜肉芽巣の抽出液からは、单球を選択的に走化させるタンパク質分子が分離された。アミノ酸配列を解析するとともに組換えタンパク質を調製して確認実験を行ったところ、この分子は、なんと S19 リボソームタンパク質という細胞内

タンパク質合成装置リボソーム小サブユニットの構成成分のひとつが、トランスグルタミナーゼの酵素作用で分子間架橋されて多量体化したものであった⁴⁾。S19 リボソームタンパク質は、システイン残基を含まない 145 アミノ酸残基から構成される分子量 1 万 5 千 5 百の単純タンパク質で、リボソーム生合成に関与している。図 1 に示すように、架橋化は 122 番目のリジン残基と 137 番目のグルタミン残基の間で起きるが、2 分子間の架橋は 1 本だけであるため、2 量体のみならず多量体も形成され、共に走化活性を獲得する⁵⁾。

mRNA に対する翻訳機能と関係のないこの S19 リボソームタンパク質多量体の单球走化活性は「リボソームタンパク質のリボソーム外機能」という概念に含まれるものである。また、トランスグルタミ

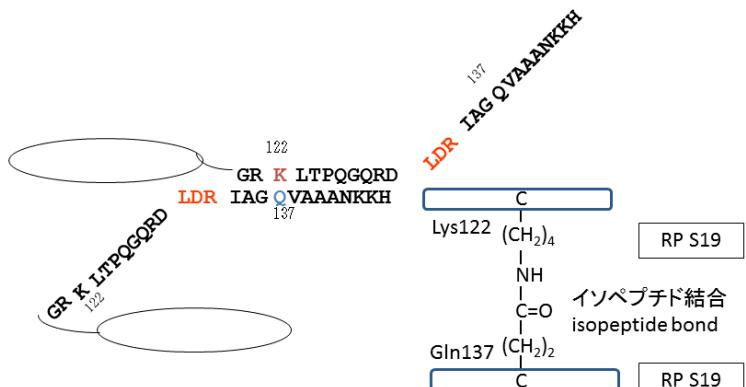


図 1. S19 リボソームタンパク質架橋化 2 量体の模式図

ナーゼは、Ca⁺⁺依存性で活性中心にシステイン残基を持つ酵素で、細胞内に普遍的に存在するものは 2 型トランスグルタミナーゼと呼ばれる。血漿中に存在する凝固 XIII 因子も前駆体型のトランスグルタミナーゼである。

S19 リボソームタンパク質多量体と C5a 間の受容体の共有

白血球は走化因子が細胞膜上の受容体に結合することで遊走を始める。我々は、上記の研究以来、C5a を、走化性を有する正の対照分子として実験に用いていた。ある実験で、思いもよらず、C5a 受容体ブロッカーが S19 リボソームタンパク質多量体の単球走化活性も阻害したことを契機に、S19 リボソームタンパク質多量体の受容体も C5a 受容体であることが明らかになった。驚いたことに、S19 リボソームタンパク質が多量体化すると、抗 C5a 抗体も交差反応するようになることも分かった⁶⁾ (図 2)。

C5a 受容体は 7 回膜貫通型の G タンパク質共役型受容体で、C5a は分子内の少なくとも二か所で C5a 受容体と結合することが報告されていたので、それを参考に、変異組換え体や合成ペプチドを用いて S19 リボソームタンパク質分子内の C5a 受容体に結合する二か所を同定した⁷⁾。S19 リボソームタンパ

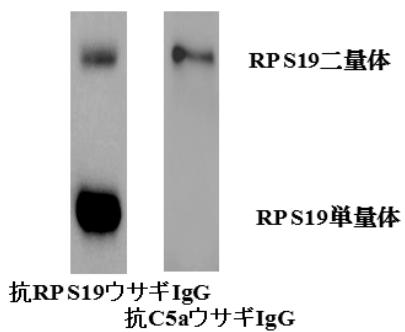


図 2. S19 リボソームタンパク質の 2 量体化によって出現する抗 C5a 抗体に対する交差反応性

ウェスタンプロット法による観察結果を示す。(文献 6 改変)

ク質多量体も C5a と同様に C5a 受容体に対して二段階で結合する (図 3)。二段目の結合が受容体を活性化するが、その際の C5a 分子内の結合部位はカルボキシ末端の-Leu72-Gly73-Arg74-COO-である。それに対応する S19 リボソームタンパク質の分子内部位は、カルボキシ末端ではなく、-Leu131-Asp132-Arg133- (図 2 内の LDR) で、Asp132 の β カルボキシル基が C5a の Arg74 (カルボキシ末端) の α カルボキシル基と同じ作用を担っていると考えられる (図 4)。

この事実を見出した当時は、C5a はタンパク質と

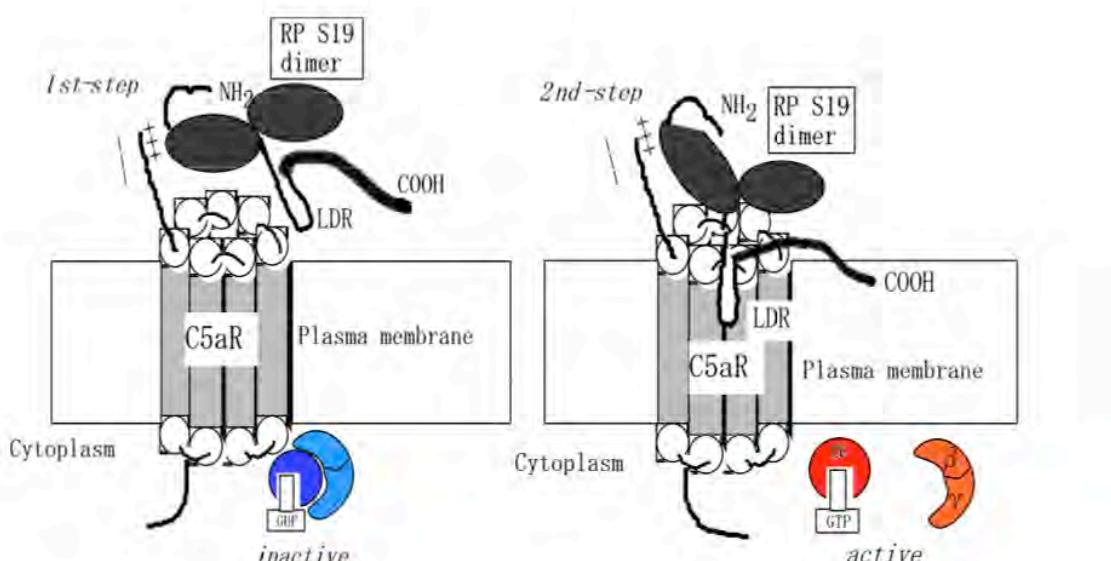


図 3. S19 リボソームタンパク質 2 量体による単球 C5a 受容体の活性化機構

しての立体構造が明らかになっていたが、S19 リボソームタンパク質は古細菌の分子しか分かっていなかった。そこで、古細菌の分子をもとにヒト S19 リボソームタンパク質の構造モデルを作つてみたところ、C5a 受容体に結合する二か所の間隔が C5a の場合に比べて過剰に長いことが分かった⁸⁾。このために S19 リボソームタンパク質の単量体は C5a 受容体に結合することができず、2 量体化して二か所の結合部分が異なるサブ分子から一つずつ供給されることで距離が狭まって受容体に結合できるようになると推察される。

S19 リボソームタンパク質多量体の多核球 C5a 受容体に対するアンタゴニスト作用とその作用を担う S19 リボソームタンパク質の分子内構造

ところで、C5a 受容体は単球と多核球に存在し、C5a は単球と多核球に強い走化活性を示す。それなのに、S19 リボソームタンパク質多量体は単球にだけ走化性を発揮する。実は、S19 リボソームタンパク質多量体は、単球の C5a 受容体にはアゴニストとして作用する一方で、多核球の C5a 受容体にはアンタゴニストとして作用するという二重性をもつっていた⁹⁾。このアンタゴニスト作用に切り替えるスイッチは、S19 リボソームタンパク質のカルボキシ末端部 12 アミノ酸残基が担つていた¹⁰⁾。この部分を C5a につないだ C5a/RPS19 キメラ分子 (Gly73 は Asp に変異) は、S19 リボソームタンパク質多量体と同じように、単球に選択的な走化性を発揮するようになった¹¹⁾ (図 5、図 6)。

正常ヒト血漿中に存在する S19 リボソームタンパク質と、血液凝固反応に伴うその多量体化

我々は以前に、血漿中には存在せず、血液あるいは血漿を凝固させた血清中に出現する単球選択的な走化因子があることに気づいていた。この因子は抗 C5a 抗体で吸収される一方で、C5a よりも分子量が数倍大きい奇異な分子であった¹²⁾。血液凝固に

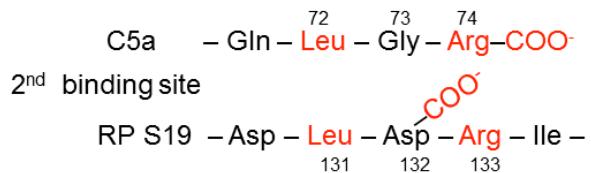


図 4. C5a 受容体を活性化する機能を持つ C5a と S19 リボソームタンパク質多量体の分子内構造

受容体活性化に必要なアミノ酸残基とカルボキシル基を赤で示している。

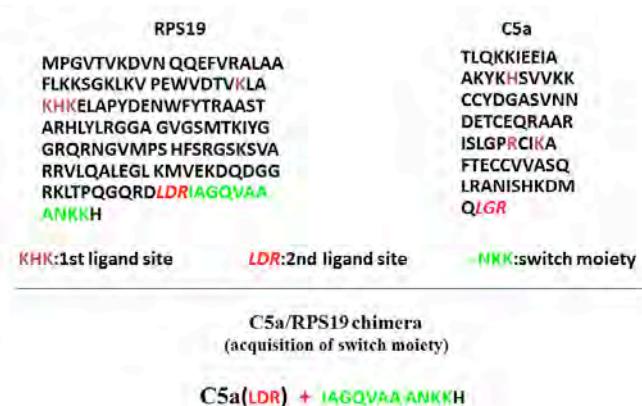


図 5. アンタゴニストスイッチを含む S19 リボソームタンパク質と C5a の機能部位のアミノ酸配列 (上段) と、C5a にアンタゴニストスイッチをつないだ C5a/RPS19 キメラ分子の構造 (下段)

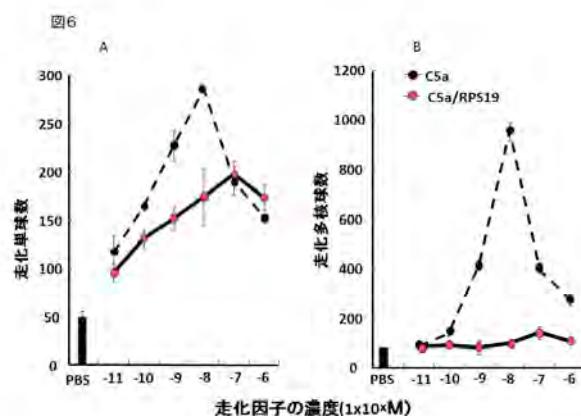


図 6. C5a/RPS19 キメラ分子の単球特異的走化活性
 A は単球に対する走化活性、B は多核球に対する走化活性を、濃度を対数変化させて測定したもので、実線が C5a/RPS19 キメラ分子、破線が C5a を示す。Y 軸は走化した白血球の数を示す。(文献 11 改変)

伴って出現するので、凝固に関与する酵素の阻害剤をいろいろ加えてみたところ、トランスグルタミナーゼのひとつである活性型 XIII 因子の阻害剤により生成が抑制された¹³⁾。これらの性格は S19 リボソームタンパク質多量体に酷似している。そこで、健常者血漿やワーファリン投与中の患者血漿などを用いて詳細に調べたところ、なんと、S19 リボソームタンパク質が、単量体として、正常の血漿中に、しかも凝固因子であるプロトロンビンと複合体を形成して存在していることがわかった。そして、血液凝固反応を経て形成された S19 リボソームタンパク質は、血清中では多量体化していた(図 7A)。S19 リボソームタンパク質は、プロトロンビンの γ カルボキシグルタミン酸ドメインと結合しており、この複合体形成による分子量の増加で腎臓糸球体での濾過を免れていると考えられる。ワーファリン投与患者においては、プロトロンビンが γ カルボキシグルタミン酸化されていないため、S19 リボソームタンパク質の血漿濃度が激減しているわけである¹⁴⁾(図 7B)。

血液凝固の過程でプロトロンビンは活性化した血小板の表面でセリンプロテアーゼ型凝固因子の活性

化カスケード反応を受けてトロンビンに活性化される。トロンビンはフィブリノーゲンをフィブリンに変換すると共に XIII 因子を活性化する。活性型 XIII 因子はフィブリンを架橋化して強固なゲルを形成すると共に、血小板表面で S19 リボソームタンパク質を架橋多量体化する¹⁵⁾。こうして生成された S19 リボソームタンパク質多量体は単球/マクロファージを凝血塊に向けて走化させて凝血塊を貪食処理させる(図 8)。つまり、血液凝固機構には、後に凝血塊を処理させるための分子機序が埋め込まれていると考えられる。

この考えを実験的に検証するために、モルモットから採血した血液を二分し、片方には抗 S19 リボソームタンパク質 IgG を、他方には蛍光標識した対照 IgG を、それぞれ混入させた後に凝固させ、同重量のこれら二つの凝血塊をセットでモルモットの腹腔に挿入した。そして 3 日後に凝血塊を取り出して重量を比較することで凝血塊吸収の程度を比較した。図 9 に示すように、抗 S19 リボソームタンパク質 IgG が混在する方の凝血塊吸収は常に遅延していた。光学顕微鏡や電子顕微鏡で観察すると、対照 IgG 凝血塊に見られるマクロファージによる表層の被覆と

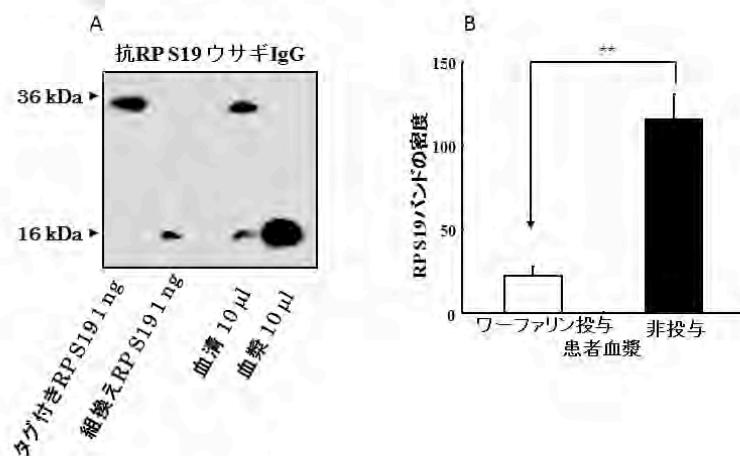


図 7. 正常ヒト血漿および血清中の S19 リボソームタンパク質 (A) と、ワーファリン投与患者血漿における S19 リボソームタンパク質濃度の減少 (B)

A はウエスタンプロット法による観察結果を示す。タグ付き RP S19 は、S19 リボソームタンパク質と同程度の分子量を持つタグ分子を付けた組換え S19 リボソームタンパク質である。組換え RP S19 は、野生型の組換え S19 リボソームタンパク質で、対照として用いた。B は、ウエスタンプロット法による観察されたバンドの強さをデンシトメータで数値化した結果である。類似の循環器病患者で、ワーファリン投与中の患者 (6 名) 血漿と非投与患者 (6 名) 血漿との比較である。(文献 14 改変)

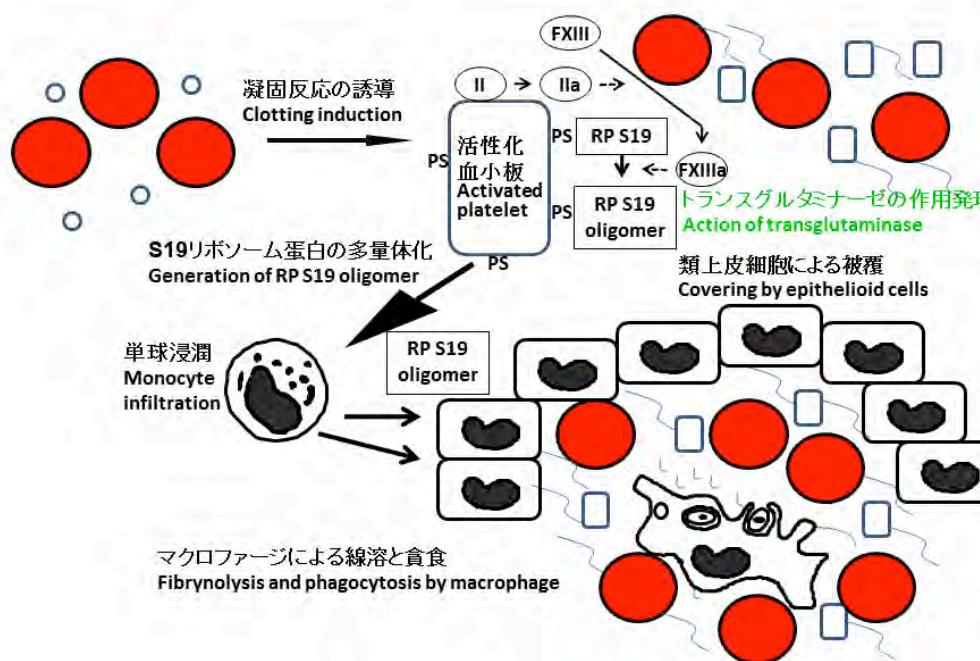


図 8. 血液凝固過程における S19 リボソームタンパク質の多量体化と、その単球走化作用による凝血塊の吸収機構

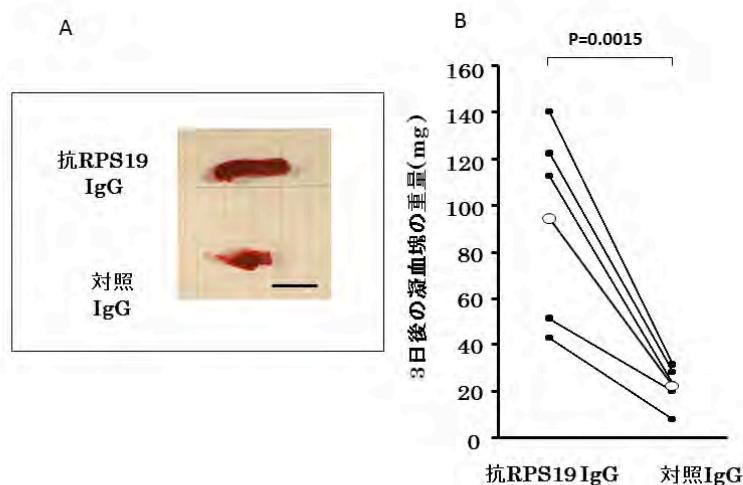


図 9. 抗 S19 リボソームタンパク質抗体による凝血塊吸収の抑制

モルモット腹腔内挿入後 3 日目に回収された、抗 S19 リボソームタンパク質 IgG を混じた凝血塊と蛍光標識対照 IgG を混じた凝血塊の肉眼写真 (A) と、5 例の重量測定の結果と平均重量 (白丸) (B) を示す。凝血塊中の S19 リボソームタンパク質多量体の機能を抑制すると、凝血塊の吸収が遅延する。(文献 16 改変)

内部での赤血球の貪食が、抗 S19 リボソームタンパク質 IgG 凝血塊では著しく抑制されていた¹⁶⁾。後述する Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウス由来の凝血塊と野生型マウス

由来の凝血塊をマウス腹腔に挿入した同様の実験においても、凝血塊中の S19 リボソームタンパク質多量体の機能が抑制されると、マクロファージの細胞性線溶機構による凝血塊の吸収が遅延するという結

果が再現できた¹⁷⁾。

アポトーシス過程におけるS19リボソームタンパク質の多量体化とその細胞外への遊離

血液凝固に伴ってS19リボソームタンパク質多量体が生成されることを上述したが、関節リウマチ肉芽巣の中に凝血塊があるわけではない。我々は、細胞内でもS19リボソームタンパク質多量体が生成される機構があると考えた。当時、アポトーシスという細胞の死に方が注目を浴びており、その過程で細胞内の2型トランスグルタミナーゼの活性が上昇することが報告されていた。

我々は、数種類の株化培養細胞と数種類の異なるアポトーシス刺激の組み合わせの全例において、S19リボソームタンパク質がアポトーシスの過程で細胞内で多量体化され、細胞外に放出されることを明らかにすることが出来た^{18,19)}。図10に、AsPC-1細胞を43°Cで50分間熱処理することでアポトーシスを誘導した実験例を示す。アポトーシスの進展に伴って細胞内トランスグルタミナーゼの活性が上昇

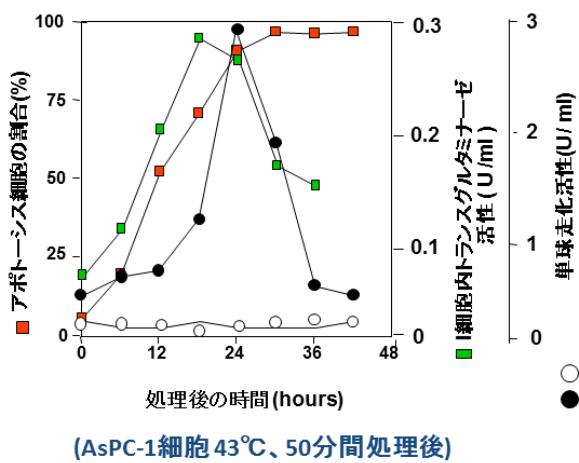


図10. アポトーシス過程における細胞内トランスグルタミナーゼ活性の上昇とS19リボソームタンパク質多量体の細胞外遊離

S19リボソームタンパク質多量体の細胞外遊離は、培養液の単球走化活性を形態学的極性化測定法を用いて観察した。(文献19改変)

し、24時間目を極期とするS19リボソームタンパク質多量体の細胞外遊離が、培養上清中の単球に対する走化活性として観察された。

更にこの研究中に、アポトーシス過程の細胞から放出されたS19リボソームタンパク質多量体が、オートクリン的にその細胞のアポトーシスを促進していることを偶然見つけた。なんと、アポトーシス刺激を受けた細胞はC5a受容体遺伝子を発現させて細胞表面にC5a受容体を持つように変化していたのである²⁰⁾。

これらの事実は、アポトーシス刺激を受けた細胞は、S19リボソームタンパク質多量体の放出を介して、自らのアポトーシスが実行されるタイミングと、アポトーシス細胞を貪食処理する単球/マクロファージが動員されてくるタイミングとを同期させていることを示している。

S19リボソームタンパク質多量体による自然免疫反応と応答免疫反応の連結

実際に、アポトーシス刺激をした細胞を実験動物の皮内に接種すると、速やかに単球/マクロファージが浸潤して接種細胞は貪食処理されてしまった。そこで、このアポトーシス細胞を貪食したマクロファージを追跡してみると、リンパ管を通じて局所のリンパ節に移行していた。マクロファージはTリンパ球に対する抗原提示能をもっている。事実この動物は、数日後には、アポトーシスに用いた細胞に対する抗体を産生していた²¹⁾。

ウイルスに感染した細胞は自らアポトーシスに陥ることが知られている。アポトーシスに陥った感染細胞から遊離されるS19リボソームタンパク質多量体は、そのような感染細胞をマクロファージに貪食処理させる自然免疫反応と、感染細胞由来の抗原に対して起こる応答免疫反応とを連結させて、効果的な生体防御反応に仕立て上げていると理解することができる²²⁾ (図11)。同様の機構が、癌免疫においても重要な役割を果たしていることを、マウスを用

いた実験で明らかにした^{23,24)}。

S19 リボソームタンパク質多量体による多核球のアポトーシス促進とマクロファージの動員を介した急性炎症反応の収束

ところで、多核球は生体から分離すると自動的にアポトーシスに陥る。急性炎症の終焉においても、浸潤した多核球はその現場でアポトーシスに陥り、その後に浸潤したマクロファージに貪食処理される。我々は、この局面においても S19 リボソームタンパク質多量体が重要な役割を担っていると考えた。

予想通り、正常ヒト末梢血から分離した多核球に S19 リボソームタンパク質多量体に対する中和抗体を共存させておくとアポトーシスの進行が遅れた。白血病由来の株化細胞である HL-60 に Gln137Asn-S19 リボソームタンパク質遺伝子を導入すると S19 リボソームタンパク質の多量体形成が障害されるが、この変異 HL-60 から分化させた多核球の場合にも、アポトーシスの進行が明らかに遅延した²⁵⁾。この Gln137Asn-S19 リボソームタンパク質遺伝子 HL-60 由来多核球と野生型 HL-60 由来多核球とをマウスの皮内に接種して経過を比較した。野生型多核球の接種局所には単球/マクロファージが浸潤して、接種多核球は速やかに除去されたが、遺伝子変異多核球では、マクロファージの浸潤が明らかに弱く、72 時間後においても接種多核球は集塊のまま残存した(図 12)。

カラゲニンという海藻の多糖類をマウスの胸腔に注入すると、3 時間目ごろから多核球が浸潤を始め、24 時間ほどで浸潤白血球が消失して治癒するという簡便な急性胸膜炎が起こる。カラゲニンとともに S19 リボソームタンパク質多量体に対する中和抗体を胸腔内に注入したところ、24 時間後にも大量の多

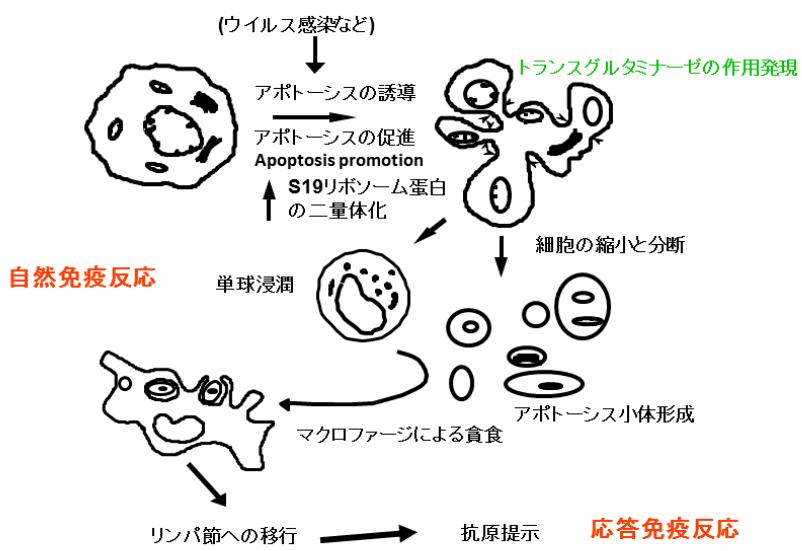


図 11. S19 リボソームタンパク質多量体による自然免疫反応と応答免疫反応の連結

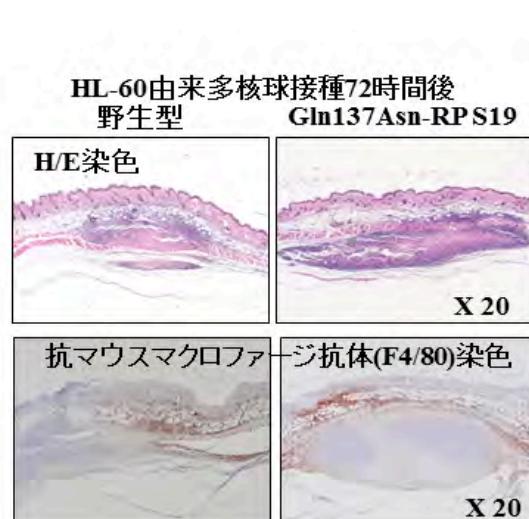


図 12. Gln137Asn-S19 リボソームタンパク質遺伝子改変 (Gln137Asn-RP S19) HL-60 細胞由来多核球の貪食除去の遅延

野生型 HL-60 由来多核球と遺伝子改変 HL-60 由来多核球 (Gln137Asn-RPS19) をマウス皮内に接種後 72 時間目の組織像を示す。上段はヘマトキシリン・エオジン染色を、下段は抗マウスマクロファージ抗体 (F4/80 単クローン抗体) で浸潤マクロファージを褐色に染色する免疫組織化学法を用いている。(文献 25 改変)

核球が胸水中に残存すると共に、肺実質にまで炎症が拡大した²⁵⁾。

上述のごとく、S19 リボソームタンパク質多量体の架橋化は 122 番目のリジン残基と 137 番目のグルタミン残基の間で起こる⁵⁾。そこで、マウスの S19 リボソームタンパク質遺伝子を、137 番目のグルタミンをグルタミン酸に変異させた S19 リボソームタンパク質人工遺伝子に置き換えたノック・イン・マウスを作成した。このマウスでは、リボソームの機能は正常で、S19 リボソームタンパク質のリボソーム外機能だけが選択的に失われていると考えられる（図 13）。このマウスの胸腔にカラゲニンだけを注入したところ、24 時間後にも胸水中に多核球が残存し、肺実質にまで炎症が拡大していた（図 14）。このマウスにおいて、S19 リボソームタンパク質多量体と同じ機能を持つ上記の C5a/RPS19 をカラゲニンとともに胸腔内に注入したところ、24 時間目の胸膜炎も肺実質の炎症も抑制された²⁵⁾。

したがって、S19 リボソームタンパク質多量体は、急性炎症を終焉させ、残存多核球による過剰な組織破壊を防止する役割も持つと考えることができる（図 15）。多核球は急性炎症を主宰する白血球と位置付けられている。多核球の C5a 受容体が C5a の作用を受けた場合には、多核球は、浸潤したり、血管透過性を亢進させたりして、急性炎症を促進する。一方、同じ多核球の C5a 受容体が、S19 リボソームタンパク質多量体の作用を受けた場合には、多核球はアポトーシスに陥って、急性炎症は終焉することになる。

赤芽球成熟における S19 リボソームタンパク質多量体と C5a 受容体の役割

話題が大きく変わるが、赤血球が出来るには赤芽球が脱核しなければならない。この過程でアポトーシスの機構が一部流用されているという説がある。しかも、前赤芽球から赤芽球そして脱核して網状赤

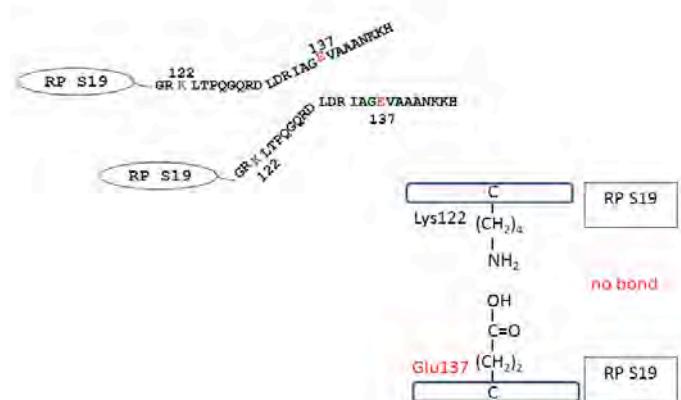


図 13. ノック・イン・マウスにおいてリボソーム外機能を選択的に消失した Gln137Glu- S19 リボソームタンパク質の模式図

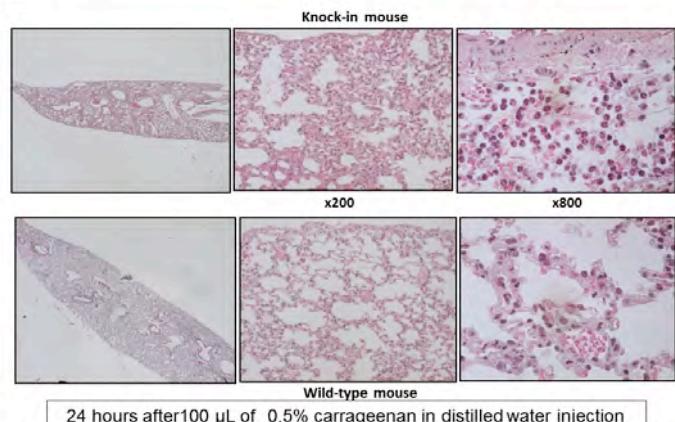


図 14. Gln137Glu- S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウスにおけるカラゲニン胸膜炎の増悪

0.5%カラゲニンを胸腔内に注射後 24 時間目の肺の組織像（ヘマトキシリン・エオジン染色）を示す。上はノック・イン・マウスで、下は野生型マウスの例である。

血球になる成熟過程は、骨髄のマクロファージの表面に接触した状態、すなわち赤芽球造血島で進行し、放出された核（pyrenocyte）はその育成役マクロファージ（nursing macrophage）が貪食処理する。我々はこの過程が、アポトーシス細胞がマクロファージに貪食される上記の過程とよく似ていると考えた。

そこで、臍帯血から分離した赤芽球や、K562 という赤白血病由来の株化細胞を hemin 存在下で分

化させた赤芽球を使って調べてみると、赤芽球はトランスグルタミナーゼを持っていて、S19 リボソームタンパク質多量体を生成して放出することがわかった。しかも、赤芽球は C5a 受容体も產生していた²⁶⁾ (図 16)。そこで、K562 由来の赤芽球と HL-60 から分化させたマクロファージと一緒に培養すると、造血島の形成が観察され、しかも、S19 リボソームタンパク質多量体を中和する抗体や C5a 受容体ブロッカーでその造血島形成は阻害された²⁷⁾。また、ヒト、ブタ、モルモッ

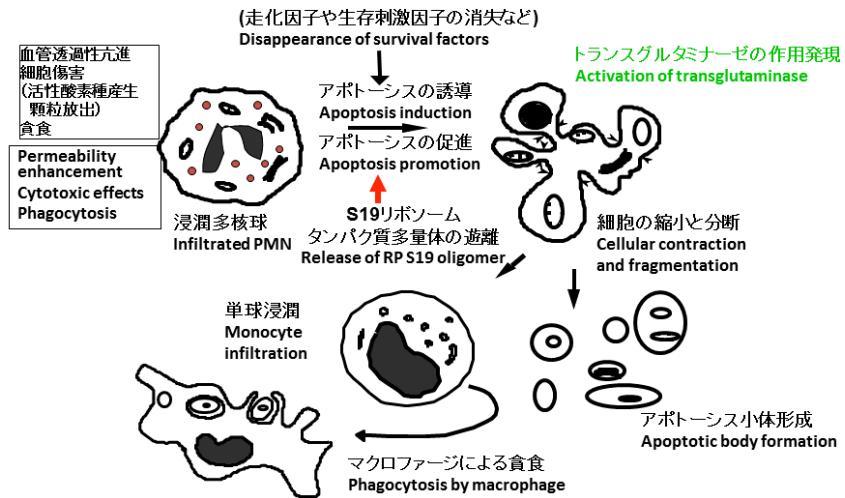


図 15. S19 リボソームタンパク質多量体による多核球アポトーシス促進とマクロファージ動員を介した急性炎症反応の収束機構

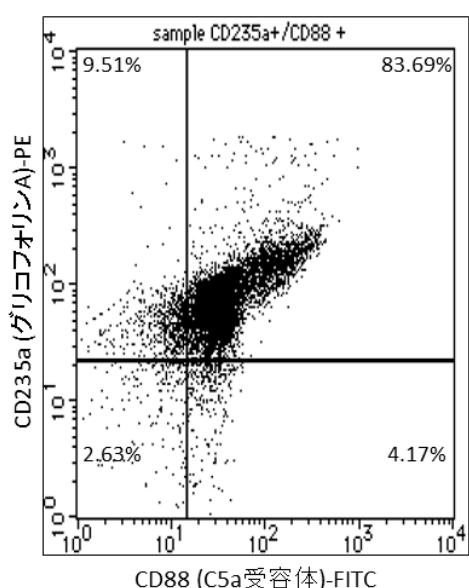


図 16. ヒト臍帯血赤芽球膜における C5a 受容体の存在

臍帯血から分離した赤芽球を用いておこなった細胞表層のグリコフォリン A と C5a 受容体 (CD88) についての FACS 解析結果を示す。赤芽球のマーカーであるグリコフォリン A を持つ細胞の 90% が、C5a 受容体を有していた。(文献 26 改変)

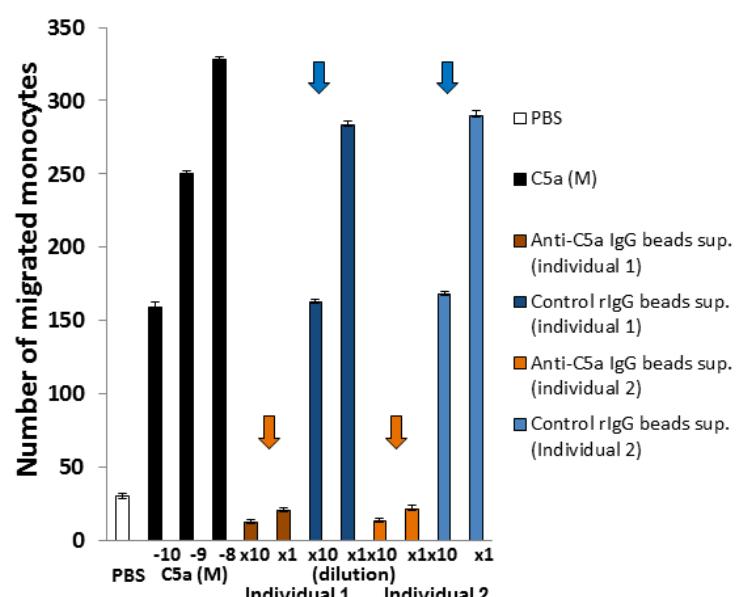


図 17. 正常ヒト骨髄液における S19 リボソームタンパク質多量体の存在

骨髄液の単球特異的な走化因子の存在とその抗 C5a 抗体 (抗 S19 リボソームタンパク質多量体抗体として使用) による抑制結果を、2 例の正常ヒトについて示す。走化因子の対照としては C5a を用いた。

トの骨髄組織液中にはS19リボソームタンパク質多量体が存在していた(図17)。そして、モルモットを瀉血して造血亢進状態に導くと、骨髄のS19リボソームタンパク質多量体の濃度は8倍ほどに上昇した。そこで、瀉血状態のモルモットにS19リボソームタンパク質多量体を中和する抗体やC5a受容体ブロッカーを投与したところ、通常は4日目には回復してしまう貧血状態が依然として持続していた²⁶⁾(図18)。

これらの結果は、赤芽球の成熟過程では、S19リボソームタンパク質多量体とC5a受容体を軸としたアポトーシス細胞の貪食処理に類似した分子機構が機能していることを示している(図19)。K562細胞内の遺伝子発現を人為的に変化させた実験の結果から、この分子機構の中では、S19リボソームタンパク質多量体-C5a受容体系によるGタンパク質シグナル調節因子3(regulator of G protein signaling 3)の遺伝子発現がとくに重要であること

も明らかになった。

骨髄の赤芽球造血島では、育成役マクロファージから多数の細胞突起が伸びて多くの赤芽球と接触していることが電子顕微鏡により観察されている。S19リボソームタンパク質多量体のC5a受容体への結合が、自由細胞型マクロファージの場合には遊走を引き起こすように、局在した育成役マクロファージの場合には細胞突起の走化的な伸長を引き起こすと推察している。

海馬形成と機能維持におけるS19リボソームタンパク質多量体-C5a受容体系の役割

数年前に、脳海馬の第3アンモン角の神経細胞と歯状回顆粒状神経細胞の軸索突起が作るシナプスにC5a受容体が存在しているという報告が出た。歯状回顆粒状神経細胞は、成体になっても再生して入れ替わっていて、空間認識に関する記憶に関与していることが知られている。我々は、ここでもS19リボ

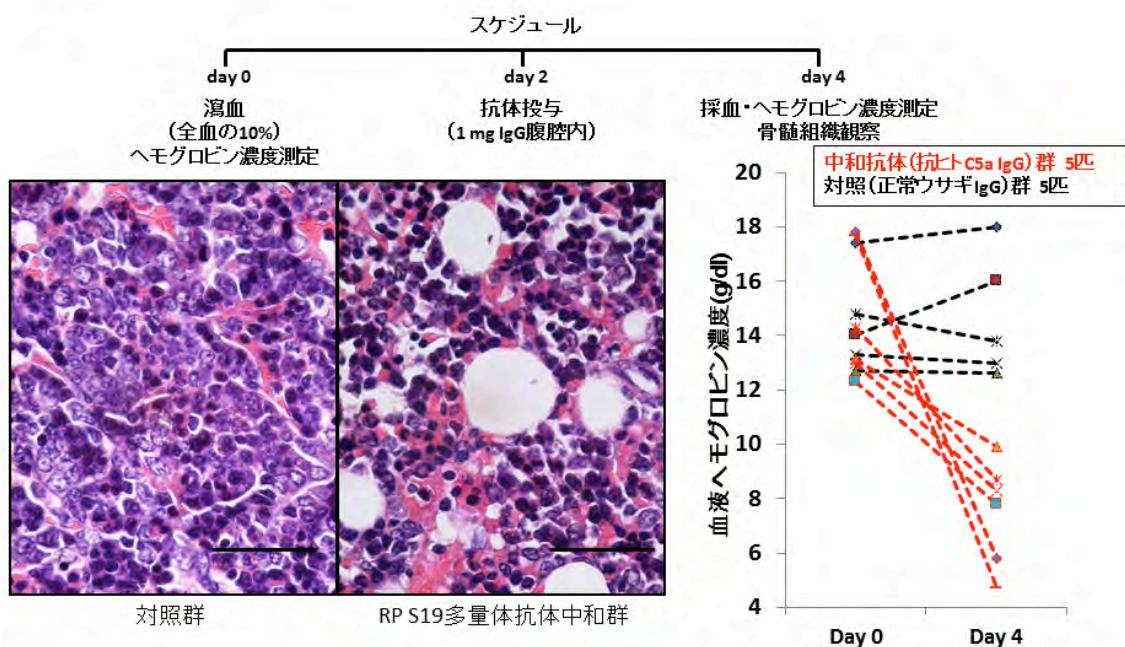


図18. モルモットを瀉血して惹起した骨髄の造血反応と、その反応による末梢血貧血の改善の、抗S19リボソームタンパク質多量体抗体投与による抑制

上段のスケジュールのように、瀉血後、腹腔内にS19リボソームタンパク質多量体中和抗体(抗C5a抗体を使用)あるいは対照の正常ウサギIgGを投与して、両群間の骨髄組織を末梢血のヘモグロビン濃度を比較した。骨髄中のS19リボソームタンパク質多量体の機能が止まると、造血が抑制され、貧血が持続する。(文献26改変)

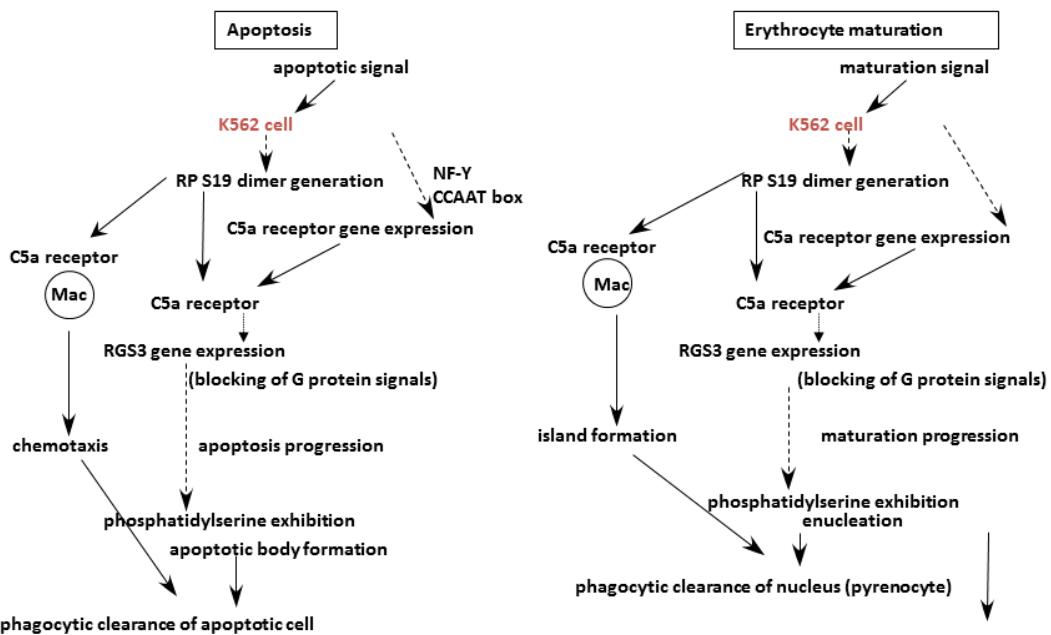


図 19. K562 細胞培養系におけるアポトーシスと赤血球成熟間の分子機構の類似性

K562 細胞を 0.5 mM MnCl_2 刺激によってアポトーシスに誘導した場合と、 $30 \mu\text{M hemin}$ 刺激によって赤芽球へ分化させた場合に観察されたそれぞれの分子機構を、比較的に示している。C5a 受容体遺伝子の発現は、nuclear factor Y (NF-Y) が仲介していると考えられる。C5a 受容体に S19 リボソームタンパク質多量体が結合した際に、regulator of G protein signaling 3 (RGS 3) 遺伝子が発現して G タンパク質を介した細胞内シグナル伝達を抑制することで、アポトーシス進行と赤血球成熟の進行を共に促進していると考えられる。

ソームタンパク質多量体-C5a 受容体系が機能しているのではないかと考えた。

そこで、モルモットの海馬と大脳皮質の抽出液を作って单球特異的な走化活性を調べてみたところ、活性は海馬の方だけに存在していた。更に、海馬抽出液の单球走化活性を、上記の S19 リボソームタンパク質多量体を生成できない Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウスと野生型マウスの間で比較したところ、前者は後者の 3 分の 1 (濃度/活性曲線を用いた比較) に減少していた (図 20) (機序は不明であるが、Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質は、野生型 S19 リボソームタンパク質と異なり、单量体で、S19 リボソームタンパク質多量体の 3 分の 1 程度の走化活性を有するので、この活性は单量体の Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質によるものと考えている)。これらの実験から、海馬選択的な S19 リボソームタンパク質多

量体の存在が明らかになった。この実験の過程で、Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウスの海馬が小さいことに気付いた。そこで海馬の重量を比較したところ、ノック・イン・マウスでは野性型マウスの 70% の重さしかなく、海馬の低形成 (あるいは萎縮) が認められた (図 21)。

ヒトにおける海馬機能低下の症状として、短期記憶の障害や精神的ストレスに対する耐性低下が知られている。そこで、行動学的な手法を使ってマウスを調べたところ、ノック・イン・マウスには空間記憶障害があり、しかも簡単に不安感情に陥る性格を持っていることが明らかになった²⁸⁾ (図 22)。

このようなことから、海馬における成人性神経細胞新生においても、S19 リボソームタンパク質多量体が重要な役割を果たしているものと考えられる。海馬の歯状回顆粒状神経細胞の成人性神経細胞新生において、その軸索である苔状線維が、海馬第 3 ア

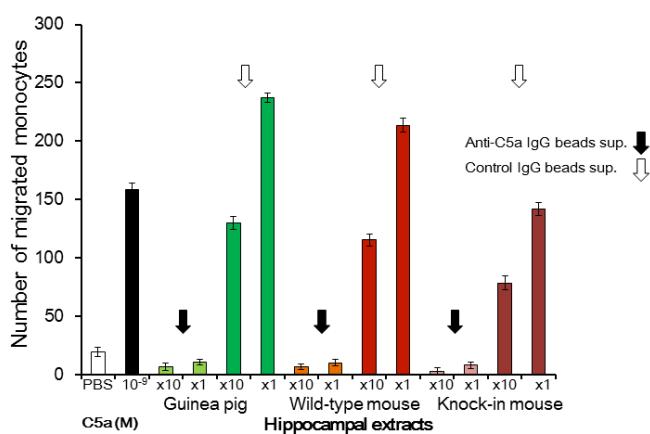
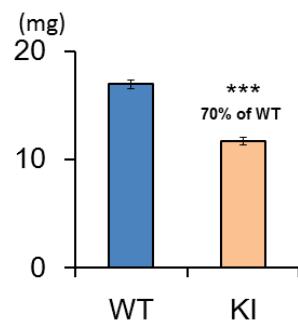


図 20. 海馬における S19 リボソームタンパク質多量体の存在

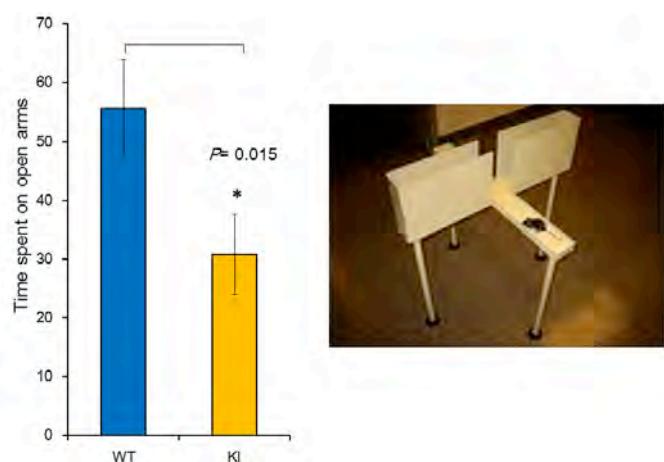
モルモット (Guinea pig)、野生型マウス (Wild-type mouse)及び Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウス (Knock-in mouse)から海馬を分離して抽出液を調製し、抗 C5a 抗体ビーズ (Anti-C5a IgG beads) あるいは対照 IgG ビーズ (Control IgG beads)による吸収をおこなった後、上清試料中に含まれる単球走化活性を、濃度を変えて ($x1$, $x10$) 測定した。走化因子の対照としては C5a を用いた。



Wild type: 11 mice (22 hippocampi) 16.9 ± 1.8 mg
Knock-in: 10 mice (20 hippocampi) 11.7 ± 1.6 mg

21. Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウスにおける海馬の低形成 (あるいは萎縮)

野生型マウス (Wild-type, WT) 11 匹と Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウス (Knock-in, KI) 10 匹の海馬の重量を比較した結果を示す。



22. Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウスに見られる過剰恐怖心反応

高い位置に配置された十字型迷路に置かれたマウス (右写真) が、壁のない迷路の方で過ごす時間の長さを、野生型マウス (WT) と Gln137Glu-S19 リボソームタンパク質遺伝子ノック・イン・マウス (KI)との間で比較した。恐怖心が好奇心を凌駕すると、壁のない迷路の方で過ごす時間が減少すると考えられる。

ンモン角領域 (CA3)の錐体細胞に向かって伸びていき、錐体細胞の樹状突起とシナプスを形成する。この方向性を持った軸索の伸展に、S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系が、ガイダンス系として関与すると推察している。

S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系の、多核球と単球における細胞内シグナル伝達系の相違

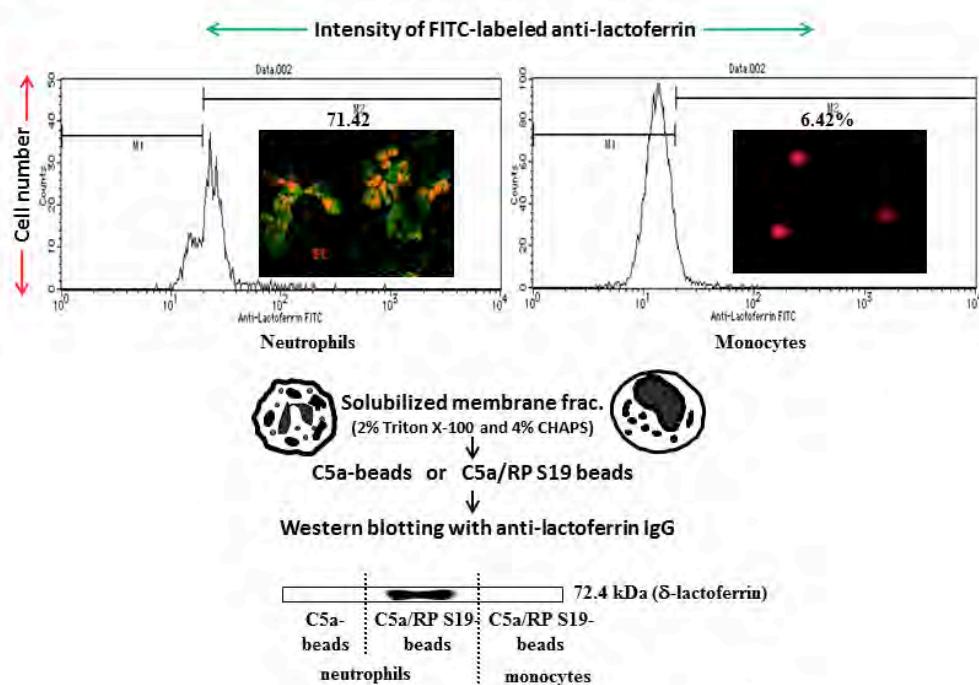
こうなると、単球/マクロファージと、多核球やアポトーシス刺激細胞あるいは赤芽球の間で S19 リボソームタンパク質多量体の機能が異なっている分子メカニズムを明らかにする必要にせまられる。我々は、上述のごとく、S19 リボソームタンパク質のカルボキシ末端部位の 12 アミノ酸残基がアンタゴニストへ

の切り替え機能を持っていたことから、このカルボキシ末端部位と結合する細胞内分子が、多核球やアポトーシス刺激細胞に存在しているために、走化性シグナルの発生が抑制される一方で、アポトーシスが促進するのではないかと考えた。

そこで、多核球を、C5a を作用させたものと C5a/RPS19 を作用させた 2 群に分けて、これらの走化因子と C5a 受容体との複合体と一緒に分離されてくる細胞内の分子を比較した。C5a/RPS19 の場合のみ δ ラクトフェリンという分子が分離された。δ ラクトフェリンは、ラクトフェリンと異なって、細胞内に局在して転写因子として機能する分子である。δ ラクトフェリンは多核球では產生されていたが、単球中には存在しなかった（図 23）。さらに δ ラクトフェリンは δ アネキシン A3 という分子と会合した。δ アネキシン A3 も、多核球では產生されていたが単球中には存在しなかった。HL-60 という未熟な白血球系の株化細胞は、培養条件を変えると多核球

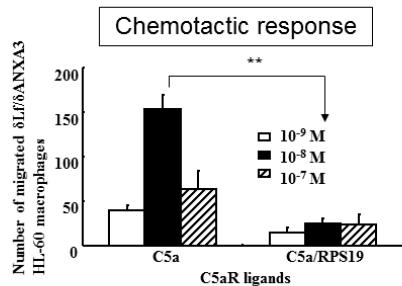
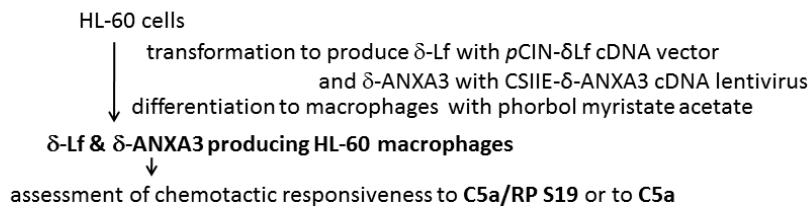
様にも単球様にも分化させることができる。RNA 干渉法を用いて δ ラクトフェリンを作れない多核球様細胞を調製したところ、単球と同じように、C5a に対しても C5a/RPS19 に対しても走化性を示すようになっていた。逆に、強制発現ベクターを用いて、δ ラクトフェリンと δ アネキシン A3 の両方を產生する単球様細胞を調製したところ、多核球と同じように、C5a に対しては走化できるが、C5a/RPS19 に対しては走化できないようになっていた（図 24）。

上述のごとく、δ ラクトフェリンは核に移行して転写因子として機能することが知られている。δ ラクトフェリンが発現させる遺伝子を調べたところ、その多くがアポトーシス促進機能を持つもので、G タンパク質シグナル調節因子 3 も含まれていた。つまり、δ ラクトフェリンと δ アネキシン A3 を持つ多核球の場合は、C5a 受容体と結合した S19 リボソームタンパク質多量体あるいは C5a/RPS19 の C 末端部位が δ ラクトフェリンと δ アネキシン A3 の会合



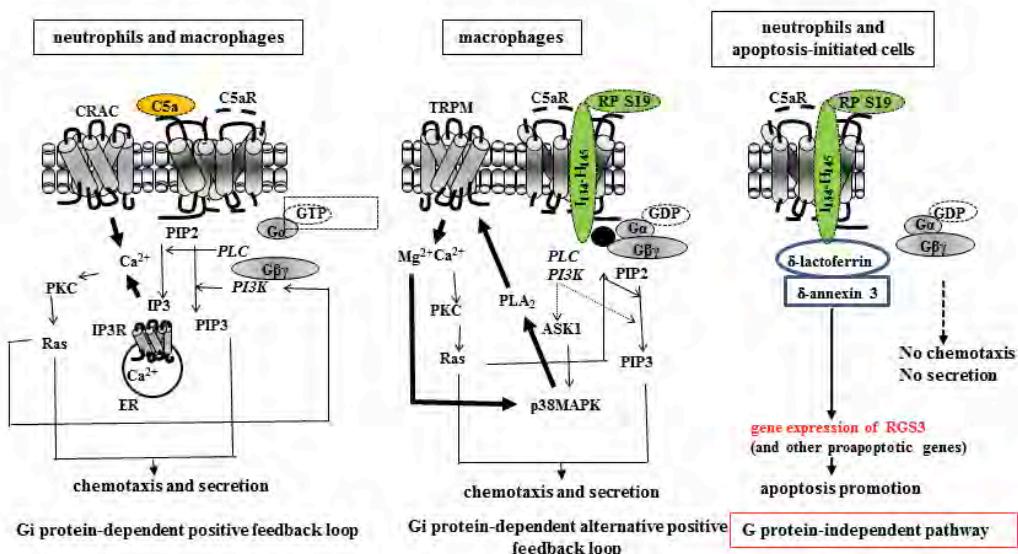
23. 多核球選択性な δ ラクトフェリンの存在

上段は、蛍光標識した抗ラクトフェリン抗体を用いた FACS 解析と免疫細胞化学の結果を、多核球 (Neutrophils)と単球 (Monocytes)を比較して示す。下段は、多核球と単球の抽出液について、抗ラクトフェリン抗体を用いたウエスタンプロット法による比較解析した結果を示す。



24. δ ラクトフェリンおよび δ アネキシン A3 産生性への形質変換がもたらす HL-60 マクロファージの C5a/RP S19 に対する走化反応の欠如

HL-60 細胞に、δ ラクトフェリン cDNA ベクター(pCIN-δLf cDNA vector)と δ アネキシン A3 cDNA ウイルス(CSIIIE-δ-ANXA3 cDNA lentivirus)を挿入してこれら 2 種類のタンパク質を強制発現させた後、phorbol myristate acetate 存在下でマクロファージに分化させ、C5a と C5a/RPS19 に対する走化性を測定した。これら 2 種類のタンパク質が存在すると、マクロファージ系の細胞でも、C5a/RPS19 に対する走化が選択的に抑制される。



25. S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系の細胞細内シグナル伝達経路に関する多核球と単球における相違

左図は、多核球と単球共有の C5a-C5a 受容体経路を示す。中央と右図は、我々が明らかにしてきた S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系の細胞細内シグナル伝達経路を、多核球と単球それぞれについて示す。

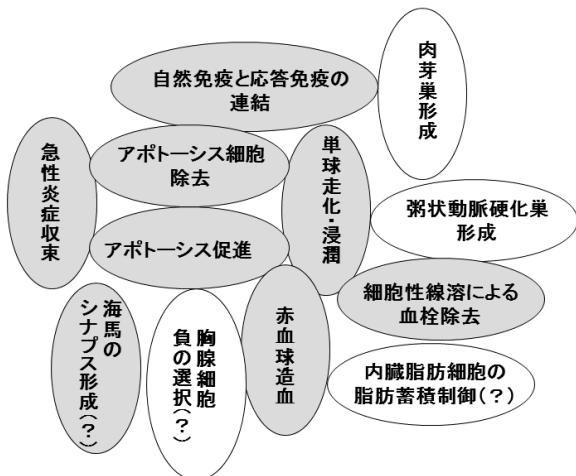
体に結合してしまうことで、C5a 受容体からの走化シグナルの発生が妨げられる一方で、その δ ラクトフェリンが核に移行して G タンパク質シグナル調節因子 3 などの遺伝子を発現させることで、アポトーシスを促進すると考えられる。一方、 δ ラクトフェリンも δ アネキシン A3 も持たない単球の場合は、S19 リボソームタンパク質多量体が結合した C5a 受容体から走化性シグナルが発せられて遊走することになるわけである。

S19 リボソームタンパク質多量体が C5a 受容体に結合した際の細胞質内シグナル伝達経路に関して、これまでに我々が明らかにした範囲内の、多核球と単球における違いを図 25 に示す。図の右側に示しているように、S19 リボソームタンパク質多量体の C5a 受容体への結合は、G タンパク質共役性の機構に関してはアンタゴニストとして作用する一方で、 δ ラクトフェリンという転写因子を介する経路に関してはアゴニストとして作用する機構が存在すると考えられる。 δ ラクトフェリンは、Ser10 残基の、N-acetyl glucosamine (GlcNAc) 修飾とリン酸化修飾との切り替えにより転写因子としての機能が調節されているという考えがある。我々の予備実験の結果でも、S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体による δ ラクトフェリンを介したアポトーシス促進作用は、脱 GlcNAc 酵素 (O-GlcNAcase) の阻害剤で抑制された。多核球や赤芽球の C5a 受容体の近傍には脱 GlcNAc 酵素が存在していて、C5a 受容体に S19 リボソームタンパク質多量体が結合した際に活性化されて δ ラクトフェリン Ser10 残基の脱 GlcNAc 化を引き起こすと推察している。

[まとめ]

S19 リボソームタンパク質は、リボソームの構成成分であるのみならず、血漿タンパク質としても存在する。単球/マクロファージ選択的白血球浸潤、血液凝固、アポトーシス、急性炎症終焉、赤芽球成熟あるいは海馬における成人神経新生などの過程にお

いて、トランスグルタミナーゼの作用を受けて多量体化され、図 26 に示すような多彩なリボソーム外機能を発揮する。このリボソーム外機能は、全て、細胞膜の C5a 受容体への結合を介して発揮される。C5a 受容体からのシグナル伝達は、G タンパク質シグナル系以外に、転写因子を介した系も関与していると考えられる。



26. S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系の多彩なリボソーム外機能

図に示す機能のうち、この総説では網掛けのものを取り上げた。また、(?)が付いた機能に関しては、まだ証拠が不十分である。

[謝辞]

この総説で取り上げた内容は、著者が在職中に、熊本大学大学院生命科学研究部分子病理学分野において、同分野のスタッフや大学院生をはじめ、学内外の多数の共同研究者の参加を得て、行った研究である。全ての共同研究者に深い感謝の意を表する。

[利益相反]

「S19 リボソームタンパク質多量体-C5a 受容体系の多彩な役割」に関する研究の一部は、国立大学法人熊本大学と中外製薬株式会社間の共同研究「貧血への単球の関与に関する基礎的検討」の中で実施した。

[参考文献]

- 1) Matsubara S, et al. Complement C4 derived monocyte-directed chemotaxis inhibitory factor: A molecular mechanism to cause polymorphonuclear leukocyte predominant infiltration in rheumatoid arthritis synovial cavities. *Am J Pathol.* 138:1279-1291 (1991)
- 2) Tsuruta T, et al. Novel function of C4a anaphylatoxin: Release from monocytes of protein which inhibits monocyte chemotaxis. *Am J Pathol.* 142:1848-1857 (1993)
- 3) Xie P, et al. Inhibitory effects of C4a on chemoattractant and secretagogue functions of the other anaphylatoxins via Gi protein-adenylyl cyclase inhibition pathway in mast cells. *Int Immunopharmacol.* 12:158-168 (2012)
- 4) Nishiura H, et al. Monocyte chemotactic factor in rheumatoid arthritis synovial tissue. Probably a cross-linked derivative of S19 ribosomal protein. *J Biol Chem.* 271:878-882 (1996)
- 5) Nishiura H, et al. Determination of the cross-linked residues in homo-dimerization of S19 ribosomal protein concomitant with exhibition of monocyte chemotactic activity. *Lab Invest.* 79: 915-923 (1999)
- 6) Nishiura H, et al. S19 ribosomal protein cross-linked dimer causes monocyte predominant infiltration by means of molecular mimicry to complement C5a. *Lab Invest.* 78:1615-1623 (1998)
- 7) Shibuya Y, et al. Identification of receptor binding sites of monocyte chemotactic S19 ribosomal protein dimer. *Am J Pathol.* 159:2293-2301 (2001)
- 8) Nishiura H, et al. Base of molecular mimicry between human ribosomal protein S19 dimer and human C5a anaphylatoxin. *Int Immunopharmacol.* 10:1541-1547 (2010)
- 9) Revollo I, et al. Agonist and antagonist dual effect of the cross-linked ribosomal protein dimer in the C5a receptor-mediated respiratory burst reaction of phagocytic leukocytes. *Inflamm Res.* 54:82-90 (2005)
- 10) Shrestha A, et al. Switch moiety in agonist/antagonist dual effect of S19 ribosomal protein dimer on leukocyte chemotactic C5a receptor. *Am J Pathol.* 162:1381-1388 (2003)
- 11) Oda Y, et al. Agonist and antagonist dual effect of C5a-chimera bearing S19 ribosomal protein tail portion on C5a receptor of leukocytes. *J Biochem.* 144:371-381 (2008)
- 12) Kukita I, et al. Fifth component of complement (C5) derived high molecular weight macrophage chemotactic factor in normal guinea pig serum. *Inflammation.* 11:459-479 (1987)
- 13) Okamoto M, et al. Factor XIII-dependent generation of 5th complement component (C5)-derived monocyte chemotactic factor coinciding with plasma clotting. *Biochim Biophys Acta.* 1138:53-61 (1992)
- 14) Nishiura H, et al. Ribosomal protein S19 is present in plasma as a complex with prothrombin. *Eur J Haematol.* 86:436-441 (2011)
- 15) Semba U, et al. A plasma protein indistinguishable from ribosomal protein S19: Conversion to a monocyte chemotactic factor by a factor XIIIa-catalyzed reaction on activated platelet membrane phosphatidylserine in association with blood coagulation. *Am J Pathol.* 176:1542-1551 (2010)

- 16) Ota Y, et al. The presence of ribosomal protein S19-like molecule in guinea pig plasma and its role in blood coagulum resorption. *Exp Mol Pathol.* 90:19-29 (2011)
- 17) Chen J, et al. Role of blood ribosomal protein S19 in coagulum resorption: A study using Gln137Glu-ribosomal protein S19 gene knock-in mouse. *Pathol Int.* 64:543-550 (2014)
- 18) Horino K, et al. A monocyte chemotactic factor, S19 ribosomal protein dimer in phagocytic clearance of apoptotic cells. *Lab Invest.* 78(5):603-617 (1998)
- 19) Nishimura T, et al. Apoptotic cells of an epithelial cell lines, AsPC-1, release monocyte chemotactic S19 ribosomal protein dimer. *J Biochem.* 129:445-454 (2001)
- 20) Nishiura H, et al. S19 ribosomal protein dimer augments metal-induced apoptosis in a mouse fibroblastic cell line by ligation of the C5a receptor. *J Cell Biochemist.* 94:540-553 (2005)
- 21) Shrestha A, et al. Acquired immune response as a consequence of the macrophage-dependent apoptotic cell clearance and role of the monocyte chemotactic S19 ribosomal protein dimer in this connection. *Lab Invest.* 79:1629-1642 (1999)
- 22) Yamamoto T. Role of the ribosomal protein S19 dimer and the C5a receptor in pathophysiological functions of phagocytic leukocytes (review). *Pathol Int.* 57:1-11 (2007)
- 23) Taniguchi K, et al. Roles of the ribosomal protein S19 dimer and chemically induced apoptotic cells as a tumor vaccine in syngeneic mouse transplantation models. *J Immunother.* 34:16-27 (2011)
- 24) Taniguchi K, et al. Requirement of acquired immune system in successful cancer chemotherapy with cis-diamminedichloroplatinum [II] in a syngeneic mouse tumor transplantation model. *J Immunother.* 34:480-489 (2011)
- 25) Nishiura H, et al. Involvement of regional neutrophil apoptosis promotion by ribosomal protein S19 oligomers in resolution of experimental acute inflammation. *Pathol. Int.* 63:581-590 (2013)
- 26) Chen J, et al. Involvement of cross-linked ribosomal protein S19 oligomers and C5a receptor in definitive erythropoiesis. *Exp Mol Pathol.* 95:364-375 (2013)
- 27) Nishiura H, et al. Dual functions of the C5a receptor as a connector for the K562 erythroblast-like cell-THP-1 macrophage-like cell island and as a sensor for the differentiation of the K562 erythroblast-like cell during hemin-induced erythropoiesis. *Clin Dev Immunol.* (2012) doi:10.1155/2012/187080
- 28) Chen J, et al. Mutation of the key residue for extraribosomal function of ribosomal protein S19 cause increased grooming behaviors in mice. *Neurosci Lett.* 629:221-226 (2016)

「遺伝性血管性浮腫とその問題点」

大澤 熊

埼友草加病院 腎・透析内科

The present aspects of hereditary angioedema

Isao Ohsawa

Nephrology Unit, Saiyu-Soka Hospital

1. はじめに

遺伝性血管性浮腫（HAE: Hereditary angioedema）は、認知度が低い希少疾患であることから、日常遭遇する浮腫をきたす疾患に埋もれている。HAEは、1882年のQuinckeの論文が原著¹⁾の、いわゆる「クインケ浮腫」を呈する疾患の一つで、論文中に紹介されている遺伝性を示す家系が現在のHAEに相当すると考えられている。日本では、国立循環器病センターにおられた児玉順三先生が、1980年代からHAEの臨床および基礎研究を精力的におこない、HAEの発作の主要因が補体分解産物のアナフィラトキシン作用ではなく、ブラジキニンの過剰産生であることを唱えていた。また当時、最も治療の進んでいたドイツと協調して厚生省との折衝を行ふことで、1990年には世界で3番目にC1-インアクチベーター製剤の使用が認可され、1994年には「難病」に指定されるに至っていた。

しかしながら、その後の日本のHAEをめぐる状況は決して良いとは言えず、医療者として反省するばかりである。

2005年ころから、医師と製薬メーカーの協力により少しずつ本疾患の啓発活動

が進みだし、年々新規の患者や家系が見つかるようになり、遅ればせながら医療環境の進んだ欧米との距離を縮め始めている。本稿では、HAEの疾患紹介から始め、現在の問題点までを解説したい。

2. HAEの概要

2-1. 痘学と遺伝的特徴

皮膚の深部や消化管粘膜などに突然的に浮腫を来たし、数時間から数日で自然消退することを繰り返すものを血管性浮腫（AE: angioedema）という。AEは主たる原因からブラジキニン（BK: bradykinin）介在型、肥満細胞介在型、本態性の3型に分類される（表1）²⁾。HAEはBK介在型AEに含まれ、遺伝子異常によりC1-inhibitor

| カテゴリー | | 疾患 | 体表の 尋麻疹出現 |
|-----------|----------|------------------------------------|--------------|
| ブラジキニン介在型 | C1-INH欠損 | 遺伝性あり HAE I・II型 | なし |
| | | 遺伝性なし 後天性血管性浮腫 | なし |
| C1-INH正常 | | 遺伝性あり HAE with normal C1-INH | なし |
| | | 遺伝性なし 薬剤性血管性浮腫 分類不能の血管性浮腫 | なし |
| 肥満細胞介在型 | C1-INH正常 | IgE介在あり アナフィラキシー IgE介在型尋麻疹 | あり/なし |
| | | IgE介在なし 慢性尋麻疹・誘発性尋麻疹 分類不能の血管性浮腫 | あり/なし |
| 本態性 | C1-INH正常 | 遺伝性なし 分類不能の血管性浮腫 | なし |

表1. 血管性浮腫の分類²⁾

考文献2)一部改変

(C1-INH)欠損を示すHAE I型・II型(HAE1/2)とC1-INHには異常を認めないHAE with normal C1-inhibitor(HAEenC1-INH)に分かれ。HAE1/2は人種を問わず5万人-10万人に1人の有病率とされ、本邦では2000-3000人の患者が想定されている。遺伝学的には常染色体優性遺伝形式をとるため、患者の85%に家族歴を認め、15%がde novoの遺伝子異常であり遺伝的な発端者となる³⁾。C1-INHの遺伝子異常は、その遺伝子全長にわたり250カ所以上が報告されている(C1-INH mutation database, HAEdb, <http://hae.enzim.hu>)。そのうちsmall/point mutationが80%、gross mutationが20%を占めており、全症例がヘテロ接合体である。ミスセンス症例は他の遺伝子異常と比べ発作の頻度が少なく程度が軽いとの報告もあるが、一方では変異と臨床症状に関連がないとする報告も多い

(Germenis AE & Speletas M; Clin Rev Allergy Immunol 51: 170-182, 2016)。また第XII因子の遺伝子多型と初発症状出現年齢に関連があるといわれている⁴⁾。遺伝子異常の場所により、血清中のC1-INH濃度および活性が健常者の50%未満に低下しているHAE I型とC1-INH活性のみが50%未満に低下しているHAE II型に分かれ、I型とII型の割合は85%と15%である。HAEenC1-INHは2010年ころから提唱された疾患群で、現時点での概念が確定しておらず、本邦では報告がないため後述する。

2-2. 病態

C1-INHは補体系、カリクレイン・キニン系、線溶・凝固系に属する複数のセリンプロテアーゼ活性を抑制する蛋白である(図1)。HAE1/2では、正常なC1-INHの遺伝子からは正常な機能をもったC1-INHが産生されるので完全欠損ではない。

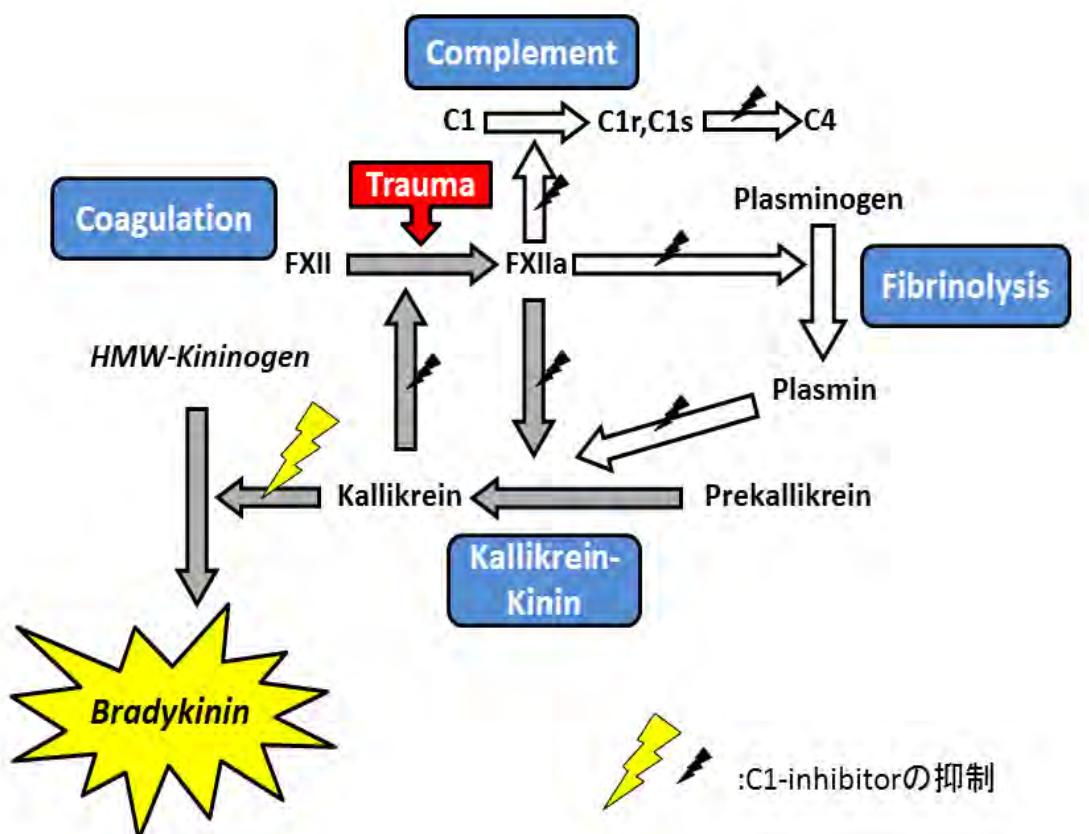


図1. C1-INHの作用点とHAEの病態

しかし、C1-INH は常にセリンプロテアーゼ群と共有結合による複合体を作り消費されている。突然的な浮腫は、局所で C1-INH の作用が相対的に低下した際に BK が過剰に産生され、血管内皮細胞の B2 キニン受容体(B2KR: B2 kinin receptor)を介した刺激が、毛細血管拡張とともに水分の透過性を亢進させることで浮腫を生ずる。

2-3. 症状

初発症状は、小児期から 20 歳代までに出現することがほとんどである^{3,5-7)}。発作は精神的・肉体的ストレスが契機となるが、誘因のないものもある^{8,9)}。体表に出現する浮腫は蕁麻疹のように境界鮮明ではなく、強い痒みはない(図 2)。また、前駆症状として輪状紅斑が出現することもある。浮腫の発作は数時間から数日で自然軽快するが、喉頭浮腫の場合は時として急速に進行して窒息に至る。腸管浮腫の場合は、腸重積を起こしたり、

third space への水分の貯留により著しい血管内脱水となりショックを呈することがある^{8,10)}。

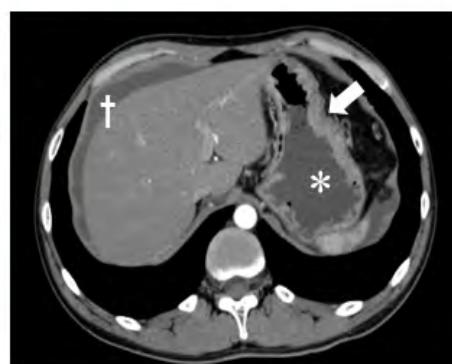
2-4. 検査

1) 血清 C1-INH 活性、血清 C4

血清中の C1-INH 活性は保険適応下に測定できる。HAE1/2 では、発作時・非発作時にかかわらず C1-INH 活性が 50%未満となる(図 3)^{6,8)}。C1-INH の濃度測定は HAE1/2 の型分類に用いられるが、保険適応になっていない。更に血清 C4 濃度は、非発作時で 95%の症例で基準値未満となり、発作時にはすべての症例で基準値を下回る(図 3)^{6,8)}。一方、発作は局所的に起こるため、通常の採血で得られる血清 C1-INH の活性と血清 C4 濃度の値から発作を予知できるとは限らない。

2) 遺伝子検索

HAE は臨床情報と上記の血液検査の結果から診断可能なため、遺伝子検索は必須ではない。し



➡ : 胃壁や腸壁の浮腫 * : 胃液や腸液の貯留 † : 腹水

図 2. HAE の発作

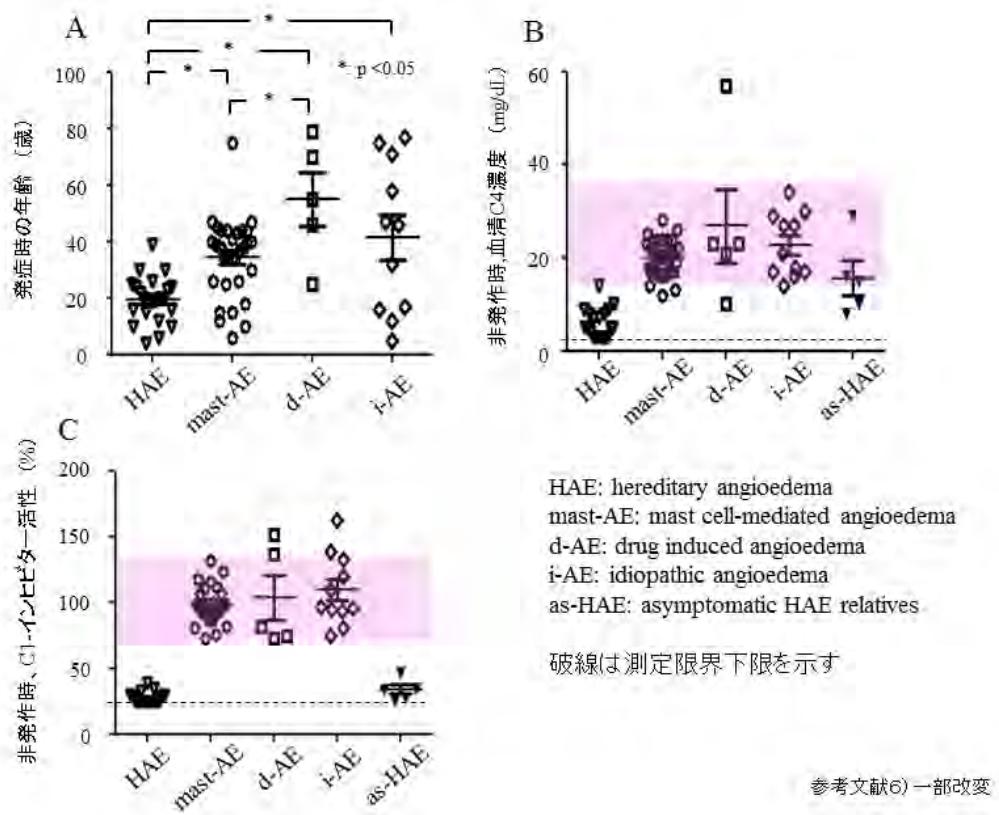


図 3. 血管性浮腫における HAE の特徴⁶⁾

かし、孤発例や小児例、自己免疫疾患合併例の診断時などに必要性が認められ、国内でも複数の施設が遺伝子検索を行っている(NPO 法人血管性浮腫情報センター <http://create2011.jp/index.html> など参照)。

3) 画像診断

患者がスマートフォンなどで体表面の AE を撮影している場合がある。消化管浮腫は超音波や CT を用いて AE の確認ができ、消化管壁の著明な肥厚や腸管陷入像、胃液や腸液の貯留、腹水などが観察される(図 2)¹¹⁾。

4) その他

腹痛発作時は、核の左方移動を伴う白血球上昇や血液濃縮(赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットなどが上昇)も観察される^{6, 10, 11)}。これらの所見は腸閉塞による急性腹症としても捉えられる所見であり、鑑別疾患に HAE が挙がらなければ

ば、無用の開腹手術を受ける可能性がある^{3, 5, 10)}。

線溶凝固系亢進のマーカーである prothrombin fragment F1 + F2 と d-dimer は HAE の発作時に上昇することがある¹²⁾。

2-5. 診断

国際的な診断基準は World allergy organization(WAO)により提唱されているが⁸⁾、検査に必要な C1-INH 定量は保険診療外であるため、本邦では Agostoni らの診断基準¹³⁾が適応できる。すなわち、大項目として：1) 自然消退する非炎症性の血管性浮腫で、蕁麻疹を併発せず再発を繰り返し、しばしば 12 時間以上持続する。2) 自然に改善する腹痛で、ほかに腹痛を来す疾患を認めず再発を繰り返し、しばしば 6 時間以上持続する。3) 繰り返す喉頭浮腫。小項目として：再発性の血管性浮腫を呈する家族歴。検査項目では 1) 患者が 1 歳以上で、発作時の C1-INH 抗原が

健常者に比して 2 回 50%未満の場合。2) 患者が 1 歳以上で、発作時の C1-INH 活性が健常者に比して 2 回 50%未満の場合。3) C1-INH の產生もしくは機能に異常を来す遺伝子異常がある場合が挙げられる。以上から大項目のうち一つ以上と検査項目のうち一つ以上があれば HAE と診断できるものである。

実臨床では、患者の病歴聴取が最も重要である。HAE の発症年齢は、10-20 歳代が半数を占め、他の AE の発症年齢と比べて若干低い（図 3）^{6,8)}。女性ホルモンは、凝固系第 12 因子（FXII）¹⁴⁾と B2KR の量的増加¹⁵⁾や BK 分解酵素の活性低下¹⁶⁾を起こすとされ、生理周期や女性ホルモン投薬に関連した発作がみられることがある。また、妊娠中の C1-INH 活性は分娩時に 50%まで低下するとされ¹⁷⁾、妊娠・産褥期は発作が起きやすい状態と言える。一方、臨床で遭遇する頻度の高い肥満細胞介在型 AE では、アナフィラキシーや蕁麻疹、そのほかのアレルギー疾患が背景にあり、搔痒を伴う境界明瞭な膨隆疹（蕁麻疹）を伴うことも多く、抗ヒスタミン薬や副腎皮質ステロイドが奏功する場合がある。次に多い薬剤性の AE は、アンジオテンシン転換酵素阻害薬やエストロゲン製剤、非ステロイド性消炎鎮痛薬などの副作用で出現するため、服薬歴の聴取も欠かせない。病歴と身体所見から鑑別困難な AE は、HAE のほかに自己免疫疾患やリンパ増殖性疾患などに続発するものがある。初診時には、一般検査に追加して血液像、血清 C3、CH50、抗核抗体、抗 ds-DNA 抗体、クリオグロブリン、IgG、IgA、IgM、IgE、免疫複合体（C1q 結合法）、好酸球数測定などを行うことが望ましい。

2-6. 治療

1) 治療の適応

WAO による HAE のガイドライン⁸⁾では、「すべての機能障害を残す発作と、顔面、頸部または腹部の発作には要時（オンデマンド）治療を考慮

すべきである。特に上気道に影響が及ぶ治療の発作は必須である。」（日本語訳版は「アレルギー」 Vol.64, No9, p1215-1241, 2015 を参照）と書かれている。喉頭浮腫で窒息に陥る危険性のある場合や、消化管浮腫による激烈な腹痛を訴える場合は治療の絶対的な適応である。さらに同ガイドラインでは、発作時にできる限り早く治療することが推奨されている。喉頭浮腫による気道閉塞時には、抗ヒスタミン薬・副腎皮質ステロイド薬・エピネフリンの投与は無効で、重症例では舌も腫大し、口腔から喉頭を確認することは不可能となるため、気管切開や経鼻挿管が必要となる場合がある。一方、このような重篤な発作に至る前の段階でも、患者自身が過去の経験から経過観察できる発作と重症化する発作を区別できることが多い。現時点で軽症であっても、数時間後に重症化する可能性を感じるなら治療の対象となりえるであろう。保険診療の面から考えると、現在本邦で唯一の治療薬である C1-インヒビター製剤の適応症は「遺伝性血管性浮腫の急性発作」と記載されているので、臨床現場での適応はフレキシブルで一定の考慮がなされていると解釈できる。

2) 治療法

① 発作時

現在存在するすべてのガイドライン^{8, 18)}が乾燥濃縮人 C1-インアクチベーター製剤を治療の中心にしている。本薬剤は血漿分画製剤であるため、使用に際しては十分なインフォームド・コンセントが必要であるが、最も病態改善に効果が期待できる。投与の際は、乾燥濃縮人 C1-インアクチベーター製剤（ベリナート®P、1 バイアル 500 単位）の 20 単位/kg 体重を生理食塩水（20-100mL）に溶解し、ゆっくり静注もしくは点滴静注する。製剤を溶解する際は、活性低下を最小限にするために泡を立てないように緩徐に溶解する。また 1 バイアル当たりの薬価は 99,202 円と高価であるため、難病指定を受けていない患者の治療の際は、

特に金銭的負担の説明をしておく必要がある。発作の改善が不十分であったり、効果がみられない場合の追加投与は可能で、投与間隔に一定の基準はない。また、HAE 患者が妊婦の場合の発作も妊婦以外の発作と同様に考え治療する¹⁹⁾。特に腸管浮腫では循環血漿量の減少により胎盤血流が低下することがあるので、十分なインフォームド・コンセントの上で、C1-インアクチベーター製剤の投与を行うことが望ましい。日本補体学会の発表しているガイドラインでは¹⁸⁾、喉頭浮腫以外の発作時で C1-インアクチベーター製剤が入手できない場合に、次の選択肢としてトラネキサム酸（15mg/kg を 4 時間ごとに）の内服投与を挙げている。以前、急性発作時に新鮮凍結血漿を投与していた時期があるが、アレルギー反応や感染症などの懼れ、およびカリクレイン・キニン系の基質を供給してしまうことも考えられ、現在投与されることは稀である。

②予防

a. 一般療法：HAE 患者の発作は、物理的な刺激や精神的なストレスで誘発されるので⁹⁾、患者に発作の記録をつけることを勧めさせる。発作を誘発する事象を検討し、該当事項を極力減らす事は発作頻度を減らし、発作の強さを弱めることにつながる。また発作を誘発する薬剤であるエストロゲン含有製剤、アンジオテンシン転換酵素阻害薬、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬の使用は避けることを指導する。

b. 薬物による短期的予防：手術などの侵襲時には、術前に C1-インアクチベーター製剤を投与することで、浮腫の発作の頻度や強さを軽減できることがわかっている²⁰⁾。日本補体学会発表のガイドライン¹⁸⁾では、比較的侵襲の少ない手術などのストレス時には、C1-インアクチベーター製剤の準備をしておくとし、侵襲の大きな手術の場合は、手術の 1 時間前に発作時と同量の C1-インアクチベーター製剤を投与し、発作に備えて予備の C1-イ

ンアクチベーター製剤を確保しておくことを推奨している。

c. 薬剤による長期的予防：主にトラネキサム酸（トランサミン[®]）やダナゾール（ポンゾール[®]）が使用されている。トラネキサム酸（750-1500mg/日）は、慢性蕁麻疹や AE に以前から用いられてきた。HAE の発作に対する薬理学的な機序は明らかになっていないが、副作用の血栓症に留意すれば比較的使いやすい薬剤である。一方、ダナゾール（100-400mg/日）は肝臓における蛋白同化の促進作用により、遺伝子異常のない正常な遺伝子由来の C1-インアクチベーターの産生が増加する。また、ブラジキニンを分解するアミノペプチダーゼ P の活性も上昇するとされている²¹⁾。発作は激減するが、保険適応疾患が子宮内膜症および乳腺症であることと、副作用としての肝障害、肝腫瘍、高血糖、体重増加、無月経、月経不順、男性化、筋肉痛、脱毛、焦燥感などがあり、適切な症例に十分な説明の上で投与を開始し、定期的な副作用の確認を行うことが望ましい。

3. HAE をめぐる問題点

3-1. 疾患認知度

2008 年に本邦で行われた医師を対象とした全国調査では、HAE の認知度は 44.8% と低く、診療科ごとの認知度は著しく異なり、皮膚科や血液内科では認知度が高かったものの、重症例が受診すると考えられる内科系や外科・救命救急科などの診療科では、およそ 40% 未満であった（図 4）²²⁾。また、2014 年に行われた HAE の主治医 94 人に対する調査では、171 例の HAE 患者の検討では、初発症状の出現から診断までに 13 年以上の歳月を要していた⁵⁾。長期わたり診断がつきにくい状況は諸外国も同様であるが、啓発の進んでいるドイツやイギリス、アメリカが 10 年未満である^{23, 24)}。

3-2. 生活の質への影響

上述の 171 例の HAE 患者のデータでは、AE の発作は平均して 1 年に 6.1 回で、10 回以上の症例はおよそ 20% であった。また、およそ 20% の症例は過去 1 年間に入院した日数の合計が 1 日以上あり、5% の症例は 10 日以上入院していた。一方、学業や仕事の欠席や欠勤の合計日数はおよそ 30% の症例で 1 日以上あり、10% を超える症例で 5 日以上であった。HAE 患者では AE の発作により明らかに生活の質が落ちているが、本邦では直接患者から得たデータではなく、過小評価されている可能性がある。

3-3. HAEc1-INH

C1-INH に異常がなく遺伝性を示す HAE は HAEc1-INH と総称し（以前は HAE III 型といわれていた）、FXII の遺伝子異常に起因する場合^{25, 26)}や BK 分解酵素の遺伝的な異常が報告されているが²⁷⁾、今のところ本邦では報告されていない。FXII の遺伝子異常では、exon 9 の point mutation が 2 種類{c.1032C>A (p.Thr328Lys)、c.1032C>G (p.Thr328Arg)}²⁵⁾と 72 塩基対の large deletion (c.971_1018+24del72)²⁸⁾、および 18 塩基対の duplication (c.892_909dup)²⁶⁾を示す常染色体優性遺伝の家系が報告されている。このような異常蛋白では凝固活性が亢進しており、圧迫や外傷で容易に活性化した FXIIa がプレカリクレインをカリクレインに変化させるため、BK の産生が起きやすくなるといわれている。FXII 遺伝子のプロモーター領域にはエストロゲン反応領域があり、女

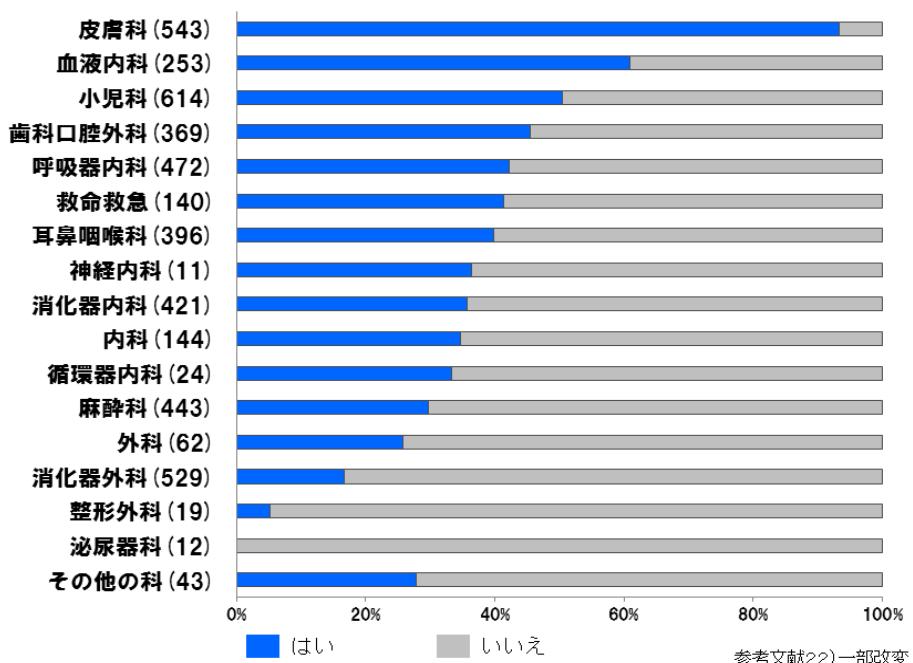


図 4. 疾患認知度調査結果²²⁾

性ホルモンが高濃度にある状態（経口避妊薬投与、ホルモン補充療法、妊娠など）と浮腫の出現に密接な関連がある。このため発症するのはほとんどが女性で初発症状は思春期にみられることが多い²⁹⁾。発作の頻度や前駆症状としての輪状紅斑は HAE1/2 より少ないとされていて、出現場所は顔面、口唇、舌にくり返し起こる症例が多く、腹部の発作は少ないという²⁰⁾。HAEc1-INH は新しい疾患概念で、今後病態が明らかになっていくものと考えられる。

3-4. 治療薬へのアクセスと新薬の導入

夜間祝日あるいは、患者の出張や旅行時の発作時のために C1-インアクチベーター製剤の常備されている施設を確保する必要がある。今のところ患者の主治医は Web 「HAE 情報センター」 <http://www.hae-info.jp> や製薬メーカー（CSL ベーリング株式会社）などへの問い合わせにより、手探りで治療環境整備を進めていて、十分な治療体制が出来上がっているとは言えない。東京、大阪、埼玉では、地域ごとに診断の中心となる施設

と救急医療も含めた治療可能な施設のネットワーク作りが始まっており、全国に広げていかねばならない。

海外では、C1-インアクチベーター製剤の予防投与や静脈内への自己投与が認められて、皮下注射の治療も始まっている。また、発作時の治療として、投与経路が皮下注射であるカリクレイン阻害薬 (Ecallantide)³⁰⁾ とプレフィルド製剤で自己投与可能なB2キニン受容体拮抗薬 (Icatibant)³¹⁾ の使用が可能となっている。患者の生活の質を上げるために、日本においても治療の選択肢が増えるように早急に検討を進める必要がある。

3-5. 患者会の活動

2009年に九州大学の堀内孝彦教授やその患者が中心となり、日本で最初に HAE の患者会「くみーむ <http://www.create2011.jp/kumimu/activity.html>」を発足し、画期的な活動が始まった。2014年には「NPO 法人 HAEJ <http://www.haej.org/>」も設立され、両団体とも勉強会や患者同士の交流が活発に行われている。これらの団体の活動により、以前は孤立感の強かった患者同士や医師同士がつながりを持てるようになり、お互いの精神的なストレスの軽減にもつながっている。一方、海外で行われている新しい治療法や新薬の導入などに際しても、患者会からの声が大変重要なになってきている。

4. 終わりに

HAE は、一度経験すれば診断や治療は決して難しくない疾患である。しかし、臨床症状が多彩であることから、診療科が統一されにくく、これまで議論を深める場がなかった。しかし、2016年3月に全国に散らばる様々な診療科の HAE 患者の主治医が集まる「第1回 HAE フォーラム学術集会」が東京、品川で開催され、100名以上の医師が参加した。このような診療科の枠にとらわれない活動は世界でもまれで、様々な角度から HAE

の理解を一層深め、医療環境の改善が加速するのではないかと期待している。

5. 利益相反

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

【文献】

- 1) Quincke H, Über akutes umschriebenen Hautodem, *Monasth-prakt. Dermat.* 1: 129-131 (1882)
- 2) Lang DM, Aberer W, Bernstein JA, Chng HH, Grumach AS, Hide M, Maurer M, Weber R, Zuraw B. International consensus on hereditary and acquired angioedema. *Annals of Allergy, Asthma & Immunol.* 109: 395-402 (2012)
- 3) Zuraw BL. Hereditary angioedema. *N Engl J Med.* 359: 1027-1036 (2008)
- 4) Bors A, Csuka D, Varga L, Farkas H, Tordai A, Fust G, Szilagyi A. Less severe clinical manifestations in patients with hereditary angioedema with missense C1INH gene mutations. *J Allergy Clin Immunol.* 131: 1708-1711 (2013)
- 5) Ohsawa I, Honda D, Nagamachi S, Hisada A, Shimamoto M, Inoshita H, Mano S, Tomino Y. Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of hereditary angioedema: survey data from 94 physicians in Japan. *Annals of Allergy, Asthma & Immunol.* 114: 492-498 (2015)
- 6) Ohsawa I, Honda D, Nagamachi S, Hisada A, Shimamoto M, Inoshita H, Mano S, Tomino Y. Clinical and Laboratory Characteristics That Differentiate Hereditary Angioedema in 72 Patients

- with Angioedema. *Allergol Int.* 63: 595-602 (2014)
- 7) Yamamoto T, Horiuchi T, Miyahara H, Yoshizawa S, Maehara J, Shono E, Takamura K, Machida H, Tsujioka K, Kaneko T, Uemura N, Suzawa K, Inagaki N, Umegaki N, Kasamatsu Y, Hara A, Arinobu Y, Inoue Y, Niiro H, Kashiwagai Y, Harashim, S, Tahira T, Tsukamoto H, Akashi, K. Hereditary angioedema in Japan: genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am J Med Sci.* 343: 210-214 (2012)
- 8) Craig T, Pürsün EA, Bork K, Bowen T, Boysen H, Farkas H, Grumach A, Katelaris CH, Lockey R, Longhurst H. WAO guideline for the management of hereditary angioedema. *World Allergy Organization Journal.* 5: 182-199 (2012)
- 9) Zotter Z, Csuka D, Szabo E, Czaller I, Nebenfuerer Z, Temesszentandrasz G, Fust G, Varga LFarkas, H. The influence of trigger factors on hereditary angioedema due to C1-inhibitor deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 9: 44-1172-9-44 (2014)
- 10) Ohsawa I, Satomura A, Fuke Y, Hidaka M, Endo M, Fujita T, Ohi, H. Worsening fluid retention in a patient with hereditary angioedema and end-stage renal disease. *Intern Med.* 43: 708-712 (2004)
- 11) Ohsawa I, Nagamachi S, Suzuki H, Honda D, Sato N, Ohi H, Horikoshi S, Tomino, Y. Leukocytosis and high hematocrit levels during abdominal attacks of hereditary angioedema. *BMC gastroenterol.* 13: 1-6 (2013)
- 12) Cugno M, Zanichelli A, Bellatorre A, Griffini S, Cicardi M. Plasma biomarkers of acute attacks in patients with angioedema due to C1 - inhibitor deficiency. *Allergy.* 64: 254-257 (2009)
- 13) Agostoni A, Aygören-Pürsün E, Binkley KE, Blanch A, Bork K, Bouillet L, Bucher C, Castaldo A J, Cicardi M, Davis III, A. E. Hereditary and acquired angioedema: problems and progress: proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond. *J Allergy Clin Immunol.* 114: S51-S131 (2004)
- 14) Fossum S, Hoem NO, Johannessen S, Korpberget M, Nylund E, Sandem S, Briseid, K. Contact factors in plasma from women on oral contraception--significance of factor XI for the measured activity of factor XII. *Thromb Res.* 74: 477-485 (1994)
- 15) Madeddu P, Emanueli C, Song Q, Varoni MV, Demontis MP, Anania V, Glorioso N, Chao J. Regulation of bradykinin B2-receptor expression by oestrogen. *Br J Pharmacol.* 121: 1763-1769 (1997)
- 16) Nogawa N, Sumino H, Ichikawa S, Kumakura H, Takayama Y, Nakamura T, Kanda T, Mizunuma H, Kurabayashi, M. Effect of long-term hormone replacement therapy on angiotensin-converting enzyme activity and bradykinin in postmenopausal women with essential hypertension and normotensive postmenopausal women. *Menopause.* 8: 210-215 (2001)
- 17) Bouillet L, Longhurst H, Boccon-Gibod I, Bork K., Bucher C, Bygum A, Caballero T, Drouet C, Farkas H, Massot, C. Disease expression in women with hereditary angioedema. *Obstet Gynecol.* 199: 484. e1-484. e4 (2008)
- 18) Horiuchi T, Ohi H, Ohsawa I, Fujita T, Matsushita M, Okada N, Seya T,

- Yamamoto T, Endo Y, Hatanaka M, Wakamiya N, Mizuno M, Nakao M, Okada H, Tsukamoto H, Matsumoto M, Inoue N, Nonaka M, Kinoshita T, Japanese Association for Complement Research.: Guideline for hereditary angioedema (HAE) 2010 by the Japanese Association for Complement Research - secondary publication. *Allergol Int.* 61: 559-562 (2012)
- 19) Caballero T, Farkas H, Bouillet L, Bowen T, Gompel A, Fagerberg C, Bjökander J, Bork K, Bygum A, Cicardi, M. International consensus and practical guidelines on the gynecologic and obstetric management of female patients with hereditary angioedema caused by C1 inhibitor deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 129: 308-320 (2012)
- 20) Aygören - Pürsün E, Martinez Saguer I, Kreuz W, Klingebiel T, Schwabe, D. Risk of angioedema following invasive or surgical procedures in HAE type I and II—the natural history. *Allergy.* 68: 1034-1039 (2013)
- 21) Drouet C, Desormeaux A, Robillard J, Ponard D, Bouillet L, Martin L, Kanny G, Moneret-Vautrin DA, Bosson JL, Quesada JL, Lopez-Trascasa M, Adam, A. Metallopeptidase activities in hereditary angioedema: effect of androgen prophylaxis on plasma aminopeptidase P. *J Allergy Clin Immunol.* 121: 429-433 (2008)
- 22) Ohsawa I, Nagamachi S, Kusaba G, Ishii M, Sato N, Onda K, Suzuki H, Ohi H, Tomino Y. Hereditary angioedema recognition survey in Japan. *Pharma Medica.* 29: 109-118 (2011)
- 23) Zanichelli A, Magerl M, Longhurst H, Fabien V, Maurer, M. Hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency: delay in diagnosis in Europe. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 9: 29-1492-9-29 (2013)
- 24) Lunn ML, Santos CB, Craig TJ. Is there a need for clinical guidelines in the United States for the diagnosis of hereditary angioedema and the screening of family members of affected patients? *Annals of Allergy, Asthma & Immunol.* 104: 211-214 (2010)
- 25) Dewald G, Bork K. Missense mutations in the coagulation factor XII (Hageman factor) gene in hereditary angioedema with normal C1 inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 343: 1286-1289 (2006)
- 26) Kiss N, Barabas E, Varnai K, Halasz A, Varga LA, Prohaszka Z, Farkas H, Szilagyi, A. Novel duplication in the F12 gene in a patient with recurrent angioedema. *Clin Immunol.* 149: 142-145 (2013)
- 27) Duan QL, Binkley K, Rouleau GA. Genetic analysis of Factor XII and bradykinin catabolic enzymes in a family with estrogen-dependent inherited angioedema. *J Allergy Clin Immunol.* 123: 906-910 (2009)
- 28) Bork K, Wulff K, Meinke P, Wagner N, Hardt J, Witzke G. A novel mutation in the coagulation factor 12 gene in subjects with hereditary angioedema and normal C1-inhibitor. *Clin Immunol.* 141: 31-35 (2011)
- 29) Zuraw BL, Bork K, Binkley KE, Banerji A, Christiansen SC, Castaldo A, Kaplan A, Riedl M, Kirkpatrick C, Magerl M, Drouet

- C, Cicardi, M. Hereditary angioedema with normal C1 inhibitor function: consensus of an international expert panel. *Allergy Asthma Proc.* 33 Suppl 1: S145-56 (2012)
- 30) Cicardi M, Levy RJ, McNeil DL, Li HH, Sheffer AL, Campion M, Horn PT, Pullman WE. Ecallantide for the treatment of acute attacks in hereditary angioedema. *N Engl J Med.* 363: 523-531 (2010)
- 31) Cicardi M, Banerji A, Bracho F, Malbrán A, Rosenkranz B, Riedl M, Bork K, Lumry W, Aberer W, Bier, H. Icatibant, a new bradykinin-receptor antagonist, in hereditary angioedema. *N Engl J Med.* 363: 532-541 (2010)

XXVIth International Complement Workshop に参加して

今井 優樹

名古屋市立大学大学院医学研究科

Report of XXVIth International complement workshop

Masaki Imai

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

2016年9月4日～8日の5日間にわたり、ホテル日航金沢にて XXVIth International Complement Workshop が開催されました。ICW は1993年に京都で一度国内開催されており、今回は、それに次いで古都の風情が残る金沢市での開催でした。私は2010年に開催されたニューヨーク以来 6年ぶりの参加でした。

私は初日の金沢城公園の五十間長屋で開かれた Welcome Party から参加しました。台風12号が近づく不安定な天気のため、どれだけの参加者があるのか不安の中、五十間長屋の名前の通り、長さが約五十間ある建物内いっぱいに参加者が集っていました。事務局長の井上徳光先生がシャツの色が変わるほど汗だくになって対応されていたのが印象的でした。このような大会事務局の先生方のご尽力もあり、雨による高い湿度と猛暑日に迫る暑さのなかでしたが、久しぶりの再会を喜び、旧交を温める機会となっていました。私自身も名古屋市立大学大学院時代の先輩後輩や Medical University of South Carolina 時代の教え子と再会し、楽しいひとときを過ごすことができました。

私が今回 ICW に参加した理由は、C5 や C5a の生体内での役割とその制御について何処まで明らかになったのか、という点を再確認したかったからです。私自身が「C5adesArg の炎症増強機能における役割」と、名城大学の水野智博先生と共同で「C5 がヒストンによって誘導される播種性血管内凝固症候群(DIC)を促進する」という演題を出していましたことも

あり、まず印象に深かったのが、オープニング後の最初のセッションです。Intra-cellular complement は補体系の中では近年まれに見る新たな発見だと個人的には興味深く拝聴しました。特に、Claudia Kemper先生と John Atkinson先生の2つの研究室を中心に intracellular complement system の活性化メカニズムが解明されつつあるのはインパクトがありました。しかしながら、細胞内に存在する C3 が、Cathepsin L 等のプロテアーゼに C3a に分解され、細胞内の C3aR に結合することで T 細胞の恒常性維持に働くことが立証されたが、C3 の分解産物の C3b の制御などは考慮されておらず、未だ未開の地という印象を受けました。今後の解明に期待したいと思います。その他のセッションも C5a が関与する研究発表が今回は非常に多かったのが印象的でした。一方、私の初めての補体に関わる研究テーマであった、補体膜制御因子に関する研究報告は思いのほか少なく、寂しくもあり、自分の努力不足を感じました。

23年ぶりに日本で開催された ICW は、国内の補体研究の活性化のみならず、若手研究者の育成にも大いに繋がったと思います。今回はさらに、日本補体学会から若手研究者に Japanese Travel Award を授与しています。これは日本補体学会が次世代を養う姿勢も見せており、日本の補体研究の未来に光を当てる良い試みだと思いました。また、しばらく不在であった ICW の Councilor に若宮伸隆先生が選出されました。これは、日本補体学会の国際貢

献が認められたことも要因の一つではないかと思います。これらのことから、今回の ICW は日本の補体研究にとっては大変有意義な大会だったと思います。

次回第 27 回 ICW は 2018 年に米国サンタフェで開催され、世界各国から多くの研究者が参加されます。様々なレベルでの国際交流も期待でき、さらには若手研究者には様々な賞を受賞するチャンスもあります。若手研究者の方には是非 ICW に積極的に

参加していただきたいと思います。

最後に ICW の運営実行にご尽力なさった諸先生方、および執筆の機会を与えていただきました水野正司先生に、この場を借りて御礼申し上げます。

【謝辞】

今回、日本補体学会のサポートにより、XXVI International Complement Workshop に参加できました事を感謝いたします。



集会長の藤田先生、ICS の Councilor に選出された日本補体学会会長の若宮先生、前会長の木下先生ら懇親会での写真。ICW の運営お疲れ様でした。ここには写っていませんが大谷先生が写真担当で奔走されておりました。



Welcome party 会場の金沢城公園・五十間長屋。
釘やボルトを一切使わない日本古来の歴史的建造物でおもてなし。



集会の事務局を切り盛りされた汗だくの井上先生と村上先生 (Welcome party にて) : 暑い中お疲れ様でした。



Welcome party で日頃からお世話になっている名大水野先生、名市大赤津先生と。



私の恩師、岡田秀親先生。来年 80 歳になられますが、質疑にポスターにと相変わらずの存在感です。



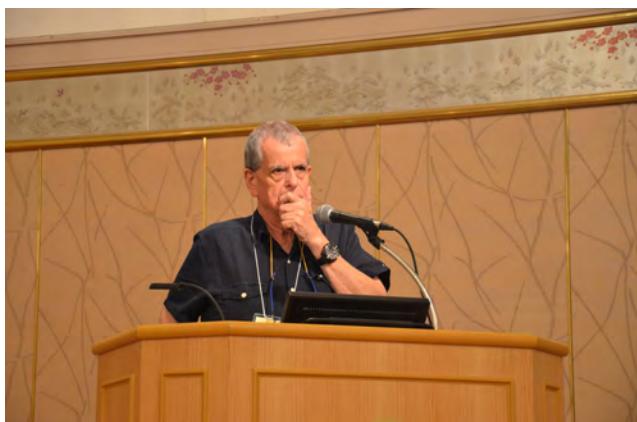
Gala dinner では各国の先生方も楽しんでおりました。



最後は集会長の藤田先生の一本締め。

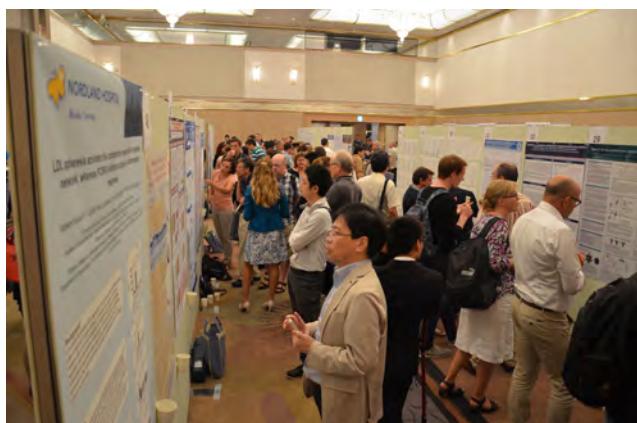


日本を代表する研究者である長田先生と審良先生の Plenary lecture はいつ聞いても新しい発見があり、研究意欲をわきたたせてもらいました。



ユビキチン修飾系の発見で 2004 年のノーベル化学賞を受賞したアーロン・チカノーバー博士の Plenary lecture。ノーベル賞受賞に至った経緯から臨床への応用に至るまでレクチャーされ、非常に興味深い講演でした。

留学時に私が受け持ったローテーションの学生だった Michelle L. Elvington 博士。彼女や Claudia Kemper 博士のグループが発表した細胞内の補体活性化メカニズムはインパクトがありました。



Poster Session は両日とも熱気に包まれていました。



日本補体学会から Japanese Travel Award を受賞された 6 名の若手研究者の皆さん。今後のご活躍に期待しております。

XXVI International Complement Workshop で Japanese Travel Award を受賞して

奥田 雄介

滋賀医科大学小児科

Experiences in XXVI International Complement Workshop

Yusuke Okuda

Department of Pediatrics, Shiga University of Medical Science

XXVI International Complement Workshop にて
Reference level for factor H autoantibodies in the
Japanese population using a standardized
enzyme-linked immunosorbent assay という研究
について発表いたしました。

研究背景として、抗 Factor H 抗体 (抗 FH 抗体) の測定法が今まで各研究室で統一されていませんでしたが、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) の標準化を目指した研究結果が欧州から 2014 年に出版されました¹⁾。ここで提唱された ELISA 法は、現在に至るまでに標準法としてほぼ受け入れられておりますが、本測定法を用いた研究は欧州からのものがほとんどで、世界で広く標準的に用いられているとは言えません。そこで本邦でも標準化法の導入が望まれ、臨床応用のために基準値の設定が最重要事項と考えました。方法として、健康成人ボランティア 50 人の血清検体を、標準化 ELISA により測定し、平均士標準偏差 (Standard deviation: SD) を算出した上で、+2SD を日本人の正常上限といたしました。また、人種差による基準値の差異の有無について検討するため、抗 FH 抗体 標準陽性検体として広く受け入れられている、フランスの研究室が所持する非典型溶血性尿毒症症候群患者血漿と比較検討を行いました。結果、正常上限値は 132 AU/mL であり、これは欧州人たちを対象

とした研究の正常値とほぼ変わりありませんでした。現在反復測定により、その妥当性について検証を行っていますが、本研究成果により今後本邦でも世界に通用する抗 FH 抗体に関する研究が進められると確信しております。

本研究はポスター形式で発表いたしました。ポスター発表は研究者と質問者の双方向の議論が行いやすいため、発表前から楽しみにしておりましたが、期待以上のご質問をいただき非常に勉強になりました。当初はポスター会場の狭さと、セッションが 2 時間も設けられていることに驚きましたが、狭いが故にポスター前でよく足を止めていただき、2 時間という時間の多くを議論に没頭でき、気付けばあっという間にセッションの時間が終了したという印象でした。日本の方はもちろん、海外の方、海外で研究を行う日本人の方、企業の方など、幅広い分野からご質問やご助言をいただき大変勉強になりました。また、プレゼンテーションの時間も与えていただき大変感謝しております。

さて、私は基本的に臨床家です。小児腎臓病を専門領域としており、これまでの医歴の大半を一般小児あるいは小児腎臓病診療に捧げて参りました。研究、論文も内容は全て臨床研究です。実は基礎系の国際学会に参加したのは今回が初めてで、正直を申しますと英語で展開される補体の深い議論にはつい

ていけない部分が多々ありました。若い研究者が立派に発表され、議論されている姿を見ると、羨望や焦りなどなんとも言えない感情が沸いてまいりました。そのような中で、やはり臨床家故にでしょうか、補体と疾病や補体と治療のセッションなどはより興味深く拝聴いたしました。特に治療に関しては、臨床の前線におりますと治療薬が臨床応用される初期の段階を垣間見ることができる機会はまれですので、本学会ならではの勉強をさせていただいたと感じております。

この先は、臨床家を続けながら、補体研究を継続していきたいと考えております。特に補体蛋白系の研究を行えればと考えておりますが、やはり補体学、免疫学、分子生物学などを専門としておられる先生方の研究には及ばないものになるかもしれません。しかし昨今は“橋渡し研究”が重要視されており、基礎と臨床の二足のわらじは決して悪くないと考えております。臨床家であることを最大限利用し、主に小児腎臓病になりますが、臨床経過と補体蛋白を関連づけて研究するなど、人を対象とした補体研究で橋渡しができるように精一杯邁進していく所存で

す。

今回の受賞は研究継続への激励ととらえております。今後の補体研究継続は日本補体学会から仰せつかった義務であると解釈し、努力してまいります。

[謝辞]

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より Japanese Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。学術集会長の藤田禎三先生、日本補体学会会長の若宮伸隆先生、日本補体学会役員、事務局の方々、その他ご高配を賜りました方々に心より感謝申し上げます。

[文献]

1. Watson R, Lindner S, Bordereau P, Hunze EM, Tak F, Ngo S, Zipfel PF, Skerka C, Dragon-Durey MA, Marchbank KJ. Standardisation of the factor H autoantibody assay. *Immunobiology*. 219: 9-16 (2014)

XXVI International Complement Workshop in Kanazawa に参加して

本田 大介

順天堂大学 腎臓内科

Participation in XXVI International Complement Workshop in Kanazawa

Daisuke Honda

Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Juntendo University Faculty of Medicine

平成 28 年 9 月 4 日から 8 日まで金沢で開催された XXVI International Complement Workshop in Kanazawa に参加し、「Activity of cleaving enzymes for bradykinin in sera from patients with hereditary angioedema」を発表させて頂きました。日本補体学会には、3 年前の旭川開催から参加を重ね、神戸、名古屋に続き、今年の金沢での ICW との共同開催で、4 回目の参加となりました。毎年、それぞれの開催都市で趣向を凝らしたユニークな企画がとても魅力的で、印象的でした。そして、今回 XXVI ICW in Kanazawa にて Japanese Travel Award を受賞させて頂けましたことは、大変光栄であり、今後の補体に関する臨床・研究活動を行っていく上での大きなモチベーションとなりました。ここに、会長の若宮伸隆先生、事務局長の井上徳光先生、XXVI ICW in Kanazawa 会長の藤田禎三先生、運営部の先生方に改めて感謝申し上げます。以下、今回 XXVI ICW in Kanazawa で発表させて頂いた内容に関しまして、概要を記述させて頂きます。

[演題名]

Activity of cleaving enzymes for bradykinin in sera from patients with hereditary angioedema
～遺伝性血管性浮腫におけるブラジキニン分解酵素活性の解析～

[はじめに]

遺伝性血管性浮腫 (hereditary angioedema:

HAE) は、発作時に局所でブラジキニン (bradykinin: BK) が産生されることにより全身に浮腫をもたらす疾患であり、症状の出現・消褪には、BK の産生と消失が関与している。しかし、BK の半減期は数十秒であり、局所で産生された BK 量を直接測定することは困難である。そこで今回、BK の分解という観点から、HAE の発作時の浮腫の病態解明を行うことを目的に、HAE (非発作時・発作時) における BK 分解酵素活性を測定した。

[方法]

順天堂醫院に通院加療中の HAE 患者 20 名 32 検体 (非発作時: 18 検体、発作時: 14 検体 (うち非腹痛発作 8 検体、腹痛発作 6 検体)) と健常人の血清を採取し、冷凍保存した。対象患者には、3 回の非発作時血清を採取した 1 名、2 回の非発作時血清を採取した 1 名、1 回の非発作時血清と 2 回の発作時血清を採取した 1 名、1 回の非発作時血清と 1 回の発作時血清を採取した 3 名、3 回の発作時血清を採取した 1 名、2 回の発作時血清を採取した 2 名が含まれていた。ELISA 法にて BK 分解酵素である neprilysin (NEP)、angiotensin-converting enzyme (ACE)、carboxypeptidase N (CPN)、dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)、aminopeptidase 1 (APP1)、aminopeptidase 2 (APP2) の 6 酵素の活性を測定した。また、全検体の血清 C4・C1-inhibitor・C1q 濃度を測定し、得られた酵素活性の結果と比較検討した。

[結果]

これらの酵素活性のうち、NEP 活性と ACE 活性 ($p < 0.005$)、CPN 活性と APP1 活性 ($p < 0.005$)、APP1 活性と APP2 活性 ($p < 0.0001$)の間には、全検体において有意な正の相関が認められた。HAE の非発作時：非腹痛発作時：腹痛発作時を比較すると、DPP4 活性において、発作時（非腹痛発作時と腹痛発作時）は非発作時に比較して有意に低く ($p < 0.001$)、ACE 活性において、非腹痛発作時は、非発作時と腹痛発作時に比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。血清 C4・C1-inhibitor・C1q 濃度と BK 分解酵素活性の間には、有意な関係は認められなかつた。

[考察]

HAE 患者において、BK 分解酵素活性のうち、NEP 活性と ACE 活性、CPN 活性と APP1 活性、APP1 活性と APP2 活性の間に有意な正の相関が認められ、非発作時・非腹痛発作時・腹痛発作時での DPP-4 活性や ACE 活性の有意な差が認められたことは、大変興味深い結果であった。つまり、種々の BK 分解酵素活性を測定することにより、BK 分解という側面から HAE 発作の閾値や重症度、症状の持続時間や個体差などを解明することが可能となり、さらには HAE における新規治療薬開発の一助となる可能性が示唆されたためである。しかし、これら BK 分解酵素の体内における活性の変化は、発作が起こる過程や発作が消褪する過程、あるいは発作の出現部位によって影響を受けている可能性があり、今回の検討では不明な点が多い。今後、さらに検討を重ねたい。

[結論]

HAE 患者の血管性浮腫の出現・消褪に BK 分解酵素活性の差が関与している可能性が示唆された。

これまでに日本補体学会では、2 年前から今年を含めて 3 回ほど HAE に関する演題を発表させて頂きましたが、HAE の病態についてはまだ不明な部分が多く存在し、確定診断がついていない患者は言うまでもなく、HAE の診断がついている患者でさえ、種々の問題を抱えています。診断がついていない患者は、急性発作時に唯一の発作時治療薬である乾燥濃縮ヒト C1 インアクチベーター製剤を投与されることなく、腸管粘膜浮腫による腹痛に対して不要な開腹手術を施行され、また、気道浮腫による窒息にて死亡する症例が現在も存在しています。診断が確定している患者も、現在の日本では治療薬の自己投与や予防投与がまだ認められておらず、身体的・精神的・社会的ストレスを抱えています。これらの現状を改善し、少しでも HAE 患者の QOL を改善できるよう、今後も HAE に関する研究を重ね、日本補体学会への参加・学会発表・活動を通じ、日本国内の HAE を取り巻く環境の改善に寄与していきたいと考えています。今後とも、どうぞよろしくお願い致します。

[謝辞]

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より Japanese Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。

ICW2016 に参加して

原 かおり

名城大学薬学部

Report of ICW2016

Kaori Hara

Fuculty of pharmacy, Meijo University

2016年9月4日～8日に金沢で開かれた第26回 International Complement Workshopに参加した。私は、Poster Session1で「Complement promotes the releasing Transglutaminase2」という演題で発表を行った。タンパク質架橋化酵素のトランスグルタミナーゼ (TG) はカルシウムイオン依存性に、特定のタンパク質間での架橋化反応を触媒する。TG は8つのアイソザイムがあり、独自の組織分布と基質を有し、多彩な生命現象に関与する。このうち組織型 TG (TG2) は生体内に広く分布し、活性化により線維化や炎症の惹起に深く関与する。腎臓では、糖尿病¹⁾、慢性腎臓病動物モデル²⁾において、TG2 の抑制が腎線維化を防ぎ、腎機能を保持することが報告されたが、ヒト腎臓、特に糸球体での TG2 の役割は不明である。

近年、IgA腎症 (IgAN) の動物モデルにおいて、TG2 が IgA 沈着及び腎炎惹起に関与すると報告された³⁾。メサンギウム細胞は正常でも TG2 を保持しているが、通常は細胞内に分布し酵素活性を持たないため、人における TG2 の役割の解明には、活性型 TG2 の検出が必要である。我々は、TG2 特異的 FITC ラベル高反応性基質ペプチドを用いた腎生検組織における TG2 活性の検出法を確立し⁴⁾、ヒト腎生検組織の TG2 活性を検討したところ、ループス腎炎 (LN) の 58% にメサンギウム領域における TG2 活性を検出した。一方、その他の糸球体疾患は、全体の 6% にわずかな TG2 活性を認めるのみであった。さらに、LN においてメサンギウム領域の TG2 活性

は、血尿と組織学的活動性に関連を認めた。LN は、メサンギウムへの免疫グロブリンと補体の沈着を伴うメサンギウム増殖性腎炎である。TG2 は通常細胞内では酵素活性を持たないため、上記疾患におけるメサンギウム領域での TG2 の活性化は、TG2 が細胞内から細胞外にシフトすることにより生じると推察した。具体的なメカニズムとして、免疫グロブリン沈着に伴う補体活性化により、細胞膜障害が惹起され、それに伴い TG2 が細胞外へ移行していると仮定した。さらに、細胞膜障害による流出の他に、アナフィラトキシンである C5a の刺激によつても TG2 は細胞外へ移行すると仮定した。本仮説を証明するため、ヒトメサンギウム細胞 (Human Glomerular Mesangial Cells: HGMCs) を用いた検討を行つた。HGMCs を正常ヒト血清で 1 時間刺激後、免疫染色法および ELISA 法により TG2 発現量を検討した結果、補体の沈着量増加に伴い、TG2 は細胞外へ流出した。また、human recombinant C5a (rhC5a) を用いて、同様の検討をした結果、正常ヒト血清で刺激した場合と同様に TG2 の細胞外流出が認められた。以上の結果より、細胞内 TG2 は補体活性化により細胞外へシフトすることが確認された。細胞外へ流出した TG2 の機能的役割を検討するために Confluence assay を行い、経時的に細胞増殖率を比較した。Human recombinant TG2 (rhTG2) は血小板由来増殖因子 (PDGF-AB) と同様に細胞増殖率を促進した。

TG2 は細胞外マトリックスとの会合を介して、

PDGF-AB の細胞増殖作用増強させたことが示唆された。LN のような補体活性化を伴うメサンギウム増殖性腎炎では、補体の活性化による TG2 のシフトが促進され、TG2 を介したメサンギウム増生が進行する。TG2 はメサンギウム増殖性腎炎における新規病態メカニズムおよび新規治療ターゲット分子となりうるといえる。

今回の ICW は、私にとって初めての国際学会であり、その雰囲気に圧倒された。特に連日のランチタイムセミナーでは、世界的に著名な先生方の講義を聞くことができ、とても有意義であった。私自身、勉強不足な部分も多く、多岐にわたる研究発表の内容を理解するのは容易ではなかったが、補体にかかわる研究の多様性、専門性に触れる貴重な時間となった。研究対象としている LN に関する研究だけでも、着目点の違いにより多様な面からの研究が進められていることを知り、補体研究の奥深さを感じられた学びの多いものとなった。この 5 日間を通して、補体に関連した疾患、各因子などの知識が深まり、まだ研究の余地が大いにあることを改めて実感した。ポスター発表の時間には、先生方から研究に関して様々なご意見、ご指摘をいただき、今後の展望を開くことができた。基礎研究と臨床研究の架け橋がより強固になることにより、患者さんに還元できるものが多くなることを強く感じ、両者の結びつきの大切さを感じることができた。

ICW2016 Kanazawa <Japanese Travel Award>をいただき、大変光栄に思う。受賞にあたりご指導賜りました、水野先生、永松教授に深謝申し上げます。

〔謝辞〕

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より Japanese Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。

〔文献〕

- 1) Skill NJ et al. Increases in renal epsilon-(gamma-glutamyl)-lysine crosslinks result from compartment-specific changes in tissue transglutaminase in early experimental diabetic nephropathy: pathologic implications. *Lab Invest.* 81: 705-716 (2001)
- 2) Johnson TS et al. Transglutaminase inhibition reduces fibrosis and preserves function in experimental chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 18: 3078-3088 (2007)
- 3) Laureline B et al. Transglutaminase is essential for IgA nephropathy development acting through IgA receptors. *J Exp Med.* 209: 793-806 (2012)
Alpaslan D et al., Therapeutic Effects of Cystamine in a Murine Model of Huntington's Disease. *J Neurosci.* 22: 8942-8950 (2002)
- 4) Itoh M et al. Variations in both TG1 and TG2 isozyme-specific in situ activities and protein expressions during mouse embryonic development. *J Histochem Cytochem.* 61: 793-801(2013)

XXVI International Complement Workshop (ICW) 2016 Kanazawa に参加して

児玉佳輝

中部大学 生命健康科学研究科 生命医科学専攻

A report on the XXVI International Complement Workshop (ICW) 2016 Kanazawa

Yoshiki Kodama

Department of Biomedical Sciences, College of Life and Health Sciences, Chubu University

高校生時代から感染に端を発する慢性炎症に興味があった私は、臨床検査技師という職業を目指して中部大学生命健康科学部生命医科学科に入学した。3年次までに、臨床免疫学や臨床微生物学、臨床血液学など臨床検査科目の講義・実習を取り、4年次は臨地実習を含む国家試験受験対策講義と卒業研究を行った。卒業研究のゼミを選ぶに当たっては、慢性炎症に興味があり、3年次までの講義でウイルス学にも興味を持っていたため、双方を研究できる上村和秀先生の研究室に入った。「補体レクチン経路第1因子であるマンナン結合タンパク質(MBL)によるムンプスウイルスの認識」について研究することになった。この研究をする傍ら、国家試験勉強に励み、2016年4月に臨床検査技師の免許を取得することができた。この度の XXVI International Complement Workshop (ICW)においては、卒業研究から引き続き行ってきた研究成果をポスターで発表させていただいた。私にとって初めての学会発表が国際学会ということで、大いに戸惑いながらの準備となった。そこで、上村先生の紹介で静岡県立大学薬学研究院科学英語教室の Philip Hawke 先生にお願いして、発音や語法、発表に対する姿勢について、専門的なアドバイスをいただいた。

学会初日午前は、Teaching day に参加させていた

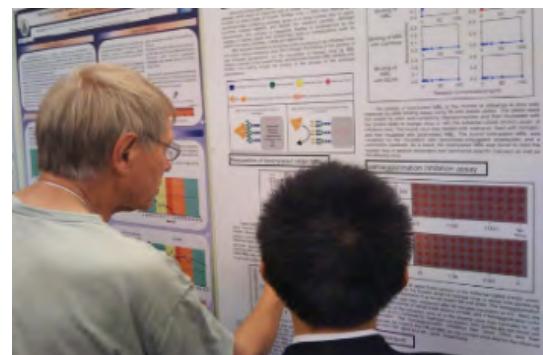


図1 ポスター発表の様子

Jensenius 先生に研究結果を説明しているところ。

だいた。補体全般の知識を事前に英語でより深く学ぶことができ、大変有意義であった。夜は金沢城公園の五十間長屋にて行われた Welcome Party に参加した。日本人研究者の割合は思ったより少なく、海外経験のない私には、まるで外国にいるかのような気がしたが、日本補体学会の若宮伸隆会長に気さくに声をかけていただき、ご一緒に海外の研究者と少し話をすることができた。翌日からは ICW のセッションが行われた。できる限り多くの口頭発表を聞こうとしたが、英語スピーチのテンポが速く、フォローするのにずいぶん苦労した。ポスター発表前夜は、Hawke 先生からの指導を思い出しながら、よりネイティブに近い発音で発表できるように練習し

た。私は、「補体レクチン経路の第1成分である MBL によるムンプスウイルスの認識」についての研究成果を発表した。原稿を読んでしまうことや質問を何度も聞き直してしまったりしたため、せっかく聞きに来て下さった外国の研究者の方々には少し申し訳なかったと思った。発表を聞きに来てくださった Jens Christian Jensenius 先生には、ウサギ MBL だけではなく、「ヒト MBL でも検討する必要があるのではないか」というご指摘など、今後研究に役立つ大変有難いお話をさせていただいた。

ICW 最終日、The Japanese Association for Complement Research (JACR) ミーティングが行われ、ICW2016 Kanazawa Japanese Travel Award を頂いた。

現在、MBL とムンプスウイルスとの結合が生体

防御においてどのような役割を果たしているかについて鋭意研究を進めている。

臨床の現場において、補体関連疾患が次々と明らかにされつつある中で、補体検査は項目が少ない現状である。今後より詳細な補体検査が求められるようになる時代を迎えるにあたり、補体領域の研究を通じてこの分野に貢献するとともに、臨床検査領域における補体関連検査の発展に貢献できたらよいと考えている。

[謝辞]

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より Japanese Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。



図 2 Japanese Travel Award 受賞

JACR ミーティング後、写真撮影。

Reporter: Harsha Prakash, Doctoral student, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, Japan

Harsha Prakash

Marine Biochemistry Laboratory (2nd-grade doctoral course)

Department of Bioscience and Biotechnology

Faculty of Agriculture, Kyushu University

First of all, I wish to acknowledge The Japanese Association for Complement Research for the travel award and for providing me the great opportunity to attend the XXVIth International Complement Workshop, which was held at Kanazawa, Japan from September 4-8, 2016.

The workshop began with the introductory speech by Professor Andrea J. Tenner (ICS President, University of California) and keynote lectures given by eminent scientists on the overview of complement system, The classical, alternative and lectin pathways, MAC, The role of complement in inflammation, nervous system and adaptive immunity and The challenges in complement therapeutics. All the lectures were very informative and they gave me a clear knowledge about the research history and the basics of the complement system. The same day afternoon there was an exercise session for students; on themes:

- 1) Complement: focus on immune complex diseases (Bo Nisson, Leendert Trouw and Masashi Mizuno)
- 2) Animal and cell models suitable for complement studies (Wencho Song, Mathew C. Pickering and Hideharu Sekine)
- 3) Complement deficiencies and diseases (Santiago Rodriguez de Córdoba, Michael Kirshfink and Takahiko Horiuchi)
- 4) Therapeutic intervention in the complement system (Michael Holers, Tom Eirik Mollnes and Trent M. Woodruff)

Out of them each student selected two different topics. As my interest was in immune complex diseases and animal models, I chose the first two. The sessions were very informative and during the discussion each and every student got a chance to ask questions and share their thoughts. The first exercise session explained about the immune complex diseases in human related

to complement mechanism. The second exercise session was much more interesting for me as it was about the animal models which can be used for my own complement research on fish and other non-human animals. During the exercise session, students turned into two groups and started debating about the usage of mouse as an animal model in the therapeutic field. As per the view of some students, using mouse model for making human therapeutics was really useless. Unfortunately, none of them talked about using fish as an animal model in complement research. As that is the field in which I am working, it was quite depressing for me. Even though fishes cannot be used for any clinical trials, it can be used for the basic complement research as per my view. This session was followed by a welcome party which was held at Gojukken-Nagaya in Kanazawa castle. The welcome party provided a good opportunity for me to interact with the scientists freely during the traditional Japanese dinner.

On the following days, oral presentations were arranged in the morning and afternoon, and the poster sessions were held concurrently in the evening. In addition to these sessions, lunch time seminars and plenary lectures were also arranged in between. All the oral presentations were really excellent and informative. Out of them, I found the presentation 'Presence of an intracellular C3-C3aR system in the human lung epithelium' by Hrishikesh S. Kulkarni to be very interesting. His results state that C3 is endogenously produced and secreted by lung epithelial cells (LECs). His work also establishes the presence of an active intracellular C3a-C3aR in unstimulated human LECs, and thus it was very lively and informative. Another interesting presentation for me was 'Absence of complement protects against bone loss in a model of postmenopausal osteoporosis' by Danielle L. Mackey.

It was very inspiring for me that the deficiency in complement component 3 even has an effect on bone loss in postmenopausal osteoporosis. This presentation increased my interest to learn about complement components more intensively.

Out of all the plenary lectures, the lecture by Professor Shizuo Akira on 'Functions of macrophages/monocytes subsets revealed by gene targeting' was another exciting talk, helping me to learn more about the basics of macrophages/monocytes and the state of his research progress. Professor Shizuo Akira explained everything from the basics and gave a detailed knowledge about all the works which has been done in this particular field till now.

Although it is noteworthy to be selected for an oral presentation, considering gathering the advantage of gaining lots of feedbacks and ideas from a wide audience I found the poster presentation session much useful. Out of all the posters presented on two days, only a few were directly related to my work on fish complement regulators. On the first day of poster presentation, there was a poster on 'Activation of complement by pigment epithelium derived protein in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients' by Leonie M.Vogt. I was very keen about that poster as my mother is a rheumatoid arthritis patient. I gathered a lot of information from the presenter on the rheumatoid arthritis. She also suggested me some papers which I can read on the relation between complement and the autoimmune diseases. This also gave me a thought to pursue my studies in this field after completing my PhD. I presented a poster entitled "Expression and homeostatic functions of Tecrem, a CD46-like complement regulatory protein on epithelial cells in bony fish" on the second day of the poster session. The poster was about the role of carp fish-CD46(Tecrem) on KF1 epithelial cells. My results showed the role of this protein in the epithelial cell adhesion. There were about a few scientists who stopped by my poster and gave me quite a few suggestions. Dr. Claudia Kemper gave suggestions regarding some assays which I can perform in the next step. Dr. John Atkinson who initially started the experiments on human-CD46 gene also came and talked to me regarding my work. He was really happy to know that a CD46 like protein is present in fishes too. In fact, some of the students who

stopped by my poster were really surprised to know that studies related to complement has been conducted in aquatic organisms as well. My supervisor Dr. Miki Nakao also presented an interesting poster on carp properdin on the same day. In fact mine and his were the only posters on fish complement system.

Overall it was a great experience to be a part of this prestigious conference. It provided me with a valuable learning experience. For instance, it was an excellent opportunity to interact with world-wide complementologists and exchange their findings and views during conference sessions, coffee breaks and conference dinner. Consequently, I have known a number of academics and professionals from different countries who have similar research interests to that of mine.

Finally, I would like to thank the International Complement Society and Japanese Association for Complement Research for giving me the opportunity to attend and present my poster in the 26th International complement workshop and also for providing me the travel award which helped me to cover the part of my expenses. This conference was very interesting and it enriched my experience with more information, knowledge and confidence. Also, many thanks should go to my supervisor, Dr. Miki Nakao for his generous support and guidance and for making this happen.

ヒト DAF は SCR4 ドメインを介してマクロファージによる異種細胞傷害および貪食能を抑制する

坂井 理恵子、前田 晃、Thuy-Vy Choi、Pei-Chi Lo、松浦 玲、児玉 匠、山中 和明、中畠 賢吾、
河井 友見、江口 寛、奥山 宏臣、宮川 周士
大阪大学大学院 医学系研究科 小児成育外科

Human DAF suppresses macrophage-mediated xenogeneic cytotoxicity and phagocytosis through the binding of SCR-4 to the inhibitory receptor.

Rieko Sakai, Akira Maeda, Thuy-Vy Choi, Pei-Chi Lo, Rei Matsuura, Tasuku Kodama, Kazuaki Yamanaka, Kengo Nakahata, Tomomi Kawai, Hiroshi Eguchi, Hiroomi Okuyama, Shuji Miyagawa
Department of Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine, Japan

[抄録]

我々は以前の研究で Decay-accelerating factor (DAF) が補体だけでなく NK 細胞をも抑制できることを報告している¹⁾。この報告では、NK 細胞は抗体や補体に依存せずに DAF によって抑制されることを示した。マクロファージは NK 細胞と同じ免疫抑制レセプターをいくつか発現していることが分かっている²⁾³⁾。仮に DAF に対する抑制性レセプターが存在するならばマクロファージも NK 細胞と同様に DAF によって抑制される可能性が考えられる。そこで本研究では、ブタ血管内皮細胞 (swine endothelial cell ; SEC) にヒト DAF を発現させ、ヒトマクロファージによる異種細胞傷害活性および貪食能が抑制されるかどうか検討した。

[キーワード]

補体、補体制御因子、マクロファージ

[はじめに]

DAF は、補体制御タンパク質の一つであり、C4bC2a や C3bBb などの C3 コンバターゼを解離することで補体の活性化機構を阻害する。DAF は 4 つの short consensus repeats (SCRs) とセリン・スレオニンリッチ領域が、GPI アンカーによって細胞膜に結合した構造で成り立っている。我々は、以前の研究で DAF が補体だけでなく NK 細胞をも抑制することを報告している¹⁾。補体によるブタ細胞への細胞傷害活性を抑制するには DAF の SCR2、SCR3 が必要であったのに対し、NK 細胞による細胞傷害を抑制するにはさらに SCR4 が必要であることがわかった。しかもヒト補体によるブタ細胞への攻撃は

古典経路による。このことから我々は、NK 細胞には抗体や補体には依存しない抑制機構が存在するのではないかと考えた。本研究では、DAF が NK 細胞と同様にマクロファージを抑制するのかどうか検討した。

[方法]

我々はまずヒトマクロファージによる異種細胞への傷害活性および貪食能を検証した。エフェクター細胞にはヒト単球性白血病細胞 (THP-1) およびモノサイトを使用した。THP-1 は培養液中に 200nM PMA を加えることでマクロファージ様細胞へと分化させた。モノサイトはヒト末梢血单核球を dish に

播き、2時間培養後に浮遊細胞を取り除き、接着した細胞を使用した。

細胞傷害活性試験では、SEC および DAF、delta1-DAF¹⁾、delta4-DAF¹⁾ を発現させた SEC をそれぞれ 1×10^4 個/well で 96well plate に播種し、翌日 THP-1 もしくはヒト末梢血由来のモノサイトを 1×10^5 個/well 加え、約 24 時間共培養させた。その後、細胞傷害活性を WST-8 assay によって評価した。一方、貪食能試験では、SEC および SEC/DAF を 4×10^4 個/well で 24well plate に播種し、翌日モノサイトを 2×10^4 個/well 加え、24 時間共培養した。その後、CD14 陽性モノサイトのうち CFSE 陽性の細胞を、貪食したモノサイトとして FACS でカウントした。

エフェクター細胞における抑制性レセプターおよび CD11b、CD11c の発現を調べた。以前の研究で、我々はマクロファージが NK 細胞と共通の抑制性レセプター (CD94/NKG2A、ILT2、ILT4) を発現することを報告している²⁾³⁾。本研究で使用した THP-1 およびモノサイトにこれらのレセプターが発現しているのか FACS で解析した。また、CD11b および CD11c の発現が、SEC との共培養の前後で変化するかどうか FACS で解析した。

[結果]

THP-1 による細胞傷害活性試験では、SEC、SEC/DAF、delta1-DAF、delta4-DAF に対する細胞傷害率 (mean \pm SE %) はそれぞれ $29.3\pm2.1\%$ 、 $15.2\pm2.2\%$ 、 $18.5\pm3.9\%$ 、 $26.1\pm4.1\%$ であった (n=17~25)。また、モノサイトによる細胞傷害活性試験でも細胞傷害率はそれぞれ $34.1\pm4.4\%$ 、 $16.8\pm5.5\%$ 、 $20.3\pm2.8\%$ 、 $31.0\pm6.0\%$ であり、同様の結果が得られた (n=9~11)。

モノサイトによる貪食能の試験では、SEC、SEC/DAF、delta1-DAF、delta4-DAF に対するモノサイトの貪食率はそれぞれ $30.1\pm11.8\%$ 、 $11.2\pm1.7\%$ 、 $14.8\pm3.7\%$ 、 $29.5\pm8.6\%$ であった (n=3)。

抑制性レセプター NKG2A の発現は THP-1 およびモノサイトの両細胞で確認されたが、ILT2 および ILT4 の発現は THP-1 では確認されなかった。また SEC との共培養前後での THP-1 およびモノサイト上の CD11b および CD11c の発現に変化はなかった。

[考察]

SEC と比較して SEC/DAF に対する細胞傷害および貪食能は有意に抑制されていたことから、DAF はマクロファージによる細胞傷害および貪食能を抑制できるといえる。また、delta4-DAF はマクロファージの細胞傷害および貪食能を抑制できなかったことから、この抑制機構には SCR4 が関与しているとわかった。

次にこの抑制機構が、マクロファージが発現する DAF に対する抑制性レセプターによる直接的作用なのか、もしくは SEC 表面に沈着した補体フラグメントによる間接的作用なのか検討した。NKG2A の発現は共通することが確認できたが、これが DAF に対するレセプターだと結論することはできない。また、SEC との共培養が CD11b および CD11c の発現に変化を起こさないことから、補体フラグメントを介した作用の可能性は低いと考えられる。

[結論]

以上のことから、DAF はマクロファージによる異種細胞傷害活性および貪食能を抑制でき、その作用には DAF の SCR4 が含まれるといえる。本研究では、DAF に対する抑制性レセプターが何かを判明するには至らなかった。今後、より詳細な検証が必要である。

[学会に参加して感じたこと]

XXVI International Complement Workshopへの参加に伴い、はじめて金沢を訪れました。その週は台風が迫ってきており、雨風に対する準備をして訪れましたが、幸運にも雨の影響は少なく済みました。

初日のパーティーは兼六園の近くで行われ、美しい景色を写真にたくさん収めることができました。また、遠足で訪れた白川郷でははじめて見た合掌造りに加え、最後に虹も見れてとても印象に残る思い出になりました。

今回、二度目の国際発表でしたがとても緊張しながら臨みました。補体の構造からメカニズム、疾患の解明、またその治療法の研究など幅広い内容で、非常に勉強になりました。また各発表では激しい討論が交わされ、参加者たちの熱心さに驚きました。一方で、自分の発表ではせっかくの質問に対して英語でうまく説明できず、非常に申し訳なく感じました。研究者として自分の未熟さを痛感させられました。今回の学会参加は私にとって補体への興味がさらに深まり、刺激を受けた良い経験となったと思います。

[謝辞]

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より Japanese Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。

[利益相反]

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

[文献]

- 1) Miyagawa S, Kubo T, Matsunami K, Kusama T, Beppu K, Nozaki H, Moritan T, Ahn C, Kim JY, Fukuta D, Shirakura R. Delta-short consensus repeat 4-decay accelerating factor (DAF: CD55) inhibits complement-mediated cytolysis but not NK cell-mediated cytolysis. *J Immunol.* 173: 6: 3945-3952 (2004)
- 2) Maeda A, Kawamura T, Ueno T, Usui N, Eguchi H, Miyagawa S. The suppression of

inflammatory macrophage-mediated cytotoxicity and proinflammatory cytokine production by transgenic expression of HLA-E. *Transpl Immunol.* 29: 1-4: 76-81 (2013)

- 3) Esquivel EL, Maeda A, Eguchi H, Asada M, Sugiyama M, Manabe C, Sakai R, Matsuura R, Nakahata K, Okuyama H, Miyagawa S. Suppression of human macrophage-mediated cytotoxicity by transgenic swine endothelial cell expression of HLA-G. *Transpl Immunol.* 32: 2: 109-115 (2015)

初めての国際学会、ICW 2016 KANAZAWA

黄 仁秀

旭川医大・医・微生物

My First International Scientific Workshop, ICW 2016 in KANAZAWA

Insu Hwang

Department of Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University,
Asahikawa, Japan

私は 2011 年から旭川医科大学に在学している韓国からの留学生です。若宮教授の下で肺炎球菌感染に対するコレクチン CL-K1 の生体防御機能の解明を目的として、ノックアウトマウスを用いた研究を行い、現在は卒業論文の作成に取り組んでいます。これまで日本の学会で何回か発表する機会がありましたが、国際学会での発表は今回が初めてでした。約 5 年間の日本での生活で、日本語はある程度話すことが出来るようになりましたが、国際学会の英語での発表は初めてで、とても緊張しました。しかし、国際学会は日本の学会と何が違うのか、どんな人々が集まるのか、世界ではどのような補体研究が行われているのかと、期待しながら発表の準備が出来たことは、とても有意義な時間でした。

ICW は今まで参加した学会とは異なり、Teaching Day から始まりました。Teaching Day では補体研究分野で著名な先生方から補体システムや現在の補体研究の最前線に関して学ぶことが出来ました。また、エクササイズセッションがあり、各国から参加の学生やポスドクと補体研究に関してディスカッションを行いました。先生と学生が自由に自分の意見を述べながら補体研究に関してディスカッションする光景がとても印象的でした。私は学会参加前に、日程表をみて Teaching Day が何かよく分からず、不参加にしようかと考えていましたが、今振り返ると、参加して本当に良かったと思います。

その翌日からは本格的にセッションが始まりまし

た。私は ICW を通して 3 つの事を感じました。

まず、最初に会場に着いたとき、その広さや人数の多さに驚きました。今まで参加した学会の会場とは異なり一つの広い会場に 200 人以上が集まっている様子を見ると、「本当にこの人数の前で発表するのか」と心配になりました。

2 つ目は、自分の分野とは異なるため、理解できない内容もありましたが、最前線の補体研究を知ることが出来てとても良かったと思います。Factor H や C3a, C5a 等のヒト疾患の病因に関する研究発表が非常に多かった印象を受けました。同時に、基礎から臨床まで、様々なアプローチで補体に関する研究が行われていることに感銘を受けました。

3 つ目はポスターセッション、コーヒーブレイク等の時間で活発にディスカッションが行われている様子が印象的でした。コーヒーブレイクの終了時間が近くなるたびに、藤田先生が参加者を会場に誘導している光景が、非常に印象に残っています。

また、学会 3 日目の夜、たまたま食事で同席した、アメリカからの研究者と話す機会がありました。その方はほぼ全ての ICW に参加し、世界の補体研究者たちと交流しているとおっしゃっていました。それを聞き、多数の論文を読んで補体に関する多くの知識を習得する事は勿論大切ですが、やはり ICW のような国際学会で世界の多くの研究者たちと交流し、最先端の補体研究の話を聞く事の重要性を感じました。

私にとって、今回の ICW 参加は非常に良い経験になったと思います。初めての国際学会参加で Travel Award という素晴らしい賞を受賞する事が出来嬉しい限りです。これからもこの受賞に恥ずかしくない研究活動を続けていきたいと思います。そして、学会での経験と共に金沢城や兼六園の美しい風景や美味しい食べ物等、本当に素晴らしい思い出を作ることが出来ました。勿論、少し残念だった所もありました。私の拙い英語力の為に、十分に海外の研究者たちと意思疎通出来なかつたことです。自分の研究の道に進むと共に、海外の様々な研究者たちと十分に意思疎通が出来る英語能力を身に着け、

これからも ICW のような国際学会に参加したいと思っています。

最後に、寄稿の機会を与えてくださった日本補体学会の関係者の皆様に感謝します。

【謝辞】

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、International Complement Society と International Complement Workshop – Local Organizing Committee より Travel Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。



XXVIth International complement workshop に参加して

吉田 瑞子

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科

Report of XXVIth International complement workshop

Yoko Yoshida

Division of Nephrology and Endocrinology, the University of Tokyo Hospital

私は、この度 2016 年 9 月 4 日～8 日に石川県金沢市で開催された XXVIth International complement workshop に参加いたしました。私にとって初めての国際補体学会への参加でしたが、どの講演も大変興味深く、多くのことを勉強させていただきました。また、自身の研究内容について poster session での発表の機会をいただき、大変貴重な経験となりました。本稿では、私が同学会で報告致しました研究内容についてご紹介させていただきますとともに、学会参加を通じての感想等も記載させていただきます。

【研究発表の内容】

私は現在、本邦における非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS) 患者の解析を中心に研究を行っています。私は 2011 年から 2014 年までは奈良県立医科大学輸血部に所属しておりました。当時、教授でいらっしゃいました藤村吉博先生より「日本における aHUS 患者の実態を探る」という研究テーマをいただき、これが本研究を始めるきっかけとなりました。現在は東大病院腎臓・内分泌内科の南学正臣教授の下で本研究を実施しております。今回の国際補体学会では奈良県立医大、東大病院および遺伝子解析を実施していただきました国立循環器病研究センター（宮田敏行先生）で得られた患者解析の結果を報告いたしました (Title: Characterization of the patients with

atypical hemolytic uremic syndrome by combination of hemolytic assay and gene analysis in Japan)。以下に、発表内容の概要を簡単にご紹介させていただきます。

aHUS は微小血管性溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害を 3 主徴とする疾患の総称であり、補体活性化経路（第二経路）の制御異常により発症する疾患です。約 60% の症例で第二経路に属する補体制御因子 (H 因子、I 因子、C3、B 因子、MCP) の遺伝子異常が同定されており、最近では thrombomodulin (THBD) や diacylglycerol kinase ε (DGKE) といった凝固系因子の異常も aHUS 発症に関与することが明らかにされています。また一部の aHUS 患者は、H 因子に対する自己抗体を有することも分かっています。

我々は 2011 年から本邦における aHUS 患者の解析を開始し、今回の発表では aHUS コホートの臨床的特徴や羊赤血球を用いた溶血試験の検査成績、遺伝子解析の結果等を中心に報告しました。まず、現在までに 118 人（男性 78 人、女性 40 人）の aHUS 患者を集積し、そのうち 100 人（男性 67 人、女性 33 人）について詳細な解析を実施しました。100 人中 59 人は 10 歳以下に aHUS を発症しており、諸外国と同様に我々のコホートにおいても aHUS の多くは小児期発症であるという知見を得ました。

次に羊赤血球を用いた溶血試験について、これは

羊赤血球と患者血漿を混合させて羊赤血球が溶血を起こすか否かを判定する試験であり、通常、正常人の血漿では羊赤血球は溶血を起こしません。我々は奈良医大で H 因子に対するモノクローナル抗体 (O72) の作成に成功し、正常人血漿に O72 抗体を添加した血漿では羊赤血球が溶血を呈することを同定しました。そこで、我々の溶血試験ではこの O72 抗体による溶血度を 100% と定義して患者の溶血度を定量的に算出しました。その結果、H 因子変異や H 因子抗体陽性患者は、ほぼ全例で溶血度 50% 以上を呈し、本試験はこれら H 因子関連異常の検出に有用であることを証明しました。その一方で、C3 変異の多くは明らかな羊赤血球の溶血を示しませんでしたが、1 つの変異のみ 50% 以上の溶血亢進を認め、この変異は C3d 内に存在する変異であることが分かりました。

遺伝子解析の結果、本邦では C3 変異が欧米諸国に比べて多く、H 因子変異が比較的少ないという知見を得ました。興味深いことに C3 変異を有する 27 人の患者のうち、23 人は 1157 番目のイソロイシンがスレオニンに置換する I1157T という同じ変異を有していました。さらに、この C3 変異を有する患者は関西地方に集中していることも分かりました。このことから本邦では諸外国と異なる遺伝子背景を持つことが示唆されましたが、これについては今後、さらなる精査の必要性があると考えております。

この度、本研究成果を発表させていただき Poster Presenting Award をいただくことができました。発表の際はとても緊張いたしましたが、このような大変名誉な賞をいただき、嬉しく光栄に思います。この場をお借りしまして改めて感謝の意を表します。

【XXVIth International complement workshop 参加を通して感じたこと】

本学会に参加しまして、補体に関する研究が基礎的なことから疾患との関連性に至るまで多様な面か

らなされていることに大変驚きました。また、これまで私は aHUS と関連性の深い第二経路を中心に勉強してきましたので、第二経路以外の活性化経路についての報告、特に MASP-1 が血栓形成に関与する報告は大変興味深く拝聴いたしました。

今回、aHUS の発表では特に H 因子関連蛋白質 : CFHR5 の遺伝子異常に関する研究報告が多く見られました。今後は aHUS 患者に見られる CFHR5 の変異がどの程度 aHUS の病態形成に関与しているのか、といった点にも着目していきたいと思います。また aHUS の動物モデルに properdin に対する抗体を添加すると HUS に代表的な 3 主徴が改善した、という報告があり、新規補体薬に関する研究も精力的に行われていることを実感致しました。

これまで私は、aHUS 患者の診断体制の構築や本邦の患者背景を明らかにすることを研究目的としてきました。今回この学会に参加して、今後はより分子レベルで aHUS という疾患の病態解明に取り組んでいきたいと考えるようになりました。溶血試験においても、なぜ H 因子異常のみが溶血を起こし、C3 変異は溶血を起こさないのか、またこの違いは生体においても何らかの差を生むのだろうか等々疑問点はたくさんあります。今回の学会参加・発表の経験を糧に、今後もより精力的に aHUS と補体に関する研究に邁進して参りたいと思います。

【謝辞】

本稿に示す研究成果は、多くの先生方にご協力いただき成し得たものです。本研究の遂行に日頃よりご指導いただいております先生方に心より御礼申し上げます。

今回、XXVI International Complement Workshop 参加に際し、International Complement Society と International Complement Workshop – Local Organizing Committee より Poster Presenting Award を賜り、参加できました事を感謝いたします。

九州大学大学院農学研究院 水族生化学研究室の紹介

中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

水族生化学研究室は、当時研究室の助教授だった矢野友紀先生によって 1984 年に魚類の免疫機構に関する研究が始まって以来、補体系を主要な研究テーマに据え、免疫系の進化、魚病の免疫学的な防除法、そして魚類に特有な免疫系の解明を目指し、生化学・分子生物学的研究を続けています。

以下に、私たちの研究室における補体研究の概要を紹介させていただきます。

1. コイ科魚類が実験動物

まず、私たちが研究対象とするコイ科 (*Cyprinid*) の魚たちを紹介致します。まず、ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) は、発生学や遺伝学の脊椎動物モデルとして幅広く利用されています。ゲノム、遺伝子発現の情報も豊富で、免疫関連遺伝子のホモログ探しに利用します。また、ゲノム編集も適用可能です。次に、コイ (*Cyprinus carpio*) は、丈夫で飼育しやすい淡水魚で、大型個体を養魚場から入手できることから、比較的多量のサンプルを必要とするタンパク質・細胞レベルの実験に最適です。偽四倍体種(染色体数 $2n=100$) であり、多くの遺伝子が多重化しています。近年、全ゲノムのドラフトデータが公開されました。3つめの魚種はギンブナ (*Carassius auratus langsdorffii*) です。これは自然界で雌性発生によりクローリー増殖した三倍体 ($3n=150$) で、特に MHC 拘束性の獲得免疫応答を解析するのに適しています。当研究室では、S3N および OB1 の 2 クローンと、S3N をキンギョと交配して得た四倍体クローン (S4N) を維持しています。これら 3 魚種を

使い分けることにより、近交系が利用できるマウスやラットに匹敵する、免疫学の実験動物として活用することができます。

2. 補体成分アイソタイプの多様性

哺乳類補体と同等の全活性化経路を備える硬骨魚類の補体系には、多くの補体成分が多重化遺伝子によってコードされたアイソタイプとして存在しているという大きな特徴があります¹⁾。特に C3、C4、B 因子、C7 などは染色体の倍数性を問わず幅広い魚樹で多重化しており、それらのアイソタイプ間の機能分化は、補体成分遺伝子の多重化の進化的な意義を理解するための鍵であると捉えています。特に C3 アイソタイプを例に挙げますと、硬骨魚類の C3 アイソタイプは、分子内チオエステルの開裂と標的への結合性を支配するアミノ酸が異なる 2 種 (触媒性 His を持つ His 型およびそれを持たない Non-His 型) に大別され、コイ C3 を用いた機能解析では、微生物への結合特異性スペクトルの広さなどの点で、Non-His 型がむしろ多能な役割を担っていることが示唆されました²⁾。C4 アイソタイプにも C3 と同様なアミノ酸置換があり、その機能分化が示唆されます³⁾。

3. CD46 様膜型制御因子の機能

硬骨魚類血清の溶血活性を測ると、哺乳類と比較して古典経路の活性は低いものの、第二経路は著しく高い活性を示します⁴⁾。その理由として、魚の第二経路を構成する成分の濃度が高いわけではないの

で、その活性化を制御する機構に原因があるのかもしれないと思い、魚類補体制御因子の同定を試みることに致しました。既に H 様因子は Claudia Kemper さんらの先駆的な研究で魚類からも見つかりっていましたが、私たちは CD46 様の膜型制御因子をゼブラフィッシュゲノムデータベース中に見つけ、その配列を足掛かりに、コイとギンブナの CD46 ホモログを同定し、機能解析を進めることができました⁵⁾。ギンブナでは、このホモログが T 細胞上に発現し、mitogen による T 細胞の増殖応答と関連することが示唆されています⁶⁾。今後、補体と獲得免疫や恒常性維持機構との機能的なリンクの系統発生を、硬骨魚類の CD46 ホモログをモデルに解明を進めます。

4. 自然免疫の潜在能力を探る

私たちは、哺乳類と比べて高い補体第二経路活性を示すことから、硬骨魚類では抗体に依存しない自然免疫の重要性が高いのではないかと、単純に考えていました。この仮説を改めて思い出したのは、2002 年に機能的 *rag1* 欠損ゼブラフィッシュ⁷⁾が発表された時です。抗体や TCR 遺伝子の構築に必須の *rag1* を欠損すれば、完全な獲得免疫不全に陥るはずですが、その *rag1^{+/+}* mutant 魚は conventional な飼育条件下で正常に生育し、子孫を残すことができます。魚類の免疫を研究する立場としては、「硬骨魚類では生体防御に果たす獲得免疫の役割が哺乳類よりは軽く、もしかすると哺乳類以上に強力な自然免疫機能が備わっているのかもしれない。そういえば、補体成分遺伝子もやたら沢山あるし...」とワクワクしました。

さらに近年、哺乳類の血小板の機能を果たす栓球（有核細胞）が、魚類では CR3 を発現する貪食細胞

としても機能することを明らかにできました⁸⁾。

このような特徴をもつ硬骨魚類の自然免疫が感染防御を支える潜在能力に迫るために、獲得免疫不全状態である *rag1^{+/+}* ゼブラフィッシュは最適なモデル動物であると確信しております。

5. 魚の臨床の課題

私が関係する水産科学の分野では、養殖対象である水生生物（魚やエビなど）の感染症を免疫学的にコントロールすることが、食の安全・安心の面から重要視されています。したがって、免疫系の進化などの基礎的側面に対する興味は尽きない一方で、水産用ワクチン、アジュバント、免疫賦活剤などのデザインに比較免疫学的な補体研究の知見を還元することも私たちの重要な使命です。そのために、今後、補体に着目した抗炎症作用に関する研究にも積極的に取り組みたいと考えております。

これまで「サカナのホタイ」研究を暖かく励ましてくださいました補体学会の先生方に、この紙面をお借りして深く感謝申し上げますとともに、今後もご批判、ご助言をいただけますよう、お願い申し上げます。

【文献】

- 1) Nakao M, Tsujikura M, Ichiki S, Vo TK, Somamoto T. The complement system in teleost fish: progress of post-homolog-hunting researches. *Dev Comp Immunol.* 35: 1296-308 (2011)
- 2) Ichiki S, Kato-Unoki Y, Somamoto T, Nakao M. The binding spectra of carp C3 isotypes against natural targets independent of the

- binding specificity of their thioester. *Dev Comp Immunol.* 38:10-6 (2012)
- 3) Mutsuro J, Tanaka N, Kato Y, Dodds AW, Yano T, Nakao M. Two divergent isotypes of the fourth complement component from a bony fish, the common carp (*Cyprinus carpio*). *J Immunol.* 175: 4508-17 (2005)
- 4) Nakao M, Yano T. Structural and functional identification of complement components of the bony fish, carp (*Cyprinus carpio*). *Immunol Rev.* 166: 27-38 (1998)
- 5) Tsujikura M, Nagasawa T, Ichiki S, Nakamura R, Somamoto T, Nakao M. A CD46-like molecule functional in teleost fish represents an ancestral form of membrane-bound regulators of complement activation. *J Immunol.* 194:262-72 (2015)
- 6) Nur I, Abdelkhalek NK, Motobe S, Nakamura R, Tsujikura M, Somamoto T, Nakao M. Functional analysis of membrane-bound complement regulatory protein on T-cell immune response in ginbuna crucian carp. *Mol Immunol.* 70:1-7 (2016)
- 7) Wienholds E, Schulte-Merker S, Walderich B, Plasterk RHA. Target-selected inactivation of the zebrafish rag1 gene. *Science* 297: 99-102 (2002)
- 8) Nagasawa T, Nakayasu C, Rieger AM, Barreda DR, Somamoto T, Nakao M. Phagocytosis by thrombocytes is a conserved innate immune mechanism in lower vertebrates. *Front Immunol.* 5:445 (2014)



農学部水産科学分野の研究室対抗ソフトボール大会（2016年10月開催）で優勝しました
現在の研究室メンバー（前列左から4人目=中尾実樹、5人目=榎本智軌准教授）

第 54 回 日本補体学会学術集会開催のご案内

下記の要領で、第 54 回日本補体学会学術集会を福島県福島市で開催致します。
多くの皆様方のご参加をお待ちしております。

1. 会期： **2017 年 9 月 1 日（金）、2 日（土）**

2. 会場： **コラッセふくしま 4 階・多目的ホール**（福島駅西口）

（<http://www.corasse.com/>）

〒960-8053

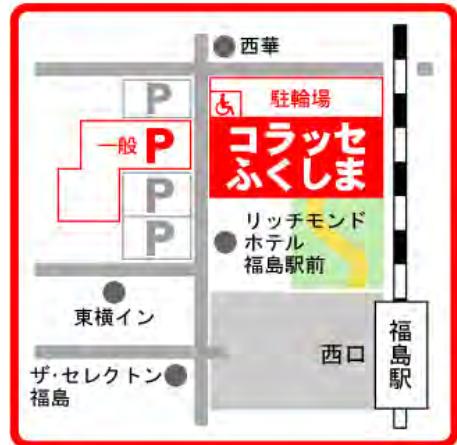
福島県福島市三河南町 1 番 20 号

TEL:024-525-4089（代）

3. 参加費： 一般 5,000 円

学生 2,000 円

懇親会費 3,000 円



4. 抄録締切り： **2017 年 6 月 26 日（月）必着**

5. 抄録送付先： 後述の方法で作成の上、下記 E-mail まで送付してください。

immunol@fmu.ac.jp (@の前の文字は L の小文字です)

6. 内容： 特別講演・ランチョンセミナー・ミニシンポジウム（またはワークショップ）を企画中。

7. 集会日程（仮）： 9 月 1 日（金） 13:00 ～ 18:00 集会
18:30 ～ 20:30 懇親会
2 日（土） 9:00 ～ 17:00 集会
13:00 ～ 14:00 日本補体学会総会

（確定後の日程は、学会ホームページとプログラムに掲載されます。）

8. 懇親会会場： 展望レストラン「Ki-ichigo（きいちご）」（会場 12 階（最上階））
9 月 1 日（金） 18:30 ～ 20:30（仮）
TEL:024-536-6158

9. 発表方法：すべて口頭発表、PC プレゼンションで行います。
一般演題は、討論も含めて 15 分程度を予定しています。
詳細は講演集にてご案内いたします。

10. 抄録作成と送付方法：
別紙抄録作成および送付要項を参照の上、添付見本のように作成し（補体学会のホームページから Microsoft Word サンプルをテンプレートにお使い下さい。）、Word ファイルと PDF ファイルの両者を集会事務局まで E-mail (immunol@fmu.ac.jp (@の前の文字は L の小文字です)) でお送り下さい。電子媒体のみで行いますので、ギリシャ文字などの特殊文字にご注意ください。
なお、送付の際には、受領者の送付先（E-mail アドレス）を明記してください。

11. 日本補体学会学術集会の優秀賞募集について：
今回、補体学会学術集会に応募された演題発表者の中から、原則 1 名を「優秀賞」として選考し、顕彰します。
詳しい募集要項が決定しましたら、補体学会ホームページに掲載予定です。奮ってご応募ください。

12. 交通費補助：学生参加者（演題発表者）には、交通費の補助があります。
演題送付の際に「交通費補助希望」と明記下さい。

13. 会場へのアクセス：

コラッセふくしま 4 階・多目的ホール (福島駅西口から北へ 300m)
(<http://www.corasse.com/access>) をご参照下さい。

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

補体学会学術集会抄録作成および送付要項

<作成>

1. ページ設定をA4用紙にして、2段組みで作成して下さい。(1演題あたり1~2枚)
2. 別紙の見本を参考に、[目的] (あるいは[はじめに])、[方法]、[結果]、[考察]、[結論] (あるいは[総括])、および[文献]の順に記述して下さい。

図表を含む抄録を歓迎します(ただし、既刊の印刷物から写真・図板を転載される場合は権利者に転載の許諾を得て頂き、原稿内にその旨わかるように明記してください。また、掲載を予定されている写真・図板を使用される場合には、その使用には十分ご注意をお願いいたします。)。

引用文献は、本文中では引用順に右肩に番号をつけ、[文献]の項では番号順に、著者名(筆頭著者名のみ)、雑誌名、巻、ページ、および西暦年号(括弧内に入る)を、この順に記載して下さい。

- 例：
- 1) 宮本祐二 他、医学のあゆみ、132: 305 (1985)
 - 2) Matsushita M. et al. *J. Exp. Med.* 176: 1497 (1992)

3. 用紙は、上下3.0cm、左右2.0cmずつのマージンをとって下さい。
4. 抄録集(補体Vol.52(No.1))の体裁を統一したいので、下記の点に注意して、できるだけ見本のように印字して下さい。
 - ・ フォントは、日本語はMS明朝、英語と数字はCenturyを用い、英字、数字は半角として下さい。
 - ・ 文字サイズは、演題名は14ptを用い、氏名、所属、および本文には10ptを用いて下さい。
 - ・ 行間は、1行として下さい。
 - ・ 演題、氏名、所属は中央揃えにして下さい。
 - ・ 演題名から1行あけて氏名を記入し、その下に所属を記入して下さい。
 - ・ 複数の施設の場合は、施設所属者の氏名の右肩に数字をつけ、施設には左肩に数字を付けて、順に所属を記入して下さい。
 - ・ 所属より1行あけて、英字のタイトル、氏名、および所属を、それぞれ行を変えて印字して下さい。
 - ・ 英語の所属より1行あけてから本文を印字して下さい。
 - ・ 2ページ目は、左上隅から印字して下さい。

5. 図表も、大きさを考慮の上、鮮明な原図あるいは写真（白黒）を原稿中に添付して下さい。
(縮小あるいは拡大の指定はご遠慮下さい)

<送付>

1. 電子媒体のみでの抄録受付とします。

Windows, Mac とともに、なるべく補体研究会ホームページからダウンロードした Microsoft Word サンプルファイルをテンプレートにして作成し、Word ファイル及び PDF ファイル両者を E-mail (immunol@fmu.ac.jp (@の前の文字は L の小文字です)) の添付ファイルとして集会長宛に送ってください。Word をご使用になっておられない場合は、PDF ファイルとともに、text ファイルを一緒にお送りください。PDF ファイルは、Adobe Acrobat Reader でギリシャ文字などの特殊文字が正しく印字されているかどうかをご確認後ご送付ください。

2. 抄録送付時に会員番号をお知らせ下さい。

会員番号は、学会誌「補体」送付時にお知らせしています。または、日本補体学会から送られてくる封筒のお届け先住所に記載していますのでご確認下さい。

3. 締め切りは、2017年6月26日（月）必着とします。

抄録原稿を受け取り次第、受領メールを E-mail にて送付いたします。抄録を送付されたにもかかわらず 6 月 27 日（火）までに抄録受領メールが届かない場合は、恐れ入りますが集会長までご連絡願います。

抄録集は全国の医学系図書館へ配布されますので、内容・体裁ともに充実したものに致したく、宜しくご協力下さいますようお願い申し上げます。

補体学会賛助会員

(五十音順)

旭化成ファーマ株式会社
アレクシオンファーマ合同会社
CSL ベーリング株式会社

一般社団法人日本補体学会役員

会長 若宮 伸隆
副会長 堀内 孝彦・井上 徳光

理事
(五十音順) 大澤 獻
大谷 克城
岡田 秀親
木下 タロウ
関根 英治
塚本 浩
中尾 実樹
水野 正司
村上 良子

監事 藤田 穎三・山本 哲郎

事務局長 井上 徳光

次期集会長 関根 英治

次々期集会長 塚本 浩

・・・・・編集後記・・・・・

2016 年も既に年末となり、また新たな年を迎えようとしています。今年は、金沢での International Complement Workshop 開催という大きなイベントがありました。かつて京都で行われ、私の知る限りでは日本で開催された二回目の補体の国際学会であったかと思います。今回の学会は、日本での開催ということもあり、また、抗補体薬の臨床応用で補体への関心が高まっていることも手伝ってか、日本から多数の参加者がありました。今後、日本補体学会の発展につながっていくのではないかと、楽しみです。

本号の発刊にあたり、執筆依頼を快くお引き受けいただいた先生方、一緒に査読（チェック）を快くお引き受けいただきました堀内先生、井上先生にはこの紙面を借りまして、心より御礼申し上げます。

皆様と一緒に学会誌をより良いものとするため、会員の皆様の投稿、ご意見をお待ちしております。

編集委員長

名古屋大学大学院医学系研究科

腎不全システム治療学寄附講座

水野正司

補体 第 53 卷 第 1 号 (2016)

平成 28 年 12 月 19 日 発行

編集委員長 水野正司

発 行 者 若宮伸隆

発 行 所 一般社団法人日本補体学会

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-2

大阪府立成人病センター研究所 腫瘍免疫学部門内

一般社団法人日本補体学会事務局

TEL: 06-6972-1181 (ext. 4101) Fax: 06-6973-5691

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

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

印 刷 所 秀光印刷株式会社

〒536-0014 大阪市城東区鴨野西 2 丁目 8-23

TEL: 06-6965-5880 Fax: 06-6965-5881

