

# 補体

Vol.55  
No.1  
2018

■ 第55回日本補体学会学術集会講演集 ..... 集会長 塚本 浩  
Proceeding of the 55<sup>th</sup> Japanese Complement Symposium

招待講演 「Pathogenesis and experimental therapeutics of complement-mediated diseases in murine models」

..... Wenchao Song

特別講演 「遺伝性血管性浮腫の病態と臨床における疑問点」

..... 大澤 勲

ランチョンセミナー 「The role of complement in disease pathogenesis and as a target for innovative therapeutic interventions」

..... Sacha Zeerleder

シンポジウム 「補体を標的とする治療の現状と展望」

… 加藤秀樹・奥 健志・西村純一・三澤園子・村山正承・今井優樹



日本補体学会  
The Japanese Association for Complement Research

# 補体

VOL. 55. No.1 (2018)

## 目 次

■ 第55回日本補体学会学術集会講演集	
第55回日本補体学会学術集会の開催によせて	塚本 浩 … 1
参加案内	… 2
日程表・プログラム	… 7
招待講演「Pathogenesis and experimental therapeutics of complement-mediated diseases in murine models」	Wenchao Song … 17
特別講演「遺伝性血管性浮腫の病態と臨床における疑問点」	大澤 勲 … 19
ランチョンセミナー「The role of complement in disease pathogenesis and as a target for innovative therapeutic interventions」	Sacha Zeerleider … 21
シンポジウム「補体を標的とする治療の現状と展望」	
加藤秀樹・奥 健志・西村純一・三澤園子・村山正承・今井優樹	… 23
一般演題	… 31
■ 日本補体学会優秀賞候補者募集のお知らせ	… 69
■ 日本補体学会奨励賞候補者募集のお知らせ	… 70
■ 一般社団法人日本補体学会入会のご案内	… 71
■ 会員登録事項変更届	… 73
■ 一般社団法人日本補体学会定款	… 75
■ 一般社団法人日本補体学会補体学会細則	… 90
■ 日本補体学会学会誌 論文投稿規定	… 93
■ 日本補体学会学会誌の転載許諾基準および転載許諾申請方法	… 99
■ 一般社団法人日本補体学会賛助会員・理事一覧	… 103
■ 編集後記	… 104

# 第55回日本補体学会学術集会の開催によせて

第55回日本補体学会学術集会 集会長

塚本 浩

国家公務員共済組合連合会 新小倉病院 診療部長・リウマチ科部長

この度、平成30年8月31日（金）、9月1日（土）に、福岡県北九州市・北九州国際会議場にて、第55回日本補体学会学術集会を開催させていただく運びとなりました。長い歴史の中、北九州市での開催は初めてとなります。そしておそらく平成最後の学術集会となります。

補体学の分野において、補体関連疾患の治療は2010年の抗ヒトC5モノクローナル抗体エクリズマブの承認以降目覚ましい発展を遂げました。エクリズマブの適応は拡大し、エクリズマブが奏功する疾患は病態形成に補体活性化が関与しているという観点から、病態の解明も進みました。そして現在、エクリズマブに続く新規抗補体薬の開発が精力的に行われています。これらの進歩は、本学会でのこれまでの地道な基礎および臨床研究の成果の上に成り立っていることは言うまでもありません。

プログラムの概要ですが、招待講演として、米国ペンシルバニア大学のWenchao Song先生に、マウスモデルを使った補体関連疾患の病因解析と治療法の開発について、C3腎症や非典型溶血性尿毒症症候群を中心にご講演をいただきます。特別講演では次期集会長である埼友草加病院の大澤勲先生に、遺伝性血管性浮腫の病態と治療について、新規薬物療法も含めお話ししていただく予定です。またランチョンセミナーではオランダアムステルダム（8月1日よりスイス ベルン大学）のSacha Zeerleider先生に、病態形成における補体の役割および補体を標的とした革新的治療として寒冷凝集素症に対するC1s阻害療法などについてご講演いただく予定です。

第1日目に行われるシンポジウムは「補体を標的とする治療の現状と展望」と題し、非典型溶血性尿毒症症候群、抗リン脂質抗体症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、ギラン・バレー症候群、関節リウマチ、悪性腫瘍について、6名のエキスパートの先生方から補体を標的とする最新の治療法や新規治療法開発の展望などについてご講演いただく予定です。

今回も基礎および臨床研究、症例報告など幅広い分野から一般演題のご応募をいただきました。内訳では補体関連疾患の治療に関する演題が多いようです。また従来からの優秀賞に加え、今回より学生や若手の演題発表者を対象に奨励賞が設けられ、若手の先生からも多数の演題のご応募をいただいています。

まだ残暑の厳しい時期となりますので、多数の皆様のご参加を心よりお待ちするとともに、学術集会が活発な討論と有意義な意見交換の場となることを心より祈念いたします。

## 第55回日本補体学会学術集会 参加案内

会 場 北九州国際会議場 2F 国際会議室  
<http://convention-a.jp/kokusai-kaigi/>  
〒802-0001 福岡県北九州市小倉北区浅野3-9-30  
TEL : 093-541-5931

受 付 第1日目 8月31日（金） 11：30～17：00  
第2日目 9月1日（土） 8：30～15：30  
北九州国際会議場 2F  
参加費：一般 5,000円 学生（研修医） 2,000円  
懇親会費： 3,000円

発表方法

- ・全て口頭発表、PCプレゼンテーションで行います。
- ・一般演題は、発表10分、討論5分です。
- ・セッション開始30分前までに、PC受付・試写をお済ませください。
- ・データ持込（CD-R、USBメモリー）、もしくはPC本体持込にてお願ひいたします。
- ・発表データのファイル名は、[演題番号+氏名]としてください。
- ・会場には以下のPCを準備いたします。  
OS : Windows  
アプリケーション : PowerPoint 2007/2010/2013/2016
- ・動画を含む場合、あるいはファイルの互換性に問題が予想される場合は、ご自身のPC本体をお持込ください。
- ・メディアを介したウィルス感染の事例がありますので、最新のウィルス駆除ソフトでチェックしてください。
- ・PC本体持込の方へ  
※接続には、Mini D-sub15ピン3列コネクター（通常のモニター端子）が必要となります。PC本体の外部モニター出力端子の形状を必ず確認し、必要な場合は専用の接続アダプターをご持参ください。  
※電源アダプターをご持参ください。  
※万一の場合に備え、必ずバックアップ用のデータ（CD-R、USBメモリー）をご持参ください。

理 事 会 9月1日（土） 7：30～ 8：45（2F 21会議室A）

総 会 9月1日（土） 11：20～11：50（2F 国際会議室：学会場）

懇 親 会 8月31日（金） 18：15～20：00（2F リストランテ パッソ デル マーレ）

優 秀 賞	第55回日本補体学会学術集会に応募された演題発表者の中から、原則1名を優秀賞として選考し、顕彰します。優秀賞受賞者には、賞状と副賞（10万円：複数の場合は折半）を賞与します。総会の中で表彰式を行います。
奨 励 賞	第55回日本補体学会学術集会に応募された学生（大学院・大学院生または35歳以下の研究者）の演題発表者の中から、原則1名を奨励賞として選考し、顕彰します。奨励賞受賞者には、賞状と副賞（5万円：複数の場合は折半）を賞与します。閉会の辞の前に表彰式を行います。
交通費補助	学生参加者（筆頭発表者）には、交通費の補助があります。演題送付の際に「交通費補助希望」と明記いただいた方が対象です。なお、一般演題受領通知にお申し出受領の表記がない方で、希望される方は、8月10日（金）までに運営事務局 <a href="mailto:hotai2018@congre.co.jp">hotai2018@congre.co.jp</a> までご連絡ください。
年 会 費	会員で年会費未納の方、および新たに入会される方は、学術集会会場受付に、日本補体学会事務局受付を併設いたしますので、そちらでご納入ください。 一般：5,000円 学生：3,000円（学生証身分証明書をご用意ください）

【一般社団法人日本補体学会 事務局】

〒541-8567 大阪市中央区大手前3-1-69

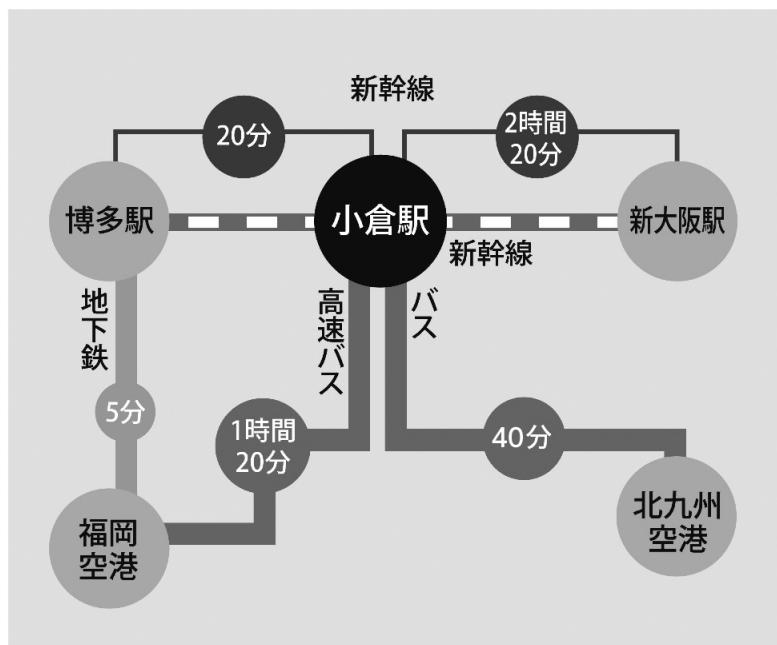
大阪国際がんセンター研究所

腫瘍免疫学部内

事務局長 井上徳光 E-mail：[hotai-gakkai@umin.ac.jp](mailto:hotai-gakkai@umin.ac.jp)

TEL & FAX：06-6314-6802

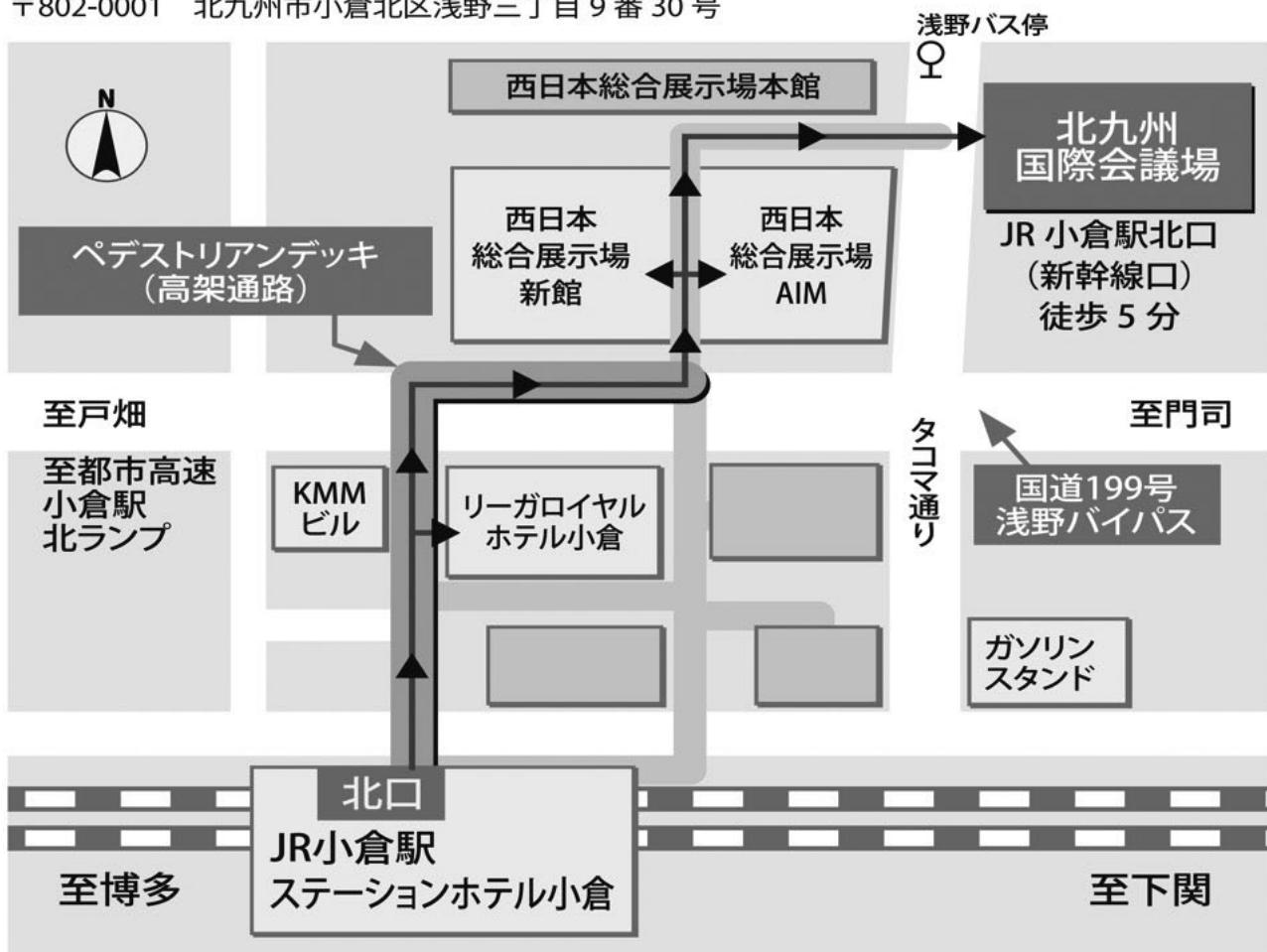
<アクセス>



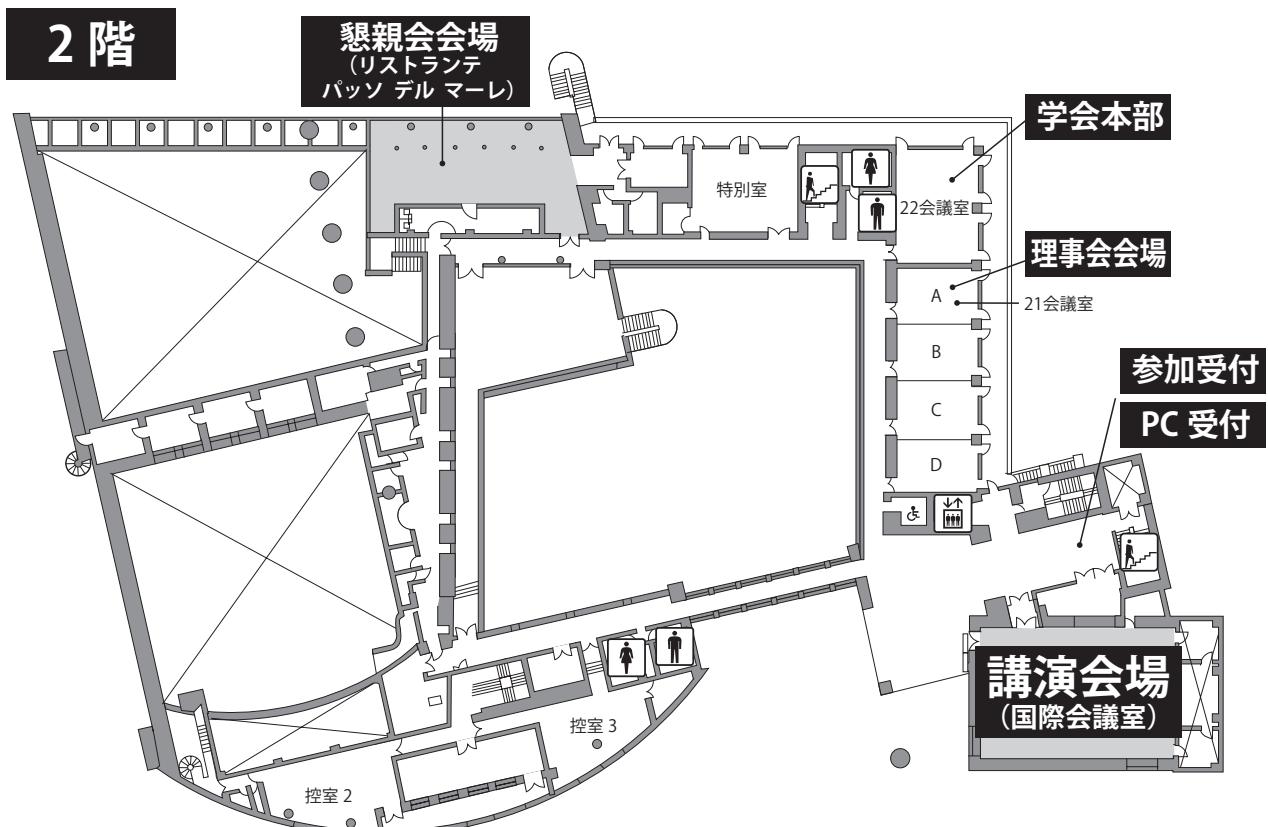
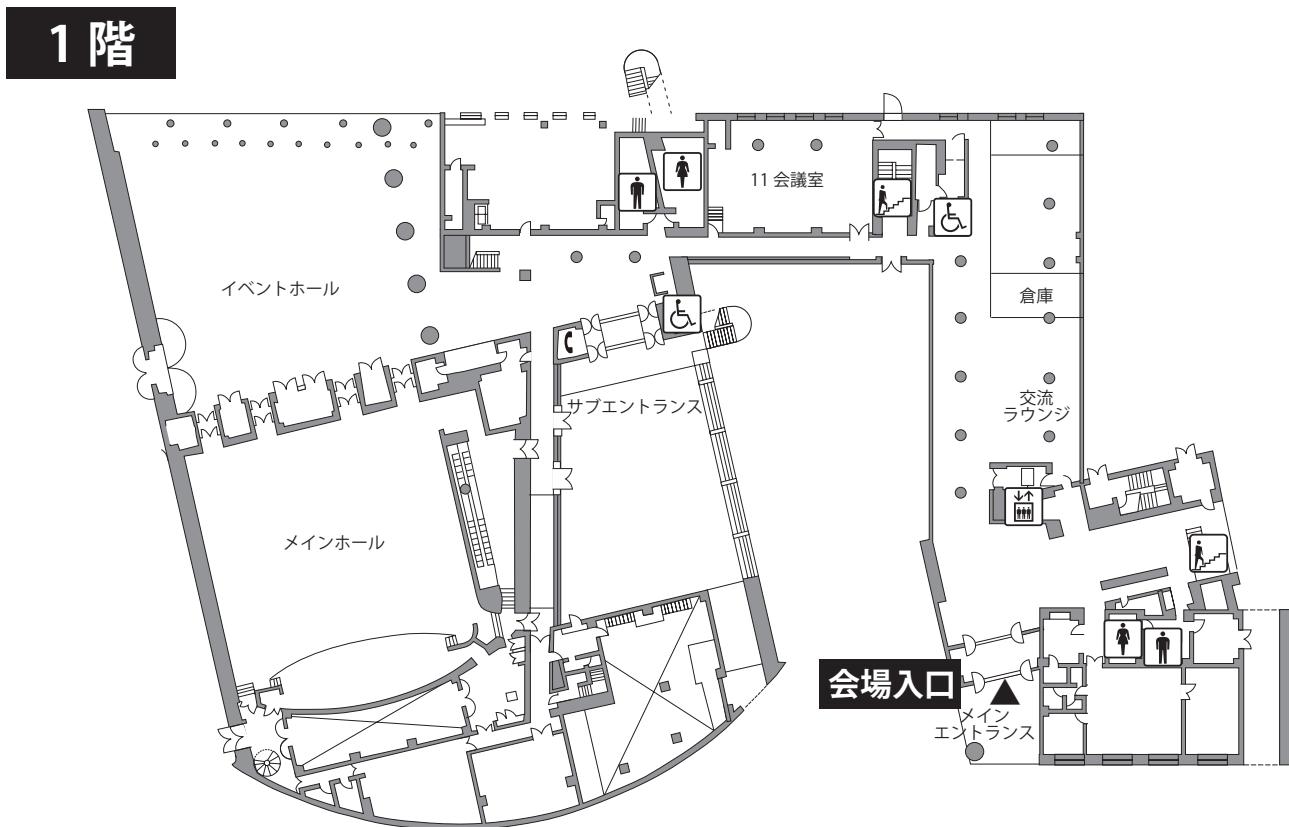
- JR JR 小倉駅より 徒歩 5 分
- バス 西鉄小倉駅バスセンターより 徒歩 8 分
- 車 北九州都市高速道路 小倉駅北ランプより 1 分 足立ランプより 8 分
- フェリー 新門司港より 車で 30 分 砂津港より 徒歩 2 分
- 飛行機 北九州空港より 路線バスで約 40 分 (小倉駅バスセンターアンダーバス) 車で約 30 分  
福岡空港より 高速バスで約 1 時間 20 分 (小倉駅前下車) 新幹線で約 30 分

## 北九州国際会議場

〒802-0001 北九州市小倉北区浅野三丁目 9 番 30 号



<会場案内図>



# Proceeding of the 55<sup>th</sup> Japanese Complement Symposium (2018)



会期：2018年8月31日（金）・9月1日（土）

会 場：北九州国際会議場 2F 国際会議室  
(福岡県北九州市小倉北区浅野3-9-30)

集会長：國家公務員共済組合連合会 新小倉病院

## 診療部長・リウマチ科部長

塚本 浩

〒803-8505 北九州市小倉北区金田1-3-1

TEL : 093-571-1031

E-Mail : hotai2018@e

E-Mail : [total2010@congpe.com.jp](mailto:total2010@congpe.com.jp) (連合事物局)

## 日 程 表

8月31日（金） 11：30 受付開始

12:30～12:40	開会の辞	塚本 浩
12:40～14:10	セッションA：補体関連疾患 座長：奥 健志、日高義彦	
14:10～14:15	休憩	
14:15～16:45	シンポジウム：補体を標的とする治療の現状と展望 座長：堀内孝彦、関根英治	
16:45～17:00	休憩	
17:00～18:00	招待講演：Pathogenesis and experimental therapeutics of complement-mediated diseases in murine models 演者：Wenchao Song 座長：井上徳光	
18:15～20:00	懇親会「リストランテ パッソ デル マーレ」(学会場と同フロア)	

9月1日（土） 8：30 受付開始

9:00～10:00	セッションB：補体活性化経路・補体制御因子 座長：村上良子、西村純一
10:00～10:05	休憩
10:05～11:05	セッションC：動物モデル 座長：今井優樹、大谷克城
11:05～11:20	休憩
11:20～11:50	総会・優秀賞表彰
11:50～12:00	休憩
12:00～13:00	ランチョンセミナー：The role of complement in disease pathogenesis and as a target for innovative therapeutic interventions 演者：Sacha Zeerleder 共催：バイオベラティブ・ジャパン株式会社 座長：木下タロウ (昼食をご用意しております)
13:00～13:15	休憩
13:15～14:00	セッションD：症例・補体検査 座長：中尾実樹
14:00～14:10	休憩
14:10～15:10	特別講演：遺伝性血管性浮腫の病態と臨床における疑問点 演者：大澤 勲 共催：シャイアー・ジャパン株式会社 座長：若宮伸隆
15:10～15:20	休憩
15:20～16:05	セッションE：血栓性微小血管障害・腎疾患 座長：水野正司
16:05～16:20	奨励賞表彰 閉会の辞 若宮伸隆 塚本 浩

# 第55回日本補体学会学術集会・学術プログラム

第1日 8月31日(金)

## セッションA：補体関連疾患

12:40～14:10

座長：奥 健志、日高義彦

### A-1 著明な低補体血症を伴い悪性関節リウマチと鑑別を要したクリオグロブリン血管炎の1例

西田 知也<sup>1)</sup>、三嶋 耕司<sup>1)</sup>、赤星 光輝<sup>1)</sup>、龍溪 智史<sup>1)</sup>、猪口 翔一朗<sup>1)</sup>、綾野 雅宏<sup>1)</sup>、木本 泰孝<sup>2)</sup>、三苦 弘喜<sup>1)</sup>、有信 洋二郎<sup>1)</sup>、赤司 浩一<sup>1)</sup>、堀内 孝彦<sup>2)</sup>、新納 宏昭<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、

<sup>2)</sup>九州大学病院 別府病院 内科、

<sup>3)</sup>九州大学医学研究院 医学教育学講座

### A-2 MDA5抗体皮膚筋炎患者における補体とI型IFN signatureの関連

小野 伸之、丸山 曜人、堺 真梨子、中尾 嘉修、貞永 裕梨、小荒田 秀一、多田 芳史  
佐賀大学医学部付属病院 膠原病・リウマチ内科

### A-3 Mindsに準拠した先天性補体欠損症治療ガイドライン

井林 雄太、押領司 大助、吉村 元樹、吉村 恵美、堀内 孝彦  
九州大学病院別府病院 免疫・血液・代謝内科

### A-4 分娩後に血栓性微小血管障害(TMA)を併発した全身性エリテマトーデス(SLE)の一例

藤本 翔<sup>1)</sup>、三苦 弘喜<sup>1)</sup>、塚本 浩<sup>2)</sup>、中野 翔太<sup>1)</sup>、村上 哲晋<sup>1)</sup>、綾野 雅宏<sup>1)</sup>、赤星 光輝<sup>1)</sup>、有信 洋二郎<sup>2)</sup>、新納 宏昭<sup>3)</sup>、赤司 浩一<sup>2)</sup>、堀内 孝彦<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、

<sup>2)</sup>九州大学医学研究院 病態修復内科学、

<sup>3)</sup>九州大学医学研究院 医学教育学、

<sup>4)</sup>九州大学病院別府病院 内科

### A-5 aHUSによる一次腎喪失後の二次腎移植例における補体因子の経時的観察

三浦 正義<sup>1)</sup>、東山 寛<sup>1)</sup>、大谷 克城<sup>2,3)</sup>、若宮 伸隆<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup>札幌北楡病院 腎臓移植外科・泌尿器科、

<sup>2)</sup>酪農学園大学 食と健康学類、

<sup>3)</sup>日本補体学会

## A-6 細胞外ヒストンは細胞表面のCrryおよびCD59a発現を低下させる

水野 智博<sup>1)</sup>、長野 文彦<sup>1)</sup>、水野 正司<sup>2)</sup>、岩田 歩実<sup>1)</sup>、高橋 和男<sup>3)</sup>、坪井 直毅<sup>4)</sup>、  
丸山 彰一<sup>4)</sup>、永松 正<sup>1)</sup>、今井 優樹<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>名城大学薬学部 薬効解析学、

<sup>2)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学、

<sup>3)</sup>藤田保健衛生大学 腎内科学、

<sup>4)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、

<sup>5)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学

## シンポジウム：補体を標的とする治療の現状と展望

14:15～16:45

座長：堀内孝彦、関根英治

### S-1 非典型溶血性尿毒症症候群

加藤 秀樹

東京大学医学部 社会連携講座 糖尿病・生活習慣病予防講座

### S-2 抗C1q抗体の習慣流産における関与

奥 健志

北海道大学大学院医学研究院 免疫代謝内科学教室

### S-3 発作性夜間ヘモグロビン尿症

西村 純一

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

### S-4 JET-GBS study：ギラン・バレー症候群に対するエクリズマブ療法

三澤 園子<sup>1)</sup>、桑原 聰<sup>1)</sup>、楠 進<sup>2)</sup>、JET-GBS study group

<sup>1)</sup>千葉大学大学院医学研究院 神経内科学、

<sup>2)</sup>近畿大学医学部神経内科

### S-5 CTRP6を治療標的とした関節リウマチの治療

村山 正承<sup>1,2)</sup>、岩倉 洋一郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京理科大学 生命医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター、

<sup>2)</sup>聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学教室

### S-6 補体制御によるがん免疫療法の開発

今井 優樹

名古屋市立大学大学院医学系研究科 免疫学

座長：井上徳光

Pathogenesis and experimental therapeutics of complement-mediated diseases in murine models

Wenchao Song

Department of Systems Pharmacology and Translational Therapeutics,  
Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

第2日 9月1日(土)

セッションB：補体活性化経路・補体制御因子

9:00～10:00

座長：村上良子、西村純一

B-1 硬骨魚類における古典経路の機能解析から系統発生学的考察

中尾 実樹、岩永 彩代、長澤 貴宏、榎本 智軌

九州大学大学院農学研究院

B-2 血清の細胞外小胞による自然免疫制御と補体の役割

押海 裕之<sup>1,2)</sup>、福島 好<sup>1)</sup>、フジワラ アイカ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>熊本大学大学院生命科学研究所 免疫学分野学、

<sup>2)</sup>PRESTO JST

B-3 PIGT遺伝子欠損によるインフラマソーム活性化メカニズムの解明

大里 真幸子<sup>1)</sup>、村上 良子<sup>2)</sup>、植田 康敬<sup>1)</sup>、西村 純一<sup>1)</sup>、金倉 讓<sup>1)</sup>、木下 タロウ<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、

<sup>2)</sup>大阪大学微生物病研究所 篠本難病解明寄附研究部門

B-4 Complement Receptor 1 (CD35) はヒト造血において機能的な新規幹細胞分画を規定する

次郎丸 高志<sup>1,2)</sup>、宮脇 恒太<sup>1)</sup>、森 康雄<sup>1)</sup>、岩崎 浩己<sup>2)</sup>、前田 高宏<sup>1)</sup>、赤司 浩一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学 病態修復内科学、

<sup>2)</sup>国立病院機構 九州医療センター 血液内科

セッションC：動物モデル

10:05～11:05

座長：今井優樹、大谷克城

C-1 補体副経路を標的とした右室起源致死性不整脈に対する新たな治療法の開発

伊藤 章吾<sup>1)</sup>、関 優久<sup>1)</sup>、湯浅 慎介<sup>1)</sup>、小室 仁<sup>1)</sup>、勝木 俊臣<sup>1)</sup>、木村 舞<sup>1)</sup>、岸野 喜一<sup>1)</sup>、

楠本 大<sup>1)</sup>、鈴木 邦道<sup>2)</sup>、柚崎 通介<sup>2)</sup>、福田 恵一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>慶應義塾大学医学部 循環器内科、

<sup>2)</sup>慶應義塾大学大学院医学研究科 生理学

C-2 Programmed cell death 1の老年Q137E 変異リボソーム蛋白質S19遺伝子  
ノックインC57BL/6J雌マウスの役割

西浦 弘志、中正 恵二、山根木 康嗣

兵庫医科大学・病理学講座・病理診断部門

C-3 MASP-1、MASP-3はレクチン経路、第二経路の活性化に独立して寄与する

林 学<sup>1)2)</sup>、石田 由美<sup>1)</sup>、町田 豪<sup>1)</sup>、尾形 裕介<sup>1)</sup>、大森 智子<sup>1)</sup>、高住 美香<sup>1)2)</sup>、  
遠藤 雄一<sup>1)</sup>、関亦 正幸<sup>3)</sup>、伊川 正人<sup>4)</sup>、大平 弘正<sup>2)</sup>、藤田 穎三<sup>5)</sup>、関根 英治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>福島県立医科大学 免疫学講座、

<sup>2)</sup>福島県立医科大学 消化器内科学講座、

<sup>3)</sup>福島県立医科大学 附属放射性同位元素研究施設、

<sup>4)</sup>大阪大学・遺伝情報実験センター 遺伝子機能解析分野、

<sup>5)</sup>福島県立総合衛生学院

C-4 MRL/*lpr*マウスのループス様糸球体腎炎におけるMASP-1/3の役割

町田 豪<sup>1)</sup>、坂本 夏美<sup>1)</sup>、石田 由美<sup>1)</sup>、高橋 実<sup>1)</sup>、藤田 穎三<sup>2)</sup>、関根 英治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>福島県立医科大学 免疫学講座、

<sup>2)</sup>福島県立総合衛生学院

ランチョンセミナー

12:00～13:00

座長：木下タロウ

The role of complement in disease pathogenesis and as a target for innovative therapeutic interventions

Sacha Zeerleder

Department of Hematology, Academic Medical Center AMC, Amsterdam, The Netherlands

Department of Immunopathology, Sanquin Research, Amsterdam, The Netherlands

Department of Hematology and Central Hematology Laboratory, Inselspital University Hospital, and

Department for BioMedical Research, University of Bern, Switzerland

共催：バイオベラティブ・ジャパン株式会社

座長：中尾実樹

#### D-1 播種性淋菌感染症を契機に先天性C6欠損症と診断した一例

小暮 雅哉<sup>1)</sup>、島田 利彦<sup>2)</sup>、内田 隆一<sup>1)</sup>、福森 泰雄<sup>3,4)</sup>、大谷 克城<sup>5)</sup>、塙本 浩<sup>6)</sup>、  
若宮 伸隆<sup>5)</sup>、井上 徳光<sup>3,4)</sup>

<sup>1)</sup>草津総合病院 内科、

<sup>2)</sup>京都岡本記念病院 総合診療科、

<sup>3)</sup>日本補体学会検査事務局、

<sup>4)</sup>大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、

<sup>5)</sup>酪農学園大学農食環境学群食と健康学類、

<sup>6)</sup>新小倉病院リウマチ科

#### D-2 補体検査システムにおける検査受諾状況

日高 義彦<sup>1)</sup>、井上 徳光<sup>2,3)</sup>、福森 泰雄<sup>2,3)</sup>、大谷 克城<sup>4)</sup>、若宮 伸隆<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>信州大学医学部小児医学教室、

<sup>2)</sup>大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、

<sup>3)</sup>日本補体学会検査事務局、

<sup>4)</sup>酪農学園大学農食環境学群食と健康学類

#### D-3 デジタルPCR法を用いた日本人のC4遺伝子コピー数多型解析

福森 泰雄<sup>1,2)</sup>、日高 義彦<sup>3)</sup>、中村 道子<sup>1,2)</sup>、大谷 克城<sup>4)</sup>、赤澤 隆<sup>2)</sup>、塙本 浩<sup>5)</sup>、  
若宮 伸隆<sup>4)</sup>、井上 徳光<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>日本補体学会検査事務局、

<sup>2)</sup>大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、

<sup>3)</sup>信州大学医学部小児科、

<sup>4)</sup>酪農学園大学農食環境学群食と健康学類、

<sup>5)</sup>新小倉病院リウマチ科

### 特別講演

14:10～15:10

座長：若宮 伸隆

#### 遺伝性血管性浮腫の病態と臨床における疑問点

大澤 黙

埼友草加病院 腎・透析内科

共催：シャイアー・ジャパン株式会社

座長：水野正司

E-1 補体異常の背景を疑う抗ARS抗体症候群に、急性肝不全を合併したTMAに対してエクリズマブが無効であった一例

山本 理恵<sup>1)</sup>、石本 卓嗣<sup>1)</sup>、石川 重史<sup>1)</sup>、重本 紘実<sup>1)</sup>、吉岡 知輝<sup>1)</sup>、神村 豊<sup>1)</sup>、  
増田 智広<sup>1)</sup>、齋藤 尚二<sup>1)</sup>、加藤 規利<sup>1)</sup>、小杉 智規<sup>1)</sup>、坪井 直毅<sup>1)</sup>、水野 正司<sup>1)</sup>、  
丸山 彰一<sup>1)</sup>、日本補体学会補体検査チーム<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、

<sup>2)</sup>日本補体学会

E-2 腎移植後TMA患者の補体関連因子を評価する後向き多施設研究（中間報告）

藤山 信弘<sup>1,10)</sup>、田崎 正行<sup>2)</sup>、薦原 宏一<sup>3)</sup>、松本 明彦<sup>4)</sup>、原 悠太<sup>5)</sup>、奥見 雅由<sup>6,10)</sup>、  
齋藤 和英<sup>2,10)</sup>、原田 浩<sup>7,10)</sup>、渡井 至彦<sup>8,10)</sup>、井上 徳光<sup>9)</sup>、若宮 伸隆<sup>9)</sup>、佐藤 滋<sup>1,10)</sup>

<sup>1)</sup>秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター、

<sup>2)</sup>新潟大学医歯学総合病院 泌尿器科、

<sup>3)</sup>大阪府立急性期総合医療センター 泌尿器科、

<sup>4)</sup>東京大学医学部附属病院 泌尿器科、

<sup>5)</sup>信州大学医学部附属病院 腎臓内科、

<sup>6)</sup>東京女子医科大学 泌尿器科、

<sup>7)</sup>市立札幌病院 腎臓移植外科、

<sup>8)</sup>名古屋第二赤十字病院 移植外科、

<sup>9)</sup>日本補体学会、

<sup>10)</sup>腎移植後TMAサポートチーム

E-3 C3d補体結合性de novo HLA class II ドナー特異的抗体 (dnDSA) のepitope解析

橋本 光男、木下 朋子、藤田 友梨、今中 岳洋、谷口 歩、山中 和明、吉田 栄宏、  
岸川 英史、西村 憲二

兵庫県立西宮病院 腎疾患総合医療センター

## Pathogenesis and experimental therapeutics of complement-mediated diseases in murine models

Wenchao Song

Department of Systems Pharmacology and Translational Therapeutics, Perelman School of Medicine,  
University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

Complement plays a critical role in host defense but dysregulated complement activation, particularly the alternative pathway (AP), has been implicated in a number of human diseases. To understand the pathogenesis of complement-mediated diseases and facilitate the development of novel therapeutics, we have created and used complement gene-modified mice as experimental models for *in vivo* studies. In this presentation, I will discuss two murine models of kidney disease, C3 glomerulopathy (C3G) and atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS), that were created by gene targeting of properdin and/or factor H (FH). These mice recapitulate many of the characteristic pathology features of the human kidney disease, e.g. proteinuria, dense

deposit in the kidney and eye and crescentic glomerulonephritis of C3G and thrombocytopenia, hemolytic anemia and renal failure of aHUS. Using these mice, as well as mice deficient in other complement components or function-blocking monoclonal antibodies, we have systemically examined the contribution of different complement pathways and effectors in the pathogenic process. Finally, I will discuss how these mouse models have afforded us an experimental platform to conduct in-life studies testing novel therapeutic approaches including mAb therapy and AAV-based gene therapy in the treatment of complement-mediated diseases.

# 遺伝性血管性浮腫の病態と臨床における疑問点

大澤 熱

埼友草加病院 腎・透析内科

Pathological and Clinical Perspectives in Hereditary Angioedema

Isao Ohsawa

Division of Nephrology, Internal Medicine, Saiyu Soka Hospital

## [はじめに]

遺伝性血管性浮腫 (HAE: Hereditary angioedema) は遺伝子の異常により発症するBradykinin (BK) 介在型血管性浮腫の総称で、C1-インヒビター (C1-INH) の遺伝子異常によって生じるHAE type IおよびII (HAE1/2) とC1-INHに異常を認めないHAE with normal C1-inhibitor (HAEnC1-INH) に分類される。本講演では、現在注目されているHAEの病態と臨床における問題点を解説する。

## [病態]

近年、BKが血管内皮細胞に作用し、組織間に血漿成分が漏出する分子生物学的機序が明らかになりつつある<sup>1</sup>。しかし、HAEを発症する遺伝子異常を持つ同一家系内にあっても、症例ごとに重症度が異なるのはなぜであろうか。最近の研究では、BK分解酵素群や毛細血管に作用する様々な分子の異常が関連している可能性が指摘されている。また、HAEnC1-INHでは、凝固系第12因子、プラスミノーゲン、アンギオポエチン1の遺伝子異常を示す家系が発見され<sup>2</sup>、病態解明が急がれている。

## [臨床]

HAEの鑑別診断に必要な血液検査では、自己免疫異常を示すことがあり<sup>3</sup>、後天性血管性浮腫との鑑別が困難な場合がある。また、HAE1/2患者の重篤な発作時の血液検査では、核の左方移動を伴う白血球

增多<sup>4</sup>やd-dimerなどの線溶凝固系の亢進がみられ、他の重篤な疾患との鑑別が難しい。一方、臨床的にHAEnC1-INH が疑われるが、前述の3分子の遺伝子に異常がない症例群もあり、日本補体学会が始めた網羅的な補体関連遺伝子検索による新たな原因の追究が期待される。

## [治療]

本邦では、HAE1/2の治療にC1-INH製剤が投与できるが、欧米諸国ではC1-INHの自己注射、カリクレイン阻害薬などが使用可能であり、日本の新薬開発は大きく後れを取っている。新薬の承認に向けて、HAE患者の発作の頻度や重症度を正確に把握するために、患者自らが書き込むレジストレーションの開発や発作を記録するソフト（携帯機器端末のアプリなど）の開発が進んでいる。

## [文献]

- 1) Bork K. *Immunology and allergy clinics of North America.* 34:23 (2014)
- 2) Piñero-Saavedra M. et al. *J Rare Dis Res Treat.* 2:14 (2017)
- 3) Honda D. et al. *Allergol Int.* 66:603 (2017)
- 4) Ohsawa I. et al. *BMC Gastroenterol.* 13:1 (2013)

## The role of complement in disease pathogenesis and as a target for innovative therapeutic interventions

Sacha Zeerleider

Department of Hematology, Academic Medical Center AMC, Amsterdam, The Netherlands

Department of Immunopathology, Sanquin Research, Amsterdam, The Netherlands

Department of Hematology and Central Hematology Laboratory, Inselspital University Hospital, and

Department for BioMedical Research, University of Bern, Switzerland

The recent years the complement system turned out to play a crucial role in the pathogenesis of an increasing number of clinical conditions. Therefore, therapeutic targeting of the complement system gained increasing interest. Progressive insights into molecular pathophysiology of complement-mediated diseases and technological advances during the recent years indicated a significant step towards cure of these diseases. Being a "protagonist drug" in the field, anti-C5 (eculizumab) impressively demonstrated the efficacy of therapeutic complement inhibition in complement-mediated diseases caused by a dysregulation in alternate pathway, e.g. paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS) as well as in diseases caused by complement activation via the classical pathway, such as myasthenia gravis. Today, more than a palmful of potential drugs that target various levels of the complement system are evaluated in clinical trials, and many more are evaluated in preclinical studies.

In autoimmune hemolytic anemia (AIHA), autoantibodies directed to red blood cell (RBCs) antigens result in hemolysis and hence a shortened RBC survival in circulation. Our recent data demonstrate that in a considerable percentage

of AIHA patients complement activation plays a significant role and that AHIA in that situation is nearly exclusively induced by RBC autoantibodies of IgM isotype. A very distinct syndrome, called cold agglutinin disease (CAD) shares the features of IgM-induced complement-mediated hemolysis as seen in AIHA. However, in this particular disease the autoantibodies of IgM isotype directed to RBCs also induce agglutination of the RBCs in the microvasculature at temperatures below 30 °C. CAD patients suffer from consequences of intravascular hemolysis as well as microvascular occlusion due to RBC agglutination resulting in ischemia and peripheral necrosis of affected peripheral tissue, such as fingers, toes and ears, respectively.

Intravascular hemolysis caused by the complement-mediated destruction of RBC in the circulation as seen in AHIA and CAD results in the release of cell-free hemoglobin which is subsequently oxidized followed by the release of cell-free heme. Cell-free heme is an efficient sink for nitric oxygen (NO) resulting in smooth muscle cells and endothelial cell dysfunction. In addition, cell-free heme can generate reactive oxygen species finally causing cell death. Altogether, the local and systemic effects of cell-free heme are responsible for the clinical

picture seen in patients suffering from intravascular hemolysis, such as disabling fatigue, thrombosis and a renal dysfunction.

The scavenging systems in plasma to neutralize the effects of cell-free heme and cell-free hemoglobin, such as haptoglobin and hemopexin, are exhausted during hemolysis. Inducible cellular systems to protect against cell-free hemoglobin, such as heme-oxygenase 1 are effective but not always sufficient to neutralize all effects of heme released during hemolysis. By the blockade of intravascular hemolysis complement inhibitors, such as eculizumab, have been shown to revert the effects of cell-free heme on smooth muscle cells, prevent thrombosis and cytotoxicity. However, although the intravascular effects of cell-free heme are reversed by eculizumab, extravascular hemolysis via complement-receptor mediated phagocytosis

in the liver and spleen can occasionally occur resulting in ongoing hemolytic anemia since eculizumab interferes quite late in the complement cascade on the level of C5. However, in diseases mediated by the classical pathway of complement, such as in AIHA and CAD, complement inhibition has to halt both, intra- and extravascular hemolysis. Therefore, therapeutic complement inhibition upstream the level of C5 is needed. C1-esterase inhibitor (C1-inh), an anti C1s antibody as well as an anti-C3 inhibitor turned out to be efficient to block complement activation, and hence intra- and extravascular hemolysis in AIHA and CAD in vitro. In summary, the application of therapies targeting the very beginning of complement activation in diseases mediated by classical pathway activation are very promising but have to prove their efficacy in the clinics in RCTs.

## 非典型溶血性尿毒症症候群

加藤 秀樹

東京大学医学部 社会連携講座 糖尿病・生活習慣病予防講座

Atypical hemolytic uremic syndrome

Hideki Kato

Department of Prevention of Diabetes and Lifestyle-Related Diseases,  
The University of Tokyo School of Medicine

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）は血栓性微小血管症（TMA）のうち、志賀毒素産生性大腸菌感染による溶血性尿毒症症候群、ADAMTS13活性の著減による血栓性血小板減少性紫斑病を除外し、二次性TMA疾患を鑑別し、補体関連因子の異常を主な原因とする症候群である。1998年にCFHの遺伝子変異が報告され、以後CFB、CFI、C3、MCP (CD46)、THBD、DGKE、また2017年にはINF2もTMAを来すことが報告され、遺伝子変異による先天性や、抗CFH抗体が陽性となる後天性が原因として報告されており、急速に原因、病態が解明されつつある疾患である。本邦では奈良県立医科大学輸血部、国立循環器病センターを中心に解明が進められ、現在では当科でコンサルテーション、診断、疫学解析を継続している。

日本腎臓学会と日本小児科学会から2013年にaHUSの診断基準、2016年に診療ガイドが出され、診断、治療の流れが示されたが、臨床的な状況のみで補体関連のaHUSと診断するのは容易ではなく、診断のために溶血性尿毒症症候群、血栓性血小板減少性紫斑病を除外し、また多数の疾患を含む二次性TMA疾患を評価しなければならない。また近年、二次性TMAとされるHELLP症候群、悪性高血圧患者、腎移植後TMA患者などの中からも補体関連の遺伝子変異が認められ、aHUSと診断される例が報告され、補体の活性化が報告されているため、補体関連の

aHUSと二次性TMA疾患との鑑別は今後の課題である。

我々の研究グループでは、本邦の臨床的aHUS診断患者の解析を実施し、aHUS患者の特徴を明らかとした。

aHUSの原因遺伝子の一つであるCFH遺伝子はCFHR遺伝子と組み換えを起こしやすく、融合遺伝子による発症や、自己抗体との関連が知られており、考察したい。

またaHUS、TMAは臨床的にDICと似たような臨床結果を呈するが、aHUS患者における凝固線溶系についても考察したい。

治療法も進展が認められる分野であり、かつては血漿治療が中心に行われていたが、現在では抗C5モノクローナル抗体製剤が適応となり、aHUS患者に対して有効であることが多数報告されており、本邦の市販後調査の結果についても報告する。さらなる新しい製剤も開発されつつあり、今後の治療法の向上も期待される。

## 抗C1q抗体の習慣流産における関与

奥 健志

北海道大学大学院医学研究院 免疫代謝内科学教室

Anti-C1q antibodies in the recurrent miscarriages

Kenji Oku

Department of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology

Graduate School of Medicine, Hokkaido University

### [はじめに]

抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid syndrome: APS) は病原性自己抗体である抗リン脂質抗体 (aPL) の存在下に繰り返される血栓症や習慣性流産 (recurrent pregnancy loss: RPL) などの妊娠合併症をさす。我々はAPSにおいて補体系の活性化が存在し、C1qに対する自己抗体が病態発症に関与することを報告した。一方、流産一般においても補体系の異常活性化が発症を惹起することが報告された。我々はAPSを含んだRPLにおける抗C1q抗体の発現を解析し、抗C1q抗体が習慣流産に関与することを解明した。ヒト、動物モデルのデータをご紹介してAPSおよび流産における抗C1q抗体の意義について概説する。

### [方法]

北海道大学病院内科II膠原病外来に通院中の原発性APS (SLEを合併しないAPS) 患者および膠原病患者において血清中のC3、C4、C5、CH50、C3a、C4a、C5a、免疫複合体、各種抗リン脂質抗体、抗C1q抗体の測定を行なった。また、名古屋市立大学産婦人科のご協力をえて、横断的研究として、原因不明のRPL患者、産科的APS患者、妊娠合併症のない膠原病患者および健常者に対して血清抗C1q抗体を測定した。さらに、動物モデルとして妊娠BALB/Cマウスへ抗マウスC1q抗体、コントロールIgG、またはPBSを妊娠8および12日目に経静脈的に投与し、妊娠16日目における胎仔吸収率、胎仔重量、胎盤重量、血清C3a値、胎盤における補体沈着について各群間で比較した。また同様の検討を、C5a受容体抗体を前投与して行った。

### [結果]

膠原病患者において、原発性APSでは対照群（非SLE膠原病疾患）に比べて高率に低補体血症を認めた<sup>1)</sup>。古典経路系の活性化が推定されたが、血清免疫複合体は低値でaPLはIgG2 dominantであった<sup>2)</sup>。一方、抗C1q抗体価が血清C4a、C3a値と相関しAPS患者のおよそ30%程度で陽性化することが判明した<sup>3)4)</sup>。更に、習慣流産のおよそ25%を占める原因不明例において47/134例 (35%) が抗C1q抗体陽性であり、RPL群に有意に高率 ( $p < 0.05$ ) かつ高力価であった（中央値 [四分位範囲]：12 [8-21] vs. 0 [0-4.3],  $p < 0.0001$ ）。マウスモデルにおいて、抗マウスC1q抗体投与群ではコントロール群と比較して、胎仔吸収率高値 ( $p < 0.01$ )、胎児および胎盤重量低値 ( $p < 0.05$ )、血清C3a高値 ( $p < 0.01$ ) を認め、胎盤組織において広範な補体沈着を認めた。抗マウスC1q抗体投与群におけるこれらの変化は、抗C5a受容体抗体の前投与によりコントロール群と同程度に変化した。

### [結論]

抗C1q抗体はAPSや習慣性流産において新たな病原性自己抗体である可能性が示唆された。

### [文献]

- 1) Oku K et al, Ann Rheum Dis, 68, (2009)
- 2) Oku K et al, Eur J Clin Invest, 42, 2012
- 3) Oku K et al, Rheumatology (Oxford), 55, 2016

# 発作性夜間ヘモグロビン尿症

西村 純一

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Jun-ichi Nishimura

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

## [はじめに]

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) 溶血の治療薬として、ヒト化抗C5抗体エクリズマブが開発され、PNH患者のQOLは劇的に改善した。その一方で、C5遺伝子多型によるエクリズマブ不応症や、エクリズマブ投与後の血管外溶血の顕在化など新たな問題が明らかとなってきた。このような潮流の中で、これらの諸問題に対応する第二世代の抗補体薬が開発途上にある。

## [発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)]

PNHは、PIGA遺伝子に後天的変異を持った造血幹細胞がクローニング性に拡大した結果、補体による血管内溶血（クームス陰性）を主徴とする造血幹細胞疾患である。

## [抗補体薬（エクリズマブ）]

エクリズマブは、C5と特異的に結合しC5転換酵素の作用を阻害することで、炎症性メディエータであるC5aの放出を阻害するとともに、C5bに引き続く膜破壊性のC5b-9複合体の生成を阻害するが、病原体のオプソニン化や免疫複合体除去には影響を与えないで、上流の重要な機能は保持される。投与に先立ち髄膜炎菌ワクチン接種が推奨される。エクリズマブによる顕著な溶血阻止効果により溶血発作回数や輸血回数が減少し、遊離ヘモグロビンによる

一酸化窒素（NO）除去作用に伴う平滑筋攣縮関連の臨床症状（嚥下困難、腹痛、呼吸困難、勃起不全など）も改善した。さらに、血栓症発生リスクの軽減、慢性腎機能障害の改善、潜在的肺高血圧症の改善などの効果も確認されている。

## [エクリズマブの問題点]

本邦例の約3.5%に、エクリズマブの標的であるC5の遺伝子多型 (c.2654G>A, p.Arg885His) によりC5蛋白の機能自体に異常はきたさないものの、エクリズマブが結合できないために溶血が全く抑制されない不応症が見出されている。

健常者の正常赤血球はCD55およびCD59によって、補体活性化による溶血から保護されている。PNH患者では、CD55を欠損しているPNH赤血球において補体C3は継続的に蓄積しうるが、補体終末経路活性化に伴うMAC形成により、C3の蓄積を認めると前に赤血球が破壊される。一方、エクリズマブ投与下のPNH赤血球においては、MAC形成を抑制し、C3の赤血球への継続的蓄積を許容し、C3のオプソニン作用と続く網内系での血管外溶血をきたす。この現象は、全てのエクリズマブ投与患者で起こっており、一部の患者では貧血改善が十分でない原因となっている。

## [新規抗補体薬の開発状況]

エクリズマブはPNH溶血を極めて有効に阻害し、

髓膜炎菌感染症のリスクが高まることを除けば、忍容性も極めて良好な薬剤と言える。根治療法ではないことから、2週毎の点滴投与が必要で、来院頻度が患者QOL改善の阻害因子となっている。利便性向上という側面から、リサイクル抗体という新規の技術による製剤の開発も行われている。現在、本邦では3剤、4治験が進行中である。

- ① PNH患者を対象とした抗C5モノクローナル抗体 LFG316の有効性、安全性及び薬物動態を評価する非盲検Proof of Concept試験（ノバルティス）
- ② 補体阻害剤治療未経験の成人PNH患者を対象としたランダム化、非盲検、エクリズマブを対照薬とするALXN1210の第III相実薬対照試験（アレクシオン）
- ③ エクリズマブ使用経験のある成人PNH患者を対象としたランダム化、非盲検、エクリズマブを対照薬とするALXN1210の第III相実薬対照試験（アレクシオン）
- ④ 健康成人及びPNH患者を対象としたRO7112689の安全性、有効、薬物動態及び薬力学を評価する第I/I相臨床試験（中外/ロシュ）  
いずれもC5を標的にした抗体製剤であるが、②～④がリサイクル抗体に相当し、投与間隔の延長が見込まれる。

本邦での治験が検討されている製剤として、C5を標的とする①RA101348 (Ra Pharma) 小分子化合物、②Coversin (Akari Therapeutics) ダニの遺伝子組み換え蛋白、補体第二経路を標的とする③APL-2 (Apellis) C3環状ペプチドインヒビター、④ACH-4471 (Achillion) Factor D阻害プロテアーゼインヒビターなどがある。第二経路を標的とするものは、血管外溶血も抑制する。また、アレクシオンの抗体以外は、C5多型による不応症に有効であることが予想される。

#### [おわりに]

以上のように多くの製剤が開発途上にあり、①投与方法（点滴静注、皮下注射、経口）、②投与間隔、③コスト（抗体>低分子蛋白>核酸）④血管外溶血と感染症リスクなどの要因を加味し、より良い製剤が今後淘汰されていくものと思われる。

#### [文献]

- 1) Rother RP et al. Nat Biotechnol. 25 (11):1256 (2007)
- 2) Nishimura J et al. N Engl J Med. 370 (7):632 (2014)
- 3) Risitano AM et al. Blood. 113 (17):4094 (2009)
- 4) Goodship THJ et al. Blood Advances. 1 (16):1254 (2017)

## JET-GBS study：ギラン・バレー症候群に対するエクリズマブ療法

三澤 園子<sup>1)</sup>、桑原 聰<sup>1)</sup>、楠 進<sup>2)</sup>、JET-GBS study group

<sup>1)</sup>千葉大学大学院医学研究院 神経内科学、

<sup>2)</sup>近畿大学医学部神経内科

JET-GBS study: Eculizumab for Guillain-Barré syndrome.

Sonoko Misawa<sup>1)</sup>, Satoshi Kuwabara<sup>1)</sup>, Susumu Kusunoki<sup>2)</sup>, JET-GBS study group

<sup>1)</sup> Department of Neurology, Graduate School of Medicine, Chiba University,

<sup>2)</sup> Department of Neurology, Faculty of Medicine, Kindai University

### [はじめに]

ギラン・バレー症候群（GBS）は、急性の四肢麻痺を来る免疫介在性の末梢神経疾患である。標準治療は免疫グロブリン、血漿交換であるが、極期の強い炎症により軸索変性による後遺症が残り、発症から1年後も歩行に介助を要する例が約2割存在する。

GBSの軸索変性には補体の活性化が関与することが示されている。エクリズマブは補体C5に対するモノクローナル抗体であり、補体活性化経路の最終過程を阻害する。GBSのモデル動物においては、エクリズマブの有効性が示されている<sup>1)</sup>。

GBSにおけるエクリズマブの有効性と安全性について、ランダム化試験により検討する。

### [方法]

全国13施設において、ランダム化プラセボ対照二重盲検試験を実施した。発症から2週以内の独歩不能のGBS患者を対象とし、免疫グロブリンに加えて、実薬またはプラセボを投与した。主要評価項目は4週時点での独歩可能な症例の割合（有効性）と有害事象（安全性）とした。副次評価項目には、神経機能、神経伝導検査所見等を設定した。

### [結果]

34例のGBS患者を登録した。主要評価項目は実

薬群60.9% (90% CI、41.7-77.8)、プラセボ群45.5% (20.0-72.9;n=11) であったが、実薬群の90% CI下限値は事前に既定した閾値有効割合（50%）を越えることはできなかった<sup>2)</sup>。エクリズマブとプラセボ群で、発生頻度に差がある有害事象はなく、髄膜炎菌感染や死亡につながる重篤有害事象もなかった<sup>2)</sup>。一方、24週時点で走行可能に回復した症例は、実薬群で73.9% (95% CI、51.6-89.8)、プラセボ群で18.2% (2.3 - 51.8) であり (p=0.004)<sup>2)</sup>、筋力はほぼ正常化していた。

### [考察]

主要評価項目においては、統計学的に有意な有効性を示せなかった。しかし、発症24週時点においてエクリズマブ群では、明確な神経機能の改善を認め、本試験の結果からGBSにおける軸索変性が補体介在性であることが示された。

### [結論]

エクリズマブはGBSの新規治療となる可能性がある。

### [文献]

1) Halstead SK, et al. Brain. 131:1197 (2008)

2) Misawa et al., Lancet Neurol.17:519 (2018)

## CTRP6を治療標的とした関節リウマチの治療

村山 正承<sup>1,2)</sup>、岩倉 洋一郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京理科大学 生命医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター、

<sup>2)</sup> 聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学教室

Complement regulator, CTRP6 can treat autoimmune arthritis

Masanori A. Murayama<sup>1,2)</sup>, Yoichiro Iwakura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Center for Animal Disease Models, Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science,

<sup>2)</sup> Department of Immunology and medicine, St. Marianna University School of Medicine

### [はじめに]

自己免疫疾患である関節リウマチ (rheumatoid arthritis; RA) では多くの補体因子の発現が亢進し、その病態形成に深く関わっていることが知られている<sup>1)</sup>。CTRP6 (C1q/TNF-related protein 6) は補体C1qに類似した構造を持ち、RA患者およびRAモデルマウスで発現が亢進していたが、その生理機能は明らかではなかった<sup>2)</sup>。そこで本研究では、CTRP6の生理機能の解明を試みると共に、RAをはじめとする自己免疫疾患に対する治療薬としての可能性について評価した。

### [方法]

独自に樹立したCTRP6遺伝子改変マウスを用いて自己免疫疾患モデルを誘導し、CTRP6の役割を評価した。また、生化学的手法を用いて補体活性化に対するCTRP6の影響を検討した。関節炎に対するCTRP6の治療効果は、コラーゲン誘導関節炎 (collagen-induced arthritis; CIA) モデルを用いて評価した。

### [結果]

作製したCTRP6遺伝子改変マウスを用いてCIAを実施した結果、KOマウスは過剰な補体活性化により関節炎が増悪化する一方、Tgマウスは症状が減

弱化した。また、3つある補体活性化経路に対するCTRP6の影響を検討した結果、CTRP6は古典経路およびレクチン経路の活性化には影響を与えたかったが、第二経路の活性化を特異的に制御することが明らかになった。また、CIAを誘導したマウスに対してCTRP6を投与すると関節炎が治癒したことから、CTRP6は関節炎に対する治療効果を有することがわかった。さらに、CTRP6欠損により多発性硬化症などの自己免疫疾患モデルも症状が重篤化したことから、補体制御因子CTRP6は自己免疫疾患に対する治療薬として有用であることが考えられる。

### [結論]

本研究の成果から、CTRP6は補体第二経路特異的な制御因子であることが明らかとなった。また、疾患モデルマウスを使った解析から、CTRP6は自己免疫疾患に対する新たな治療薬の開発標的として有望であることが示唆された<sup>3)</sup>。

### [文献]

- 1) Ji H. et al. *Immunity*. 16: 157-68 (2002).
- 2) Fujikado N. et al. *Arthritis Res Ther*. 8: R100 (2006).
- 3) Murayama MA. et al. *Nat Commun*. 6: 8483 (2015).

## 補体制御によるがん免疫療法の開発

今井 優樹

名古屋市立大学大学院医学系研究科 免疫学

The development of cancer immunotherapy by control of complement system.

Masaki Imai

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

生体防御網の尖兵として働く補体系は、血清中の30種類以上の蛋白で構成され、補体活性化より、膜傷害複合体形成やオプソニン化により病原体を排除する。また、補体系は、感染病原体の排除だけでなく、炎症反応の促進や、自然免疫から獲得免疫への架け橋としても重要な役割を果たしている。

侵入異物に対する生体防御に寄与している補体系ではあるが、がんに対する免疫応答にも関与していることが1980年代後半から報告されている。すなわち、古典経路の活性が低いと生存期間が短くなるなど、補体測定は癌の予後を予測する臨床評価の一つになる可能性が示唆された。また、免疫組織化学的検査でのがん組織におけるC3、C4及びC5b-9の沈着や、腫瘍細胞株を用いたin vitroの解析により、腫瘍細胞上で補体はある程度活性化していることが示された。しかしながら、補体による細胞溶解まで

引き起こしていなかったことから、腫瘍細胞上に発現している補体制御膜因子の解析が進められ、多くの腫瘍組織や癌細胞株で補体制御膜因子の過剰発現が報告された。すなわち、補体制御因子の過剰発現が宿主の癌免疫応答やモノクローナル抗体によるがん免疫療法の臨床効果を妨げ、がんが免疫監視機構からエスケープできる理由の一つと考えられている。

一方、近年、腫瘍微小環境内における補体活性化が、がんの成長や制御性免疫細胞の誘導に関わっており、これはC5aやC3aといったアナフィラトキシンの関与が示唆されている。

本講演では、がん免疫における補体活性化の役割を概説するとともに、補体系をコントロールすることによるより効果的な治療法の開発についての近況を紹介する。

## 著明な低補体血症を伴い悪性関節リウマチと鑑別を要した クリオグロブリン血管炎の1例

西田 知也<sup>1)</sup>、三嶋 耕司<sup>1)</sup>、赤星 光輝<sup>1)</sup>、龍溪 智史<sup>1)</sup>、猪口 翔一朗<sup>1)</sup>、綾野 雅宏<sup>1)</sup>、  
木本 泰孝<sup>2)</sup>、三苦 弘喜<sup>1)</sup>、有信 洋二郎<sup>1)</sup>、赤司 浩一<sup>1)</sup>、堀内 孝彦<sup>2)</sup>、新納 宏昭<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、

<sup>2)</sup>九州大学病院 別府病院 内科、

<sup>3)</sup>九州大学医学研究院 医学教育学講座

A case of cryoglobulinemic vasculitis with severe hypocomplementemia, mimicking rheumatoid vasculitis

Tomoya Nishida<sup>1)</sup>, Koji Mishima<sup>1)</sup>, Mitsuteru Akahoshi<sup>1)</sup>, Tomofumi Tatsutani<sup>1)</sup>,  
Shoichiro Inokuchi<sup>1)</sup>, Masahiro Ayano<sup>1)</sup>, Yasutaka Kimoto<sup>2)</sup>, Hiroki Mitoma<sup>1)</sup>,  
Yojiro Arinobu<sup>1)</sup>, Koichi Akashi<sup>1)</sup>, Takahiko Horiuchi<sup>2)</sup>, Hiroaki Niino<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Faculty of Medicine,

<sup>2)</sup>Department of Internal Medicine, Kyushu University Beppu Hospital,

<sup>3)</sup>Department of Medical Education, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

### [はじめに]

クリオグロブリン血管炎は下肢の紫斑、関節痛、筋力低下を3大主徴として腎症、末梢神経障害、肝障害などを伴う全身性小型血管炎である。悪性関節リウマチと症状、検査所見が類似するため鑑別を要することがある。今回、著明な低補体血症を伴いリツキシマブを導入したクリオグロブリン血管炎の一例について報告する。

### [症例]

45歳女性。2年前に口腔内乾燥、抗SS-A/抗SS-B抗体陽性でシェーグレン症候群と診断された。診断時C4 8.3mg/dLと低値であった。1年前、多関節痛が持続しリウマトイド因子(RF)陽性で関節リウマチ(RA)と診断された。プレドニゾロン(PSL)とサラゾスルファピリジン、メトトレキサートで治療されていた。1ヶ月前から右優位の下肢の疼痛・運動障害が出現し当科紹介となった。C3 90mg/dL, C4 1.3mg/dL, CH50 13.0U/mLと低補体血症、四肢の疼痛・しびれ、両下腿の紫斑、右足関節背屈困難

があり、RF 1134IU/mLと著明高値で悪性関節リウマチ(MRA)を疑い当科入院となった。抗CCP抗体陰性、関節超音波検査で滑膜炎の所見なく、手指レントゲンで関節裂隙狭小化や骨びらんを認めず、RAの診断に至らなかった。クリオグロブリン陽性、C4優位の著明な補体低値、多発单神経炎に加え、両下肢紫斑の生検で白血球破碎性血管炎の所見と蛍光抗体法でIgA, IgG, IgM, C3の沈着を認め、最終的にクリオグロブリン血管炎(CryoVas)と診断し、以前より指摘されているシェーグレン症候群に関連したものと考えられた。リツキシマブとPSL 1mg/kgで治療を開始し、血管炎に伴う全身倦怠感と炎症反応は改善したものの神経症状は残存しており、継続加療による長期的な経過フォローが必要と考えられた。

### [考察]

MRAとCryoVasではC3/C4/CH50の低下パターンが異なり、後者ではearly componentのみが著明に低下するが、その機序は明らかになっていない。クリオグロブリン、シェーグレン症候群と補体関連

タンパク質についてさまざまな報告がある。クリオグロブリンはC1インアクチベーターと結合し古典的経路を活性化するとされている。また、シェーグレン症候群で増加しているC4 binding proteinは<sup>1)</sup>、late componentの活性化を抑制、補体経路の過剰な活性化を制御すると考えられている<sup>2)</sup>。以上よりクリオグロブリンがC1インアクチベーターを阻害し古典的経路のearly componentを活性化しつつ、シェーグレン症候群で増加しているC4 binding proteinがC3以降の補体活性化を阻害することでCryoVasでは補体のearly componentのみが消費され低下しているのではないかと推測された。本症例での補体関連タンパク質の測定結果を踏まえて文献的考察を加え報告する。

## [文献]

- 1) Zadura AF. et al. *Scand. J. Immunol.* 69: 374 (2009)
- 2) Haydey RP. et al. *J. Invest. Dermatol.* 74: 328 (1980)

## MDA5抗体皮膚筋炎患者における補体と I 型IFN signatureの関連

小野 伸之、丸山 晓人、堺 真梨子、中尾 嘉修、貞永 裕梨、小荒田 秀一、多田 芳史

佐賀大学医学部付属病院 膜原病・リウマチ内科

Association between serum complements and Type I IFN signature in patients with MDA5 antibody positive dermatomyositis patients.

Nobuyuki Ono, Akihito Maruyama, Mariko Sakai, Yoshinobu Nakao,  
Yuri Sadanaga, Shuichi Koarada and Yoshifumi Tada

Department of Rheumatology, Saga University Hospital

### [はじめに]

皮膚筋炎(DM)は、ゴットロン徵候、ヘリオトロープ疹など特徴的な皮膚症状を示す。筋炎組織では、血管周囲に強い炎症細胞浸潤を認め、免疫染色では血管にMembrane attack complexの沈着が観察され、免疫複合体による血管障害が皮膚筋炎の病態を形成していると考えられている<sup>1)</sup>。一方膜原病の病態においてI型IFNは重要な役割を果たすことが知られ、I型IFNによる活性化所見であるI型IFN signatureはSLEだけでなく、DM患者でも観察されることが報告されている<sup>2)</sup>。膜原病におけるI型IFNの誘導には免疫複合体が重要な役割を果たしており、DM患者でも補体が重要な役割を果たしていると考えられ、補体とI型IFNとの関連について比較検討を行った。

### [方法]

当院で診断、加療を行ったDM患者35例、発症時の臨床像、検査値、血清I型IFN signatureを比較した。血清I型IFN signatureは患者血清をレポーター細胞に添加培養し、I型IFNによる誘導遺伝子をリアルタイムPCRで定量化し測定した。

### [結果]

平均年齢58.3歳(±14.7)、女性69%、間質性

肺炎69%、MDA抗体陽性69%、ARS抗体陽性20%。DM患者血清のI型IFN signatureはPM患者と比較して高かった(p=0.0016)。I型IFN signatureはDM群のうちMDA5抗体陽性群で有意に高く(p=0.0001)、CK値と弱い相関( $R^2=0.185$ )を示した。補体値ではC3値は逆相関、C4値は正の相関を示したが有意差認めず、C3/C4比は弱い逆相関を示した( $R^2=0.240$ )。

### [考察]

MDA5抗体陽性DM患者では致死的な間質性肺炎を合併し、予後不良であることが知られるが、皮膚の血管障害が強いのも特徴である。我々の結果から、MDA5抗体陽性DMでは高いI型IFN signatureとC3低下を認め、SLEの病態に類似しており大変興味深いと考えられた。

### [結論]

MDA5陽性DM患者では高いI型IFN signatureを示し、C3低下を認める。

### [文献]

- 1) Dalakas MC. N Engl J Med. 1991;325:1487-98
- 2) Walsh RJ et al. Arthritis Rheum. 2007;56:3784-92.
- 3) Hall JC, Rosen A. Nat Rev Rheumatol. 2010;6:40-9.

# Mindsに準拠した先天性補体欠損症治療ガイドライン

井林 雄太、押領司 大助、吉村 元樹、吉村 恵美、堀内 孝彦

九州大学病院別府病院 免疫・血液・代謝内科

A Japanese Guideline for the Management of Congenital Complement Deficiency based on Minds  
(Medical Information Network Distribution System)

Yuta Ibayashi, Daisuke Oryoji, Motoki Yoshimura, Emi Yoshimura, Takahiko Horiuchi

Department of Internal Medicine, Kyushu University Beppu Hospital

## [はじめに]

補体系は血液中と細胞膜上に存在し、連鎖的に反応して多彩な免疫機能を発揮する。先天性補体欠損症では補体系活性化に関わる分子、補体制御因子、補体レセプターなどにおける欠失から莢膜を有する細菌への易感染性や免疫複合体病発生率の上昇などを惹起する。先天性補体欠損症は、原発性免疫不全症の中でも希少疾患であるが故に、例え診断が疑われても、適切な治療ガイドラインがなく放置されているケースが少なくない。難病認定審査で使用できる明確な診断基準策定（重症度などの決定など）も含め、現段階で根拠や推奨度を含めた診療ガイドラインが求められている。

平成29～31年度厚労省研究班（主任研究者：野々山恵章）「原発性免疫不全免疫不全症候群の診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立に関する研究」において班員の堀内孝彦の課題として作成された。内容について日本補体学会の皆様の確認、承認を戴きたく発表する。

## [方法]

我々は日本における先天性補体欠損症の診療ガイドライン作成のために、質の高い診療ガイドラインの普及を通じて、患者と医療者の意思決定を支援することを目的とした厚生労働科学研究事業であるEBM 医療情報事業（以下Minds）に準拠したガイド

ラインの作成を試みた。

Minds診療ガイドラインとは診療上の重要度の高い医療行為について、エビデンスのシステムティックレビューとその総体評価、益と害のバランスなどを考慮して、患者と医療者の意思決定を支援するために最適と考えられる推奨を提示する文書である。我々はMindsによる「診療ガイドライン作成の手引き」に準拠し、先天性補体欠損症の疾患トピックの基本的特徴の整理（臨床的、疫学的特徴、診療の全体的な流れの確認、診療アルゴリズム）を行い、重要な臨床課題の検討、CQ (Clinical Question) の設定を行った。またそれらに対し、最新情報のスコープ検索（RCT論文、システムティックレビュー論文、海外の診療ガイドライン）を行い、ガイドライン作成グループによる討議を行った上で、推奨作成を行った。

## [結果]

日本独自のガイドラインは存在せず、海外で採用されているInfectious Diseases Society of America (IDSA) に記載されているガイドラインを参考にし、日本の医療現状も鑑みて作成した。先天性補体欠損症の頻度については、過去にわが国で行われた145,640人の献血者を対象とした検討において、凡そ10万人に1～4人であり<sup>1),2)</sup>、改めて日本補体学会、厚労省原発性免疫不全症候群研究班との共同で

先天性補体欠損症の全国調査を行うことを提言する。

基本的には補体欠損による感染症の重篤化が問題であるため、2回以上莢膜を有する細菌感染症既往のある患者には積極的にスクリーニングを行い、診断がつけば隨時ワクチン接種を推奨する。本ガイドラインでは疾患の特異性において予防的治療を中心に、日本の現行のワクチン接種スケジュールを参考に作成した。病態そのものの治療については現段階では不明である。先天性補体欠損症はまず疑うことが重要であり、治療に関しては確定診断がなされた時点で、易感染性かつ重症化の可能性ありと判断する。診断が下された年齢に合わせて、ワクチン接種をすることが唯一の治療法（予防）と考えられる。

#### [考察・結論]

先天性補体欠損症はその疾患の希少性から、エビデンスについても極めて乏しい疾患といえる。一般に、希少疾患のガイドラインを作成する場合、エビ

デンスレベルの高い論文が僅かしかないため、ともすると治療経験に基づいた「専門家の意見/経験値」に頼りがちになる。本ガイドラインでは、Mindsによる「診療ガイドライン作成の手引き」に準拠し、可能な限り客観的かつ透明性の高いガイドライン作成を目指した。また、敢えて網羅的ではなく、臨床現場の需要に則したCQを掲げることを基本方針とした。

結果としてCQに対する推奨のエビデンスレベルは全て「D(とても弱い)」となった。本ガイドラインで取り上げられた論文の多くは欧米からのものであるが、改訂時には、わが国からも是非多数のエビデンスレベルの高い報告・論文が発表されていることを期待したい。

#### [文献]

- 1) Inai S, Akagaki Y. et al. *Inherited Int Arch Allergy Appl Immunol*; 90: 274-279. 1989
- 2) Fukumori Y. et al. *Int Immunol*; 1: 35-39. 1989

## 分娩後に血栓性微小血管障害（TMA）を併発した 全身性エリテマトーデス（SLE）の一例

藤本 翔<sup>1)</sup>、三苦 弘喜<sup>1)</sup>、塚本 浩<sup>2)</sup>、中野 翔太<sup>1)</sup>、村上 哲晋<sup>1)</sup>、綾野 雅宏<sup>1)</sup>、赤星 光輝<sup>1)</sup>、  
有信 洋二郎<sup>2)</sup>、新納 宏昭<sup>3)</sup>、赤司 浩一<sup>2)</sup>、堀内 孝彦<sup>4)</sup>

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

<sup>3)</sup>九州大学医学研究院 医学教育学、<sup>4)</sup>九州大学病院別府病院 内科

Thrombotic microangiopathy after parturition in a patient with systemic lupus erythematosus

Sho Fujimoto<sup>1)</sup>, Hiroki Mitoma<sup>1)</sup>, Hiroshi Tsukamoto<sup>2)</sup>, Shota Nakano<sup>1)</sup>, Tesshin Murakami<sup>1)</sup>,  
Masahiro Ayano<sup>2)</sup>, Mitsuteru Akahoshi<sup>1)</sup>, Yojiro Arinobu<sup>2)</sup>, Hiroaki Niilo<sup>3)</sup>, Koichi Akashi<sup>2)</sup>,  
and Takahiko Horiuchi<sup>4)</sup>

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

<sup>2)</sup>Department of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences,

<sup>3)</sup>Department of Medical Education Faculty of Medical Sciences, Kyushu University,

<sup>4)</sup>Department of Internal Medicine, Kyushu University Beppu Hospital

### [はじめに]

全身性エリテマトーデス（SLE）は妊娠、出産に伴って疾患活動性が増悪することがあるが、血栓性微小血管障害（thrombotic microangiopathy; TMA）も周産期に起りうる、稀だが重要な病態である。出産直後にTMAを発症し、非典型溶血性尿毒症症候群（atypical hemolytic uremic syndrome; aHUS）様の病態と考えて集学的治療により軽快を得たSLE症例について文献的考察を踏まえ報告する。

### [方法と結果]

#### 【症例】32歳 女性

【主訴】紫斑（貧血、血小板減少、腎機能障害）

【現病歴】X-8年9月にSLEを発症し副腎皮質ステロイド及び免疫抑制薬で加療されていた。X-1年10月6日にプレドニゾロン（PSL）16 mg/日、シクロスボリン 200mg/日、アザチオプリン 25 mg/日で妊娠が成立した。妊娠中の経過順調であったが6月28日（妊娠 37週6日）に前期破水で当院産婦人科に緊急入院し、6月30日2時に吸引分娩となった。その後下

腹部痛が持続し、胎盤遺残の診断で同日7時に全身麻酔下に胎盤剥離術を施行された。同日8時の血液検査で貧血（Hb 5.0 g/dL）、血小板減少（Plt 6.3万/ $\mu$ L）を認め、輸血されるも血球の改善に乏しく、同日夕方に破碎赤血球、LDH上昇（LDH 1075 U/L）、腎機能障害（Cre 1.47 mg/dL）を認めた。7月1日からメチルプレドニゾロン（mPSL）125 mg/日を投与されたが改善に乏しく、TMAが考えられたため当科紹介となった。

【入院後経過】7月4日から血漿交換を連日行い、7月5日からステロイドパルス療法（mPSL 1g/日）、ミコフェノール酸モフェチル（MMF）を開始した。その後ADAMTS13の活性とインヒビターは正常で、便中志賀毒素陰性と判明したため、aHUS様の病態と考えた。血小板数やLDH、破碎赤血球、腎機能の改善に乏しかったため7月21日からリツキシマブ（RTX）375 mg/m<sup>2</sup>, weekly×4を開始した。その後病態の改善がえられ、血漿交換も中止することができ、8月14日に退院した。その後ステロイドをPSL 12mg/日まで漸減しており、寛解を維持している。

### [考察]

TMAは細血管性障害性溶血性貧血、血小板減少、臓器機能障害（特に脳、腎臓）を3主徴とする疾患の総称である。代表的な疾患としてADAMTS13インヒビターによる後天性血栓性血小板減少性紫斑病（後天性TPP）や志賀毒素産生大腸菌に伴う溶血性尿毒症症候群（STEC-HUS）がある<sup>1)</sup>。

SLEを基礎疾患を持つ患者はTMAを発症すること多く、本症例ではその機序としてaHUS様の病態を考えた。aHUSは補体関連異常に伴うTMAで、その発症機序については補体第2経路の過剰な活性化が考えられており、C3の自発的な加水分解により生じたC3bが血管内皮細胞障害や血小板の活性化を引き起こすと考えられている<sup>2)</sup>。C3bは通常、補体制御因子であるI因子やH因子、MCPによって不活化されるが、aHUSではこれらの制御因子の機能低下が報告されている<sup>3)</sup>。特にSLEは補体系の活性化を来す疾患であることに加え、H因子に対する自己抗体を高率に認めるという報告もある<sup>4)</sup>。本例ではいずれかの補体制御因子に自己抗体が存在しており、出産後の出血が補体経路の活性化のトリガーとなったと考えられる。SLEに合併したTMAに対して、ステロイド+MMF+血漿交換による治療が有効であるとの報告<sup>5)</sup>があり本例でも同治療を行ったが、寛解には至らなかった。その為、抗H因子抗体等の補体制御因子に対する自己抗体の産生を抑制することを期待して、RTXの投与を行ったところ、改善をえた<sup>6)</sup>。

近年C5に対するヒト化モノクローナル抗体（エクリズマブ®）がaHUSに対する治療薬として承認された。膠原病関連TMAに対するエクリズマブの効果は明らかになっていないものの、有効例の報告もあり<sup>7)</sup>、今後の症例の蓄積が期待される。

### [結論]

出産直後にTMAを発症したSLE症例を経験した。aHUS様の病態と考えてステロイド、MMF、血漿交換、RTXで加療し、軽快がえられた。難治性の病態であり、今後補体経路を制御する治療が期待をされている。

### [文献]

1. James N. George, et al. N. Engl. J. Med. 371: 7 (2014)
2. Kato H, et al. Clin Exp Nephrol. 20: 536 (2016)
3. David K, et al. Pediatr. Nephrol. 25: 2431 (2010)
4. Foltyn Zadura A, et al. Arthritis. Res. Ther. 14: R185 (2012)
5. Okubo M, et al. Lupus. 26: 334 (2017)
6. Fungfung S, et al. Clin Rheumatol. 37: 213 (2018)
7. El-Husseini A, et al. Am. J. kidney. Dis. 65: 127 (2015)

## aHUSによる一次腎喪失後の二次腎移植例における補体因子の経時的観察

三浦 正義<sup>1)</sup>、東山 寛<sup>1)</sup>、大谷 克城<sup>2,3)</sup>、若宮 伸隆<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup>札幌北楡病院 腎臓移植外科・泌尿器科、<sup>2)</sup>酪農学園大学 食と健康学類、<sup>3)</sup>日本補体学会

Serial observation of complement proteins in a case of second kidney transplantation after a loss of first kidney graft due to atypical hemolytic uremic syndrome

Masayoshi Miura<sup>1)</sup>, Hiroshi Higashiyama<sup>1)</sup>, Katsuki Ohtani<sup>2,3)</sup>, Nobutaka Wakamiya<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Urology and Kidney Transplantation, Sapporo Hokuyu Hospital,

<sup>2)</sup>Department of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University,

<sup>3)</sup>The Japanese Association for Complement Research

### [はじめに]

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）の原因は、遺伝的な補体制御因子の異常や自己抗体で、その遺伝子変異や自己抗体によって持続性の補体活性化が起こることが考えられている。aHUSによる、継続的な血管内皮細胞の傷害が腎臓におこると、無治療では進行性に腎不全になる可能性が高い。

### [方法]

2度の腎移植を受けた患者に対して、一次移植時から経時的に保存した血漿を用いて、日本補体学会が行っている補体関連因子測定プロジェクトに則り補体因子検査を行い、臨床経過や腎組織像等を比較検討し、臨床経過における補体活性化を考察した。

### [結果] [考察]

＜臨床経過＞ 症例は53歳女性。妊娠中毒症が原因とされた20年来の腎機能障害が進行し、夫をドナーとして生体腎移植を施行した。血液型適合、抗ドナー抗体（DSA）弱陽性であったがフロークロスマッチ陰性だった。移植直後より重度の血小板減少、溶血性貧血が見られ、移植腎機能はすぐに廃絶し透析を導入した。臨床的にHUSで、血流再開後2時間生検で血栓性微小血管症（TMA）の所見が認められた。

られた。既知の補体制御遺伝子異常は検出しなかつたが、aHUSと診断した。つぎに、減感作療法、エクリズマブ投与を行い、母親をドナーとしたABO不適合二次生体腎移植を施行した。移植後臨床的にはHUSの発症は見られなかった。また、移植腎機能は良好に経過していた。二次移植後4か月目のプロトコール生検にて、病理学的にTMA再発が見られるとともにsCr上昇を認めたため、エクリズマブ投与を再開した。以後臨床経過は安定している。

＜臨床経過における補体関連因子測定＞ 一次移植時から経時的に保存した血漿を用いて補体関連タンパク質の測定を行った。その結果として、移植前では軽度の第2経路活性化を示すBa上昇が見られるものの、sC5b-9は基準値内にあり終末経路の補体活性化には至っていなかった。しかし、一次移植後TMAが劇症化している時期は第2経路の活性化（Ba高値）や終末経路活性化（sC5b-9高値）が見られ、補体活性化にともなう補体因子消費によるC3値の軽度低下が認められた。その後、移植腎機能喪失後には、血液透析が行われたが、依然としてBa高値が持続していた。次に、臨床的にaHUSと診断し、二次移植に備え2週間前と移植前日にエクリズマブ900mgの投与を行った。エクリズマブ投与後にはsC5b-9は低下しCH50も低値となった。移植後安

定時にはBaは軽度高値のみ持続したが、移植後9日の移植腎生検では、病理学的に軽度のTMAが見られた。その後一次的に軽度のCH50の上昇とsC5b-9の上昇が見られた。しかし、sCrが上昇せず、血小板も維持されており、再度の腎生検ではTMAの所見なく、退院となった。退院4か月後の定期移植腎生検では、再び病理学的TMAが認められ、sCrが1.5に上昇したこと、エクリズマブの定期外来投与が開始された。エクリズマブの投与前には、Ba は軽度高値が維持されたが、C3は低下せず、sC5b-9は再度高値を示した。エクリズマブの投与後sC5b-9は低下し

Baも比較的低値で安定し、C3は低下せず、CH50は、感度以下で、エクリズマブによる補体後期経路の活性化抑制を認めている。その後の定期（移植後7月と1年）移植腎生検では、病理学的TMAは改善しており、sCr 1年後1.49、2年後1.29と安定している。

#### [結語]

補体関連タンパク質の経時的な変化がTMAの病態をよく反映しており、補体関連タンパク質検査がこのようなTMA疾患の治療に有用である可能性が示された。

## 細胞外ヒストンは細胞表面のCrryおよびCD59a発現を低下させる

水野 智博<sup>1)</sup>、長野 文彦<sup>1)</sup>、水野 正司<sup>2)</sup>、岩田 歩実<sup>1)</sup>、高橋 和男<sup>3)</sup>、坪井 直毅<sup>4)</sup>、丸山 彰一<sup>4)</sup>、永松 正<sup>1)</sup>、今井 優樹<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>名城大学薬学部 薬効解析学、<sup>2)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎不全システム治療学、

<sup>3)</sup>藤田保健衛生大学 腎内科学、<sup>4)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、

<sup>5)</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 免疫学

Extracellular histones decrease the expressions of Crry and CD59a.

Tomohiro Mizuno<sup>1)</sup>, Fumihiro Nagano<sup>1)</sup>, Masashi Mizuno<sup>2)</sup>, Ayumi Iwata<sup>3)</sup>, Kazuo Takahashi<sup>3)</sup>, Naotake Tsuboi<sup>4)</sup>, Shoichi Maruyama<sup>4)</sup>, Tadashi Nagamatsu<sup>1)</sup> and Masaki Imai<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> Analytical Pharmacology, Meijo University faculty of Pharmacy,

<sup>2)</sup> Renal Replacement Therapy, Nagoya University graduate school of Medicine,

<sup>3)</sup> Department of Nephrology, Fujita Health University,

<sup>4)</sup> Nephrology, Nagoya University graduate school of Medicine,

<sup>5)</sup> Immunology, Nagoya City University graduate school of Medicine

### [目的]

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

ヒストンに由来するDICの病態について、病理学的メカニズムは不明な点が多いが、補体および凝固系の各因子は相互作用することが報告されている<sup>2)</sup>、しかし、ヒストンにより誘発された致死性血栓症に補体系がどのように関与するか、詳細な検討はなされていなかった。そこで我々は、C5およびC5aがヒストンによって惹起された致死性血栓症に伴う肝障害を促進するかどうか検討したところ、C5欠損マウスでは野生型マウスと比較して、ヒストンによる血栓症に抵抗性を示した。また、野生型マウスではヒストン投与群において血中C5aの濃度が上昇していたため、野生型マウスにC5a受容体アンタゴニスト

を前投与したところ、生食投与群と比較して、肝障害が軽度であった<sup>3)</sup>。以上の結果より、C5およびC5aがヒストンによる致死的血栓症の発症に関与することが示唆されたが、ヒストン投与後に補体系が活性化するメカニズムについては不明であった。

膜補体制御因子(CReg)は、細胞膜表面において補体活性から自己細胞を保護している。げつ歯類では、Complement rodent regulatory protein y(Crry)がC3レベル、CD59aはC9レベルでそれぞれ補体活性を制御している。血管内皮細胞ではどちらのCRegも高発現しており、血管内での補体活性が調節されているが、細胞外へヒストンが大量に流出すると、ヒストンによる血管内皮障害が引き起こされる<sup>4)</sup>。我々は細胞障害によりCRegの発現が低下することを報告しているが<sup>5)</sup>、血管内皮細胞表面に存在するCRegの発現および機能低下は、全身循環において補体系を活性化させる可能性がある。

そこで本研究では、ヒストンをマウス血管内皮細胞に暴露することで、細胞表面のCReg発現および機能が低下するかどうか、検討を行った。

## [方法]

マウス血管内皮細胞株 (RCB1994) を使用した。マウス血管内皮細胞に対して、終濃度が0-400  $\mu$  g/mLとなるように、未分画ヒストンを37°C下にて30分間暴露させ、トリパンブルーにて生細胞割合を測定した。その後、Brilliant Violet 421標識ラット抗マウスCrry抗体およびPE標識抗マウスCD59a抗体にて染色を行い、前方散乱光、側方散乱光より細胞ゲーティングを実施した上で、CRegの発現をBD LSR Fortessa™ X-20にて解析した。発現強度については、コントロール (0  $\mu$  g/mLヒストン群) のGeometric mean値を100%として、相対値を用いて算出した。

ヒストン暴露後のCRegの機能を評価するため、終濃度が200  $\mu$  g/mLとなるように、マウス血管内皮細胞に対して、未分画ヒストンを30分間暴露させた。その後、正常マウス血清を37°C下で1時間暴露させ、洗浄後、2%パラホルムアルデヒドにて、室温で10分間固定した。固定後、FITC標識ウサギ抗マウスC3c抗体を用いて、細胞表面へのC3沈着を定量した。オールインワン顕微鏡BZ-X700を用い、染色像を撮影し、C3陽性部位についてはImage expressを用いて解析を行った。また、同様の方法を用い、非動化済みの血清にて実施した。

## [結果]

ヒストンは濃度依存的に生細胞割合を減少させた。また、CrryとCD59a発現についても、濃度依存的に減少した。ヒストン暴露後に正常マウス血清を暴露させたところ、ヒストン暴露群において、細胞表面のC3陽性部位は増加した。ヒストンおよび血清を単独で暴露させたところC3陽性部位の有意な増加は認められなかった。同様に非動化済み血清を暴露させた場合も同様であった。

## [考察]

我々は以前に、C5およびC5aがヒストンによる致死的血栓症の発症に関与することを報告したが、ヒストンによって補体系が活性化するメカニズムについては不明であった。本研究より、ヒストン暴露により、細胞障害が惹起され、それに伴い、細胞膜構造が変化し、膜補体制御因子の発現が低下したと考えられる。正常マウス血清暴露後に細胞表面のC3沈着が増大したことから、CReg発現低下が血清による補体活性化を助長したと考えられる。

本研究では、C3沈着のみ定量を行ったが、CD59aはC9レベルで補体活性を制御しているため、今後、C5b-9の沈着についても評価する必要がある。また、In vivoでの検討を行うことで、病態モデルの血管内皮細胞においても同様の所見が認められるかどうか検討していく。

## [結論]

ヒストンは細胞障害を惹起し、CRegの発現および機能を低下させることが示唆された。

## [文献]

- 1) Kim J.E et al. *Thrombosis research.* 135:1064-1069 (2015)
- 2) Foley, J. H et al. *Thrombosis research.* 141: 30365-30366 (2016)
- 3) Mizuno, T et al. *Scientific reports.* 16: 42714 (2017)
- 4) Nagano, F et al. *European Journal of Pharmacology* 826: 48-55 (2017)
- 5) Mizuno, T et al. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 305: 1603-1616 (2013)

# 硬骨魚類における古典経路の機能解析から系統発生学的考察

中尾 実樹、岩永 彩代、長澤 貴宏、榎本 智軌

九州大学大学院農学研究院

Phylogenetic implication on functions of the classical complement pathway in bony fish.

Miki Nakao, Sayo Iwanaga, Takahiro Nagasawa, Tomonori Somamoto

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University, Fukuoka, Japan

## [はじめに]

補体古典経路を構成する成分C1, C4, C2のうち、C1q様タンパク質は最も原始的な脊椎動物である無頸類（ヤツメウナギ類）で同定されているが、抗体依存的な溶血反応で代表される典型的な古典経路活性は、進化の過程で軟骨・硬骨魚類で初めて認められる。系統発生学的に初期の古典経路には、C1の亜成分組成、C4-1・C4-2という2種のアイソタイプ間の機能分化、機能的にC2に相当する成分の有無など、不明な点が多く残されており、その活性化機構が未解明である。本研究では、第二経路の活性化に必須と考えられるD因子を欠損させたコイ血清を用い、古典経路の機能を解析した。

## [方法]

抗コイDfウサギIgG (5 mg) を固定化したHiTrapカラムに正常コイ血清1 mlを通して、Df欠損コイ血清を作成した。古典経路溶血活性は、コイIgMで感作したヒツジ／ウサギ赤血球を標的としてGVB<sup>2+</sup>中で、第2経路溶血活性はウサギ赤血球を標的としてMg-EGTA-GVBを用いて測定した。標的赤血球へのC3沈着は、コイの主要なC3アイソタイプC3-H1・C3-Sの両方を認識するポリクローナル抗体を用いた。また、レクチン・古典経路を介したC3沈着は、酵母マンナンおよび卵白リゾチウム-抗卵白リゾチウムコイ抗体でコートした96穴プレートと、上記各アイソタイプに特異的なモノクローナル抗体を用いたELISAで測定した。

## [結果]

(1) Df欠損コイ血清は、古典・第二両経路の溶血活性を失ったが、精製コイDfの再添加で両経路の活性を回復させた。(2) Dfの除去によって、古典・レクチン経路活性化によるC3-H1およびC3-Sアイソタイプの沈着は著しく低下した。(3) Df欠損コイ血清の古典経路活性化によって少量のC3が沈着した標的赤血球は、Mg-EGTA存在下でコイ正常血清の第二経路によって非常に効率よく溶血し、見かけ上、正常血清の古典経路を介した溶血活性と同じ活性を示した。

## [考察・結論]

Df欠損によって古典経路の溶血活性も失われたことは、硬骨魚類の補体古典経路の活性化においては第二経路によるC3活性化の増幅が必須であることを示唆する。古典経路のみではC5転換酵素を形成できないのかもしれない。したがって、進化的には古典経路は、少量のC3で標的を標識して第二経路の活性化（増幅反応）を効率化するメカニズムとして出現したと考えられる。本研究結果と同様に、ニジマス血清からB因子を除去すると古典・第二両経路の溶血活性を失うことが報告されている。この結果は、硬骨魚類のB因子はC2としても機能すると解釈されているが、この観察結果は、ニジマスの古典経路を介した溶血反応にも、第二経路によるC3活性化の増幅が必須であることを反映していると考えられる。

## [文献]

- 1) Sunyer J. O. et al. J. Immunol. 161: 4106 (1998)

## 血清の細胞外小胞による自然免疫制御と補体の役割

押海 裕之<sup>1,2)</sup>、福島 好<sup>1)</sup>、フジワラ アイカ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>熊本大学大学院生命科学研究所 免疫学分野学、<sup>2)</sup>PRESTO JST

Role of complement in regulation of serum extracellular vesicle-mediated innate immune response

Hiroyuki Oshiumi<sup>1,2)</sup>, Yoshimi Fukushima<sup>1)</sup>, Aika Fujiwara<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Immunology, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University,

<sup>2)</sup>PRESTO JST

### [はじめに]

宿主細胞から放出される細胞外小胞はmicroRNA (miRNA) などの機能的RNAを伝達し、細胞間情報伝達を担う。我々はこれまで、この細胞外小胞内のmiRNAが自然免疫応答に非常に重要な役割を果たすことを明らかとした<sup>1)</sup>。興味深いことに細胞から放出される細胞外小胞の膜表面にはホスファチジルセリンが存在する。補体のC1qはホスファチジルセリンと結合することが知られているが、細胞外小胞が担う情報伝達にどのように関与するのかはほとんど解明されていない。本研究では、この細胞外小胞が自然免疫応答に果たす役割と、この過程に補体成分がどのように関与するのかを調べた。

### [方法]

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

### [結果]

健常人のヒト血清から回収した細胞外小胞をマクロファージ培養液へ加えた後に、リポ多糖 (LPS) で刺激し、そのサイトカイン産生を調べた。興味深いことに、ヒト血清由来の細胞外小胞は、マクロファージの炎症性サイトカイン産生を増強した。一方で、ヒト血清から回収した細胞外小胞を熱処理し

たところ、この効果が消えることが明らかとなった。

次に、細胞外小胞の取り込みを、細胞外小胞内のmiRNAが細胞内へと取り込まれた量を指標として観察したところ、熱処理により細胞外小胞の取り組みが促進され、組換えC1qタンパク質存在下では、この効果が抑制された。

細胞外小胞と血清成分との関連について詳細に調べたところ、ヒト血清から回収した細胞外小胞を無血清培地で培養しても、その応答性は殆ど変化がないのに対し、細胞外小胞を除去した牛血清にヒト血清から回収した細胞外小胞を加えると、マクロファージの応答性が著しく上昇した。

### [考察]

上記の結果は、血清中のC1qやその他の易熱性のタンパク質が細胞外小胞の機能や取り込みに影響を与えることを示唆している。

### [結論]

本研究から、細胞外小胞による自然免疫制御に補体成分の関与が示唆された。今後、補体と細胞外小胞との関連の解明が今後重要になると期待される。

### [文献]

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

## PIGT遺伝子欠損によるインフラマソーム活性化メカニズムの解明

大里 真幸子<sup>1)</sup>、村上 良子<sup>2)</sup>、植田 康敬<sup>1)</sup>、西村 純一<sup>1)</sup>、金倉 譲<sup>1)</sup>、木下 タロウ<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、<sup>2)</sup>大阪大学微生物病研究所 疾患難病解明寄附研究部門

Mechanisms of inflammasome activation in PIGT-PNH.

Makiko Osato<sup>1)</sup>, Yoshiko Murakami<sup>2)</sup>, Yasutaka Ueda<sup>1)</sup>, Jun-Ichi Nishimura<sup>1)</sup>, Yuzuru Kanakura<sup>1)</sup>, and Taroh Kinoshita<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Hematology and Oncology, Osaka University Graduate School of Medicine,

<sup>2)</sup>Endowed Chair Yabumoto Department of Intractable Disease Research,  
Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

### [はじめに]

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

### [方法]

ヒト単球細胞株THP-1のPIGT欠損株とPIGA欠損株をCRISPR/Cas9の系を用いて作製し、それぞれcDNAでレスキュード細胞を作製した。

これら細胞をPMAでマクロファージに分化させた後、活性化補体源として酸性化血清を単独で与えて37°Cで5時間培養し、培養液中のIL-1βの濃度をELISAにて測定した。インフラマソームの活性化

によるIL-1β等のサイトカインの分泌には、NF-κBを活性化してpro-IL-1βや不活性型 NLRP3等の転写・翻訳を誘導するプライミングシグナル（1st シグナル）と、pro-IL-1β等を切断して分泌させる活性化シグナル（2nd シグナル）が必要である。コントロールとしてPam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>による1stシグナルと共に、ATPによる2ndシグナルを与え培養し、同様に解析した。これらの細胞における1st シグナルの強さを比較するためReal-time PCRを用いて、IL-1βとNLRP3のmRNA発現量を測定した。インフラマソームの活性化に関する活性化補体のうちC5a-C5aRを介するシグナルと最終産物であるMAC（membrane attack complex）の形成が知られているが、この実験系における両者の役割を確認するため、anti-C5抗体、C5a-C5aR阻害剤やC6、C7欠損血清を使用してIL-1βの分泌量を解析した。

また、細胞表面に沈着したC3活性化断片とMACをフローサイトメトリーにて測定した。

### [結果]

Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub>とATPの刺激によるIL-1β の分泌はTHP-1の野生株、PIGT欠損株、PIGA欠損株で同程度であった。酸性化血清刺激においてはPIGT欠損株で培養液中のIL-1β が有意に高値を示し、PIGA欠損

株の約2倍、野生株の約50倍でありそれぞれの欠損株にcDNAを戻すと野生株同様低値となった。この増加は血清を熱処理、あるいは抗C5モノクローナル抗体添加により抑制されたことからC5の活性化が必須であることがわかった。さらに酸性化血清にC5a受容体アンタゴニストあるいはC5aR抗体を添加してもIL-1 $\beta$ 分泌は抑制されなかった。一方、C6またはC7欠損の酸性化血清ではIL-1 $\beta$ 分泌の抑制を認め、精製したC6またはC7の添加で回復したことからC5a-C5aRを介するシグナルではなく、最終産物であるMAC形成がインフラマソームの活性化に重要であることがわかった。また、酸性化血清刺激によりPIGT欠損株では、細胞表面のC3活性化断片沈着とMAC形成がPIGA欠損株の約3倍であった。

Real-time PCRでは、PMA刺激のみで全ての細胞においてpro-IL-1 $\beta$ 、NLRP3のmRNAが同程度に発現し、さらに酸性化血清による単独刺激を加えても、それぞれの細胞株でのpro-IL-1 $\beta$  やNLRP3のmRNA発現上昇は同程度であった。

#### [考察]

活性化補体源である酸性化血清の刺激によりPIGT欠損株でIL-1 $\beta$ が高値を示した。この反応には補体因子C5の活性化が必須であり、MAC形成がインフラマソームの活性化に重要であることがわかった。しかしながらPIGT欠損株とPIGA欠損株では、共にGPIアンカー型タンパク質である補体制御因子が欠損しており、酸性化血清の添加で補体の過剰な活性化が起こると考えられるが、PIGT欠損株で有意に高い活性化を示した理由としてPIGT欠損株のみで発現しているfree GPIの関与が示唆された。また、PIGT欠損株はPIGA欠損株のC3活性化断片沈着とMAC形成が約3倍増加を示したことから、PIGT欠損株ではより強い補体活性化が起こっていると考えられた。Free GPIがどのように補体活性化やインフラマソームの活性化を増強しているか、その機序の解明は今後の課題である。

#### [結論]

PIGT欠損株では補体活性下でPIGA欠損株に比べて有意に強いインフラマソームの活性化を示し、このTHP-1を使った系はPIGT-PNHの患者の病態を再現していた。この反応にはMAC形成が重要でfree GPIがその増強に関与していることが示唆された。

#### [文献]

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

## Complement Receptor 1 (CD35) はヒト造血において機能的な新規幹細胞分画を規定する

次郎丸 高志<sup>1,2)</sup>、宮脇 恒太<sup>1)</sup>、森 康雄<sup>1)</sup>、岩崎 浩己<sup>2)</sup>、前田 高宏<sup>1)</sup>、赤司 浩一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学 病態修復内科学、<sup>2)</sup>国立病院機構 九州医療センター 血液内科

Complement Receptor 1 (CD35) marks a novel functional hematopoietic stem cell fraction in human hematopoiesis

Takashi Jiromaru<sup>1,2)</sup>, Kohta Miyawaki<sup>1)</sup>, Yasuo Mori<sup>1)</sup>, Hiromi Iwasaki<sup>2)</sup>,  
Takahiro Maeda<sup>1)</sup> and Koichi Akashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Medicine and Biosystemic Science, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences,

<sup>2)</sup>Department of Hematology, National Kyushu Medical Center

### [はじめに]

ヒト造血幹細胞（HSC）の研究において、複数の表面マーカーを組み合わせる事で、より純化された分画を得る事が可能となってきた<sup>1) 2) 3) 4)</sup>。しかし、これらの表面マーカーの機能に関しては、ほとんど明らかになっていない。また、未だにHSC分画は heterogeneousな集団である事が知られている<sup>5)</sup>。

### [方法]

網羅的表面マーカー解析によって、HSC分画特異的に発現しているマーカーの検索を行い、新規HSC分画を同定した。Colony assayなどのin vitro実験や、免疫不全マウスを用いたin vivoでの異種移植実験、遺伝子発現解析を組み合わせる事で、新規HSC分画の機能解析を行った。

### [結果]

HSC分画では、下流の多能性前駆細胞（MPP）と比較し、CD35が高発現している事を見出した。また、CD35+HSCは、CD35-HSCと比較して、高い長期自己複製能を有しており、ヒトの造血システムにおいて、より上流の分画である事と考えられた。また、CD35は、HSCを補体による傷害から保護する役割

を果たしており、機能的マーカーであることも同定した。

### [考察]

既知のHSCマーカーに、CD35を組み合わせる事で、より純化したHSCを分離する事が可能となると考えられる。また、CD35は機能的マーカーであり、活性化した補体による傷害からの防御という、新たなHSCの特性を見出す事ができ、今後のHSC研究において、非常に重要な知見と考えられる。

### [結論]

網羅的なマーカー検索によって、HSC特異的にCD35が発現している事を見出した。CD35は、より上流の幹細胞分画を規定しており、また、HSCを補体から保護する役割をもつ機能的マーカーである。

### [文献]

- 1) Craig W. et al. *J Exp Med.* 177 (5) :1331–1342 (1993)
- 2) Majeti R. et al. *Cell Stem Cell.* 1 (6) :635–645 (2007)
- 3) McKenzie JL. et al. *Blood.* 109 (2) :543–545

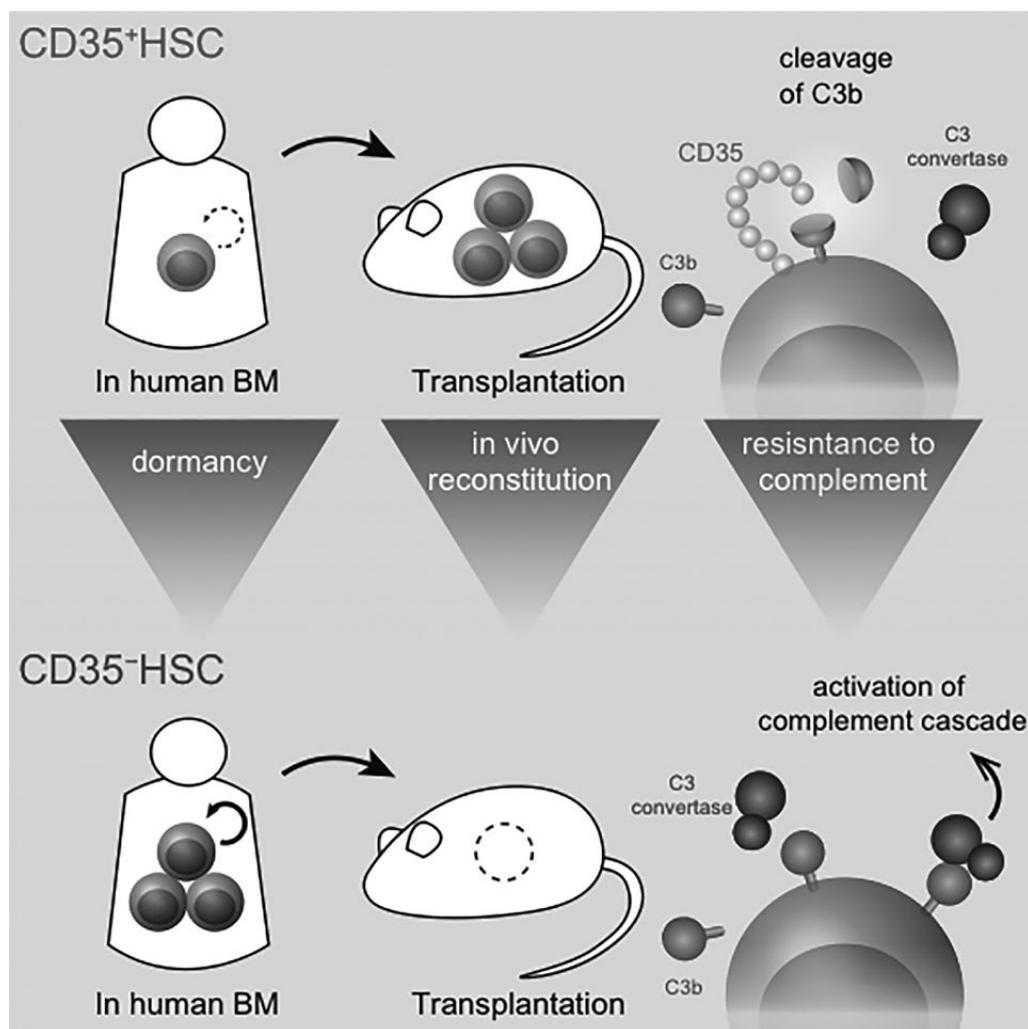
(2007)

4) Notta F et al. *Science*. 333 (6039) :218-221

(2011)

5) Notta F et al. *Science*. 351 (6269) :aab2116

(2016)



## 補体副経路を標的とした右室起源致死性不整脈に対する新たな治療法の開発

伊藤 章吾<sup>1)</sup>、関 優久<sup>1)</sup>、湯浅 慎介<sup>1)</sup>、小室 仁<sup>1)</sup>、勝木 俊臣<sup>1)</sup>、木村 舞<sup>1)</sup>、岸野 喜一<sup>1)</sup>、楠本 大<sup>1)</sup>、鈴木 邦道<sup>2)</sup>、柚崎 通介<sup>2)</sup>、福田 恵一<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>慶應義塾大学医学部 循環器内科、<sup>2)</sup>慶應義塾大学大学院医学研究科 生理学

The development of a novel therapy for lethal ventricular arrhythmia originated from right ventricle, targeting alternative complement pathway

Shogo Ito<sup>1)</sup>, Tomohisa Seki<sup>1)</sup>, Shinsuke Yuasa<sup>1)</sup>, Jin Komuro<sup>1)</sup>, Toshiomi Katsuki<sup>1)</sup>, Mai Kimura<sup>1)</sup>, Yoshikazu Kishino<sup>1)</sup>, Dai Kusumoto<sup>1)</sup>, Kunimichi Suzuki<sup>2)</sup>, Michisuke Yuzaki<sup>2)</sup>, Keiichi Fukuda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Cardiology, Keio University School of Medicine,

<sup>2)</sup>Department of Physiology, Keio University School of Medicine

### [はじめに]

右室起源致死性不整脈はBrugada症候群、催不整脈性右室心筋症などが知られており、青壯年期の突然死の原因となる。本邦においてこれらの疾患で突然死する35歳以下の人口は少なくとも年間2000人と考えられている<sup>1)</sup>。しかし、核となる病態が未解明であるため有効な薬物療法が存在しない。これらの疾患は、共通して右室流出路 (RVOT) で線維化・脂肪置換が起こることが知られている。我々は、RVOTの細胞生物学的特性を明らかにすることで、右室起源致死性不整脈の原因を明らかにすることができるのではないかと着想した。

### [方法]

1. 12週齢の野生型オスマウスの心臓を右室流出路、右室、左室、心室中隔の4箇所に分け、網羅的m-RNA発現解析 (Agilent® SurePrint Mouse GE 8x60k Ver.2.0) を行ない、発現変動遺伝子の抽出をGene Spring (Agilent®) を用いて行った。得られた発現変動遺伝子のパスウェイ解析を、Ingenuity Pathway Analysis (QIAGEN®) で行った。これより、RVOTで補体経路が活性化していることが分かった。

2. *in vitro*: 心筋細胞に対する補体副経路の作用を調べる目的で、胎仔ラット心室筋細胞に対してC3aリ

コンビナントタンパク投与を行った。

3. *in vivo*: 左心不全モデルとして大動脈縮窄モデル (TAC)、右心不全モデルマウスとして肺動脈縮窄モデルマウス (PAC) をそれぞれ作製し、m-RNA発現変動を調べた。さらに、同様のモデルをC3ノックアウト (KO) マウスにも作製し、表現型の差異を検討した。

### [結果]

#### 1. 網羅的m-RNA発現解析

計6個体の野生型マウスを用いた。統計学的解析により発現変動遺伝子を抽出でき、パスウェイ解析では、補体経路が有意に活性化していることが示唆された。中でも、Cfdが他部位の25倍以上と、著明に高発現であった。

#### 2. *in vitro* 解析

右室流出路で補体経路の活性化と、Cfdが高発現していた結果から、C3aが局所的に強く作用している可能性を考えた。ラット胎仔初代培養心室筋細胞 (NRVM) に対して、C3aリコンビナントタンパクを投与したところ、MAPキナーゼのリン酸化を認め、これはC3aRのノックダウンで減弱した。これより、心筋細胞に対してC3aはC3aRを介して特異的に細胞内シグナルカスケードのリン酸化を介し、不全心筋

様に変化することがわかった。

### 3. *in vivo* 解析

*in vitro* 解析結果より、心筋であれば部位に関わらず不全心に補体の活性化は関連すると考え、左心不全モデルとしてTACモデルを作製したところ、RVOTのみでCfd発現量が経時的に増加した。次にC3KOと野生型のTACモデルを比較したところ、C3KOではRVOTの線維化が特異的に抑制された。右心不全(PAC)モデルを作製したところ、C3KOでは右心機能の低下が有意に抑制されていた。更に、野生型PACモデルに対しC3aRアンタゴニストのSB290157を14日間投与したところ、右心不全は発症せず、RVOT・右室線維化が著明に抑制された。これは、RVOT特異的に線維化が起こる機序としてC3-C3aが重要であることを示唆し、ひいてはRVOTが部位特異的に不整脈基質を獲得するメカニズムのひとつであると考えられた。

### [考察]

右室起源致死性不整脈は病態の主因が未解明である。中でもBrugada症候群は心臓ナトリウムチャネルをコードするSCN5Aの機能喪失変異が原因とされているが<sup>2)</sup>、本疾患は共通して右室流出路に線維化・脂肪置換が起きており、同部位に不整脈源性に作用する異常電位が記録される<sup>3)</sup>。すなわち、右室流出路限局的に異常を来たすメカニズムこそ本疾患の病態を解明する鍵となると考えられる。

今回、右室流出路で補体経路が活性化しているということ、マウス左心・右心不全モデル双方でC3-C3aが右室特異的な線維化に関与していることが分かった。この知見は、C3aのRVOTにおける作用が過剰であれば右室線維化を来たし催不整脈性を獲得する可能性が示唆される。興味深いことに実臨床では、本疾患の催不整脈性を来たす環境因子として、発熱時<sup>4)</sup>、アル

コール摂取後<sup>5)</sup>が知られており、補体副経路活性化との関連<sup>6)</sup>が想起される。今後はC3aR・Cfdのノックアウトマウスを用いて更なる検討を重ねたい。

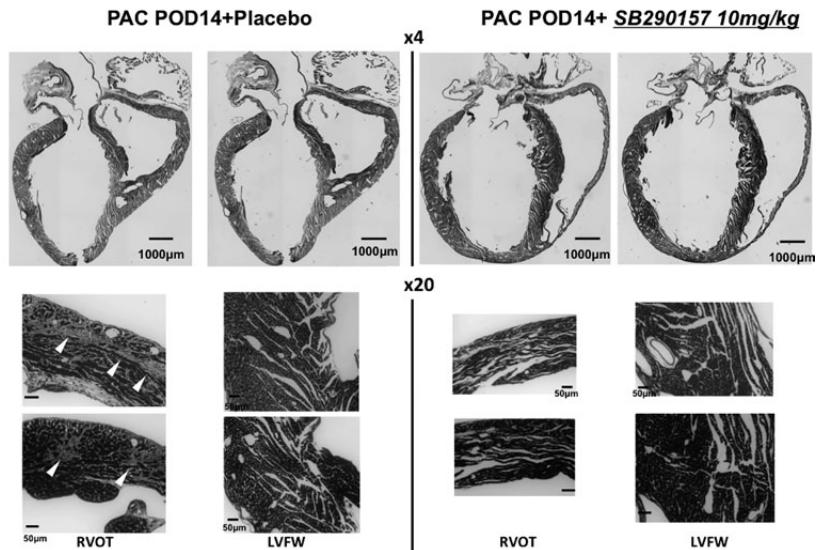
### [結論]

RVOTで高発現するCfdにより局所的に產生されるC3aにより右室特異的な線維化が起こる可能性が示唆された。この知見により致死性不整脈の基質を直接標的とする新規治療法を創出できる可能性がある。

### [文献]

- 1) Bagnall R.D, et al. *N Engl J Med.* 374:2441-52 (2016)
- 2) Yamagata K, et al. *Circulation.* 135:2255-2270 (2017)
- 3) Nademanee K, et al. *J Am Coll Cardiol.* 66: 1976-1986 (2015)
- 4) Michowitz Y, et al. *Heart Rhythm.* 18: 1-8 (2018)
- 5) Ohkubo K, et al. *Europace.* 15: 1058 (2013)
- 6) McCullough RL, et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 10.1152/ajpgi.00334.2017 (2018) [E pub ahead of print]

Figure. 野生型マウスのPACモデルに対してSB290157を14日間投与すると、RVOT、右室の線維化が抑制された。(白矢印: 線維化)



# Programmed cell death 1の老年Q137E 変異リボソーム蛋白質S19遺伝子ノックインC57BL/6J雌マウスの役割

西浦 弘志、中正 恵二、山根木 康嗣

兵庫医科大学・病理学講座・病理診断部門

The roles of programmed cell death 1 in the old Q137E mutant ribosomal protein S19 gene knock-in C57BL/6J female mice.

Hiroshi Nishiura, Keiji Nakasho and Koji Yamanegi

Department of pathology, Hyogo collage of medicine

## [はじめに]

我々は、アポトーシス誘導性にあらゆる細胞がC5a受容体を発現し、そのリガンドであるリボソーム蛋白質S19 (RP S19) 多量体 (K122とQ137の架橋化体) を産生することを発見した<sup>1)</sup>。一方で、RP S19単量体はそのC末端にC5a受容体結合・細胞膜貫通・アンタゴニスト/アゴニスト転換配列を持つ。故に、RP S19多量体はアポトーシス細胞とマクロファージ上のC5a受容体の協調作用を誘導し、マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食処理時間を短縮する。

アポトーシス関連因子の欠損は、マウス種に特異的な自己免疫疾患を誘導している。そこで、我々もQ137E RP S19変異遺伝子をC57BL/6Jマウスにノックインした<sup>2)</sup>。コントロールマウスに比較して、老年ノックイン雌マウス (22～26週齢) の顎下腺優位にリンパ球が集簇した。しかし、加齢に伴う顎下腺への特異的なリンパ球浸潤機構は解明されていない。

## [方法]

一般および免疫染色：マウス臓器を10%中性ホルマリン液で48時間・振盪固定後、パラフィンブロックを作製する。薄切標本は、自動免疫染色装置ヒストステイナー 36Aを用いて、ヘマトキシリノ・エオ

ジン染色液および抗programmed cell death-1 (PD-1) 抗体で染色する。

Fluorescence activated cell sorting (FACS) 法：脾細胞は、抗PD-1、抗CD8、抗CD4抗体で染色し、フローサイトメトリーシステムFACSAriaIIIを用いて解析する。

## [結果]

FACS解析では、若年 (12～16週齢) コントロール雌マウスのCD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>脾細胞にPD-1を測定しない。一方、老年コントロール雌マウスのCD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>脾細胞に僅かにPD-1を測定した。免疫組織学的解析では、PD-1<sup>+</sup>細胞は老年コントロール雌マウスのリンパ濾胞周囲辺縁領域に観察した。一方、一般染色で、僅かなリンパ球の集積を老年コントロール雌マウスの顎下腺の外分泌腺導管に観察した。免疫染色で、全ての集積リンパ球にPD-1の発現を観察した。

FACS解析では、若年ノックイン雌マウスのCD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>脾細胞に僅かにPD-1を測定した。一方、老年ノックイン雌マウスのCD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>脾細胞に高頻度にPD-1を測定した。免疫組織学的解析で、PD-1<sup>+</sup>細胞は老年コントロール雌マウスのリンパ濾胞および周囲辺縁領域の両方に観察した (図1)。一方、一般染色で、多くのリンパ球の集積を

老年コントロール雌マウスの顎下腺の外分泌腺導管に観察した。免疫染色で、全ての集積リンパ球にPD-1の発現を観察した（図2）。

逆に、老年ノックイン雌マウスの顎下腺の外分泌腺導管へのPD-1<sup>+</sup>細胞の集積は、若年脾細胞の移植後4週間で消滅した。

#### [考察]

近年、老年マウスのPD-1<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞中にCD153を発現する亜型が発見された<sup>3)</sup>。更に、ループス腎炎モデル雌NZB/WF1 (BWF1) マウスの脾臓のリンパ濾胞中のPD-1<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞がCD153を発現すること、CD153<sup>+</sup>/PD-1<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞が主に自然免疫系のマクロファージが持つ強力な炎症性サイトカインに含まれるオステオポンチンを産生すること、オステオポンチンが脾臓のリンパ濾胞中のB細胞のアポトーシスを抑制すること、等が報告された。彼らは、長期生存B細胞によるループス腎炎発症機構を提唱した。

我々も、老年ノックイン雌マウスのPD-1<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>脾細胞のmRNA発現を次世代シークエンス法で解析し、CD153のトランスクリプト上昇を確認した。現在、ノックイン雌マウスをヒト加齢性シェーグレン症候群発症モデルと想定し、血漿中の外分泌組織に対する自己抗体を確認している。

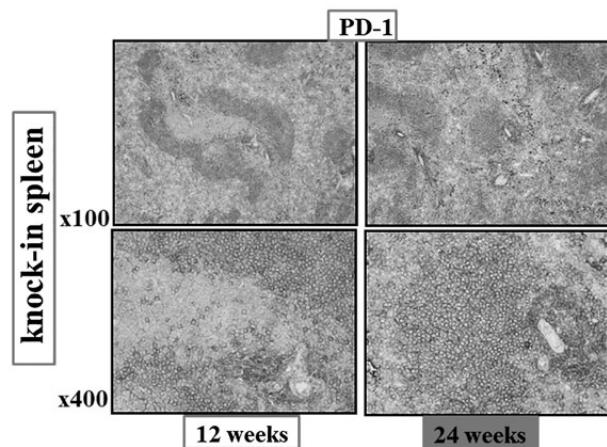
#### [結論]

老年のC57BL/6JマウスPD-1<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞は、特異的な顎下腺の外分泌腺導管への細胞浸潤に関与する。

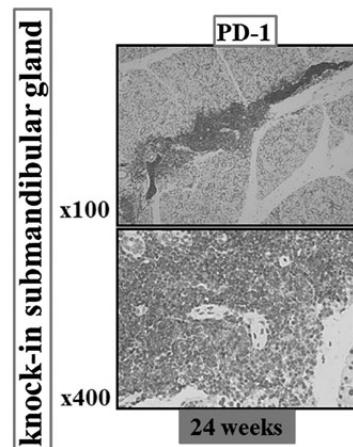
#### [文献]

- 1) Nishiura H. Adv Exp Med Biol. 2013; 735: 111-21. Review.
- 2) Yamanegi K. Immunobiology. 2018 Jan; 223(1): 118-124.
- 3) Tahir S. J Immunol. 2015 Jun 15; 194(12): 5725-35.

[図1]



[図2]



## MASP-1、MASP-3はレクチン経路、第二経路の活性化に独立して寄与する

林 學<sup>1)2)</sup>、石田 由美<sup>1)</sup>、町田 豪<sup>1)</sup>、尾形 裕介<sup>1)</sup>、大森 智子<sup>1)</sup>、高住 美香<sup>1)2)</sup>、遠藤 雄一<sup>1)</sup>、  
関亦 正幸<sup>3)</sup>、伊川 正人<sup>4)</sup>、大平 弘正<sup>2)</sup>、藤田 穎三<sup>5)</sup>、関根 英治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>福島県立医科大学 免疫学講座、

<sup>2)</sup>福島県立医科大学 消化器内科学講座、

<sup>3)</sup>福島県立医科大学 附属放射性同位元素研究施設、

<sup>4)</sup>大阪大学・遺伝情報実験センター 遺伝子機能解析分野、

<sup>5)</sup>福島県立総合衛生学院

MASP-1 and MASP-3 play independent roles in activation of the lectin and alternative complement pathways

Manabu Hayashi<sup>1,2)</sup>, Yumi Ishida<sup>1)</sup>, Takeshi Machida<sup>1)</sup>, Yusuke Ogata<sup>1)</sup>,

Tomoko Omori<sup>1)</sup>, Mika Takasumi<sup>1,2)</sup>, Yuichi Endo<sup>1)</sup>,

Masayuki Sekimata<sup>3)</sup>, Masahito Ikawa<sup>4)</sup>, Hiromasa Ohira<sup>2)</sup>, Teizo Fujita<sup>5)</sup> and Hideharu Sekine<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine,

<sup>2)</sup>Department of Gastroenterology, Fukushima Medical University School of Medicine,

<sup>3)</sup>Radioisotope Research Center, Fukushima Medical University School of Medicine,

<sup>4)</sup>Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University,

<sup>5)</sup>Fukushima General Hygiene Institute

### [はじめに]

補体の活性化は異なる3つの活性化経路（古典経路、レクチン経路、第二経路）からなる。レクチン経路ではMannose-binding lectin (MBL)、collectin-10、collectin-11そしてficolinが認識分子として働き、MBL-associated serine proteases (MASPs)を介して補体を活性化する。

MASP-1とMASP-3は*Masp1*遺伝子のsplice variantである。これまでに我々のグループは、*Masp-1*欠損マウス (MASP-1/3欠損) の血清ではレクチン経路と第二経路の活性化能が欠損しており、血清中のD因子が未活性化型 (zymogen form) であることを報告した<sup>1)</sup>。近年、MASP-1とMASP-3の相互関与について、MASP-1がMASP-3の活性化に関与することが示唆されているが<sup>2)</sup>、*in vivo*におけるそれらの相互関与や、レクチン経路と第二経路の活性化におけるMASP-1とMASP-3の個々の関与については、いまだ解明されていない。

そこで本研究では、MASP-1、MASP-3それぞれの単独欠損マウスを作成し、*in vivo*におけるMASP-1とMASP-3の相互関与と、レクチン経路と第二経路の活性化へのMASP-1とMASP-3の個々の関与を解析した。

### [方法]

MASP-1、MASP-3の特異的セリンプロテアーゼ欠損マウスをCRISPR/Cas9システムを用いて作成した。マウス血清中におけるMASP-1、MASP-3、D因子の活性化の有無をWestern blottingで解析した。マウス血清のレクチン経路活性能をマンナンに対するC4 deposition assayで、第二経路活性能をザイモザンに対するC3 deposition assayでそれぞれ解析した。

### [結果]

マンナンに対するC4 deposition assayの結果、

MASP-3欠損マウス血清ではC4の沈着が見られたが、MASP-1欠損マウス血清では認められなかった。

一方、ザイモザンに対するC3 deposition assayの結果、MASP-1欠損マウス血清ではC3の沈着が見られたが、MASP-3欠損マウス血清では認められなかった。

Western blottingによる解析の結果、MASP-1欠損マウス血清中のD因子は活性化型であったが、MASP-3欠損マウス血清中のD因子はMASP-1/3欠損マウスと同様に未活性化型（zymogen form）であった。さらにMASP-1欠損マウス血清中のMASP-3を解析した結果、MASP-3のほとんどは野生型と同様に活性化型であった。

#### [考察]

以上の結果、MASP-1はレクチン経路の活性化に必要であるが第二経路の活性化に必須でないことが判明した。一方、MASP-3はD因子及び第二経路の活性化に必須であるがレクチン経路の活性化に必須でないことが判明した。

これまで *in vivo*でのレクチン経路と第二経路の活性化におけるMASP-1とMASP-3の個々の関与や、MASP-1とMASP-3の相互関与については未解決であった。本研究の結果、MASP-1はレクチン経路に、MASP-3は第二経路の活性化にそれぞれ独立して寄与することが判明した。また、これまでにMASP-1がMASP-3の活性化に関与することが示唆されているが<sup>2)</sup>、MASP-1欠損マウスの解析の結果、MASP-1はMASP-3の活性化に必須でないことが判明した。

#### [参考文献]

- 1) Takahashi, M. et al. Essential role of mannose-binding lectin-associated serine protease-1 in activation of the complement factor D. *J. Exp. Med.* **207**, 29–37 (2010).
- 2) Oroszlán, G. et al. Extensive Basal Level Activation of Complement Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease-3: Kinetic Modeling of Lectin Pathway Activation Provides Possible Mechanism. *Front. Immunol.* **8**, 1–14 (2017).

## MRL/lprマウスのループス様糸球体腎炎におけるMASP-1/3の役割

町田 豪<sup>1)</sup>、坂本 夏美<sup>1)</sup>、石田 由美<sup>1)</sup>、高橋 実<sup>1)</sup>、藤田 穎三<sup>2)</sup>、関根 英治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>福島県立医科大学 免疫学講座、

<sup>2)</sup>福島県立総合衛生学院

Essential Roles for Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease-1/3  
in the Development of Lupus-Like Glomerulonephritis in MRL/lpr Mice.

Takeshi Machida<sup>1)</sup>, Natsumi Sakamoto<sup>1)</sup>, Yumi Ishida<sup>1)</sup>,  
Minoru Takahashi<sup>1)</sup>, Teizo Fujita<sup>2)</sup> and Hideharu Sekine<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine,

<sup>2)</sup>Fukushima General Hygiene Institute

### [はじめに]

代表的な自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス (SLE) の病態において、補体系は保護的な役割と病的な役割を果たす。SLEにおいて、古典経路は補体活性化のトリガーとして作用するが、抗原抗体複合体や自己抗原の供給源と成り得るアポトーシス細胞のクリアランスにも作用する。一方、第二経路は、增幅回路を通じて補体を過剰に活性化し、炎症により腎炎などの臓器障害を増悪させると考えられている。しかし、レクチン経路の関与について、多くは明らかにされていない。

血清中のレクチン経路の認識分子 (MBL, ficolin, collectin-10, collectin-11) と複合体を形成する MBL-associated serine protease (MASP)-1とMASP-3 は、これらの認識分子が異物上の糖鎖に結合すると活性化し、レクチン経路と第二経路の活性化に作用することが明らかにされている<sup>1)</sup>。

*Masp1*遺伝子の転写産物であるMASP-1は、活性化によりMASP-2を活性化し、活性化型MASP-2はC3転換酵素であるC4b2aを形成させることでレクチン経路の活性化に寄与する。一方*Masp1*遺伝子のsplice variantであるMASP-3は、第二経路のD因子を活性化し、最終的に第二経路のC3転換酵素であるC3bBbを形成させることで第二経路の活性化に寄

与する。

今回我々は、SLEの腎炎（ループス腎炎）におけるMASP-1とMASP-3 (MASP-1/3) の役割を解明するため、MASP-1/3を欠損したSLEモデルマウス (*Masp1/3*<sup>-/-</sup> MRL/lprマウス) 作成し、腎炎の解析を行った。

### [方法]

MASP-1、MASP-3の共通ドメインをコードする第2エクソンをネオマイシン耐性遺伝子と相同組換えにより破壊した*Masp1/3*<sup>-/-</sup> マウス<sup>1)</sup>を、SLEモデルマウスであるMRL/lprマウスに8世代戻し交配し、*Masp1/3*<sup>-/-</sup> MRL/lprマウスを作成した。マウス血清のレクチン経路の活性化能をマンナンに対するC4 deposition assayで、第二経路の活性化能をザイモザンに対するC3 deposition assayでそれぞれ解析した。マウス血清中におけるD因子の活性化の有無をWestern blottingで解析した。12週齢以降2週間ごとに採血・採尿し、マウス血清中の抗dsDNA 抗体, IgG免疫複合体, C3の各レベルと、尿中アルブミン排泄量をELISAで測定した。また、血清中の尿素窒素レベルを、UN Colorimetric Detection Kitで測定した。24週齢で屠殺し、腎の病理組織学的評価を行い、糸球体へのIgG, C1q, MBL-A, MBL-C, Ficolin-A,

Ficolin-B, C3の沈着レベルを、免疫蛍光染色法で評価した。

#### [結果]

マウス血清の補体活性能をC4 deposition assayとC3 deposition assayで解析した結果、MASP-1/3を欠損したMRL/lprマウスの血清ではそれぞれC4とC3の沈着が見られず、レクチン経路と第二経路の活性化能を欠損していた。Western blottingによる解析の結果、MASP-1/3欠損MRL/lprマウス血清中のD因子は未活性化型 (zymogen form) であった。MASP-1/3欠損MRL/lprマウスでは、血清C3レベルの低下やアルブミン尿がほとんど見られず、糸球体へのC3の沈着レベルや病理学的スコアも野生型MRL/lprマウスと比較して有意に低値であった。

一方、血清中の抗dsDNA抗体レベルやIgG免疫複合体レベル、糸球体へのIgGやMBL/ficolinの沈着レベル、腎間質の病理学的スコア、尿素窒素値と生存曲線では、野生型MRL/lprマウスとMASP-1/3欠損MRL/lprマウス間で有意差は見られなかった。

#### [考察]

以上の結果、レクチン経路と第二経路の活性化に必須であるMASP-1/3は、MRL/lprマウスにおけるループス様糸球体腎炎の病態に重要な役割を果た

すことが判明した。MASP-1/3欠損MRL/lprマウスでは、第二経路の補体因子であるD因子を欠損したMRL/lprマウス<sup>2)</sup>と比較して、アルブミン尿がほとんど見られなかったことから、MRL/lprマウスの糸球体腎炎の病態にレクチン経路が関与することが示唆された。

一方、野生型MRL/lprマウスとMASP-1/3欠損MRL/lprマウスとの間で、間質性腎炎の程度に有意差が見られなかったことから、同マウスの間質性腎炎のメカニズムは、糸球体腎炎とは異なることが示唆された。

#### [結語]

レクチン経路と第二経路の活性化に必須であるMASP-1/3は、MRL/lprマウスのループス様糸球体腎炎の病態に増悪因子として関与する。

#### [参考文献]

- 1) Takahashi, M. et al. Essential role of mannose-binding lectin-associated serine protease-1 in activation of the complement factor D. *J. Exp. Med.* **207**, 29-37 (2010).
- 2) Elliott, MK. et al. Effects of complement factor D deficiency on the renal disease of MRL/lpr mice. *Kidney Int.* **65**, 129-138 (2004).

## 播種性淋菌感染症を契機に先天性C6欠損症と診断した一例

小暮 雅哉<sup>1)</sup>、島田 利彦<sup>2)</sup>、内田 隆一<sup>1)</sup>、福森 泰雄<sup>3,4)</sup>、大谷 克城<sup>5)</sup>、塙本 浩<sup>6)</sup>、  
若宮 伸隆<sup>5)</sup>、井上 徳光<sup>3,4)</sup>

<sup>1)</sup>草津総合病院 内科、<sup>2)</sup>京都岡本記念病院 総合診療科、<sup>3)</sup>日本補体学会検査事務局、

<sup>4)</sup>大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、<sup>5)</sup>酪農学園大学農食環境学群食と健康学類、

<sup>6)</sup>新小倉病院リウマチ科

### A case of C6 deficiency affected with disseminated gonorrhreal infection

Masaya Kogure<sup>1)</sup>, Toshihiko Shimada<sup>2)</sup>, Ryuichi Uchida<sup>1)</sup>, Yasuo Fukumori<sup>3,4)</sup>, Katsuki Ohtani<sup>5)</sup>,  
Hiroshi Tsukamoto<sup>6)</sup>, Nobutaka Wakamiya<sup>5)</sup> and Norimitsu Inoue<sup>3,4)</sup>

<sup>1)</sup>Internal Medicine, Kusatsu General Hospital ,

<sup>2)</sup>General Internal Medicine, Kyoto Okamoto Memorial Hospital,

<sup>3)</sup>Laboratory section, The Japanese Association for Complement Research,

<sup>4)</sup>Tumor immunology, Osaka International Cancer Institute,

<sup>5)</sup>Dept. of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University,

<sup>6)</sup>Dept. of Rheumatology, Shin-Kokura Hospital

### [はじめに]

終末補体成分の欠損症は、反復性に髄膜炎菌、淋菌といった*Neisseria*属の細菌による全身感染症（侵襲性髄膜炎菌感染症や播種性淋菌感染症）に罹患しやすいことが知られている<sup>1)</sup>。本邦では、補体活性化経路に関わる補体成分欠損症と比較して、終末補体成分の欠損症は比較的多く認められる。大阪の献血者を対象にした大規模な検討によると、C5~C8の完全欠損症は0.011%、C9欠損症が0.095%であることが報告されているが<sup>2,3)</sup>、本邦では、侵襲性髄膜炎菌感染症や播種性淋菌感染症の報告は非常に少ない。今回我々は、播種性淋菌感染症を契機に補体欠損症を疑い、C6欠損症を診断した症例を経験したので報告する。

### [患者]

30歳代男性。既往にアトピー性皮膚炎、精巢上体炎あり。家族歴として、実父に詳細不明の髄膜炎既往を認める。入院約2か月前に風俗での性交渉歴

あり。入院1か月ほど前から間欠的に発熱を繰り返した。その都度無治療で軽快していたが、皮疹と関節痛を伴うようになり、血液培養が採取された。この血液培養から*Neisseria gonorrhoeae*が検出され、入院となった。播種性淋菌感染症の診断から先天性補体欠損症が疑われ、院内の検査でC3 182mg/dLとC4 49mg/dLと上昇を認めたものの、CH50 <10U/mLと低値を認めたため、日本補体学会で補体欠損症について精査をおこなった。

### [結果]

次世代シーケンサー MiSeq (Illumina社) を用いた115遺伝子のターゲットシーケンスにより、C6遺伝子のc.1816C>T置換によるナンセンス変異 (p.Arg606X) をホモで認めた。この変異をサンガーフ法によっても確認した。日本補体学会における生化学的な補体検査では、血漿補体はC3 110.2 mg/dL, C4 18.9 mg/dL, CH50 <6.4 U/mL, C5a 6.69 ng/mL, sC5b-9 0.0 ng/mLを示した。遺伝子検査よ

り、先天性C6欠損症が疑われたため、CH50検査において、患者血漿に精製ヒトC6 (50 μL/mL) を添加したところ、血漿CH50は39.7 U/mLに回復したことから、C6因子の単独欠損が明らかとなった。

#### [考察]

本症例の両親は血族結婚でなかったが、*C6*遺伝子のc.1816C>Tの変異をホモで認めた。京都大学の日本人のバリエーションデータベース (HGVD) によれば、c.1816C>Tのアレル頻度は0.0012であり、日本人の0.00014%がこの変異をホモでもつと予想される。稻井らの報告によれば、C6完全欠損症の日本人における頻度は0.0027%であり<sup>2)</sup>、多くの日本人のC6欠損症は、本症例で見つかったホモ変異以外であると予想された<sup>4)</sup>。本報告では、C6タンパク量は測定していないが、C6添加によりCH50が回復したことから、C6の単独の機能的欠損を確認した。

淋菌感染症は、日本では減少はしているものの年間8000~10000人発症する頻度の高い性感染症で、そのうち1~3%が播種性淋菌感染症に進展すると言われている。しかし、日本人における播種性淋菌感染症における終末補体成分欠損症との関連は明らかではない。今後、さらに詳細な検討が必要であろう。

#### [結論]

今回、播種性淋菌感染症を発症した先天性C6欠損症を経験した。抗補体薬である抗C5モノクローナル抗体の適応拡大に伴い、侵襲性髄膜炎菌感染症に加え、今後、播種性淋菌感染症にも注意が必要であると考えられる。

#### [文献]

- 1) S. Ram et al. *Clin. Microbiol. Rev.* 23:740-780 (2010)
- 2) S. Inai et al. *Int. Arch Allergy Appl Immunol* 90:274-279 (1989)
- 3) Y. Fukumori et al. *Int. Immunol.* 1:85-89 (1989)
- 4) H. Nishizaka et al. *J. Immunol.* 156:2309-2315 (1996)

## 補体検査システムにおける検査受諾状況

日高 義彦<sup>1)</sup>、井上 徳光<sup>2,3)</sup>、福森 泰雄<sup>2,3)</sup>、大谷 克城<sup>4)</sup>、若宮 伸隆<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>信州大学医学部小児医学教室、<sup>2)</sup>大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、<sup>3)</sup>日本補体学会検査事務局、

<sup>4)</sup>酪農学園大学農食環境学群食と健康学類

A report of acceptance condition in complement examination system.

Yoshihiko Hidaka<sup>1)</sup>, Norimitsu Inoue<sup>2,3)</sup>, Yasuo Fukumori<sup>2,3)</sup>, Katsuki Ohtani<sup>4)</sup>, Nobutaka Wakamiya<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine,

<sup>2)</sup>Tumor immunology, Osaka International Cancer Institute,

<sup>3)</sup>Laboratory section, The Japanese Association for Complement Research,

<sup>4)</sup>Dept. of Food Science and Human wellness, Rakuno Gakuen University

### [はじめに]

近年、補体機能異常により惹起される疾患（非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）やC3腎症など）が明らかとなってきたこと、抗補体薬の登場により遺伝性血管性浮腫や発作性夜間ヘモグロビン尿症、aHUSの治療成績が飛躍的に向上したことなどから、補体関連検査の重要性や必要性が高まり、日本補体学会にて補体検査システムの構築を行ってきたことを昨年の本学会で報告した。

今回、補体検査システムにおける検査受諾状況について報告する。

### [方法]

検査受付を開始した2015年12月から2018年5月末までの2年6か月間の検査受諾状況について、受諾した疾患カテゴリー毎（血栓性微小血管症（TMA）、補体欠損症、C3腎症、遺伝性血管性浮腫（HAE））に検討した。なお、検査受付開始時期は疾患カテゴリー毎に異なっており、TMAが最も早く開始された。

### [結果]

疾患カテゴリー毎の、年別、年齢別、性別の検査受諾件数を図に示す。全体で156件を受諾し、検

査受付開始時期の最も早かったTMAが75件で最多だった。年別では、いずれの疾患も経年で受諾件数は増加していた。年齢別では、TMAでは10歳未満が多く、20代が少なく、その他の年代では差があまりなかった。補体欠損症（疑い）では20歳未満がほとんどを占めていた。C3腎症では10代が最も多く、49件中28件（57%）だった。HAEでは20歳未満ではなく、成人例のみだった。性別では、補体欠損症疑いで男性が多かったが、その他は女性が多かった。

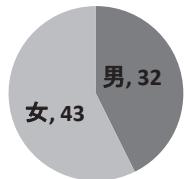
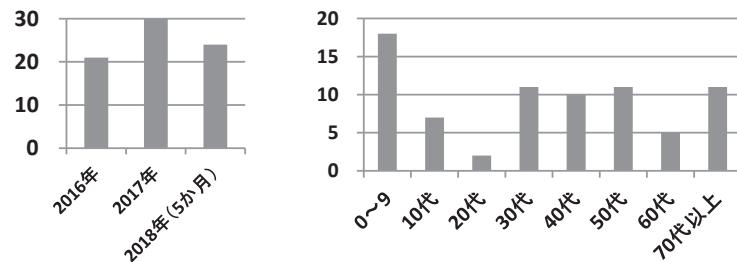
### [考察]

検査受諾件数は経年で増加しており、補体検査システムの認知度が上昇していると考えられた。年齢別ではTMA以外で20歳未満か20歳以上で受諾件数に差がみられ、好発年齢の他に、小児科と成人科での疾患認知度の違いが影響している可能性が考えられた。

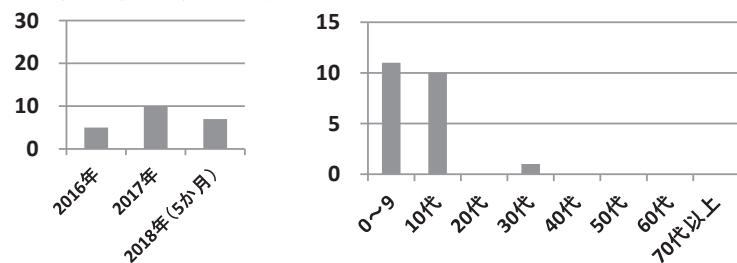
### [利益相反]

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

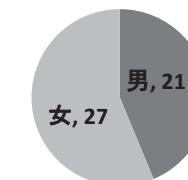
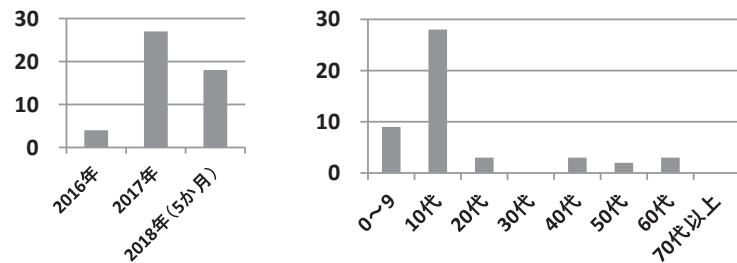
**血栓性微小血管症 (TMA) : 75 件**



**補体欠損症（疑い）: 22 件**



**C3 腎症（疑い）: 49 件 (年齢・性別不明 1 件)**



**遺伝性血管性浮腫 (HAE) : 10 件**

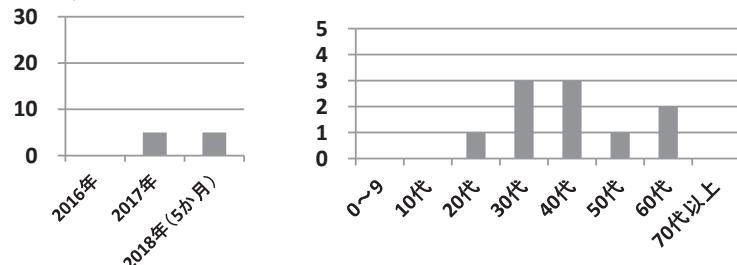


図. 年別、年齢別、性別の検査受諾件数

## デジタルPCR法を用いた日本人のC4遺伝子コピー数多型解析

福森 泰雄<sup>1,2)</sup>、日高 義彦<sup>3)</sup>、中村 道子<sup>1,2)</sup>、大谷 克城<sup>4)</sup>、赤澤 隆<sup>2)</sup>、塙本 浩<sup>5)</sup>、  
若宮 伸隆<sup>4)</sup>、井上 徳光<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 日本補体学会検査事務局、<sup>2)</sup> 大阪国際がんセンター研究所腫瘍免疫学、

<sup>3)</sup> 信州大学医学部小児科、<sup>4)</sup> 酪農学園大学農食環境学群食と健康学類、<sup>5)</sup> 新小倉病院リウマチ科

Analysis of copy number variation of complement C4 genes in Japanese individuals by a digital PCR system

Yasuo Fukumori<sup>1,2)</sup>, Yoshihiko Hidaka<sup>3)</sup>, Michiko Nakamura<sup>1,2)</sup>, Katsuki Ohtani<sup>4)</sup>,  
Takashi Akazawa<sup>2)</sup>, Hiroshi Tsukamoto<sup>5)</sup>, Nobutaka Wakamiya<sup>4)</sup>, Norimitsu Inoue<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> Laboratory section, The Japanese Association for Complement Research,

<sup>2)</sup> Tumor immunology, Osaka International Cancer Institute,

<sup>3)</sup> Dept. of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine,

<sup>4)</sup> Dept. of Food Science and Human wellness, Rakuno Gakuen University,

<sup>5)</sup> Dept. of Rheumatology, Shin-Kokura Hospital

### [はじめに]

ヒト補体C4遺伝子は、第6番染色体短腕のMHCクラスIII領域に位置し、高頻度のコピー数多型(Copy number variation, CNV)が知られており、染色体あたり1～4コピー存在する。また、C4には、アミノ基と結合しやすいC4Aと水酸基と結合しやすく溶血活性の高いC4Bの性質の異なる2種類が知られている。C4AとC4B遺伝子は、エクソン26の5塩基の違いによって決定されており、スタートコドンから1120～1125番目のアミノ酸のうち4アミノ酸が異なっている。それ以外にも、MHC領域に存在する他の遺伝子同様、C4遺伝子は、CNVや一塩基多型(single nucleotide polymorphism, SNP)等の様々な遺伝子多型を持つことが知られている。C4完全欠損の報告は極めて少ないが、C4AまたはC4Bの欠損やC4遺伝子の低コピーの症例は頻度が比較的高く、SLEなどの自己免疫疾患の発症と関連することが報告されている<sup>1,2)</sup>。

このように海外においては、C4遺伝子多型について疾患との関連が報告されているが、日本人を対象にした報告はまだない。そこで、今回われわれは、

健常日本人集団でのC4遺伝子のCNVを最近開発された精度と感度に優れたデジタルPCR法を用いて解析したので報告する。

### [方法]

健常日本人のゲノムDNA検体は、日本補体学会検査プロジェクトにおいて、コントロール検体として集められた健常日本人43人の末梢血DNAを用いた。また、患者検体として、日本補体学会検査プロジェクトへ低補体血症として検査を依頼され、明らかな補体欠損症の見つからなかった7人の末梢血DNAを用いた。ゲノムDNAは、キアゲンのDNA精製キットを使って精製し、C4AとC4B遺伝子を切断するために、BamHIを用いた。CNV解析には、C4A、C4B遺伝子特異的プローブとして市販のTaqman Copy Number Assays用プローブを、二倍体あたりの総C4コピー数解析にはC4AとC4B共通のエクソン2の配列から設計したプローブを用い、デジタルPCR法を使用した(QuantStudio® 3D Digital PCR System, Thermo Fisher Scientific)。

### [結果]

デジタルPCR法によるC4遺伝子のCNV解析を行い、43人の健常日本人の二倍体あたりのC4A、C4Bおよび総C4遺伝子の各CNVの頻度を調べた。Y. Yangらの報告によれば、517人のヨーロッパ系アメリカ人の健常人集団に対して行った解析では、4コピー（60.8%）、3コピー以下（27.2%）、5コピー以上（12.0%）であった<sup>1,2)</sup>。一方、今回の健常日本人の解析では、4コピー（67.4%）、3コピー以下（0%）、5コピー以上（32.6%）であった。さらに、C4Bのコピー数の分布には日本人と白人でほとんど違いはなかったが、C4A遺伝子のコピー数は、3コピー以上が白人では25.3%であったのに対して、日本人では、53.4%とコピー数が多い傾向が見られた。それ故、総コピー数の日本人と白人における違いは、C4A遺伝子のコピー数の違いを反映していることがわかった。

さらに、C4タンパク質の低値を示した患者7人のCNVを調べたところ、3人の患者で総C4コピー数が健常日本人には見られなかった3コピーであった。

### [考察]

これまででも血清学的方法やPCR法等により、日本人のC4多型についての断片的な報告はあるが、今回、デジタルPCR法を用いて、日本人集団におけるC4遺伝子のCNVの頻度分布を初めて報告した。健常日本人とヨーロッパ系アメリカ人とはC4A遺伝子のCNV分布で異なるパターンを示した。また、血清C4低値の患者には、コピー数が低値の患者が高頻度で見つかった。

今後、さらに症例数を増やし、より信頼度を高めると共に、海外と同様、SLEなどの疾患とCNV多型の関連をデジタルPCR法を用いてさらに検査を進めたい。

### [結論]

今回、デジタルPCR法を用いて、健常日本人集団のC4遺伝子のCNV多型を調べ、白人とは多型の頻度分布が異なることが明らかとなった。また、本デジタルPCR法は、C4のCNV多型を検出するのに極めて有効であったことから、その他の補体関連遺伝子のCNV多型解析にも有用であると考えられた。

### [利益相反]

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

### [文献]

- 1) Y Yang. Et al. *The Am J Hum Genet* 80:1037-54 (2007)
- 2) Y.L. Wu. et al. *Cytogenet. Genome. Res* 123:131-141 (2008)

## 補体異常の背景を疑う抗ARS抗体症候群に、急性肝不全を合併したTMAに対してエクリズマブが無効であった一例

山本 理恵<sup>1)</sup>、石本 卓嗣<sup>1)</sup>、石川 重史<sup>1)</sup>、重本 絵実<sup>1)</sup>、吉岡 知輝<sup>1)</sup>、神村 豊<sup>1)</sup>、増田 智広<sup>1)</sup>、齋藤 尚二<sup>1)</sup>、加藤 規利<sup>1)</sup>、小杉 智規<sup>1)</sup>、坪井 直毅<sup>1)</sup>、水野 正司<sup>1)</sup>、丸山 彰一<sup>1)</sup>、日本補体学会補体検査チーム<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学、<sup>2)</sup>日本補体学会

A TMA case accompanied with anti-ARS syndrome and acute liver failure accompanied with suspicious over activation of the alternative pathway.

Rie Yamamoto<sup>1)</sup>, Takuji Ishimoto<sup>1)</sup>, Shigefumi Ishikawa<sup>1)</sup>, Emi Shigemoto<sup>1)</sup>, Tomoki Yoshioka<sup>1)</sup>, Yutaka Kamimura<sup>1)</sup>, Tomohiro Masuda<sup>1)</sup>, Shoji Saito<sup>1)</sup>, Noritoshi Kato<sup>1)</sup>, Tomoki Kosugi<sup>1)</sup>, Naotake Tsuboi<sup>1)</sup>, Masashi Mizuno<sup>1)</sup>, Shoichi Maruyama<sup>1)</sup> and Complement Examination team in The Japanese Society for Complement Research<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine,

<sup>2)</sup>The Japanese Society for Complement Research

### [はじめに]

Thrombotic microangiopathy (以下TMA) は血管内皮障害を代表とする病理所見の総称である。補体関連疾患の一つとして注目されている補体依存性の非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome) はこの代表的疾患であるが、腎臓病理ではTMAの病理所見は様々な疾患で観察される<sup>1)</sup>。また、TMAの一臓器障害として肝障害があり、多発性筋炎にTMAと重症の肝障害を伴った症例も報告されている<sup>2)</sup>。

今回、我々は、重症肝障害を伴った多発性筋炎に関連した二次性TMAにおいて、本症例の背景に補体第2経路 (AP) の制御異常の存在が疑われたため、血漿交換+エクリズマブ治療を行った症例を経験したので報告する。

### [症例]

42歳女性。主訴は筋肉痛および労作時呼吸苦。他院で13年前に関節リウマチと診断。3年前より関節痛増悪し、prednisolone (PSL) を20mg/dayで開始。同時期にSjögern症候群と診断される。2年前よ

りセルトリズマブの併用開始。その後、本人の希望にて当院に転院となる。1年前セルトリズマブを無効と判断し、トファシチニブに変更して治療。入院の約2ヶ月前より関節痛、上腕痛、胸部不快が出現。筋肉痛と労作時呼吸苦も加わり精査加療目的で入院となった。

入院時、両側頬部に紅斑と丘疹有り。右中指MP関節にGottron丘疹、顔面・四肢の広範囲に皮膚硬化所見有り。上腕と大腿に把握痛、両膝関節痛、両手関節の屈曲背屈制限を認めた。検査所見ではWBC 10600 μL、Hb 9.4g/dL、Plt 53.2万 / μL、AST 65 IU/L、ALT 24 IU/L、LDH 731IU/L、CK 1573IU/L、CRP 2.53mg/dL、尿蛋白 (-)、尿潜血 (-)、CH50 64.2 U/mL、C3 116.2 mg/dL、C4 16.1 mg/dL、IgG 3398 IU/mL、ANA x40、抗DNA抗体 7.1 IU/L、抗Sm抗体 8.3U/mL、抗ARS抗体 182 U/mL、その他の種々の抗体は陰性であった。肺はCT、肺機能検査から間質性肺炎と診断され、本症例は間質性肺炎を伴った抗ARS抗体症候群、関節リウマチと考え、ステロイドパルス療法を軸として治療介入を行うこととなった。

### [臨床経過]

ステロイドパルス後、筋肉痛の改善とCK低下を認めるも、数日後からLDH上昇とハプトグロビン低下、および破碎赤血球を伴う貧血と、腎機能増悪と血小板減少を認めるようになり、膠原病関連の二次性TMAまたは強皮症クリーゼを考え、血漿交換とACE投与を開始。貧血と血小板も回復したため腎生検もを行い、TMAであることを確認した。一旦、病態が落ち着いた時点で、補体関連検査を補体学会に依頼・施行した。遺伝子検査では、aHUSの原因遺伝子として報告のあるI因子に極めて稀なアミノ酸variationを認めた。生化学的な検査では、抗H因子抗体陽性及びFactorBaの上昇、C4は正常であるが、C3の著しい低下を認め、補体制御異常によるAPの活性化を指摘された。C5にはエクリズマブ不応のSNPは見つからなかったことから、次回増悪時は、エクリズマブの適応があると判断した。

その後、吐気と著明な肝障害発症により2回目の入院。直後から血漿交換とエクリズマブ使用が始まり、二回目の投与までは若干血小板の回復を認めるものの、その後再び増悪。肝不全のため永眠された。

### [考察]

APの制御異常により発症する補体依存性aHUSに対して、エクリズマブは非常に有効な治療選択肢となる。最近では、二次性のTMAの中にも補体制御異常によるAP活性化症例が混在していることが報告されてきている。補体異常を伴う二次性のTMAに対するエクリズマブの有効性については現時点では一定の見解はない。今回、我々の経験した症例は多発性筋炎に伴うTMAと考えた。本症例については、膠原病が原因であるTMAが病態の主体であり、持続する内皮障害という補体易活性化の環境下でAPの補体制御異常が副次的に病態を増悪している可能性があったと考えた。このため、二回目のTMAによる病態の急性増悪時にエクリズマブを使用したが、肝不全に至り病態のコントロールはできなかった。

一回目と二回目の発作の間の比較的安定した病期もAPの亢進が認められたがTPは制御されており、この時点でのエクリズマブ効果は期待しがたいと思われるが、一旦発作が起り補体の過剰な活性化が進むことで、エクリズマブの効果を期待されたが、効果に乏しかった。これはTMAによる補体系の活性化をC5のステップの制御のみでは十分な効果を発揮できなかった可能性と、二次性TMAであるため現疾患のTMAを起こす機序に依存が大きかった可能性が考えられた。

### [結論]

膠原病によるTMAに、AP系の補体制御異常がoverlapして重症化した可能性のある症例を報告した。また、本症例より、二次性TMAの場合、補体制御異常が疑われAPの異常活性化の可能性がある場合でも、病態と病期によってエクリズマブの効果を期待できない場合があることが示唆された。それ故、今後は、補体の活性化を継時的に測定し、病態と補体活性化の関連性を正確に把握する必要があると考えられた。

### [文献]

- 1) 加藤秀樹 他、日腎会誌 56(7): 1058 (2014).
- 2) Ishida Y et al. Intern Med. 37: 694 (1998)

## 腎移植後TMA患者の補体関連因子を評価する後向き多施設研究（中間報告）

藤山 信弘<sup>1,10)</sup>、田崎 正行<sup>2)</sup>、葛原 宏一<sup>3)</sup>、松本 明彦<sup>4)</sup>、原 悠太<sup>5)</sup>、奥見 雅由<sup>6,10)</sup>、齋藤 和英<sup>2,10)</sup>、  
原田 浩<sup>7,10)</sup>、渡井 至彦<sup>8,10)</sup>、井上 徳光<sup>9)</sup>、若宮 伸隆<sup>9)</sup>、佐藤 滋<sup>1,10)</sup>

<sup>1)</sup>秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター、<sup>2)</sup>新潟大学医歯学総合病院 泌尿器科、

<sup>3)</sup>大阪府立急性期総合医療センター 泌尿器科、<sup>4)</sup>東京大学医学部附属病院 泌尿器科、

<sup>5)</sup>信州大学医学部附属病院 腎臓内科、<sup>6)</sup>東京女子医科大学 泌尿器科、<sup>7)</sup>市立札幌病院 腎臓移植外科、

<sup>8)</sup>名古屋第二赤十字病院 移植外科、<sup>9)</sup>日本補体学会、<sup>10)</sup>腎移植後TMAサポートチーム

### Evaluation of complement related factors in TMA post-kidney transplantation; a retrospective multicenter study (interim analysis)

Nobuhiro Fujiyama<sup>1,10)</sup>, Masayuki Tasaki<sup>2)</sup>, Koichi Tsutahara<sup>3)</sup>, Akihiko Matsumoto<sup>4)</sup>, Yuta Hara<sup>5)</sup>,  
Masayoshi Okumi<sup>6,10)</sup>, Kazuhide Saito<sup>2,10)</sup>, Hiroshi Harata<sup>7,10)</sup>, Yoshihiko Watarai<sup>8,10)</sup>, Norimitsu Inoue<sup>9)</sup>,  
Nobutaka Wakamiya<sup>9)</sup> and Shigeru Satoh<sup>1,10)</sup>

<sup>1)</sup>Center for Kidney Disease and Transplantation, Akita University Hospital,

<sup>2)</sup>Division of Urology, Department of Regenerative and Transplant Medicine Graduate School of Medical and  
Dental Sciences, Niigata University,

<sup>3)</sup>Department of Urology, Osaka General Medical Center,

<sup>4)</sup>Department of Urology, University of Tokyo Graduate School of Medicine,

<sup>5)</sup>Department of Nephrology, Shinsyu University Hospital,

<sup>6)</sup>Department of Urology, Tokyo Women's Medical University,

<sup>7)</sup>Kidney Transplant Surgery, Sapporo City General Hospital,

<sup>8)</sup>Department of Transplant Surgery and Nephrology, Nagoya Daini Red Cross Hospital,

<sup>9)</sup>The Japanese Association for Complement Reserch,

<sup>10)</sup>Post-kidney Transplant TMA Support Team

#### [はじめに]

腎移植後の血栓性微小血管症（TMA）は高率にグラフト喪失をきたす予後不良な合併症であり、近年、その発症における補体の関与や新たな治療標的として注目を集めている<sup>[1-3]</sup>。補体活性化メカニズムとしては、レシピエントにおける抗ドナー抗体（抗血液型抗体、抗HLA抗体など）とドナー由来抗原による免疫複合体の形成、臓器摘出後の灌流による血管内皮細胞の損傷・脱落、TMAに関与する補体関連因子の遺伝子変異が、複合的にカスケード活性化の引き金になると考えられる<sup>[4]</sup>。しかしながら、腎移植後TMA発症自体が非常に稀であり、補体関連の血液検査データや詳細な遺伝子解析が報告され

た例はない。治療標的としての可能性を明らかにする上でも、TMA発症リスク因子を明らかにすることは重要である。本研究は、腎移植後早期に発症したTMA患者を対象に補体関連因子を含む発症要因の探索を行った。

#### [方法]

全国アンケートにおいて移植後1週間以内のTMA発症患者ありとした施設を選定した。患者エンタリーは、献腎移植ではレシピエント、生体腎移植ではレシピエント+ドナーとした。血液検査（レシピエント）及び遺伝子解析（レシピエント+ドナー）は、日本補体学会の補体検査プロジェクト

の承認を受け行つた。血液検査としてsC5b-9、Ba、CFH、CFH-IgG、CFI、C5a、C3、C4、CH50、C1インヒビター活性が、遺伝子検査としてTMAの原因遺伝子である*CFH*, *CFHR1*, *C3*, *CFI*, *CFB*, *MCP*, *Thrombomodulin*, *DG kinase ε*, *Plasminogen*を含む136種類の関連遺伝子が解析された。また、各臨床データは電子収集を行つた。

#### [結果]

2018年5月時点で、14施設の参加（倫理委員会承認）、7施設10症例の検体回収があり、5例の臨床データ及び補体関連検査が得られた（献腎移植1例、生体移植4例（うち1例はグラフトロス））。生体移植のうち3例はABO不適合であるがいずれも術前クロスマッチ陰性且つ抗A抗B抗体低力価であり、術前の血漿交換またはDFPPを実施していない症例であった。補体検査では、血漿Ba濃度が5症例とも正常範囲より高値であった（median: 1079 [range: 730 ~ 3429] ng/mL、正常範囲275-685 ng/mL）。その他、C3正常、C4高値、CH50正常が2例に、C3高値、C4正常、CH50高値、CFH高値が1例に見られ、2例ではC1インヒビター活性高値であった。遺伝子解析では、レシピエント・ドナー共に既知のaHUS原因遺伝子変異は認められなかつたが、日本人のデータベースでアレル頻度が0.005未満の稀なバリエーションとして*CFHR1*のフレームシフト変異p.D35Vfs及び*Plasminogen*のp.P159Lを認めた。また、136種類の関連遺伝子の中に稀なバリエーションが、レシピエントでは8遺伝子に、ドナーでは6遺伝子に同定された。

#### [考察]

腎移植後TMAのマーカーとして第2経路に関わるFactor Bの分解副産物Baが候補として考えられた。今後、正常腎移植後患者との比較が新たに必要と考えられる。また、今回同定された補体関連遺伝子の稀なバリエーションについては、さらなる症例の蓄積や、その他の原因のTMAとの比較検討を行う必要がある。

#### [文献]

- 1) Heinen S. et al. Hum. Mutat. 27:292 (2006)
- 2) Venables JP. et al. PLoS Med. 3:e431 (2006)
- 3) Sellier-Leclerc AL. et al. J. Am. Soc. Nephrol. 18:2392 (2007)
- 4) Le Quintrec M. et al. Am. J. Transplant. 8:1694 (2008)

## C3d補体結合性de novo HLA class II ドナー特異的抗体 (dnDSA) の epitope解析

橋本 光男、木下 朋子、藤田 友梨、今中 岳洋、谷口 歩、山中 和明、吉田 栄宏、  
岸川 英史、西村 憲二

兵庫県立西宮病院 腎疾患総合医療センター

Epitope analysis of C3d-binding de novo donor-specific HLA class II antibody

Mitsuo Hashimoto, Tomoko Kinoshita, Yuri Fujita, Takahiro Imanaka, Ayumu Taniguchi, Kazuaki Yamanaka,  
Takahiro Yoshida, Hidefumi Kishikawa, Kenji Nishimura

Department of Renal Transplantation Center, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital

### [背景]

近年、腎移植後の短期生着率は新しい免疫抑制剤と抗体検査が開発導入されたことにより飛躍的に向上してきたが、長期の移植腎機能障害とグラフトロスについては明確に解明されていない。腎機能障害の主な要因として免疫学的拒絶反応、特にde novo HLA class II ドナー特異的抗体 (dnDSA) が注目され、dnDSA陽性症例の10年生着率は陰性症例に比べて予後不良といわれている<sup>(1,2)</sup>。

移植検査として高精度のHLAタイピングとLuminex SAB法 (Single Antigen Bead) が開発導入されて、HLA分子は多くの共有 epitopeが特異的に組み合わされたモザイク状構造であることが明らかになった<sup>(3)</sup>。さらに、Dequesnoy等はHLA抗体は700-900 Åの領域のなかの多型性アミノ酸配列部位 (Epitope) と抗体の相補的決定領域 (CDR) が結合するモデルを提唱し<sup>(4)</sup>、AMRを発症させる最も重要な要因は抗体とHLA抗原のepitopeの結合様式で、抗体の6箇所のCDRと結合するStructural epitopeのeplet数が重要であるという仮説を提唱した<sup>(5)</sup>。抗体が認識するepitopeの特異性も彼らの仮説を基にして、1つのCDRが認識可能なContinuous epitopeと複数のCDRが認識すると考えられるDiscontinuous epitopeを区別して命名されるようになった<sup>(6)</sup>。

我々はAMR発症に関連するDSAの特性を明らかにするため、移植後に產生されるHLA dnDSAの補体結合性とドナーとレシピエントのHLA分子の類似性との相違をepitopeレベルで検討し、HLA dnDSA陽性症例のAMR発症に関連する因子について検討した。

### [対象と方法]

当院における2000年2月から2017年3月までに施行した腎移植前HLA class II DSA陰性115例のうち術後陽性化し腎生検を行った26例を対象とし、腎生検で病理診断された抗体関連型拒絶反応 (AMR) 陽性 (N=14) と陰性例 (N=12) で比較検討した。DSAとC3d補体結合能はLuminex SAB (Immucore) を用いてIg- SAB、C3d -SABを測定した。それぞれの陽性基準はキットの手引書に従い、DSA: ≥ 1,000MFI、C3d: ≥ 2,000MFIとした。Epitopeの特異性はHLA Epitope Registryにより同定した。

### [結果]

dnDSA陽性26例の特異性は、HLA-DR陽性10例、HLA-DQ陽性6例、HLA-DR+DQ陽性10例で50種類のDSAが検出された。DSAのepitopeの特異性は抗体の1つのCDRと結合すると考えられる連続性アミノ酸配列部位 (Continuous epitope) が27種類、複

数のCDRと結合すると考えられる非連続性アミノ酸配列部位 (Discontinuous epitope) が23種類であった。50種類のDSAのC3d補体結合能をLuminex C3d SABで検討した。50種類のDSA陽性アリルのうちC3d SAB陽性DSAは30種類 (C3d-SBA: 20,948 ± 9,659MFI) で、残りの20種類は陰性であった (C3d-SAB:824 ± 574MFI)。AMR発症との関連性はAMR陽性14症例では全例C3d補体結合性DSAを含み、AMR陰性12症例は全例C3d補体非結合性DSAであった。

次にDSAの抗体量とC3d結合量との関連性を検討した。分散プロットによる抗体量とC3d結合量を比較すると相関は得られなかった ( $R^2=0.588$ )。

次に、補体活性化は抗原抗体複合体の結合力に依存すると考えられるので、DSA陽性アリルのepitopeの特異性をContinuous epitope (n=27) と Discontinuous epitope (n=23) で解析した。分散プロットによるContinuous epitopeの抗体量とC3d結合量の相関係数は $R^2=0.546$ であるのに対して、Discontinuous epitopeは $R^2=0.808$ と高い相関を示した。

さらにAMR発症とEpitopeの特異性の関連性について検討した。AMR陽性症例のDSAはDiscontinuous epitopeが21種類であるのに対し、AMR陰性症例は2種類、Continuous epitopeはそれぞれ、15、12種類であった ( $P<0.0001$ )。特に、AMR陽性症例の16種類のHLA-DQA/DQBに対するDSAのうち14アリルはDiscontinuous epitopeで、AMR陰性症例の4アリルは全例Continuous epitopeであった。

#### [考察]

腎移植後に陽性化する全てのドナー特異的de novo HLA抗体 (dnDSA) が抗体関連型拒絶反応(AMR) 発症とグラフトロスの危険因子ではないといわれている。dnDSAの抗体量 (強度)、移植臓器のHLA抗原の発現量と抗原密度、DSAの補体結合性、そしてDSAを検出するためのLuminex SAB (Single

Antigen Bead) 法等が問題点として報告され論議されている<sup>(7,8)</sup>。

我々は腎移植後に產生されるde novo HLA class II DSAのContinuous epitope とDiscontinuous epitope のC3d補体結合性とAMR発症との関連性を比較検討し以下の結論を得た。

- ① AMR発症例のDSAは全例C3d補体結合性抗体が含まれ、No AMR症例のDSAは全てC3d補体非結合性抗体であった。
- ② Discontinuous epitopeに対する抗体量はC3d補体結合量と強い相関を示した ( $R^2=0.808$ )。
- ③ AMR発症例で検出された16種類のHLA-DQA/B epitopeのうち14種はDiscontinuous epitopeで、No AMR症例で検出された4種のHLA-DQA/B epitopeは全例Continuous epitopeに対する抗体であった。
- ④ HLA-DQA/B Discontinuous epitopeに対するDSAはC3d補体結合性が強く、AMRと関連する抗体であることが示唆された。

#### [文献]

1. C. Wiebe. et al. Am J Transplant 13:3114 (2013)
2. T. Yamamoto. et al. Transplantation 100: 2194 (2016)
3. A. R. Tambur. et al. Am J Transplant 15:1148 (2015)
4. R. J. Dequesnoy. et al. Int J Immunol 39:1 (2012)
5. R. J. Dequesnoy. et al. Hum Immunol 74:1271 (2013)
6. R. J. Dequesnoy. et al. Hum Immunol 75:1097 (2014)
7. A. R. Tambur. et al. Am J Transplant 15:2421 (2015)
8. H. M. Gebel. et al. Am J Transplant 14:1964 (2014)

・・・・編集後記・・・・

補体研究会に入会して早30年が過ぎました。この度学会誌「補体」(講演集)の編集に携わることが出来ましたことを大変光栄に存じます。

学会誌を手に取り表紙を見て、デザインが北村肇先生によるもので補体3経路を表すことや、「補体」の書字が若宮伸隆先生によるものであることを思い起こしました。

プログラムの構成については過去の学術集会を参考にしました。尚、本会は長い間「補体シンポジウム」として開催されていたため、指定演題のセッションは「ミニシンポジウム」とされてきましたが、本会が日本補体学会の学術集会となったことにより、今回は「シンポジウム」という名称にさせていただきました。

改めて講演集に目を通しますと素晴らしい演題ばかりです。演題をご応募いただいた先生には心より感謝申し上げます。

学術集会の準備にあたり、会長の若宮先生、事務局の井上先生、高野慶子様、前集会長の関根先生には大変お世話になりました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

(文責 塚本 浩)

---

補体 第55巻 第1号 (2018)

---

平成30年8月31日 発行

編集長 塚本 浩

発行者 若宮 伸隆

発行所 一般社団法人日本補体学会

〒541-8567 大阪市中央区大手前3-1-69

大阪国際がんセンター研究所

腫瘍免疫学部内

印刷所 エース印刷株式会社

〒810-0052 福岡市中央区大濠1-6-9

TEL : 092-741-9090 (代)

The image features a large, bold, blue serif font where each letter of the acronym 'JACR' is constructed from the word 'COMPLEMENT'. The letters are arranged in a staggered, overlapping fashion. Each letter is composed of approximately 20 instances of the word 'COMPLEMENT' in a smaller, black, sans-serif font.