ISSN 2188-8205

補体

Vol.55
No.2
2018

■ 会長挨拶「日本補体学会の１年の歩み 」・・・・・・・・・若宮 伸隆

■ 総説「発作性夜間ヘモグロビン尿症をめぐる最近の知見」
・・・・・・・村上 良子

■ 総説「血栓と補体」・・・・・・・・・・・・・・宮田 敏行　井上 徳光

■ 受賞寄稿「右心室疾患における補体系の役割の解明」・・・伊藤 章吾

■ 学会報告「第27回 International Complement Workshopに参加して」
・・・・・・大谷 克城

■ 学会報告～ICW Travel Award受賞寄稿
「27th International Complement Workshop 参加報告」・・林 学

■ 学会報告～ICW Poster Presenting Award受賞寄稿
「27th International Complement Workshop 参加報告」
・・・・・・日下部 治郎

■ 学会報告「27th International Complement Workshop」
・・・・・・福井 聡介

■ 教室紹介「福島医大 免疫学講座のご紹介」・・・・・・・関根 英治

■ 開催案内「第56回日本補体学会学術集会開催のご案内」・・大澤　勲

一般社団法人
日本補体学会

日本補体学会
The Japanese Association for Complement Research

補体　VOL. 55. No.2　(2018)

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「発作性夜間ヘモグロビン尿症をめぐる最近の知見」　村上良子･･･ 3

■ 総説「血栓と補体」　宮田敏行　井上徳光 ･･･ 13

■ 受賞寄稿「右心室疾患における補体系の役割の解明」　伊藤章吾 ･･･ 46

■ 学会報告「第 27 回 International Complement Workshop に参加して」　大谷克城 ･･･ 51

■ 学会報告～ICW Travel Award 受賞寄稿
「27th International Complement Workshop 参加報告」　林　学 ･･･ 54

■ 学会報告～ICW Poster Presenting Award 受賞寄稿
「27th International Complement Workshop 参加報告」　日下部治郎 ･･･ 56

■ 学会報告「27th International Complement Workshop」　福井聡介 ･･･ 58

■ 教室紹介「福島医大　免疫学講座のご紹介」　関根英治 ･･･ 60

■ 開催案内「第 56 回日本補体学会学術集会開催のご案内」　大澤　勲 ･･･ 63

■ 論文投稿規定 ･･･ 65

■ 利益相反規定 ･･･ 70

■ 日本補体学会入会のご案内 ･･･ 76

■ 学会誌の転載許諾基準および転載許諾申請方法 ･･･ 79

■ 編集後記 ･･･ 82

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
酪農学園大学　農食環境学群　食と健康学類

今年は、日本国中にいろいろな自然災害がありました。岡山での洪水、北海道の地震、度重なる台風の被害で、多くの人命が失われ、今なお避難所生活を続けておられる方、また地方ではさらに経済的にも甚大な影響をもたらしました。被災地の皆様におかれましては、一日も早い通常への復興をお祈り申し上げます。そのような、大変な１年でありましたが、今年も年末報告の時期が来ました。

2018 年は、8 月 31 日から９月１日、小倉にて、第 55 回日本補体学会学術集会が新小倉病院塚本浩集会長のもと開催されました。会場は、JR 小倉駅近くの北九州国際会議場で行われ、久しぶりに九州地区での学術集会となりました。さて、その出席者の内訳ですが一般会員 94 名、学生会員 5 名、招待参加者 4 名と、総計 103 名でした。学会は、本年も、抗補体薬が今まで投与対象でなかった補体関連疾患に適応になる可能性がでてきて、多くの企業関係者やマスコミ関係者が参集しました。今回は、シンポジウム「補体を標的とする治療の現状と展望」ということで、多様な疾患における補体関連科学の現状と治療の最新情報が提示され、活発な質疑や討論が行われました。また、今年度の学術集会から、新たに日本補体学会優秀賞と奨励賞の二つの賞が設けられ、応募者の中から選考されました。その結果、第 55 回日本補体学会優秀賞は、関根英治氏「MRL/lpl マウスのループス様糸球体腎炎における MASP－1/3 の役割」、第 55 回日本補体学会奨励賞は、伊藤章吾氏「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」が、選出されました。今後、両先生のますますの研究の進展を期待します。最後になりますが、本学術集会は塚本先生以下の集会事務局の皆様の献身的なサポートで大変快適なものになりました。ここに深くお礼申し上げます。

今年 2018 年は、金沢での国際補体学会が行われてから２年がたち、国際補体学会（27th ICW）が、米国サンタフェにて開催されました。日本からの ICW 参加は 19 名に上り、補体科学の先進国である、フランス、ドイツ、オランダに並ぶ参加者数になりました。日本からの口頭発表では福島県立医大の林学氏が講演され Travel Grant を受賞し、京都大学の日下部治郎氏は、Poster Presenting Award を受賞されました。若手の研究者の皆様には、補体関連の国際学会や国内の補体学会の発表に関して日本補体学会独自の Travel Grant 等を考えておりますので、今後もより一層補体研究を進め、研究の発表を積極的に行っていただきたいと考えております。
以下に、簡単に、2017－2018 年の日本補体学会の歩みをお知らせします。

1.　学術集会、講演会等の開催

１）第 55 回日本補体学会学術集会を集会長塚本浩氏（新小倉病院）により、2018 年 8 月 31 日－9 月 1 日、北九州国際会議場で開催。

２）第 56 回日本補体学会学術集会は、集会長大澤勲氏（埼友会埼友草加病院）により、2019 年 8 月 23 日から 8 月 24 日、コングレスクエア日本橋にて開催予定。

３）第 57 回日本補体学会学術集会は、集会長村上良子氏（大阪大学微生物病研究所）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 55 巻第 1 号を 2018 年 8 月 31 日に発行。学会誌「補体」第 55 巻第 2 号を 2018 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基礎研究、臨床研究」のテーマで、平成 30 年度委託研究を公募し、３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継続して行う。

４）アレクシオンファーマ合同会社と第三期事業を平成 30 年 4 月 30 日終了後、新たな委託契約を締結し、平成 30 年 5 月 1 日より第一期事業開始。

５）CSL ベーリング社と第二期事業終了後、平成 30 年 7 月 1 日より第三期事業継続予定。

６）補体検査プロジェクトとして、①同種造血幹細胞移植後血栓性微小血管症（TA-TMA）における補体介在性機序の探索、②妊産婦の妊娠期から産後における補体タンパク質の測定とその推移の考察が承認された。

4. 国際的な研究協力の推進として

１）2018 年 9 月 16 日～20 日、米国サンタフェで行われた第 27 回 ICW に参加し、補体関連疾患に関する情報収集と日本補体学会の補体検査の取り組みを発表した。また、同時に EQA 関連情報の収集と国際標準化についての協議に参加した。

２）日本補体学会が推進する「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」事業において、補体関連タンパク質の測定システム事業について、国際補体学会の外部精度評価（External Quality Assessment 2017）に参加し、2018 年 1 月 16 日付で妥当性評価書(Certificate)を受領。

日本補体学会は、本年も着実に、「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ております。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。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。

発作性夜間ヘモグロビン尿症をめぐる最近の知見

村上　良子

大阪大学・微生物病研究所・籔本難病解明寄附研究部門、同・免疫学フロンティアセンター・糖鎖免疫

Recent progress in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Yoshiko Murakami

Yabumoto Department of Intractable Disease Research, Research Institute for Microbial Disease and Laboratory of Immunoglycobiology, Immunology Frontier Research Center, Osaka University

1.　はじめに

発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH, Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria）は 1882 年 Strübing が就寝後の血管内溶血によるヘモグロビン尿症として詳細な症例の報告をした。免疫学において血清中の殺菌能を持つ易熱性要素としての補体の発見が 1890 年代 であったことから PNH 研究は補体研究とともに歩んできたといえる。1939 年 Ham によって酸性化血清による PNH 血球の溶血は赤血球の補体感受性亢進によることが指摘された [1, 2]。その後 Dacie と Rosse は PNH では補体易感受性の異常赤血球と正常赤血球がモザイクで存在することを示し [3]、さらに Luzzatto らは異常赤血球がクローンであることを証明した [4]。これらの発見は PNH が体細胞突然変異によって発症するという仮説の基礎となった。C3 転換酵素の解離を促進する decay-accelerating factor (DAF)が発見されると [5]、1983 年には PNH 血球の溶血は DAF の欠損によることが報告された [6]。しかし PNH 血球の membrane attack complex (MAC) 形成を介する溶血は DAF 補填により阻害されなかったことから、他の阻害因子が PNH 血球では欠損していることが示唆された [7]。そんな中、岡田ら、杉田ら、Parker らは正常赤血球膜上に発現する CD59 を発見し、このタンパク質が MAC 形成の阻害因子であることを示した。[8-10]

一方同じ頃 GPI (glycosylphosphatidylinositol)アンカーの概念が 1980 年代に確立された。1970 年代から細胞表面タンパク質がホスファチジルイノシトール (PI) 特異的バクテリアホスフォリパーゼ C (PIPLC)によって切断され分泌されることから、ある種のタンパク質が PI によって修飾され膜にアンカーされていることが示唆されていたが 1988 年にラット Thy-1 [11]とトリパノソーマの VSG 分子の GPI アンカーの完全構造がはじめて決定され、翌年には GPI 生合成経路がトリパノソーマで報告された [12]。その後の 10 年間で種々のタンパク質分子で GPI アンカーの構造が解析され、真核生物で保存された基本骨格が決定された。1986 年には Medof らが PNH 血球で欠損している DAF とアセチルコリンエステラーゼがこの共通構造を持つことを報告している [13]。こうして PNH は GPI アンカーの生合成の異常に起因することが明らかになった。1993 年木下らは PNH 患者から樹立した B リンパ芽球株の詳細な解析から GPI 生合成の最初のステップに異常があることを報告し [14]、その原因遺伝子 *PIGA* (phosphatidylinositol glycan class A)を同定した [15,

[16]。この発見は PNH の責任遺伝子が *PIGA* であることを示すのみにとどまらず、GPI アンカーの生合成経路の遺伝子を初めて同定することになった。以降同じ手法で GPI 生合成遺伝子が次々と同定された。

しかしながら PNH は 19 世紀の症例報告から始まり、補体の関与、補体制御因子の欠損、GPI アンカーの欠損、*PIGA* の同定という数々のブレイクスルーとなる発見を経てもなお 21 世紀の今日、未だ完全な発症機序の解明に至っていない。また最近の遺伝子解析技術によってさらに新しい疾患への広がりをみせている。本稿では古くて新しい PNH という疾患について最近の知見を紹介したい。

2. PNH の発症機序

PNHの発症頻度は国内で10万人に1.2人で男女比はほぼ同じ、診断年齢は20~60代である。前述したようにPNHは1個あるいは数個の造血幹細胞の*PIGA*遺伝子の突然変異を原因とし、溶血性貧血・深部静脈血栓症・骨髄不全を3主徴とする血液疾患である。*PIGA*はGPIアンカー生合成の最初のステップに必須の遺伝子で、遺伝子変異により機能がなくなるとGPI欠損細胞となり、細胞表面上のすべてのGPIアンカー型タンパク質(GPI-AP)が欠損する。補体制御因子であるCD59やDAFがGPI-APであるために、PNHでは欠損しており感染などを契機とした赤血球上の自己補体の活性化を制御できず溶血発作を来す。白血球や血小板上でも補体活性化は起こるが、赤血球と異なりCD59やDAFの他にmembrane cofactor protein (MCP)という膜貫通型補体制御因子が発現しているので破壊から免れる。CD59はC5b-8あるいはC5b-9に結合してMAC（C5b-9n）形成を阻害することにより、DAFは膜上のC3転換酵素（C4bC2a, C3bBb）からC2a, Bbを遊離させて失活させることにより赤血球を保護している(図1)。どちらがより溶血発作の阻止に重要であるかは、それぞれの単独欠損症が報告されて明らかになった。先天性CD59欠損症は5家系について報告されており、PNHと同様血管内溶血を主症状とするがその他に反復性末梢神経炎や脳血管血栓症がみられる[17, 18]。先天性DAF欠損症は以前からInabタイプという血液型抗原として知られ、蛋白漏出性胃腸症の報告もあったが、最近8家系11人の症例報告が有り、10人が蛋白漏出性胃腸症を呈し、一部で血栓症を起していた[19]。いずれも抗C5抗体薬、エクリズマブの投与で症状が軽減されるので、局所での補体の活性

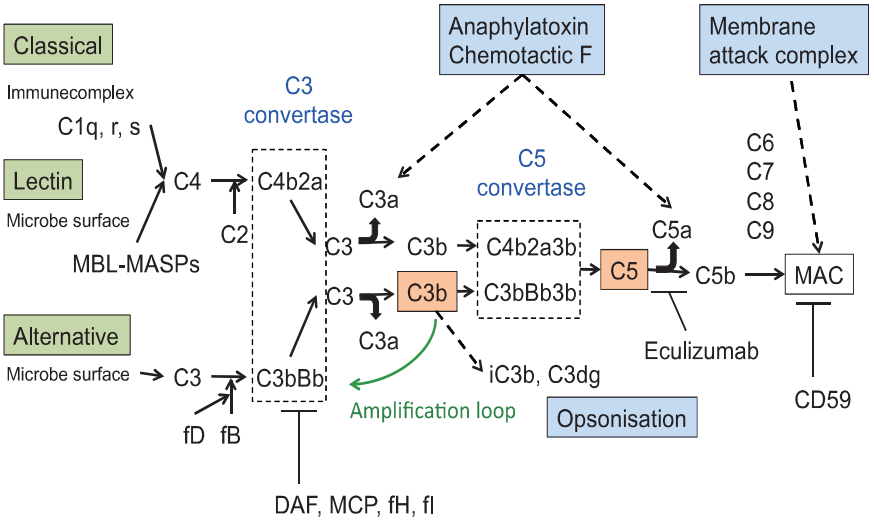


図 1 補体活性化経路
活性化経路には Classical, Lectin, Alternative の 3 経路ありいずれも C3 convertase の形成を経て Opsonisation や Membrane attack complex による病原体の排除や Anaphylatoxin によるエフェクター細胞の活性化に働く。制御因子として DAF、MCP、factor H(fH)、fI、CD59 がある。Eculizumab は補体因子 C5 に対する抗体薬で C5 に結合しその活性化を抑制する。

化が原因と考えられる。先天性DAF欠損症では溶血発作がみられないことから、溶血発作の阻止に関してはCD59が重要であることがわかる。

GPI生合成と修飾に関わる遺伝子は現在までに27個同定されているが、ほとんどのPNH患者の原因遺伝子は*PIGA*である。変異様式は多種多様でhot spot は存在せず、変異の結果フレームシフトを起こす例が大部分を占める[20]。また少なくとも20%以上の患者では複数の異常クローンが同定されることが多く、PNH は従来理解されていたような単クローン性というよりはむしろオリゴクローン性の疾患であることが判っている[21]。 PNHの原因遺伝子がほとんどの場合*PIGA*である理由は、GPI生合成遺伝子のうち*PIGA*のみがX染色体上の遺伝子であり、女性も発生初期のＸ染色体不活化が起こるので男女とも機能的アレルは１本で１回の体細胞突然変異でGPI欠損細胞になるためと考えられる。他の遺伝子はすべて常染色体上にあるので、ある造血幹細胞の遺伝子の2つのアレルに同時にヒットが起こる確率は非常に低い。しかしながら最近、次世代シークエンサーを用いた解析によって*PIGT*を責任遺伝子とするPNHが見つかった[22, 23]。報告例の2例とも遺伝的に１本のアレルに変異があるところに、造血幹細胞において体細胞突然変異が起こり20番染色体の*PIGT*周辺領域の欠損が起こって発症したものであった。これについては後述する。このように今後まれではあるが生殖系列の変異が重なれば、他の遺伝子を責任遺伝子とするPNHが見つかる可能性がある。

3. 異常細胞のクローナルな拡大

*PIGA*の突然変異でGPI欠損細胞となった1個から数個の造血幹細胞は、正常細胞を凌駕してクローナルに拡大しPNHを発症するが、その拡大機序はまだ完全には解明されていない。健常者にも少数の(~0.003%) GPI欠損細胞がみつかり、しかも同じクローンが長期間存在するが拡大はしない[24]。またPIGA欠損の造血幹細胞を骨髄移植したPNHモデルマウスの血液でも GPI欠損クローンは拡大しない[25, 26]。すなわち*PIGA*の変異のみでは異常クローンの拡大はおこらず、PNH発症の為には他の因子が必要である。現在考えられているのがGPI欠損細胞は自己免疫的な攻撃から逃れることにより選択されるという説と、更なる遺伝子変異やエピジェネティックな機序により腫瘍性増殖を来すという説がある。前者は再生不良性貧血の患者の中にはPNH血球が顕在化している場合があり、そのような場合には免疫抑制療法がよく効くという指標になっていることからも支持されている[27, 28]。上述のPNHマウスモデルにアロのCD4$^+$T細胞を入れるとGPI欠損細胞が拡大して100%占めるようになる[29]。またPNH患者ではCD1dに提示されたGPIを特異的に認識するT細胞クローンが拡大しているという報告や[30]、PNH患者の正常骨髄細胞にはNK細胞の機能を増強するGPIアンカー型のリガンドが発現しており選択的に正常細胞が攻撃を受けるという報告[31]があるが両者とも実際の患者の体内でどの程度関与しているか不明である。一方後者については、一部の患者で、GPI欠損細胞において，染色体異常により胎児期に発現する*HMGA2*という転写因子の3'UTRが切断されmiRNAである*let7*の制御を免れて高発現し腫瘍性増殖を獲得した例が挙げられる[32]。また染色体異常のないPNH患者の70%以上の末梢血で*HMGA2*の発現が上がっていたが、原因となる遺伝子異常は見つかっていない[33]。ShenらはPNH患者の末梢血をGPI欠損細胞と正常細胞に分けてそれぞれのゲノムについて、12例で全エキソーム解析を行ない，そのデータをもとにさらに36例で61遺伝子についてターゲットエキソーム解析を行ったところ、それぞれのPNH症例でmyelodysplastic syndromes (MDS)で変異が認められる様々な遺伝子について平均2個の体細胞変異が見つかったがクローン拡大の共通機序を示すデータは得られていない [34]。 今後はRNAseqや全ゲノムシークエンス等などを使ってエ

ピジェネティックな変異について解析する必要がある。

4. PNH の治療について

第一選択薬は補体因子 C5 に対するヒト化単クローン抗体、エクリズマブであるが，その適応については PNH 診療ガイドラインに詳細に示されている （ http://zoketsushogaihan.com/file/guideline_H28/05.pdf）。エクリズマブは C5 に結合しその活性化を阻害することによりアナフィラトキシン C5a の遊離と MAC 形成を阻害する。関節リウマチや SLE の治療薬として開発されたが、PNH に対しては 2002 年からイギリスにおいて始まりその有効性が確認された [35]。以降 15 年に渡って PNH の治療薬として、貧血のみならず、溶血に由来する血栓症、平滑筋調節障害、倦怠感などを改善し患者の QOL を劇的に向上させた。しかしながらいくつかの課題も残されている。根本治療ではなく溶血を抑えるのみなので、かえって異常赤血球が増加しそれに C3b が蓄積することにより血管外溶血が顕在化し輸血を要する症例がある [36]。また C5 多型（Arg885His）によるエクリズマブ不応例が国内では約 3%の頻度でみられる [37]。さらに補体活性を抑制することによる重篤な副作用としてナイセリア菌による重症感染のリスクがあることを忘れてはならない。エクリズマブ投与前にはワクチン接種が義務づけられているが、接種をしていても国内外で死亡例が報告されている [38]。自己免疫疾患の中には補体活性化がその病態に深く関与しているものがあり最近は非典型溶血性尿毒症症候群や全身型重症筋無力症が追加されエクリズマブの適応疾患が広がっている。そのため製薬各社が様々な補体阻害薬を開発している。中外製薬はリサイクリング抗 C5 抗体 RO7112689 の治験を行っており、Alexion 社はエクリズマブを改変してロングアクティング抗体とし体内寿命の長い ALXN1210 を FDA に申請中である。Alnylam 社は C5 をターゲットにした siRNA, ALN-CC5 を、Akari 社はダニの唾液から発見された C5 阻害剤 Coversin を開発しており [39]それぞれ治験を進めている。また Apellis 社は C3 と C3b に結合して以降の補体活性化を阻害する Compstatin を開発している [40]。C3 阻害薬は上記の血管外溶血を防ぐことはできるが、補体の古典，第二、レクチン経路のすべてを阻害するので感染の危険が増す。これらに対して、補体の第二経路のみの阻害剤の開発も進んでいる。factor D はセリンプロテアーゼで C3b に結合した factor B を切断して活性化し C3 転換酵素 C3bBb を形成する。Factor D は血漿中の濃度が最も低く補体活性経路の律速段階なので、格好のターゲットである。第二経路のみの阻害剤なので感染のリスクも軽減され、C3 の活性化も抑制するので血管外溶血のリスクも減ると考えられる。Achillion 社が小分子阻害剤 ACH-4471 を開発している [41]。その他 factor B, properdin の阻害薬や factorH-CR2 融合タンパク質 (TT30) [42]が開発されている。このように開発が進み、適応症が拡大されることにより低価格でより安全な補体阻害剤が実用化されると期待されるが、PNH においては骨髄不全に対する改善効果は認められないので、症例によっては免疫抑制療法を必要とする。

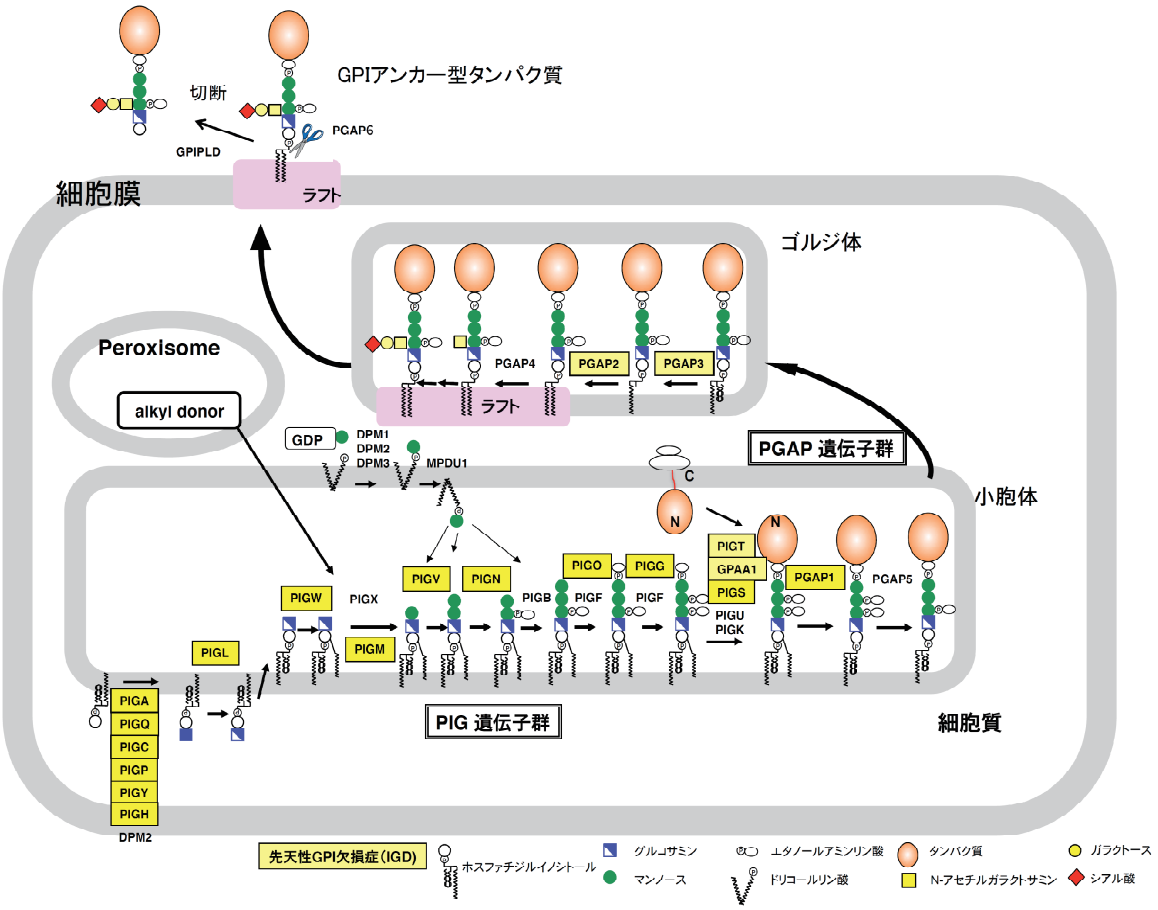


図2　GPIアンカー型タンパク質の生合成と輸送

5.　GPI 生合成遺伝子とその生殖系列の変異について

GPI-AP は小胞体で前駆タンパク質と GPI アンカー部分が別々に合成される。GPI の基本構造はホスファチジルイノシトール(PI)、グルコサミン(GlcN)、3 つのマンノース(Man)、2 つのエタノールアミンリン酸 (EtNP)から成り立っており、全ての真核生物でよく保存され、図 2 に示すように複数のステップにより合成される。最初のステップは、PI に N アセチルグルコサミン(GlcNAc) が転移され GlcNAc-PI が生成される反応で PIGA を触媒因子とし 7 個のタンパク質からなる酵素複合体によって担われている。この第 1 ステップと次の PIGL が担う第 2 ステップは小胞体の細胞質側で行われ、その後小胞体内腔にフリップして生合成が進む。5 つのタンパク質からなる GPI トランスアミダーゼ複合体は前駆タンパク質の C 末端の GPI 付加シグナルを認識して切断し、完成した GPI アンカーを付加する。その後も GPI-AP は GPI アンカー部分の脂質や糖鎖の修飾を受けて、ゴルジ体に運ばれさらに脂質部分が不飽和脂肪酸から飽和脂肪酸に入れ替わることによりラフトと呼ばれるコレステロールに富んだ細胞膜上のドメインに局在できるようになる。以前から GPI アンカーの糖鎖に側鎖がついていることが知られていたが、最近ゴルジ体において一つ目のマンノースに N アセチルガラクトサミン(GalNAc)を付加する酵素 PGAP4 が同定され、さらにガラクトース（Gal）とシアル酸が付加されて細胞膜に運ばれる[43]。こうして運ばれた GPI-AP の一部は PGAP6 によってリゾ体となって遊離され[44]、あるいは血清中

のリパーゼによって切断遊離されて機能を発揮したり、機能制御を受けている。

GPI 生合成と輸送に関与する遺伝子は 27 個あり、それらの変異で発症する劣性遺伝性疾患、先天性 GPI 欠損症（Inherited GPI deficiency, IGD）が次々と見つかっている。現在までに 19 遺伝子の変異による症例が国内で約 35 例、海外を合わせると約 250 例報告されている。変異する遺伝子のステップや変異による活性低下の程度によって病態が異なるが知的障害、運動発達障害、小脳障害、てんかんなどの神経症状を中心に特異顔貌、手指や足趾の異常、難聴、内臓奇形等広汎な症状を示す[45]。個体発生には GPI は必須であるので IGD においては多くは変異によって活性の低下した部分欠損症である。一方 GPI が完全欠損しても血液細胞の増殖や分化には影響しないので PNH における PIGA 欠損細胞は、完全欠損細胞であることが多い。診断は両者とも血液のフローサイトメトリーで GPI-AP の発現を測定するが、そのパターンは全く異なる。PNH では赤血球に発現する CD59 や DAF の発現が欠損している細胞の分画が正常細胞と混在して存在することを確認するが、IGD では部分欠損症であるため赤血球は全く正常で、顆粒球上の CD16b, CD24 の発現が正常者と比べて減少していることで診断する。CD59 や DAF の発現は低下しないことが多いので溶血発作は起こらない。前述した *PIGT* を責任遺伝子とする PNH は一方のアレルの *PIGT* 遺伝子に生殖系列の変異をもつ造血幹細胞において、もう一方のアレルの体細胞突然変異によってそれぞれ Chr. 20q の *PIGT* を含む 8Mb, 18Mb の欠損が起こって発症した症例である。興味深いことに 2 例とも PNH の診断前 15 年以上にわたって蕁麻疹、発熱、関節痛、腹痛、無菌性髄膜炎などの慢性炎症症状を来していたが PNH 診断後エクリズマブの投与によりこれらの慢性炎症も治まった[22,23]。*PIGT* は GPI トランスアミダーゼ複合体の 1 因子で、その欠損により前駆タンパク質への GPI アンカーの付加が起こらないので細胞表面の GPI-AP の発現が欠損する。前駆タンパク質は小胞体で分解されるが、完成した GPI アンカーはタンパク質が付加されないまま修飾を受けて、細胞表面に運ばれることがわかっている[43]（図 3）。このフリーGPI の PIGT 欠損細胞上の発現が補体活性化とともに慢性炎症に関わっていると考えられる。このタンパク質が付加されていない GPI は GPI トランスアミダーゼ欠損細胞のみならず、各ステップの欠損細胞でそれぞれ小胞体に蓄積されている GPI 中間体が細胞表面に発現していることが知られている。一方 *PIGA* は生合成の最初のステップなのでそのような発現はない。今後さらに他の遺伝子を責任遺伝子とする PNH が見つかる可能性があるが、欠損細胞表面に発現する GPI 中間体によってそれぞれ多彩な症状を来すことが予想される。PNH の新しいサブタイプとして従来の *PIGA* を責任遺伝子とする PNH と区別する必要がある。

6. 終わりに

細胞表面のフリーGPI はその側鎖の GalNAc を認識する抗体で染めることによりフローサイトメトリー(FACS)で確認できる。すなわち PIGT-PNH を従来の PIGA-PNH と区別することができる。我々は原因不明の慢性炎症を呈する症例について FACS によるスクリーニングを実施している。

利益相反

筆者は、日本補体学会の委託研究費をいただきました。本論文内容に関連した開示すべき COI 関係にある他の企業はありません。

	PIGA-PNH	PIGT-PNH
原因遺伝子	PIGA	PIGT
突然変異	Somatic mutation	Germline mutation +Somatic mutation
GPI生合成のステップ	最初のステップ	最終ステップ タンパク質付加のステップ
遺伝子座	X染色体	20q
自己免疫性骨髄不全	多くは伴う	伴わない
溶血発作	ある	ある
先行する炎症症状	ない	慢性炎症が長期間先行した後に発症する。

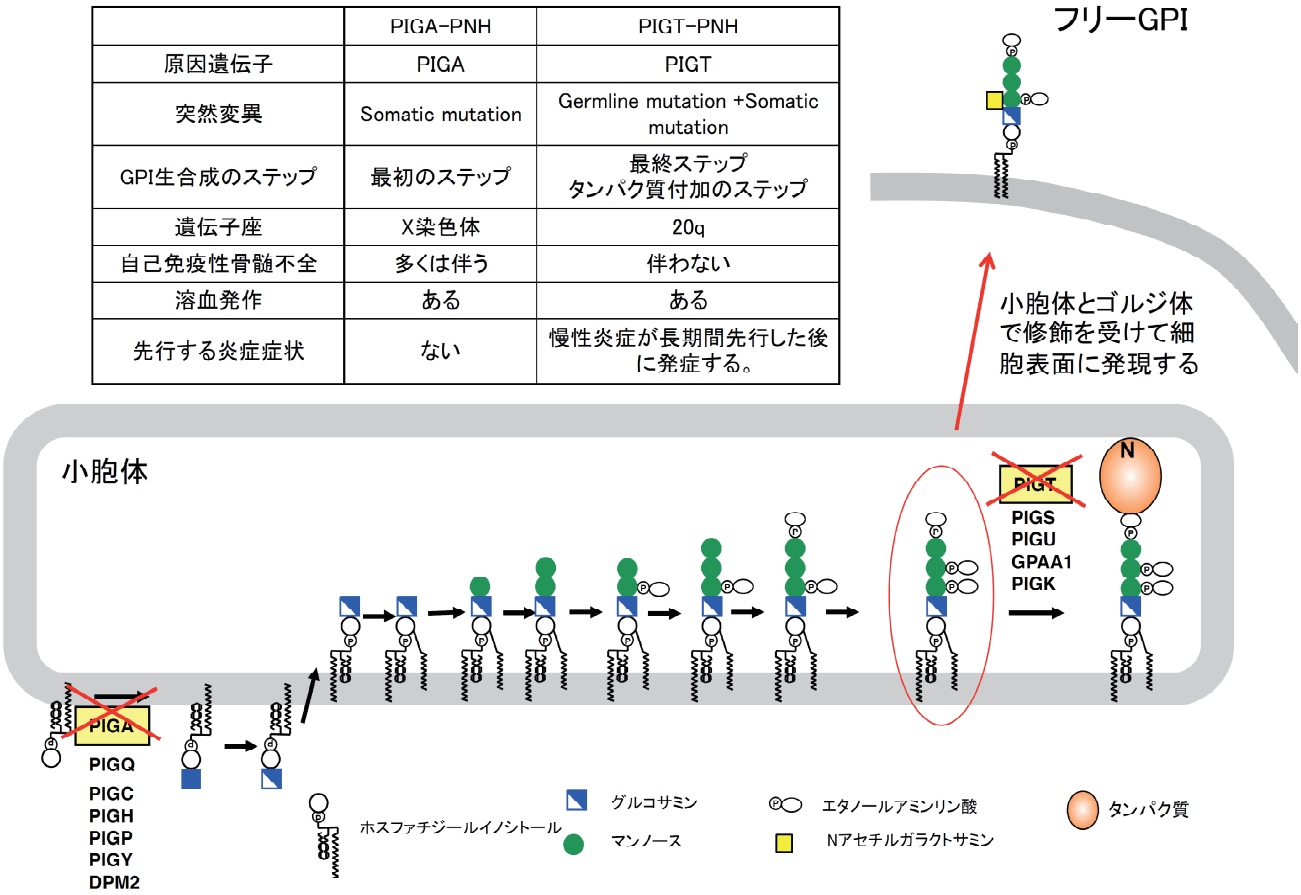


図3　PIGA-PNHとPIGT-PNHの違い

【文献】

1) Ham TH and Dingle JH. Studies on destruction of red blood cells. II. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria:certain immunological aspects of the hemolytic mechanism with special reference to serum complement. *J Clin Invest* 18, 657-672 (1939)

2) Ham TH. Studies on destruction of red blood cells I Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria - An investigation of the mechanism of hemolysis, with observations on five cases. *Arch Intern Med* 64, 1271-1305 (1939)

3) Rosse WF and Dacie JV. Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells. I. The sensitivity of PNH red cells to lysis by complement and specific antibody. *J Clin Invest* 45, 736-748 (1966)

4) Oni SB, Osunkoya BO and Luzzatto L. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Evidence for Monoclonal Origin of Abnormal Red Cells. *Blood* 36, 145-152 (1970)

5) Burge J, Nicholson-Weller A and Austen KF. Isolation of C4-binding protein from guinea

pig plasma and demonstration of its function as a control protein of the classical complement pathway C3 convertase. *J Immunol* 126, 232-235 (1981)

6) Nicholson Weller A, March JP, Rosenfeld SI, et al. Affected erythrocytes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are deficient in the complement regulatory protein, decay accelerating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80, 5066-5070 (1983)

7) Medof ME, Gottlieb A, Kinoshita T, et al. Relationship between decay accelerating factor deficiency, diminished acetylcholinesterase activity, and defective terminal complement pathway restriction in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria erythrocytes. *J Clin Invest* 80, 165-174 (1987)

8) Sugita Y, Tobe T, Oda E, et al. Molecular cloning and characterization of MACIF, an inhibitor of membrane channel formation of complement. *J Biochem (Tokyo)* 106, 555-557 (1989)

9) Holguin MH, Fredrick LR, Bernshaw NJ, et al. Isolation and characterization of a membrane protein from normal human erythrocytes that inhibits reactive lysis of the erythrocytes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 84, 7-17 (1989)

10) Okada N, Harada R, Fujita T, et al. A novel membrane glycoprotein capable of inhibiting membrane attack by homologous complement. *Int Immunol* 1, 205-208 (1989)

11) Homans SW, Ferguson MA, Dwek RA, et al. Complete structure of the glycosyl phosphatidylinositol membrane anchor of rat brain Thy-1 glycoprotein. *Nature* 333, 269-272 (1988)

12) Masterson WJ, Doering TL, Hart GW, et al. A novel pathway for glycan assembly: biosynthesis of the glycosyl-phosphatidylinositol anchor of the trypanosome variant surface glycoprotein. *Cell* 56, 793-800 (1989)

13) Medof ME, Walter EI, Roberts WL, et al. Decay accelerating factor of complement is anchored to cells by a C-terminal glycolipid. *Biochemistry* 25, 6740-6747 (1986)

14) Takahashi M, Takeda J, Hirose S, et al. Deficient biosynthesis of N-acetylglucosaminyl phosphatidylinositol, the first intermediate of glycosyl phosphatidylinositol anchor biosynthesis, in cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med* 177, 517-521 (1993)

15) Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 73, 703-711 (1993)

16) Miyata T, Takeda J, Iida Y, et al. The cloning of PIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis. *Science* 259, 1318-1320 (1993)

17) Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T, et al. Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 323, 1184-1189 (1990)

18) Haliloglu G, Maluenda J, Sayinbatur B, et al. Early-onset chronic axonal neuropathy, strokes, and hemolysis: inherited CD59 deficiency. *Neurology* 84, 1220-1224 (2015)
19) Ozen A, Comrie WA, Ardy RC, et al. CD55 Deficiency, Early-Onset Protein-Losing Enteropathy, and Thrombosis. *N Engl J Med* 377, 52-61 (2017)
20) Nafa K, Mason PJ, Hillmen P, et al. Mutations in the PIG-A gene causing paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are mainly of the frameshift type. *Blood* 86, 4650-4655 (1995)
21) Nishimura J, Inoue N, Wada H, et al. A patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria bearing four independent PIG-A mutant clones. *Blood* 89, 3470-3476 (1997)
22) Krawitz PM, Höchsmann B, Murakami Y, et al. A case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria caused by a germline mutation and a somatic mutation in PIGT. *Blood* 122, 1312-1315 (2013)
23) Kawamoto M, Murakami Y, Kinoshita T, et al. Recurrent aseptic meningitis with PIGT mutations: a novel pathogenesis of recurrent meningitis successfully treated by eculizumab. *BMJ Case Reports*, in press (2018)
24) Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, et al.: PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood* 105, 3848-3854 (2005)
25) Kawagoe K, Kitamura D, Okabe M, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchor deficient mice: Implications for clonal dominance of mutant cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 87, 3600-3606 (1996)
26) Murakami Y, Kinoshita T, Maeda Y, et al. Different roles of glycosylphosphatidylinositol in various hematopoietic cells as revealed by model mice of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 94, 2963-2970 (1999)
27) Schubert J, Vogt HG, Zielinska-Skowronek M, et al. Development of the glycosylphosphatitylinositol-anchoring defect characteristic for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in patients with aplastic anemia. *Blood* 83, 2323-2328 (1994)
28) Wang H, Chuhjo T, Yamazaki H, et al. Relative increase of granulocytes with a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria phenotype in aplastic anaemia patients: the high prevalence at diagnosis. *Eur J Haematol* 66, 200-205 (2001)
29) Murakami Y, Kosaka H, Haeda Y, et al. Inefficient response of T lymphocytes to glycosylphosphatidylinositol anchor-negative cells: implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 100, 4116-4122 (2002)
30) Gargiulo L, Papaioannou M, Sica M, et al. Glycosylphosphatidylinositol-specific, CD1d-restricted T cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 121, 2753-2561 (2013)
31) Nagakura S, Ishihara S, Dunn DE, et al. Decreased susceptibility of leukemic cells with PIG-A mutation to natural killer cells in vitro. *Blood* 100, 1031-1037 (2002)
32) Inoue N, et al. HMGI-C, a candidate protein involved in clonal expansion of PNH cells. *Blood* 98, 221a (2001)

33) Murakami Y, Inoue N, Shichishima T, et al. Deregulated expression of HMGA2 is implicated in clonal expansion of PIGA deficient cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 156, 383-387 (2012)

34) Shen W, Clemente MJ, Hosono N, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 124, 4529-4538 (2014)

35) Hillmen P, Hall C, Marsh JC, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 350, 552-559 (2004)

36) Risitano AM, Notaro R, Marando L, et al. Complement fraction 3 binding on erythrocytes as additional mechanism of disease in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated by eculizumab. *Blood* 113, 4094-4100 (2009)

37) Nishimura J, Yamamoto M, Hayashi S, et al. Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *N Engl J Med* 370, 632-639 (2014)

38) Reher D, Fuhmann V, Kluge S, et al. A rare case of septic shock due to Neisseria meningitidis serogroup B infection despite prior vaccination in a young adult with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria receiving eculizumab. *Vaccine* 36, 2507-2509 (2018)

39) Roversi P, Lissina O, Johnson S, et al. The structure of OMCI, a novel lipocalin inhibitor of the complement system. *J Mol Biol* 369, 784-793 (2007)

40) Risitano AM, Ricklin D, Huang Y, et al. Peptide inhibitors of C3 activation as a novel strategy of complement inhibition for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 123, 2094-2101 (2014)

41) Yuan X, Gavriilaki E, Thanassi JA, et al. Small-molecule factor D inhibitors selectively block the alternative pathway of complement in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome. *Haematologica* 102, 466-475 (2017)

42) Schmidt CQ, Harder MJ, Nichols EM, et al. Selectivity of C3-opsonin targeted complement inhibitors: A distinct advantage in the protection of erythrocytes from paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients. *Immunobiology* 221, 503-511 (2016)

43) Hirata T, Mishra SK, Nakamura S, et al. Identification of a Golgi GPI-N-acetylgalactosamine transferase with tandem transmembrane regions in the catalytic domain. *Nat Commun* 9, 405 (2018)

44) Lee GH, Fujita M, Takaoka K, et al. A GPI processing phospholipase A2, PGAP6, modulates Nodal signaling in embryos by shedding *CRIPTO. J Cell Biol* 215, 705-718 (2016)

45) Murakami Y and Kinoshita T. [Inherited GPI deficiencies:a new disease with intellectual disability and epilepsy]. *No To Hattatsu* 47, 5-13 (2015)

血栓と補体

宮田敏行 [1)]、井上徳光 [2)]
国立循環器病研究センター　脳血管内科 [1)]、大阪国際がんセンター 研究所 腫瘍免疫学部 [2)]

Thrombosis and complement systems

Toshiyuki Miyata[1)], Norimitsu Inoue[2)]
[1)]Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center
[2)]Department of Tumor Immunology, Osaka International Cancer Institute

1. はじめに

生体防御反応である凝固系と補体系は、ともにセリンプロテアーゼによるタンパク質の一連の活性化を伴うことから、進化的な類似性が指摘されてきた。発作性夜間ヘモグロビン尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)や非典型溶血性尿毒症症候群(atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS)といった補体系の制御異常に基づく疾患は血栓合併症を伴うことが知られており、凝固系と補体系にはクロストークがあると考えられる。これまで、補体系の血栓止血への関わりは、補体活性化で生じるアナフィラトキシン C5a や終末産物である膜侵襲複合体 C5b-9 による白血球や血管内皮細胞での組織因子の遺伝子発現 [1,2)]、および C5b-9 による血小板細胞膜上へのホスファチジルセリンの露出によるプロトロンビナーゼ複合体の形成 [3-5)]が、主だった反応であると説明されてきた。しかし、遺伝子改変マウスやヒト血栓の病因にきわめて類似する動物モデルの導入、高感度で定量的な解析を可能とする生体内イメージング技術の大きな発展により、最近ではそれぞれの研究境界を越えた補体-血栓止血の新しい研究領域が開拓され、きわめて多くの研究が報告されている。

静脈血栓症の側面から眺めると、血栓の発症と進展は血管内皮細胞と血小板の関与に加え、免疫細胞である白血球の関わりが大きくクローズアップされてきており [6)]、好中球から放出される neutrophil extracellular traps (NETs) の重要性が指摘されている [7,8)]。また、血栓性微小血管症（thrombotic microangiopathy, TMA）のなかでも血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)は、ADAMTS13 欠乏症が引き起こす機序が確立され、ADAMTS13 補充療法も検討されている [9)]。補体の側面から眺めると、臨床症状では TMA を示す aHUS は内皮細胞傷害を惹起することは明らかであるものの、どうして血栓症を起こすのかについては不明な点が多い [10,11)]。

本稿では、まず血栓止血系および補体系の概要を述べ、その後に両経路の関わりについてモデル動物を用いた研究を紹介しつつ解説したい。これまでに優れた総説が多く発表されているので、それらも参照していただきたい [12-19)]。本稿では、補体因子は Complement Nomenclature 2014 で推奨されている命名を用いることとする [20)]。

2. 凝固系と血栓症

2－1. 凝固系と血小板活性化

血栓止血反応は凝固系と血小板の活性化を伴う（図１）。外因系凝固の活性化反応は組織因子が血中の活性型凝固 VII 因子(FVIIa)に結合することで開始する [21)]。内因系凝固は細胞内の陰性荷電物質であるポリリン酸や RNA などが血中へ放出されることで始まり、陰性荷電物質上での自己活性化により FXIIa が生じ、これが FXI の活性化を行う [22)]。

血中 FVIIa は微量（FVII の 0.5%-1%[23]）なため、凝固の開始時に形成される FVIIa-組織因子複合体もわずかであり、FXa やトロンビンも少量しか生成されない。しかし、一度トロンビンが形成されると、トロンビンは凝固の補助因子である FVIII と FV を活性化し、活性型の FVIIIa と FVa は、FIXa と FXa の触媒活性を劇的に亢進する。また、トロンビンはポリリン酸の存在下で FXI を活性化する。さらに FXa やトロンビンは FVII を活性化する。これらのフィードバック活性化反応により凝固反応が大きく進み、大量のトロンビンが生成する（凝固増幅反応と呼ぶ）[24]。大量のトロンビンはフィブリノーゲンをフィブリンに変換し、トランスグルタミナーゼである FXIII を活性化し、FXIIIa により架橋され強度が増強したフィブリンからなる止血栓を形成する。

凝固の増幅反応には、酸性リン脂質であるホスファチジルセリンの細胞膜上への露出が必須である（図１）。ホスファチジルセリンを提供する細胞は、主に活性化血小板と考えられている。血小板はアゴニスト刺激により、細胞膜の内層に存在しているホスファチジルセリンを外層に露出し、凝固反応の場を提供する。通常、ホスファチジルセリンは細胞膜の脂質二重膜の内層に存在し、血液に接する外層には存在しない。トロンビンやコラーゲン、膜侵襲複合体（C5b-9）の形成などにより活性化した血小板はホスファチジルセリンを外層に露出する [4,24]。この膜外層の組成の変化により、ビタミン K 依存性の凝固因子であるプロトロンビン、FVII、FIX、FX は細胞膜に結合できるようになり、プロトロンビナーゼ複合体（FXa-FVa 複合体）、内因系 Xase 複合体(FIXa-FVIIIa 複合体)、外因系 Xase 複合体(FVIIa-組織因子複合体)が形成され大量のトロンビンが産生される（トロンビンバーストと呼ぶ）。血小板活性化時のリン脂質輸送酵素であるスクランブラーゼによるホスファチジルセリンの露出の分子機構に関しては総説を参

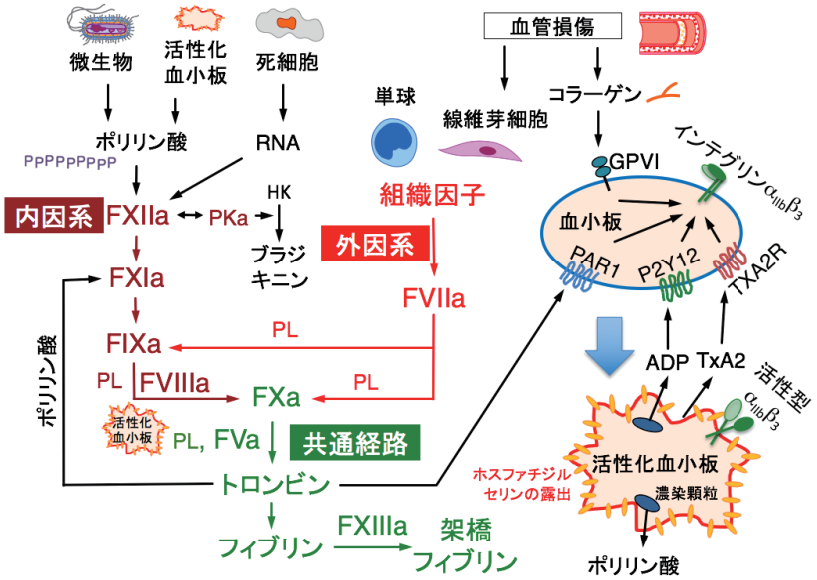


図１　凝固系と血小板の活性化

凝固系は陰電荷物質で活性化される内因系、組織因子で始まる外因系、両経路が集まる共通経路で構成される。FXII はポリリン酸や RNA などの陰電荷物質で自己活性化し、内因系凝固反応を開始する。組織因子は血管外膜の線維芽細胞に恒常的に発現しており止血反応を担う。一方、単球は刺激依存性に組織因子を発現する。活性化血小板は酸性リン脂質であるホスファチジルセリンをリン脂質膜の外層に提示し、プロトロンビナーゼ複合体（FXa-FVa 複合体）、内因系 Xase 複合体(FIXa-FVIIIa 複合体)、外因系 Xase 複合体(FVIIa-組織因子複合体)の形成の場を提供し、大量のトロンビン形成を進める。血小板はトロンビンと内皮下層のコラーゲンにより活性化される。血小板を活性化する外因性因子はこの２つである。これらのアゴニストはそれぞれの受容体を介して ADP やポリリン酸などの顆粒内容物を放出し、血小板凝集と凝固反応をさらに促進する。補体系の C5a は単球に組織因子を発現させ、C5b-9 は血小板と血管内皮細胞の細胞膜の外層にホスファチジルセリンを提示させ、血栓形成を促進する。ADP とトロンボキサン A2 による血小板凝集を抑制する薬剤が、チクロピジンに代表されるチエノピリジン系薬剤とアスピリンである。
PKa：血漿カリクレイン、HK：高分子量キニノーゲン、PL：ホスファチジルセリンを含むリン脂質膜、GPVI：血小板 glycoprotein VI、PAR1：protease-activated receptor 1、P2RY12：ADP 受容体、TBXA2R：トロンボキサン A2 受容体、TxA2：トロンボキサン A2

照されたい[25,26]。

血小板の活性化を惹起する外因性因子は、血管内皮細胞の下層にあるコラーゲンと、凝固反応で生成するトロンビンである。コラーゲンは血小板glycoprotein VI (GPVI)が受容体であり、トロンビンは protease-activated receptor 1 (PAR1)が受容体である。両アゴニストはこれらの受容体を介して血小板を活性化し、内部の濃染顆粒から強力な血小板活性化アゴニスト ADP や凝固内因系惹起物質ポリリン酸などを放出し更に血小板や凝固系を活性化する（図１）。最近の研究では、血栓の表層と内部ではトロンビン、ADP、トロンボキサンの濃度に差が認められ、血栓内部では十分に活性化された血小板が密に存在すると報告されている[27]。外傷時では、血管壁の外膜の繊維芽細胞に恒常的に発現している組織因子と損傷部位に露出するコラーゲンが止血反応に働く[24]。

2－2. 動脈血栓症

動脈血栓は、主に粥状プラークの破裂によって起こるのでアテローム血栓症とよばれる[28,29]。アテローム血栓症では、内皮下層に形成された脂質に富んだプラークに、組織因子を発現する単球や平滑筋細胞、また壊死を起こした細胞が局在する。プラークは薄い単層の血管内皮細胞で血液と隔てられており、これが破綻やびらんによりはがれ下層の細胞外マトリクスのコラーゲンが血流に晒されると、血小板の活性化が進行し血小板粘着が起こる。また、組織因子を起点として凝固系が活性化され、血小板活性化能をもつトロンビンが形成されて血小板凝集が起こるとともにフィブリン塊が形成される。このように動脈血栓は血小板血栓が主体の血栓であるため、再発予防には抗血小板薬が用いられる。

2－3. 静脈血栓症

自然災害が多発する本邦では、災害避難時の深部静脈血栓症および肺塞栓症の予防が喚起されている。静脈血栓は血液がうっ滞しやすい静脈弁の内側のポケット構造をとる部位に生じやすい[30]。心房細動患者は左心耳に血栓ができやすい。心耳は血流がうっ滞しやすく、静脈血栓と同様の機序でフィブリンが形成されやすく、脳塞栓症の発症要因となる。

最近、マウスの下大静脈狭窄モデルと生体内イメージング技術を用いて、静脈血栓の形成機序が詳しく解析された[31]（図２）。このモデルでは下大静脈の内腔を 80%程度狭窄させ血流を低下さる。血流低下 48 時間後、静脈内に次のような機序で血栓が観察された。まず、i) 血流の低下による虚血により内皮細胞が活性化され、ii) 内皮細胞内の Weibel-Palade 小体より、接着因子であるフォンビルブランド因子（von Willebrand factor, VWF）が血中へ放出され（exocytosis）、一部は細胞表面に係留し、接着因子 P セレクチンが内皮表面に発現し、iii) 細胞表面に係留した VWF には血小板 glycoprotein Ib (GPIb)を介して血小板が結合し[32]、活性化した血小板と内皮細胞に現れた P セレクチンには P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)を介して単球と好中球が結合し[33]、iv-v) 単球は刺激依存性に組織因子を発現し凝固反応を開始してトロンビンとフィブリンの形成に繋がる。好中球からは danger-associated molecular patterns (DAMPs)として知られるヒストン H3, H4 や high-mobility group box 1 (HMGB1)、染色体 DNA を含む NETs が放出される。血小板の活性化によりポリリン酸や ADP、還元型 HMGB1 などの血栓惹起物質が放出される[34]。NETs に含まれる各種の物質により血栓が拡大し、血小板は GPIb を介して白血球をつなぎ止め HMGB1 を放出し血栓の拡大に働く。ヒト静脈血栓症では内皮の剥離などが観察され、より複雑な過程を伴う。

下大静脈狭窄による静脈血栓の発症では、内皮細胞内の Weibel-Palade 小体の exocytosis による接着因子の表出が極めて重要な役割を果たす[31]。Weibel-Palade 小体は VWF、P セレクチン、組織プラスミ

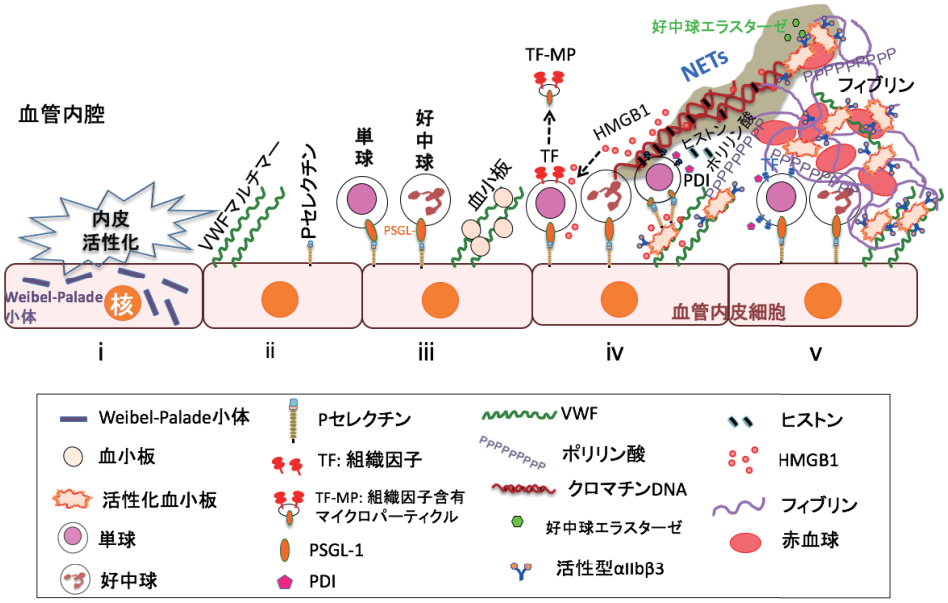


図２　静脈血栓の形成機序
マウスの下大静脈狭窄モデルと生体内イメージング技術から明らかになった静脈血栓モデル。実際の血栓形成の段階は明瞭に区別できないが、ここでは複雑な過程を簡略化した。このモデルでは血管内皮細胞は剥離しないので、内皮下層の細胞外マトリクスに存在するコラーゲンは血小板と接することはない。虚血などの刺激により血管内皮細胞内の Weibel-Palade 小体の内容物である VWF マルチマーと P セレクチンが分泌もしくは細胞表面に露出する。活性化血小板は P セレクチンとホスファチジルセリンを露出し、インテグリンαIIbβ3 は活性型のコンフォメーションをとる。
VWF：フォンビルブランド因子、NETs：neutrophil extracellular traps、PDI：protein disulfide isomerase、PSGL-1: P-selectin glycoprotein ligand-1、HMGB1: high-mobility group box 1

ノーゲン活性化因子(tissue plasminogen activator, tPA)などを含む分泌小胞である。中でも VWF が主要な構成成分であり、VWF 欠損マウスの内皮細胞は Weibel-Palade 小体を保持せず、VWF を強制発現させた細胞には Weibel-Palade 小体様のオルガネラが観察される [35]。Weibel-Palade 小体の exocytosis は、炎症性サイトカイン、志賀毒素、カルシウムイオノフォア、高濃度のヒスタミン、虚血、DAMPs であるヒストンなど多くの刺激により起こる [35,36]。Weibel-Palade 小体の分泌促進は細胞内カルシウム濃度と cAMP の上昇により惹起され、前者はトロンビン、ヒスタミン、C5b-9 であり、後者はエピネフリンとバソプレシンが誘因因子である。

生体内で組織因子を発現・誘導する白血球は主に単球と考えられる [31,33]（図２）。組織因子を発現する単球は組織因子をもつマイクロパーティクル(microparticle, MP)を放出し、この MP は PSGL-1 を介して P セレクチンを発現する活性化血小板や血管内皮細胞に結合できる [33]。したがって、血管内皮細胞は一見組織因子を発現しているように見えるが、実のところは組織因子を含む MP を補足しているだけとも考えられる [37]。NETs はヒストン、プロテアーゼ、顆粒タンパク質、細胞質タンパク質で覆われたクロマチン線維を有する構造物であり、血栓形成を促進する [8]。このように、静脈血栓は単球や好中球といった自然免疫系に関わる細胞が関与するので Immunothrombosis とよばれ、これらの細胞が活性化される際に放出する無菌性炎症（sterile inflammation）に関わる HMGB1 などの因子群が静脈血栓を増大させる [7,18]。最近では、組織因子が含まれる NETs が心筋梗塞患者から回収された血栓に確認されている [38]。脳梗塞患者から回収された血栓にも NETs が確認され、回収血栓は tPA に DNA 分解酵素を加えるとより解けやすいことが観察されている [39]。

2－4. 血栓性血小板減少性紫斑病(Thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)

TTP は溶血性貧血、血小板減少、血栓による臓器

障害を特徴とする血栓性微小血管症（thrombotic microangiopathy, TMA）に分類される（表１）。TTP の機序は次のように説明される[9,40,41]（図３）。VWF はジスルフィド結合で繋がった超高分子量マルチマーとして主に血管内皮細胞で合成され血中に放出され、ひも状に自己集合し[42]、一部は P セレクチンもしくはインテグリンαVβ3 を介して血管内皮細胞上に係留する[43,44]。i）低ずり応力下では、VWF マルチマーは緩く結合した凝集した形をとるが、ii）強いずり応力下では VWF マルチマーは血流方向に伸展した構造をとる。iii）鎖長が長いとかかるずり応力も強くなり、VWF の A2 ドメインが変性し Tyr1605-Met1606 結合が露出し、プロテアーゼである ADAMTS13 によりこの部位が切断されマルチマーが低分子化する。VWF マルチマーは A1 ドメインを介して内皮細胞上もしくは血管損傷部位で血小板の GPIb に結合する。iv）血小板に結合した VWF は弱いずり応力でも A2 ドメインが容易に変性し、ADAMTS13 で切断され VWF マルチマーは低分子化する。しかし、v）先天性 ADAMTS13 欠損症や自己抗体により ADAMTS13 活性が極端に低下（通常 10%以下の低下が診断に使われている）すると、超高分子量 VWF マルチマーはずり応力下でも低分子化されず、血小板を結合し凝集塊を形成する。これは塞栓として下流の微小血管を閉塞することがある。このように、TTP の血栓形成の機序は動脈血栓症や静脈血栓症とは異なる。

表１．血栓性細小血管症（thrombotic microangiopathy: TMA）の分類

分　類	原　因
血栓性血小板減少性紫斑病(Thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP)	ADAMTS13活性が10%未満
Shiga toxin-producing *Escherichia coli*-associated hemolytic uremic syndrome (STEC-HUS)	志賀毒素関連
非典型溶血性尿毒症症候群（atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS、補体関連TMA）	FH, FI, MCP, C3, FB, トロンボモジュリン, DGKE, INF2の遺伝子異常、抗FH抗体陽性、TMAを呈しSTEC-HUS, TTP, 二次性TMAが否定的で既知の原因遺伝子異常は認められないが臨床的にaHUSが疑われる例
二次性TMA	代謝異常症、感染症、薬剤性、自己免疫性疾患、悪性腫瘍、HELLP症候群、移植後など

文献175より引用

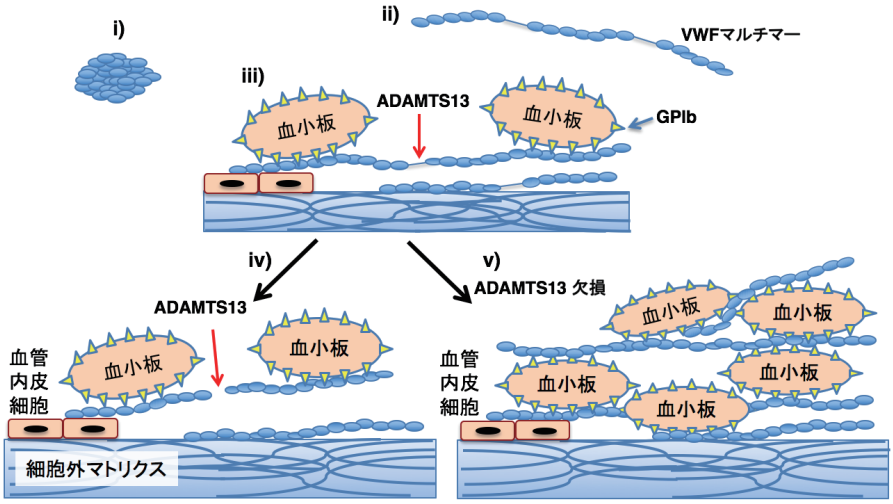


図３　血栓性血小板減少性紫斑病の発症機序
VWF は 2050 アミノ酸からなる同一のサブユニットがジスルフィド結合で連結したマルチマー構造として血管内皮細胞から分泌され、一部の VWF は内皮細胞上に係留する。高分子量 VWF マルチマーは強い血小板凝集能を示すが、低分子化されると凝集能は低下消失する。i）VWF マルチマーは低ずり応力下で緩く結合した形をとる。ii）強いずり応力下では VWF マルチマーは血流方向に伸展した構造をとり、VWF の A2 ドメインが変性し Tyr1605-Met1606 結合が露出する。iii）内皮細胞に係留した高分子量 VWF マルチマーに GPIb を介して血小板が結合すると、弱いずり応力でも A2 ドメインが容易に変性し、iv）ADAMTS13 により Tyr1605-Met1606 結合が切断され VWF マルチマーが低分子化する。v）ADAMTS13 活性が欠乏すると、血小板が高分子量 VWF マルチマーに結合し凝集塊を形成する。

3. 補体系の活性化

3－1. 補体系の活性化

補体は外来から侵入した病原体だけではなく、体内で不要となった物質や傷害を受けた細胞を除去する働きをもつ。補体は 3 つの経路、古典経路、レクチン経路、第二経路によって活性化する。

古典経路は、抗原抗体複合体や傷害を受けた細胞が C1 複合体中の C1q により認識され、セリンプロテアーゼ C1r が活性化され、さらに活性化型の C1r によって C1s が活性化されることで開始される[13,45-48]。

レクチン経路はマンノース結合レクチン（mannose-binding lectin, MBL）、フィコリン(Ficolin-1, Ficolin-2, Ficolin-3)、コレクチンファミリーの CL-L1 (collectin liver 1)と CL- K1 (collectin kidney 1) によって形成されるヘテロ複合体 CL-LK のようなパターン認識分子が、自己のタンパク質や細胞表面にはまれにしか存在しないが、微生物・ウイルス・死細胞には発現する糖鎖(マンノースや GlcNAc など)を認識することで惹起される[49,50]。MBL やフィコリンなどによりそれらの糖鎖が認識されると、これらの認識分子と複合体を形成しているセリンプロテアーゼ MASPs (MBL associated serine proteases)の活性化が引き起こされる。まず MASP-1 が活性化され、さらに活性型の MASP-1 によって MASP- 2 が活性化される機序は古典経路のそれに類似する。このように古典経路とレクチン経路はともにセリンプロテアーゼを活性化し、これらの活性型セリンプロテアーゼは C4 と C2 を切断し C4b2a 複合体を形成する。この複合体は C3 転換酵素とよばれ、C3 を C3b とアナフィラトキシン C3a に分解・活性化する能力を持つ[13,45-47]。

MASPs のなかで MASP-1 と MASP-3 は共通の H 鎖を持ち、L 鎖（セリンプロテアーゼドメイン）はスプライシングの違いにより構造が異なる[51]。MASP-1 と MASP-2 はともにレクチン経路の活性化に作用するが、MASP-1 にはフィブリノーゲン、凝固 XIII 因子、プロトロンビン、thrombin activated fibrinolytic inhibitor (TAFI) の切断などのトロンビン様活性が報告されている[52]。MASP-1 のこれらの活性はトロンビンなどの本来の活性化酵素に比べて弱いものの、生体内の局所では意味を持つかもしれない。また、血小板の活性化に伴い MASPs の活性化が検出され、レクチン経路と血栓の関連が示唆されている[53]。MAp44 と sMAP は、それぞれ MASP-1 および MASP-2 の H 鎖の一部のドメインだけから構成されるため酵素活性を持たないが、MASP-1 や MASP-2 に対して MBL やフィコリンとの複合体の形成を競合するためレクチン経路を阻害する機能をもつ[51]。factor D (FD)は、血液中で常に活性化状態で存在するが、MASP1/3 欠損マウスの解析から、前駆体 FD として脂肪細胞から分泌された後すぐにアミノ末端部を MASP-1/3 が切断し、活性型に変換されることが報告された[54]。最近、MASP-1 と MASP-3 の単独欠損マウスの解析から、*in vivo* では MASP-1 ではなく MASP-3 が前駆体 FD の N 末端部分を特異的に切断し、活性化することが明らかにされた[55]。

第二経路では、恒常的に液相で C3 の分子内チオエステル結合が水分子によって加水分解を受けて、C3b 様の C3(H2O)を生成する[13,47]。これに factor B (FB)が結合し、FB は活性型 FD による切断を受けて C3 転換酵素 C3(H2O)Bb を形成する。C3(H2O)Bb は C3 を切断し、それによって生じる C3b はチオエステル結合を介して固相（細胞）表面の水酸基もしくはアミノ基と結合し、新たな C3 転換酵素 C3bBb の形成に寄与する。

これら 3 つの活性化経路によって形成された C3 転換酵素（C4b2a および C3bBb）に C3b が結合すると、C5 転換酵素（C3bBb3b または C4b2a3b）が形成され、転換酵素の基質特異性が C3 から C5 へと変化し、C5 が分解・活性化されて C5a と C5b が形成される。C5a はその受容体である C5aR1 (CD88)を介して強力なアナフィラトキシン活性を

示し、ヒスタミンなどの物質を放出させ、血管透過性を亢進する[56,57]。また、C5a は、走化因子としても働き、白血球を炎症部位に集積させる。そのため、C5aR1 は免疫細胞、内皮細胞、上皮細胞、ある種のがん細胞に発現し、炎症誘導に働く。一方、C5b は膜侵襲複合体の集合形成に繋がり、標的とする病原菌や細胞を融解する。

3－2. 補体活性化制御反応

血管内皮細胞は血管の内腔を覆い、血液中の炎症性メディエーターなどから組織を防御している。補体による細胞傷害からの防御機能もその一つである。特に補体第二経路の活性化は、特異的な自己非自己の識別機構が存在しないため、自己の細胞を攻撃しないよう補体制御因子によって厳密に制御されている。

補体活性化経路の制御として、まず C1 インヒビター(C1-INH)による古典経路およびレクチン経路の制御があげられる。先にも述べたように、レクチン経路には、MASPs のスプライスバリアントである sMAP や MAp44 による制御も知られている[47]。

C3 転換酵素（C4b2a, C3bBb）形成の制御は、2 つの方法が知られている。C4b と C3b のプロテアーゼでの分解による制御と C3 転換酵素の解離による制御である。C4b と C3b はプロテアーゼである factor I (FI)によって、それぞれ C4c と C4d および、iC3b と C3f に分解され、C2 や Bb との結合性を失い不活性化される。この FI による分解反応には factor H (FH)、C4BP、membrane cofactor protein (MCP, CD46)、CR1 (CD35)といった補因子が必要である。これらすべての補因子は、基本構造として short consensus repeat (SCR) とよばれる約 60 アミノ酸残基からなるタンデムリピートをもつ（表２）。

FH は 20 個の SCR からなる血漿タンパク質で、ドメイン 1-4 を通して C3b や C3(H2O)に結合し、FI の補因子として C3b の分解による制御と C3 転換酵素 C3bBb の解離による制御を行う（図４i-a）[47,58]。一方、C4b に対してはほとんど働かない。FH のドメイン 19-20 は、自己細胞上に結合した iC3b の C3d チオエステル含有ドメインや C3d への結合と、硫酸化グリコサミノグリカンやシアル酸のような自己細胞上の陰性荷電領域に結合する能力をもつ。すなわち、FH はドメイン 19-20 を介して自己細胞（血管内皮細胞）上の糖鎖の陰性荷電領域に結合し、細胞上での C3b による第二経路の活性化を阻止することができる（図４i-a）。一方、FH は陰性に荷電した糖鎖をもたない微生物やウイルスに結合しない。このように、FH は細胞上の硫酸化グリコサミノグリカンやシアル酸などに対する結合性により、自己と非自己を認識する能力を示し、補体の攻撃から血管内皮細胞を防御している。しかし、FH を結合して補体攻撃から身を守る微生物も報告されていることを付け加えたい[59]。血管内皮細胞に発現する一回膜貫通領域を有する抗凝固補因子であるトロンボモジュリンは、FH の存在下で FI による C3b の分解を促進する機能を有する（図４i-c）[60]。また、低分子の VWF マルチマーは FI による C3b の分解を促進すると報告されている[61]。

表２．C3転換酵素に関わるSCRを有する補体制御因子

	SCR数	局在	発現細胞	補因子機能		C3転換酵素の解離		機能場所	その他の機能
				C3b	C4b	C3bBb	C4b2a		
FH	20	血漿	肝	○	x	○	x	液層、自己の糖鎖	
C4BP	α鎖: 7, β鎖: 1	血漿	肝	○	○	x	○	液層	プロテインSに結合
DAF (CD55)	4	細胞膜	全ての細胞	x	x	○	○	自己細胞	
MCP (CD46)	4	細胞膜	全ての細胞（赤血球を除く）	○	○	x	x	自己細胞	
CR1 (CD35)	30~44	細胞膜	T細胞、B細胞、食細胞、濾胞樹状細胞、ボドサイト	○	○	○	○	自己細胞、非自己細胞	運搬・貪食受容体

SCR: short consensus repeat

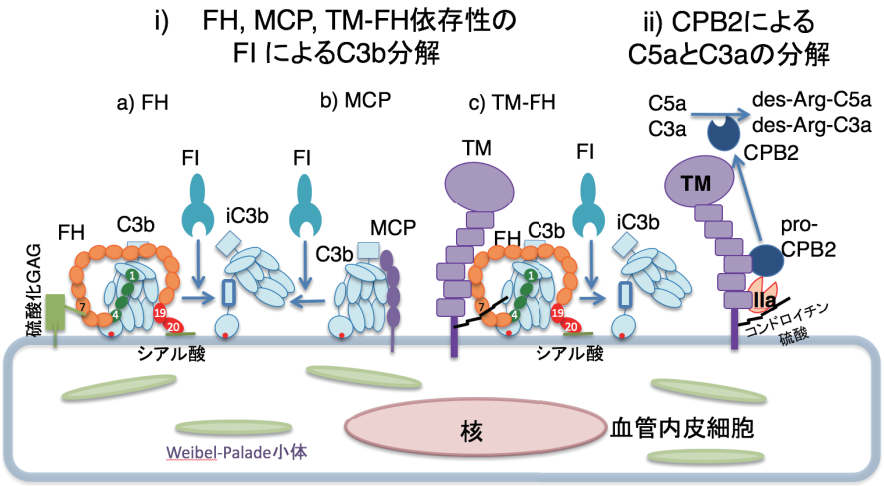


図 4　血管内皮細胞上での C3b の分解と C5a/C3a の分解
i）FH(a), MCP(b), トロンボモジュリン(TM)-FH(c)依存性の FI による C3b の分解。先天性もしくは後天性の要因により血管内皮細胞上で FI による C3b の分解が十分に働かないと、内皮細胞傷害が起こり aHUS を発症する。ii）pre-CPB2 の活性化と CPB2 による C5a と C3a の不活化。

最近、FH に関して極めて興味深い報告が続いて発表されている。多価不飽和脂肪酸は活性酸素種により非酵素的に酸化されマロンジアルデヒド（malondialdehyde, MDA）が生成する。FH は MDA が付加したタンパク質に強く結合し、MDA が誘導する炎症効果を阻害するという [62]。また、FH の p.Tyr402His 多型（rs1061170)は網羅的ゲノム解析で加齢黄斑変性症との関連が指摘されているが [63-65]、His402 をもつ FH は MDA への結合能が顕著に低下し炎症を抑制できず、加齢黄斑変性症に繋がると指摘されている [62]。ちなみに、ヨーロッパ人の His402 のアレル頻度は 0.38 であるが [66]、東アジア人のアレル頻度は低く日本人では 0.07 である [67]。加齢黄斑変性症との関連では、CD47 は炎症を抑制するが、FH はそれを阻害するので抗炎症抑制作用をもつと指摘されている [68]。炎症の抑制では、旺盛な食作用をもつ神経系ミクログリア細胞などの単核食細胞は CD47 依存性に排除される。FH はインテグリン CD11b（Mac-1 のαM 鎖）に結合し、インテグリンに結合する CD47 の TSP-1 による活性化を制限することにより、網膜下の単核食細胞を増加させた。網膜下の単核食細胞は FH-Tyr402 より FH-His402 で増加した。血栓への関連では、FH は VWF に結合し FI による C3b の分解を促進し、かつ ADAMTS13 による分解を阻害して血小板凝集を促進する [69]。また、FH は還元酵素として VWF マルチマーを低分子化すると報告されている [70]。

C4 結合タンパク質(C4b-binding protein, C4BP)は、7 本のα鎖(8 個の SCR と C 末端ペプチド)と 1 本のβ鎖(3 個の SCR と C 末端ペプチド)からなる血漿タンパク質である。名前が示す通り、C4BP は C4b に結合し、液層中で FI による C4b の分解を促進し C3 転換酵素 C4b2a の解離に働く（表 2）。また、C4BP は C3b に結合し FI による C3b 分解の補因子として働くが、C3bBb の解離は促進しない。C4BP はβ鎖を介して抗凝固因子プロテイン S に結合する。プロテイン S は活性化プロテイン C の補因子として FVIIIa と FVa の切断・不活性化を促進するが、プロテイン S -C4BP 複合体形成によって、この補因子活性が極端に低下し、プロテイン S の抗凝固機能が失われる。

decay-accelerating factor (DAF, CD55)は、ヒトではほとんどの細胞の膜表面に発現する補体制御因子で、C4b2a と C3bBb の両方の C3 転換酵素の解離を促進する。一方、MCP も赤血球を除くほとんどの細胞に発現し、FI による C4b や C3b の分解の補因子として働く（図 4 i-b)。DAF と MCP は膜タンパク質で、それらが発現する自己細胞上での補体の活性化しか制御することができず、液層中や非自己細胞上での活性化を制御できない。

CR1 は、補因子として C3b や C4b の分解（MCP と FH は C3b の iC3b への分解に関わるのに対し、

CR1 は iC3b をさらに C3dg と C3c への分解にも関わる)、C3 転換酵素（C4b2a, C3bBb）や C5 転換酵素(C4b2a3b, C3bBbC3b)の解離を促進することもできる。また、CR1 は、自己細胞上での補体活性化を制御するだけでなく、外来異物上で活性化した C4b や C3b を分解し、CR2、CR3、CR4 などの他の補体受容体が認識できるよう変換する働きを持つ。CR1 単独による C3b の結合では貪食を促進することはできず、CR1 は外来異物上の C3b を認識し、FI により iC3b へ分解することよって、貪食細胞上の CR3 に認識されるようになり、その外来異物の貪食が促進される。このため、CR1 は主に血液系の細胞に発現し、内皮細胞にはほとんど発現していない[45,47]。

4. 補体因子から生じる C3a, C4a, C5a と血栓

C3a, C4a, C5a は、C3, C4, C5 のサブユニットの中で分子量の最も大きい鎖であるα鎖のアミノ末端から、プロテアーゼにより切り出される分子量約 9kDa の 74-77 残基からなる 3 つのジスルフィド結合をもつタンパク質である。相互のアミノ酸の同一性は低く、ヒトでは C3a と C4a は 29%、C3a と C5a は 34%の同一性しか示さない[71]。

4－1. C5a による組織因子の発現誘導

C5a は肥満細胞からヒスタミンの分泌を刺激するアナフィラトキシンとして同定された。C5a は血管透過性亢進作用、平滑筋収縮作用、白血球走化因子活性をもつ[56,57]。C5a は免疫系に限らず多面的な生物学的な作用を発揮し、血栓形成にも大きく関わる[57]。C5a の多彩な機能はその受容体である C5aR1 および C5aR2 を介して行われる[57]。C5aR1 は G タンパク質共役型受容体であり多くの研究が蓄積されている。ごく最近、アンタゴニストが結合した C5aR1 の結晶構造解析が報告された[72]。

C5a は血管内皮細胞に作用し Weibel-Palade 小体の exocytosis を惹起し、VWF を放出し P セレクチンを細胞表面に提示する（図５）[73]。C5a が白血球に組織因子の遺伝子発現を誘導することは古くから報告されている[1]。C5a は好中球で組織因子発現を誘導し、生体内の局所で多彩な病態に関わる。抗リン脂質抗体症候群は、動脈血栓症、静脈血栓症、習慣流産などの妊娠合併症を示す。マウスモデルでは、抗リン脂質抗体は補体を活性化し C5a を産生し、C5a 受容体を介して好中球にシグナルが入り、組織因子を発現させる。発現した組織因子には FVIIa が結合する。好中球には protease-activated receptor 2 (PAR2)が発現しており、組織因子-FVIIa 複合体は PAR2 を活性化し oxidative burst を惹起して trophoblast に傷害を与え流産に繋がると報告されている[74]。

急性呼吸促迫症候群では、C5a 依存性に好中球に組織因子が発現し、フィブリンの沈着を引き起こし、病態の悪化を導いているとの報告がある[75]。血液透析に使用する生体適合材料表面では、補体の活性化によって C5a が産生され、好中球に組織因子が発現し、血栓を惹起することが報告された[76]。

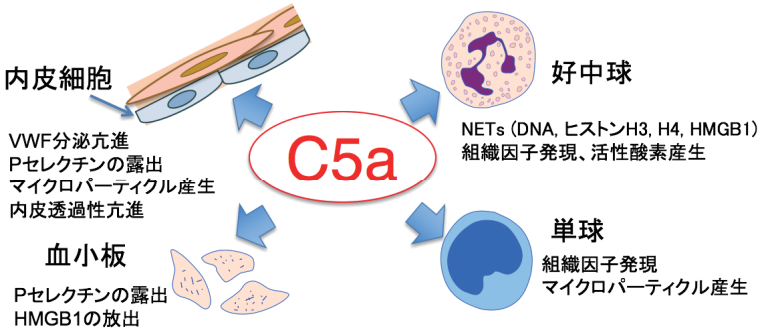


図 5　C5a の多彩な血栓促進作用
C5a は細胞上の受容体 C5aR1 を介して各種の反応を惹起する。血管内皮細胞では Weibel-Palade 小体の exocytosis により接着因子（VWF と P-セレクチン）が細胞膜上に発現する。血小板には P-セレクチンが発現する。VWF には血小板が、P-セレクチンには白血球（単球と好中球）が結合する。白血球は組織因子を発現し凝固反応を活性化する。組織因子を含むマイクロパーティクルが放出され凝固反応が進む。VWF:フォンビルブランド因子（von Willebrand factor）、 HMGB1: high-mobility group box 1

C3 欠損マウスは野生型マウスと同様に IgG 免疫複合体による C5a を介した肺の急性炎症障害が認められるが、この際 C3 欠損マウスではトロンビンが C5 転換酵素として働くことが明らかになっている [77]。しかし、トロンビンは C5a の遊離に必要な Arg751 の切断活性は低く、別の部位の Arg947 を好んで切断し C5T という中間体を生じる [78]。C5T は低濃度のトロンビンで生成し、さらに C5 転換酵素で切断されると膜侵襲複合体として働く C5bT-9 を形成し、より溶血活性の強い複合体となる。すなわち、ある種の病態下でトロンビンと C5 転換酵素が形成されると、C5T を通して C5bT-9 が形成される可能性が示されている。

4－2. C5a の分解・不活化

C5a と C3a は血漿カルボキシペプチダーゼにより C 末端の塩基性アミノ酸 Arg 残基が切断除去される。この C5a-desArg は C5aR1 に対して C5a より 10-100 倍結合能が低い。血漿中にはほぼ同じ濃度の 2 種の塩基性カルボキシペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ N (CPN)とプロカルボキシペプチダーゼ B2 (pro-CPB2, 別名 CPU, CPR, TAFI)が存在し、これらが C5a と C3a の C 末端 Arg 残基の除去を行う [79]。CPB2 には歴史的に幾つかの名前があるが、ここでは国際血栓止血学会の Scientific Standardization Committee の Subcommittee on Fibrinolysis の提案にしたがい CPB2 とする [80]。

CPN は活性型で血中に存在する。一方、pro-CPB2 は血管内皮細胞に発現するトロンボモジュリンに結合したトロンビンにより活性化される（図 4 ii）。トロンボモジュリンは凝固反応を抑制する因子として広く知られている。凝固反応で生成したトロンビンがトロンボモジュリンに結合するとフィブリノーゲンのフィブリンへの切断活性は激減し、翻って凝固制御プロテアーゼであるプロテイン C 活性化能を獲得し、活性化プロテイン C を生成する。この活性化プロテイン C はプロテイン S の存在下、FVIIIa と FVa を分解・不活化することにより凝固系を抑制する [81]。

これら 2 種の酵素による C5a の不活化における使い分けが遺伝子欠損マウスを用いて明らかになった [79,82]。すなわち、常に活性型で血中に存在している CPN は C3a と C5a の不活化で中心的な役割を果たしている。一方、トロンビン-トロンボモジュリン複合体による限定分解を受けて活性を発現する pro-CPB2 は血管壁近傍で活性化し、局所で生成する過剰な C5a を不活化するオンデマンド型の補足的なインヒビターとして機能する。

CPN 欠損マウスは、C5a の投与や cobra venom factor による補体系の急激な活性化によりアナフィラキシーショックを示し、主に C5a によりヒスタミン放出を介して死亡する [83]。一方、CPB2 欠損マウスは同じ量の cobra venom factor 投与では死亡せず、リポ多糖で感作後に cobra venom factor を投与して始めて死亡が見られた [84]。これはリポ多糖の前投与により C5a 受容体が増加したことによると考えられる。このことは、CPB2 欠損マウスでは、CPN が補体系の急激な活性化による致死的な状態からマウスを保護していることを示している。

pro-CPB2 は血栓止血領域では別名の TAFI として広く知られている [85]。フィブリンを溶かす線溶反応は、その過程でプラスミンによって C 末端に Lys 残基をもつフィブリンが形成される。この C 末端 Lys 残基に、プラスミノーゲンと tPA がもつ Lys 結合部位が結合し、両因子がフィブリン上に集合しプラスミノーゲンの活性化反応が促進される。tPA はフィブリン親和性を持つので、脳梗塞溶解療法では全身投与で血栓溶解効果を発揮する。抗線溶薬であるトラネキサム酸は Lys アナログであり、フィブリンの C 末端 Lys 残基へのプラスミノーゲンと tPA の結合を抑制することで抗線溶活性を発揮する。TAFI である CPB2 はフィブリン上に現れた C 末端 Lys 残基を酵素的に切断除去し、プラスミノーゲンと tPA のフィブリンへの結合を阻害することにより

フィブリン分解を抑制する。

CPB2 は C5a の C 末端 Arg 残基を切断除去し C5a を不活化することにより免疫細胞のリクルートを抑制する[86]。ヒト CPB2 遺伝子には p.Thr325Ile 多型が存在し、Thr325-CPB2 は Ile325-CPB2 より血中半減期は短く（約 8 分 vs 約 16 分）、C5a 分解能が高く、関節リウマチ患者では重症になるリスクが低いと報告されている[86]。

CPN と CPB2 は、C3a と C5a だけでなくブラジキニンにも作用し C 末端 Arg 残基を切り出して不活化する。両酵素は C4a にも働き C 末端 Arg を遊離すると考えられるが、後述の C4a の PARs 活性化能が消失するかどうかは明らかでない。

4－3. C4a の機能

C4a の生物学的機能や受容体は長らく不明であった[57,71]。ごく最近、G タンパク質共役型受容体をスクリーニングする手法を用いて、protease activated receptors の PAR1 および PAR4 が C4a の受容体であると報告された[87]。C4a は nM レベルで PAR1 と PAR4 に直接結合し活性化した。C3a と C5a は PAR1 と PAR4 に対してアゴニスト活性を示さないので、C4a は C3a と C5a とは全く異なった活性を持つ。血管内皮細胞では、C4a は PAR1 と PAR4 を介してカルシウムを動員し、ストレスファイバー形成を促進し、血管内皮の透過性を亢進した。これらの効果は PAR1 のアンタゴニストの前処理により抑制された。

PAR1 と PAR4 は血小板や血管内皮細胞などの多くの細胞に発現しており、特に PAR1 は血小板でトロンビン受容体として機能し、血小板の活性化に働く[24,88,89]。その際のメカニズムとして、プロテアーゼが PARs の N 末端領域を切断し、新しく露出したアミノ末端残基が PAR 本体に結合してアゴニスト活性を発揮することが明らかになっている。新しく露出したアミノ末端残基を含む合成ペプチドは PAR のアゴニスト活性を示す。C4a は PARs を切断するのではなく直接 PARs に結合しシグナルを伝達する点できわめてユニークである。これまで、血小板と補体・自然免疫の関連が指摘されているが[90]、C4a のリガンドが PARs であったことから、新たな展開が予想される。

PAR1 と PAR4 のアミノ酸配列の相同性はわずか 33％しかない。PAR1 は nM 以下の低濃度のトロンビンで効率良く切断をうけ活性化されるが、PAR4 はそれより 10 倍以上のトロンビンを必要とするので、余剰の受容体と考えられてきた。しかし、PAR1 の活性化は迅速であるものの一次的であり、一方 PAR4 の活性化では継続的なシグナルが入ることから[91]、PAR1 は止血反応に関わり、PAR4 は安定な血栓の形成に必要とされる可能性が指摘されていた。ごく最近、PAR4 に選択的で可逆的なアンタゴニストが開発された。この薬剤はカニクイザルを用いた研究で、現在広く臨床で使用されている ADP 受容体アンタゴニストである抗血小板薬クロピドグレルより出血が少ないという結果が報告され[92]、健常人を対象としたフェーズ 1 の結果が報告され、ex vivo で血小板血栓形成の抑制が観察された[93]。

5. 膜侵襲複合体と血栓

5－1. 有核細胞での膜侵襲複合体

膜侵襲複合体である C5b-9 は細胞膜にポアを形成し細胞を溶解する。膜侵襲複合体の細胞溶解作用は、赤血球のような無核細胞に強くみられ、好中球のような有核細胞では弱い[94]。有核細胞に対しては、膜侵襲複合体の形成は必ずしも細胞溶解を誘発するというのではなく、細胞刺激因子と考えた方がよいと思える[95,96]。細胞膜上の膜侵襲複合体の形成は細胞内へのカルシウムの流入を促し、細胞内カルシウム濃度の上昇により下流のシグナル伝達系が活性化され、細胞の活性化や炎症反応などにつながる。これは必ずしも細胞溶解を伴わないため、この膜侵襲複合体は sublytic C5b-9 とよばれる。

5－2. 膜侵襲複合体の制御

膜侵襲複合体は細胞にポアを形成するので、病原菌だけでなく自己細胞にとっても脅威である。自己細胞上で補体の終末経路の活性化を制限し膜侵襲複合体による細胞傷害から自己細胞を保護するために、幾つかの防御機構が存在する（図６）[94-96]。

膜侵襲複合体形成の中間体 C5b6 は C5 転換酵素と結合して存在し、C7 が結合することによって細胞膜と結合することができるようになる。この C5b-7 の膜結合部位は極度に不安定で、血中タンパク質であるクラステリン(clusterin)やビトロネクチン(vitronectin、S protein ともよばれる)で覆われやすい性質をもつため、膜侵襲複合体形成へと進むために細胞膜と結合できる C5b-7 の数はかなり少ない[95,97]。このように、C5b-7 に結合することによって、クラステリンとビトロネクチンは膜侵襲複合体の形成を制御している[47]。また、膜侵襲複合体の形成は C5 転換酵素の近傍に限局される。クラステリンとビトロネクチンが結合した C5b-7 は、液層中でさらに C8 や数個の C9 が結合して soluble C5b-9 (sC5b-9) を形成する。

2 つ目の自己細胞の防御は CD59 がおこなう。CD59 は膜侵襲複合体の形成を阻害する能力をもつ glycosylphosphatidylinositol (GPI)-アンカーを有する膜タンパク質である。CD59 は各種の細胞に広く発現する。CD59 は自己細胞上に形成された C5b-8 複合体に結合し、C9 のこの複合体への結合を妨げるとともに結合した C9 の解離も促進し、膜侵襲複合体形成を妨害する働きを持つ[47,95,98]。

後天的な GPI の生合成異常によって発症する PNH の異常赤血球は、GPI を介して細胞膜と結合している DAF と CD59 が共に欠損し溶血発作を示す。先天性 CD59 欠損症は単独で PNH 様の溶血発作を示すとともに、末梢神経障害を起こすことが報告されている[99,100]。一方、先天性 DAF 欠損症は CHAPLE 症候群と呼ばれる早期発症の蛋白漏出性胃腸症と血栓症を示すが溶血発作は見られない[101]。

CD59 の監視の目をくぐり抜けて形成された膜侵襲複合体に対する細胞の最終防御は、endocytosis として細胞内に取り込むか、膜から膜侵襲複合体を効率良く除去することである。好中球では細胞膜上に形成された膜侵襲複合体の約 65%は迅速にベジクル（小胞）として細胞表面から除去される[47,97]。

5－3. 膜侵襲複合体と血栓

すでに述べたように、膜侵襲複合体 C5b-9 は細胞膜の外層に酸性リン脂質ホスファチジルセリンを露出させ、プロトロンビナーゼ複合体（FXa-FVa 複合体）、内因系 Xase 複合体(FIXa-FVIIIa 複合体)、外因系 Xase 複合体(FVIIa-組織因子複合体)の形成のための場を提供する[3-5]。aHUS では、血管内皮細胞上で過剰な補体活性化反応が進み、C5b-9 が形成される。培養内皮細胞を用いた研究では、細胞溶解閾値以下の sublytic C5b-9 が内皮細胞に形成されると、

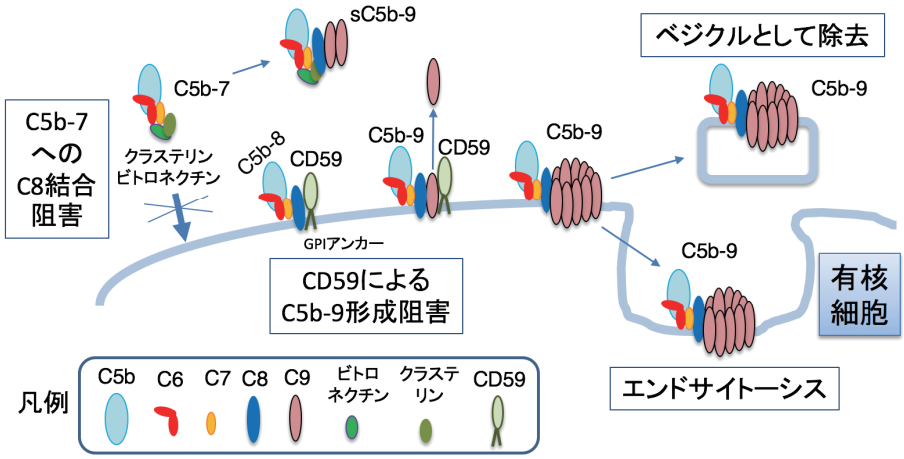


図 6　膜侵襲複合体に対する自己細胞の防御機構
C5b-7 の膜結合部位へのクラステリンとビトロネクチンの結合による soluble C5b-9 (sC5b-9) の形成阻害、CD59 の C5b-8 への結合による C9 結合の阻害、C5b-9 のベジクル（小胞）として細胞表面からの除去、endocytosis による除去がある。

細胞内へ Ca^{2+}の流入が起こり Weibel-Palade 小体から exocytosis による超高分子量 VWF マルチマーの分泌と細胞上への係留、および P セレクチンの提示が起こる[102]。また、C5b-9 の形成はホスファチジルセリンの露出による第 Va 因子の結合（プロトロンビナーゼ複合体形成）に繋がる[103]。血小板に sublytic C5b-9 が形成されると、プロトロンビナーゼ複合体の形成と顆粒内容物の放出[5]やベジクルとしての C5b-9 の放出[104]が認められている。血小板の活性化の際に濃染顆粒から放出されるポリリン酸は膜侵襲複合体の形成を妨害する[105]。

6. 非典型溶血性尿毒症症候群(atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS)

6－1. aHUS

補体関連 TMA として、先天的な補体制御因子の機能喪失型遺伝子バリアント、補体因子の機能獲得型遺伝子バリアント、もしくは後天的な抗 FH 抗体などにより補体第二経路が血管内皮細胞上で過剰に活性化されると、内皮細胞傷害による aHUS の発症に繋がる[10,11,106-111]（表１）。aHUS の原因遺伝子として知られる FH、FI、MCP、トロンボモジュリンには機能喪失型バリアントがみられ、C3 と FB に見られる遺伝子バリアントは、補因子と結合できないために分解されにくい機能獲得型バリアントと考えられる。aHUS 患者の遺伝子解析により、補体制御因子および補体因子に多くの遺伝子バリアントが蓄積されている。トロンボモジュリンは FH の存在下で、FI による C3b の分解を促進するので、トロンボモジュリンのミスセンス変異が aHUS の素因になると報告されたが[60]、最近の報告では aHUS 患者にトロンボモジュリンの機能喪失型バリアントは同定されていない[112,113]。

6－2. aHUS での腎障害

補体第二経路の過剰な活性化で発症する aHUS では、血栓による腎障害が広く見られる[10,109]。この理由ははっきりとわかっているわけではないが、腎臓の解剖学的な構造や機能的な特徴によると考えられている[114]。血管内皮細胞は、グリコサミノグリカンを持つプロテオグリカン、糖タンパク質、糖脂質によって陰性に荷電したゲル状の glycocalyx と呼ばれる層によって覆われている。glycocalyx の主要な構成成分であるグリコサミノグリカンの 90%はヘパラン硫酸とヒアルロン酸で、特定のコアタンパク質に結合している[115,116]。glycocalyx の構造は組織によって異なっており、大量の水を濾過するために 60-80 nm の大きな有窓が存在する腎糸球体の毛細血管では、タンパク質の漏出を防ぐために glycocalyx が重要な役割を果たしている。また、その内皮の大きな有窓のため、内皮下層の糸球体基底膜などの細胞外マトリクスは血液中のタンパク質に常に晒されている。腎糸球体の微小血管内皮細胞は臍帯静脈や脳の微小血管内皮細胞に比べ、MCP, トロンボモジュリン, DAF, CD59 といった補体制御因子の発現量が低い[117,118]。これらの理由によって、腎糸球体内皮細胞上や膜結合型補体制御因子が少ない基底膜での補体の活性化の制御は、主に glycocalyx に結合可能な FH が担っている。また、通常においても、尿路からの異物の侵入や免疫複合体、免疫メディエータなどに常に晒されており、局所での補体因子の産生も高く、補体が活性化しやすい状態になっており、C3a と C5a の産生量が高いと報告されている[117,118]。腎糸球体の毛細血管では、内皮下層のコラーゲンや VWF を起点として血栓が起こりやすい状態にある。これらに加えて補体の制御が正常に働かず内皮細胞傷害が生じると、腎糸球体では血栓が形成されやすいと考えられる[10]。

7. 血栓性微小血管症（thrombotic microangiopathy, TMA）の血栓

臨床的に TMA に分類される TTP と腸管出血性大腸菌による溶血性尿毒症症候群(Shiga toxin-producing E. *coli*-hemolytic uremic syndrome,

STEC-HUS)では、その血栓像は異なると報告されている[40]。TTP の微小血栓は血小板と VWF からなり、フィブリンはほとんど見られない[119]。TTP の血小板血栓は血小板の GPIb と VWF の相互作用がメインであるため（図３）、血小板は活性化されず、凝固反応はおこらないためフィブリンは形成されない。ヒヒに ADAMTS13 抗体を静注し TTP を発症させたモデルでは、腎臓、心臓、脳、脾臓に血小板と VWF が染色される血栓が観察され、肺では血栓を観察しなかった[120]。この臓器特異性はヒト TTP とよく一致した。

一方、STEC-HUS の患者では、糸球体の血栓はフィブリンに富み VWF に乏しいという染色像が得られている[121,122]。これらの結果より、TTP は血小板と VWF に富む血栓であり、HUS はフィブリンに富み血小板に乏しい血栓を生じ、TTP と HUS の血栓は異なる機序で発症することを示唆している[40]。aHUS の診断のために行った皮膚バイオプシーの所見では、局所の内皮剥離とそれに伴いフィブリンが混在する小さい血小板血栓が観察されている[123]。ヒト aHUS 患者に同定された FH p.Trp1206Arg 変異をもち脳梗塞や虚血性網膜症を示す遺伝子改変マウスでは、腎臓にフィブリン沈着を認める血栓が観察されている[124]。aHUS では、補体による溶血や内皮細胞傷害に比べ、血小板の活性化はそれほど注目されていない。しかし、aHUS でも他の TMA と同様に血小板数の減少が観察される。血小板は膜侵襲複合体や C5a により活性化され微小血管の血栓の形成に関与する[11]。補体で傷害された内皮細胞は剥がれて細胞外マトリクスが露出し血栓形成に関わるとの記述もある[10]。

急性期の TMA 患者の血漿では、TTP でも HUS でも同様に DNA-ヒストン複合体であるヌクレオソームや myeloperoxidase が増加し、共通して好中球の関与が示唆される[125]。

8. 動物モデルを用いた補体因子の血栓止血との関わり

8－1. 補体因子の血栓への関わり（マウスモデル）

C3 欠損マウスでは、出血時間の延長と、PAR4 アゴニストによる血小板凝集の低下が報告されている[126]。最近、C3 欠損マウスと C5 欠損マウスの血栓形成能の詳細な解析が報告された[127]（表３）。それによると、C3 欠損マウスは、出血時間が延長し、血流を一時的に低下させる前述の下大静脈狭窄モデルでは、血栓の大きさと長さが減少した。生体内顕微鏡観察による C3 欠損マウスでは血栓への白血球の粘着に変化を示さなかったが、血小板の粘着は狭窄 2 時間後から低下し、フィブリン沈着が減少した。すなわち、血流低下による静脈血栓への血小板の沈着は補体活性を必要とすることを示していた。そこで、*in vitro* での血小板活性化による凝固能の変化を調べたところ、C3 欠損マウスはわずかに活性化血小板による凝固能の低下が観察された。

C3 欠損マウスの下大静脈狭窄モデルでのフィブリン沈着は、白血球に発現した組織因子依存性であった。この組織因子の活性は protein disulfide isomerase (PDI)の合成阻害剤で大きく抑制された。これまでの研究は、組織因子活性の発現には PDI に

表３. C3欠損マウスとC5欠損マウスの血栓形成能[127]

	C3欠損マウス	C5欠損マウス
出血時間	延長	延長
下大静脈狭窄モデル		
血栓重量と長さ*	低下	低下
血栓に粘着した白血球数	正常	正常
血栓に粘着した血小板数	低下	正常
フィブリン沈着	低下	低下
*in vitro*での血小板の活性化による凝固能**	わずかに低下	正常

*狭窄48時間後の血栓、**コラーゲン受容体GPVIアゴニストであるconvulxin で血小板を活性化させ、VWF結合能、Pセレクチンの発現量、ホスファチジルセリン露出量を指標として凝固能を評価

表４．組織因子の活性に必要とされる因子

活性に必要とされる因子	機序	文献
細胞膜外層のホスファチジルセリン	ホスファチジルセリンを含む膜上にFVIIaとFXが結合し、外因系Xase複合体（FVIIa-組織因子複合体）によるFXの活性化が促進される。	24, 37, 128
組織因子のCys186-Cys209間のジスルフィド結合の形成	Cys186とCys209の還元型組織因子はFVIIaの結合能が低い。protein disulfide isomerase (PDI)によりジスルフィド結合が形成されると活性が高くなる	37, 128, 176
好中球エラスターゼによるTFPIの分解	好中球からNETs形成時に放出される好中球エラスターゼはTFPIを分解してFVIIa阻害活性を消失させる。TFPIの分解によりFVIIa-組織因子複合体は活性阻害を免れる。	177

よる組織因子の Cys186-Cys209 間のジスルフィド結合の形成がきわめて重要であることを示しており[37,128]（表４）、今回の結果はこれを支持した。下大静脈狭窄モデルでのフィブリン沈着は、NETs 形成に必須である peptidyl arginine deiminase 4 を欠損したマウスでは低下しなかったので、この血栓は組織因子依存性であるものの NETs を必要としなかった[127]。

C5 欠損マウスは出血時間の延長や狭窄モデルでの血栓量の低下を示した[127]（表３）。しかし、*in vitro* での血小板活性化による凝固能は正常で、血栓への血小板粘着も正常であった。C5 欠損マウスはアナフィラトキシン C5a を産生しないにもかかわらず、白血球の粘着も正常であった。しかし、注目したい点は狭窄モデルでは接着白血球上のホスファチジルセリンの露出が減少したことである。これによりフィブリンの沈着と凝血塊形成が低下したと考えられた。これらの結果は、C3 は血小板の活性化と組織因子の活性化に必須であり、C3 もしくは C3 分解物が何らかの機序で血小板を活性化することを示している。その際、C3 より下流の補体タンパク質の活性化を必要としない。また、C5 は白血球膜上のホスファチジルセリンの露出に関わり、これがフィブリン形成に繋がることを示した。ホスファチジルセリンは組織因子の単球上での迅速な活性化とフィブリン形成に必須である。

血栓の分野では、抗リン脂質抗体の中でも、β2 glycoprotein Ⅰ のようなタンパク質コファクターに依存しない抗リン脂質抗体が、患者試料からクローン化され、その血栓促進機序がマウスを用いて報告されている。そのような抗リン脂質抗体が単球で組織因子を活性化するには、C3 と PDI が必要とされ、C5 は必要ではないと報告されている[129]。

DAMPs として知られるヒストンは血管内皮細胞に対して傷害性を示し、ヒストンの静注によりマウスは死亡する[130]。活性化プロテイン C はヒストン H3 と H4 を分解し細胞傷害性を低下させマウスの死亡率も低下する。ヒストンは Toll-like receptors (TLRs)を介して自然免疫系を活性化し、血小板では TLR2 と TLR4 を介して凝固促進作用を示す[131]。C5 欠損マウスと野生型マウスに致死量のヒストンを静注すると、C5 欠損マウスでは生存率が高く、血小板減少・消費性凝血異常・塞栓による肝障害・血小板-白血球凝集塊が軽減することから、C5 が C5a を介してヒストンによる細胞傷害を増悪することが明らかになっている[132]。

8－2. 補体因子の脳虚血再灌流障害への関わり（マウスモデル）

8－2－1. 齧歯類の脳虚血再灌流モデルの手法

マウスの脳虚血再灌流実験には中大脳動脈閉塞（middle cerebral arterial occlusion, MCAO）モデルが広く用いられている。中大脳動脈閉塞モデルは、頸動脈より末梢にある頭部血管内にナイロン糸を塞

栓子として挿入し左中大脳動脈を閉塞し、30 分から 90 分後に糸を引き抜くことで局所の虚血-再灌流を行う [133-135]。一方、動脈内へは糸を挿入しない三血管閉塞法も開発されている。三血管閉塞法では、まずマウスの両側の総頸動脈をクリップで一過性に閉塞し、次いで左中大脳動脈（middle cerebral artery, MCA）を焼灼して永久閉塞し、それらの連携操作によって前値 30%以下（ペナンブラ域へ）の局所脳虚血を誘導する。一定の時間（15 分から 30 分）後にクリップを外すことで局所虚血を終了させる。同虚血手技を終えてもなお、中大脳動脈は閉塞したままであるが、脳皮質の豊富な側副血行（collateral blood flow: 吻合動脈が成す“脳血管予備能：vascular reserve”）により、局所脳血流は速やかに前値まで回復する。本法の特徴は再現性よく梗塞巣が新皮質に限定して生じること、生きる上での恒常性維持を担う領域を含む「基底核」に脳梗塞を生じさせないため、致死的な脳虚血とならず（急性期死亡を避けることが可能）、また、血管内に糸を長時間にわたり挿入しないので、虚血時に凝固系が活性化し、それによる 2 次的な血栓、塞栓（虚血病態の制御不能な増悪）を生じさせるリスクを無視できる点にある [136,137]。

8－2－2. 自然 IgM 抗体によって惹起される虚血再灌流後の補体活性化と炎症

虚血後の再灌流で補体が活性化し炎症反応が起こり、これらが再灌流障害を惹起することが知られている。これまで主にマウスとラットを用いて脳虚血再灌流実験が行われ、補体の役割が検討されてきた [138]。

虚血後の再灌流の際に補体が活性化され細胞傷害を惹起するメカニズムが明らかになりつつあり、この細胞傷害を抑制する試みが精力的に研究されている（図 7）。虚血再灌流障害の際、細胞内タンパク質が細胞外に放出・露出される。これらのうち、ヒストンや HMGB1 は DAMPs として知られている。放出された細胞内タンパク質の一部は細胞表面に留まり、虚血再灌流障害に伴うネオエピトープとして自然 IgM 抗体に認識される [138,139]。これまでに non-muscle myosin H chain type II (NMHC-II)とアネキシン IV が虚血再灌流後にネオエピトープを提示する抗原として報告されている [140,141]。虚血再灌流の臓器に沈着した IgM 抗体は下記に述べるように補体のレクチン経路を活性化する [142,143]。

研究当初、IgM 抗体は補体古典経路を活性化すると考えられたが [139]、C1q 欠損マウスは野生型マウスと同様の虚血再灌流障害を示したので、古典経路は関わらないと考えられている [142,144]。一方、MBL 欠損マウスは虚血再灌流障害が弱いので、レクチン経路が IgM により活性化されることの重要性が示された [142-144]。FB 欠損マウスは症状の改善を示したので、レクチン経路だけでなく第二経路も虚血再灌流障害に働くことが判明した [145]。C6 欠損マウスは障害を示さないという報告と野生型マウスと同様の障害を示すという報告がある [145,146]。しかし、虚血

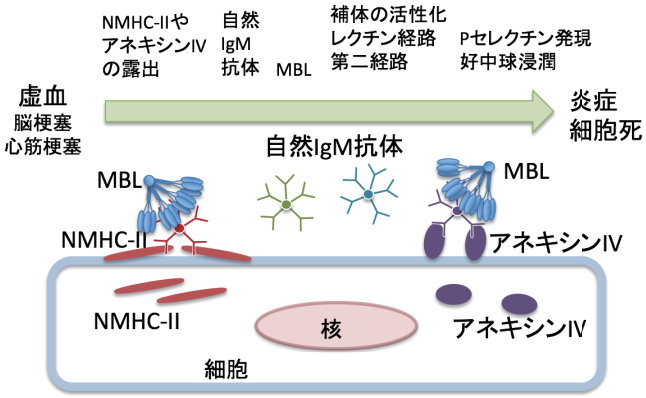


図 7　虚血再灌流後にみられる自然 IgM 抗体によって惹起される補体の活性化と炎症
虚血再灌流障害により細胞内タンパク質が放出・露出され、一部は細胞上に留まりネオエピトープとして自然 IgM 抗体に認識され、補体第二経路を通して補体の活性化が起こり細胞が障害される。障害を受ける細胞は血管内皮細胞だと考えられるが、肝の虚血再灌流では実質細胞であるとの報告がある [146]。
NMHC-II: non-muscle myosin H chain type II、MBL: マンノース結合レクチン（mannose-binding lectin）

再灌流した組織抽出物を自然 IgM 抗体で免疫沈降すると、MBL に加えて C1q も検出できたが、FB は検出できなかった[147]。これらのことより、虚血再灌流後の補体の活性化経路は対象にする臓器や虚血再灌流の方法により異なる可能性があると指摘されている[148]。

虚血再灌流障害によりネオエピトープが形成され、これに IgM 抗体が結合して組織の障害が惹起される機序は、この経路の阻害の重要性を示唆している。すなわち、この経路を阻害することは脳梗塞や心筋梗塞だけでなく移植臓器の保護にも繋がる可能性があり、たいへん重要な意義がある。モデル動物を用いた幾つかの研究が発表されている。

8－2－3. 補体関連因子による虚血再灌流障害の保護効果

sCR1、sCR1-sLe^x、CR2-Crry、C1-INH の脳虚血再灌流障害の保護効果を表５に示した[138]。sCR1 は

表５．補体関連タンパク質による脳虚血再灌流傷害の保護効果

動物種	実験モデル	動物の処置	知見	文献
マウス	transient-MCAO（閉塞時間45分）	WT+sCR1、WT+sCR1-sLe^x（block selectin）	1) sCR1は虚血直前に投与したところ24時間後の急性傷害を減弱した。2) sCR1-sLe^{x}は用量依存的に梗塞巣を顕著に減少させ、sCR1より神経学的症状を改善した。3) 虚血は白血球の遊走を３倍上昇し、これはsCR1-sLe^{x}で阻害されたが、sCR1では阻害されなかった。	149
ヒヒ	transient-MCAO（閉塞時間75分）	WT+sCR1	sCR1は血清の補体価を低下させ、sCR1の虚血部位への沈着が観察されたが、梗塞巣と神経症状を改善しなかった。	150
ヒヒ	cerebral artery clips（閉塞時間75分）	WT+sCR1-sLe^x（block selectin）	1) sCR1-sLe^{x}はCH50を有意に低下させたが神経学的症状に有意な影響はなかった。２）sCR1-sLe^{x}で処置したヒヒはコントロールに比べて大きい梗塞巣を示した。	151
ラット	transient-MCAO（閉塞時間120分）	WT+sCR1のSCR15-18	sCR1のSCR15-18の前処置により、再灌流後24時間の梗塞巣と神経学的症状が有意に減少した。	152
マウス	transient-MCAO（閉塞時間60分）	WT+CR2-Crry、C3-/-	C3-/-マウスと再灌流30分後のCR2-Crry投与マウスは再灌流24時間後の生存が改善し、梗塞巣とPセレクチンが減弱し、神経症状の改善が見られた。	153
マウス	transient-MCAO（閉塞時間120分）	WT+C1インヒビター	虚血開始５分後にC1インヒビターを投与した。48時間後、神経学的症状と虚血領域は減少を示した。	154
マウス	transient-MCAO（閉塞時間30分）	WT+C1インヒビター、C1q-/-	1) 再灌流前に投与したC1インヒビターは用量依存性に梗塞巣を減少した。2) C1インヒビター投与4日後の神経学的症状に改善を認め、神経細胞のアポトーシスと白血球の浸潤の低下を認めた。3) C1q-/-マウスは梗塞巣の減少を認めたが有意ではなかった。	155
マウス	transient-MCAO（閉塞時間30分）および permanent MCAO	WT+組換えC1インヒビター、WT+血漿由来C1インヒビター	1) 組換えC1インヒビターは血漿由来C1インヒビターよりMBLに強く結合し、効果的にレクチン経路を阻害した。2) 組換えC1インヒビターは一時的な虚血の場合、18時間以内に、永久閉塞では6時間以内に投与すると梗塞巣が減少した。	156

文献138 のTable 2をもとに作成した。MCAO: 中大脳動脈閉塞、sCR1: 可溶性CR1、sCR1-sLe^x: sialyl Lewis^x 糖鎖結合可溶性CR1、CR2-Crry: CR2-complement receptor 2-related gene/protein Y (Crry)融合タンパク質

補体制御因子 CR1 の可溶性細胞外領域、sCR1-sLe^x は接着因子セレクチンに結合する能力をもつ糖鎖 sialyl Lewis^x 構造を持つ sCR1、CR2-Crry は CR2 の C3 分解産物を認識する細胞外領域と Crry の C3 活性化制御能を持つ細胞外領域との融合タンパク質である [149-153]。

C1-INH には虚血再灌流障害の保護効果が認められている（表５）[154-156]。C1-INH は凝固系プロテアーゼである XIIa, XIa、カリクレイン-キニン系の血漿カリクレイン、補体系プロテアーゼである C1r, C1s, MASP1, MASP2、線溶系プロテアーゼであるプラスミン、tPA に阻害能を有するプロテアーゼインヒビターである [22]。C1-INH はプロテアーゼインヒビターとしての機能を失った分子も C1-INH の細胞保護効果を示すことから、インヒビター活性が重要ということではなく、N 末端領域に集中して結合している糖鎖のなかにセレクチンに結合能を有する sialyl Lewis^x 糖鎖があり、これが白血球の浸潤を抑制し虚血再灌流に保護的に働くのではないかと議論されている [157]。

心臓に関する研究も報告されている。マウスの心移植モデルでは、1 本鎖抗アネキシン IV 抗体(scFv) および scFv-Crry キメラタンパク質を用いると、移植片への IgM の結合および補体活性化が阻害され移植片の炎症が減少した。また、scFv-Crry 投与は感染免疫に影響しなかった [158]。non-muscle myosin H chain 抗体を用いて自然 IgM 抗体の作用を抑制するとブタ心筋梗塞モデルで梗塞巣が減少し心機能が保存された [159]。

8－2－4. レクチン経路と血栓

マウスモデルを用いて脳梗塞や心筋梗塞への補体レクチン経路の関与が報告され [160,161]、MBL の脳梗塞での重要性が報告されている [162]。MBL 欠損マウスは中大脳動脈閉塞による梗塞巣が減少し、野生型マウスへの MBL のマンノース認識ドメインに結合する Polyman2 という合成 MBL リガンドの投与も梗塞巣の形成を抑制した。また、野生型ラットへの MBL 抗体は三血管閉塞法で評価され、抗体投与ラットは梗塞巣を減少した。これらの結果から、MBL は脳虚血障害に重要な役割を果たしており、MBL の阻害は広い治療域をもつ治療標的になる可能性が示された。ヒト脳梗塞患者では、脳梗塞の発症と重症度、予後不良は血清 MBL 濃度の高値と常に関連を示している [163,164]。

MASP-1/3 欠損マウスの血栓傾向が調べられている [165]。野生型マウスと C2/FB 欠損マウスでは 10 分以内に閉塞性血栓ができる条件下の $FeCl_3$ -総頸動脈血栓モデルでは、MBL 欠損マウスや MASP-1/3 欠損マウスでは血管閉塞が抑制された。すなわち、MBL/MASP 複合体が血栓形成に重要な役割を果たしていることが示された。マウスの血栓モデルに、$FeCl_3$ 血管障害モデルが広く使われている。最近の本モデルの詳細な検討では、i) $FeCl_3$ は血管内皮下層を露出するのではなく、ii) $FeCl_3$ 処理内皮細胞表面に最初に粘着する細胞は赤血球であり、iii)鉄イオンは赤血球を壊し、iv) 壊れた赤血球が迅速に血小板をリクルートし、大きく融合する複合体になり内皮表面を覆う、といわれている [166]。すなわち、これまで重要視されてこなかった赤血球が本モデルでは血栓形成に関与すると報告されている。

MASP-2 欠損マウスでは、欠損血漿はマンナンやザイモザンで C4 の活性化を示さず、レクチン経路の欠損を示した [167]。心筋虚血再灌流モデルでは、MASP-2 欠損マウスは野生型マウスより梗塞巣の体積が小さく、心筋梗塞から保護されていた。しかし、MASP-2 の下流の C4 を欠損するマウスでは梗塞が小さくならなかった。このことは、レクチン経路依存性であるが C4 を経由しないこれまで知られていない経路が存在することを示唆した。レクチン経路を介した C4 非存在下での C3 活性化は *in vitro* で示され、この未知の経路には MASP-2, C2, MASP-1/3 が必要とされた。MASP-2 欠損は胃腸虚血再灌流モデルで保護的に働き、MASP-2 活性阻害抗体も

同様に保護的に働いた。このように、MASP-2 の阻害が虚血再灌流モデルで保護的効果を示したことは、再灌流障害やレクチン経路が介在する他の疾患で抗 MASP-2 抗体の治療の有効性を示唆している [167]。

塞栓子を用いる一過性中大脳動脈閉塞法および三血管閉塞法を用いてレクチン経路に関わる MASPs の脳虚血再灌流での機能を評価すると、MASP-2 欠損マウスでは野生型マウスに比べて有意に神経学的欠陥と梗塞巣体積が減少した。抗 MASP-2 抗体で前処理したマウスでも神経学的欠陥と梗塞巣体積が減少した [168]。しかし、MASP-1/-3 欠損マウス、C4 欠損マウス、CFB 欠損マウスでは一過性中大脳動脈閉塞法での神経学的障害は野生型マウスと変化がなかった。MASP-1/-3 欠損マウスではわずかながら梗塞巣体積が拡大した。他のマウスでは梗塞巣体積が減少した。MASP-2 欠損マウスでは MASP-1/-3 欠損マウスに比べて C3 の沈着が低減し、虚血脳組織では炎症性マイクログリア・マクロファージが減少した。このように、MASP-2 欠損マウスは保護的な表現型を示した。

レクチン経路を構成する因子の遺伝子多型・血清濃度・疾患リスクの関連、虚血性脳卒中・心筋梗塞との関連解析、他の血栓状態との関連に関して、ごく最近文献調査（systematic review）の結果が報告された [164]。それによると、レクチン経路の因子はヒト血栓状態に明らかな関連を示さなかった。最近の血栓形成の考え方は、thrombo-inflammation と表されるように、炎症の過程で細胞から放出される様々な物質が凝固系に作用して血栓形成を促すとされている。その際、MBL などのパターン認識受容体が結合する糖鎖構造をもつ物質も露出・放出されると考えられる。これらは急性期の反応であるため、単に急性相の反応を観察しているだけかもしれない。また、MASP-2 はトロンビン様活性を示すが [52]、その能力はトロンビンよりはるかに低い。

8－2－5. tPA と補体系

tPA による脳梗塞治療の問題点として、tPA 投与が脳浮腫や脳出血を悪化させることが挙げられる。現在、tPA の投与は脳梗塞の発症 4.5 時間までしか認められていない。この時間的な制限のため、限られた脳梗塞患者だけに tPA が投与されているのが現状である。脳動脈の閉塞は血液脳関門を破壊し、一連の有害な反応により、神経、グリア細胞、血管に障害を引き起こす。tPA の有害作用機序の解明がマウスを用いて精力的に行われている。tPA はプラスミノーゲンを活性化させることから、血液脳関門を破壊する機序として、プラスミン依存性とプラスミン非依存性が考えられている [169]。プラスミン依存性の 1 つの経路として、tPA による C3 の活性化を介した血液脳関門の透過性の亢進が報告されている [170]。tPA は脳虚血時にプラスミンを介して C3 の切断を促進すると報告された。すなわち、培養細胞モデルにおいて、虚血により C3a 受容体が血管内皮細胞に強く誘導され、C3a が内皮細胞の透過性を強く亢進した。マウス脳虚血モデルでは、tPA 投与は脳浮腫と脳出血を悪化したが、C3a 受容体の低分子アンタゴニストでこれらの悪化は観察されなくなった。tPA は虚血脳で補体カスケードを強く活性化するが、薬理的に補体系を阻害すると tPA による有害事象を低下する可能性が示された [170]。

8－3. 補体因子の血栓形成への関わり（ヒヒモデル）

腸管出血性大腸菌が分泌する志賀毒素は、STEC-HUS と急性腎障害を惹起し、感染した患者の中には感染中に補体活性化が見られることがある。そこで、ヒヒに志賀毒素を投与し補体活性化を調べる研究が報告された [171]。志賀毒素を投与すると、血小板減少症、溶血性貧血、糸球体の血栓性微小血管障害を示す急性腎障害という典型的な溶血性尿毒症症候群を示したが、sC5b-9 の増加を認めなかった。一方、D ダイマーや細胞傷害マーカー（HMGB1、ヒストン）は上昇し、凝血異常や細胞傷害は確認された。これ

より、志賀毒素で誘発される HUS には補体の活性化は関与しないと報告されている。

細菌感染で見られる敗血症は、凝固と補体系が活性化され、補体系の強い活性化とそれに続くアナフィラトキシン C3a, C5a と膜侵襲複合体が産生され、これらにより臓器不全と死に繋がる。そこで、ヒヒを用いた 2 つの凝固異常モデル（FXa/リン脂質投与モデルおよび大腸菌投与モデル）で、凝固プロテアーゼが補体系を活性化するかについての検討が行われた [172]。FXa/リン脂質投与および大腸菌投与は、ともに急激なトロンビンとプラスミンの生成を示した。大腸菌の投与は 2 時間後を最大として補体系を活性化したが、FXa/リン脂質の投与は補体系を活性化しなかった。これらの結果より、ヒヒでは、生体内で生成したトロンビンとプラスミンは補体系を直接活性化しないことを示唆した。

C5 転換酵素を阻害する macrocyclic peptide inhibitor RA101295 の敗血症での効果が、全血を用いた *in vitro* での測定およびヒヒを用いた大腸菌投与敗血症モデルを用いて検討された [173]。RA101295 は *in vitro* および *in vivo* で C5a と sC5b-9 の産生を阻害し補体の活性化を強く阻害した。RA101295 は大腸菌で誘導される oxidative burst および白血球の活性化を減弱した。この際、ホストによる大腸菌の貪食には影響を与えなかった。RA101295 は消費性の凝血異常を改善し内皮細胞の抗凝固と血管バリアー機能を保存した。RA101295 は敗血症で誘導される炎症性サイトカインの急上昇と全身の循環系発熱性反応を減弱させた。これは全身のリポ多糖と C5a の低下を反映していると考えられた。このように、本薬剤の投与は有意な臓器保護と顕著な死亡率の低下に繋がった。これは敗血症の菌が残存する状態での C5 の切断を阻害することは、炎症や消費性凝血異常を阻害し、それに続く組織不全と死亡を予防することを示した。

9．おわりに

補体系と凝固系のクロストークに関しては膨大な研究成果が報告されている。最近では、血栓抑制を標的にした薬剤を想定した研究成果も発表されており、この分野から画期的な薬剤を創成する意欲を感じる。その反面、黄色ブドウ球菌を全血に加えると補体の活性化により C5a が生成し、C5aR1 依存性に単球に組織因子 mRNA が誘導され、組織因子活性が発現することにより凝固が生じるという研究が報告されている [174]。こういった研究が国際血栓止血学会の学会誌に掲載されるということは、凝固系と補体系はまだまだ多くの未解決で臨床にインパクトのある事柄が残されていることを示している。今後もますますの研究の展開に期待したい。

［謝辞］

本稿の執筆にあたり、多くの有益なご助言をいただきました福島県立医科大学医学部・関根英治教授、国立循環器病センター分子病態部・柳本広二博士、執筆の機会を与えていただきました名古屋大学大学院医学系研究科・水野正司編集委員長に感謝申し上げます。

［利益相反］

本研究に関わる著者の COI 開示を以下に行う。1. 宮田敏行　講演料　アレクシオンファーマ合同会社。2. 宮田敏行、ADAMTS13 活性測定、ペプチド研究所、Peptide International、カイノス、3. 井上徳光　委託研究費　日本補体学会として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。

［文献］

1) Muhlfelder TW, Niemetz J, Kreutzer D, Beebe D, Ward PA, Rosenfeld SI. C5 chemotactic fragment induces leukocyte production of tissue factor activity: a link between complement and coagulation. *J Clin*

Invest. 63: 147-150 (1979)

2) Saadi S, Holzknecht RA, Patte CP, Stern DM, Platt JL. Complement-mediated regulation of tissue factor activity in endothelium. *J Exp Med.* 182: 1807-1814 (1995)

3) Polley MJ, Nachman RL. Human complement in thrombin-mediated platelet function: uptake of the C5b-9 complex. *J Exp Med.* 150: 633-645 (1979)

4) Wiedmer T, Esmon CT, Sims PJ. Complement proteins C5b-9 stimulate procoagulant activity through platelet prothrombinase. *Blood.* 68: 875-880 (1986)

5) Wiedmer T, Esmon CT, Sims PJ. On the mechanism by which complement proteins C5b-9 increase platelet prothrombinase activity. *J Biol Chem.* 261: 14587-14592 (1986)

6) Swystun LL, Liaw PC. The role of leukocytes in thrombosis. *Blood.* 128: 753-762 (2016)

7) Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 13: 34-45 (2013)

8) Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med.* 23: 279-287 (2017)

9) Kremer Hovinga JA, Coppo P, Lammle B, Moake JL, Miyata T, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primers.* 3: 17020 (2017)

10) Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 361: 1676-1687 (2009)

11) Jokiranta TS. HUS and atypical HUS. *Blood.* 129: 2847-2856 (2017)

12) Conway EM. Reincarnation of ancient links between coagulation and complement. *J Thromb Haemost.* 13 Suppl 1: S121-132 (2015)

13) Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. *Front Immunol.* 6: 257 (2015)

14) 田嶌優子，木下タロウ．凝固系と補体系反応．新・血栓止血血管学、凝固と炎症、編著、一瀬白帝、丸山征郎、家子正裕、金芳堂．142-148 (2015)

15) Mathern DR, Heeger PS. Molecules Great and Small: The Complement System. *Clin J Am Soc Nephrol.* 10: 1636-1650 (2015)

16) Foley JH, Conway EM. Cross Talk Pathways Between Coagulation and Inflammation. *Circ Res.* 118: 1392-1408 (2016)

17) Roumenina LT, Rayes J, Frimat M, Fremeaux-Bacchi V. Endothelial cells: source, barrier, and target of defensive mediators. *Immunol Rev.* 274: 307-329 (2016)

18) Pfeiler S, Stark K, Massberg S, Engelmann B. Propagation of thrombosis by neutrophils and extracellular nucleosome networks. *Haematologica.* 102: 206-213 (2017)

19) Keragala CB, Draxler DF, McQuilten ZK, Medcalf RL. Haemostasis and innate immunity - a complementary relationship: A review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways. *Br J Haematol.* 180: 782-798 (2018)

20) Kemper C, Pangburn MK, Fishelson Z. Complement nomenclature 2014. *Mol Immunol.* 61: 56-58 (2014)

21) 宮田敏行，樋口（江浦）由佳，杉本充彦．血栓形成機序の新概念と次世代型抗血栓療法．生化学．89: 1-10 (2017)

22) 宮田敏行, 内田裕美子, 武田壮一. 内因系凝固反応活性化機序と遺伝性血管性浮腫. 補体. 54: 4-22 (2017)
23) Kario K, Miyata T, Sakata T, Matsuo T, Kato H. Fluorogenic assay of activated factor VII. Plasma factor VIIa levels in relation to arterial cardiovascular diseases in Japanese. *Arterioscler Thromb.* 14: 265-274 (1994)
24) Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med.* 359: 938-949 (2008)
25) 鈴木淳. 細胞膜リン脂質のスクランブル機構. 生化学. 87: 422-427 (2015)
26) Nagata S, Suzuki J, Segawa K, Fujii T. Exposure of phosphatidylserine on the cell surface. *Cell Death Differ.* 23: 952-961 (2016)
27) Brass LF, Diamond SL, Stalker TJ. Platelets and hemostasis: a new perspective on an old subject. *Blood Adv.* 1: 5-9 (2016)
28) Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med.* 368: 2004-2013 (2013)
29) Crea F, Libby P. Acute Coronary Syndromes: The Way Forward From Mechanisms to Precision Treatment. *Circulation.* 136: 1155-1166 (2017)
30) Aird WC. Vascular bed-specific thrombosis. *J Thromb Haemost.* 5 Suppl 1: 283-291 (2007)
31) von Bruhl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, Khandoga A, Tirniceriu A, Coletti R, Kollnberger M, Byrne RA, Laitinen I, Walch A, Brill A, Pfeiler S, Manukyan D, Braun S, Lange P, Riegger J, Ware J, Eckart A, Haidari S, Rudelius M, Schulz C, Echtler K, Brinkmann V, Schwaiger M, Preissner KT, Wagner DD, Mackman N, Engelmann B, Massberg S. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med.* 209: 819-835 (2012)
32) Denis CV, Wagner DD. Platelet adhesion receptors and their ligands in mouse models of thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27: 728-739 (2007)
33) Falati S, Liu Q, Gross P, Merrill-Skoloff G, Chou J, Vandendries E, Celi A, Croce K, Furie BC, Furie B. Accumulation of tissue factor into developing thrombi in vivo is dependent upon microparticle P-selectin glycoprotein ligand 1 and platelet P-selectin. *J Exp Med.* 197: 1585-1598 (2003)
34) Stark K, Philippi V, Stockhausen S, Busse J, Antonelli A, Miller M, Schubert I, Hoseinpour P, Chandraratne S, von Bruhl ML, Gaertner F, Lorenz M, Agresti A, Coletti R, Antoine DJ, Heermann R, Jung K, Reese S, Laitinen I, Schwaiger M, Walch A, Sperandio M, Nawroth PP, Reinhardt C, Jackel S, Bianchi ME, Massberg S. Disulfide HMGB1 derived from platelets coordinates venous thrombosis in mice. *Blood.* 128: 2435-2449 (2016)
35) Valentijn KM, Sadler JE, Valentijn JA, Voorberg J, Eikenboom J. Functional architecture of Weibel-Palade bodies. *Blood.* 117: 5033-5043 (2011)
36) Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC, Wagner DD, Mayadas TN, Johnson RC, Hynes RO, Heath M, Lawson CA, Stern DM. Hypoxia-induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation. *J Clin Invest.* 97: 493-500 (1996)
37) Langer F, Ruf W. Synergies of

phosphatidylserine and protein disulfide isomerase in tissue factor activation. *Thromb Haemost.* 111: 590-597 (2014)

38) Stakos DA, Kambas K, Konstantinidis T, Mitroulis I, Apostolidou E, Arelaki S, Tsironidou V, Giatromanolaki A, Skendros P, Konstantinides S, Ritis K. Expression of functional tissue factor by neutrophil extracellular traps in culprit artery of acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 36: 1405-1414 (2015)

39) Laridan E, Denorme F, Desender L, Francois O, Andersson T, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K, De Meyer SF. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi. *Ann Neurol.* 82: 223-232 (2017)

40) Sadler JE. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 130: 1181-1188 (2017)

41) 厚生労働科研研究費補助金, 難治性疾患等政策研究事業, 「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループ, 松本雅則, 藤村吉博, 和田英夫, 小亀浩市, 宮川義隆, 上田恭典, 日笠聡, 森木隆典, 八木秀男, 宮田敏行, 村田満. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)診療ガイド 2017. 臨床血液. 58: 113-119 (2017)

42) Chen J, Chung DW. Inflammation, von Willebrand factor, and ADAMTS13. *Blood.* 132: 141-147 (2018)

43) Padilla A, Moake JL, Bernardo A, Ball C, Wang Y, Arya M, Nolasco L, Turner N, Berndt MC, Anvari B, Lopez JA, Dong JF. P-selectin anchors newly released ultralarge von Willebrand factor multimers to the endothelial cell surface. *Blood.* 103: 2150-2156 (2004)

44) Huang J, Roth R, Heuser JE, Sadler JE. Integrin alpha(v)beta(3) on human endothelial cells binds von Willebrand factor strings under fluid shear stress. *Blood.* 113: 1589-1597 (2009)

45) Ricklin D, Hajishengallis G, Yang K, Lambris JD. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol.* 11: 785-797 (2010)

46) 藤田禎三. 7.　補体活性化と制御、2-1.　補体活性化反応. 補体への招待、編集　大井洋之、木下タロウ、松下操、メジカルビュー社. 16-25 (2011)

47) Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part I - Molecular Mechanisms of Activation and Regulation. *Front Immunol.* 6: 262 (2015)

48) Liszewski MK, Java A, Schramm EC, Atkinson JP. Complement Dysregulation and Disease: Insights from Contemporary Genetics. *Annu Rev Pathol.* 12: 25-52 (2017)

49) 遠藤雄一. 補体レクチン経路と凝固系の協調作用　補体系研究の新展開. 日本血栓止血学会誌. 22: 164-170 (2011)

50) Hansen SW, Ohtani K, Roy N, Wakamiya N. The collectins CL-L1, CL-K1 and CL-P1, and their roles in complement and innate immunity. *Immunobiology.* 221: 1058-1067 (2016)

51) Takahashi M, Iwaki D, Endo Y, Fujita T. The study of MASPs knockout mice. *Binding Protein Kotb Abdelmohsen, IntechOpen.* Chapter 7: 165-180 (2012)

52) Dobo J, Schroeder V, Jenny L, Cervenak L, Zavodszky P, Gal P. Multiple roles of complement MASP-1 at the interface of innate immune response and coagulation. *Mol Immunol.* 61: 69-78 (2014)

53) Kozarcanin H, Lood C, Munthe-Fog L, Sandholm K, Hamad OA, Bengtsson AA, Skjoedt MO, Huber-Lang M, Garred P, Ekdahl KN, Nilsson B. The lectin complement pathway serine proteases (MASPs) represent a possible crossroad between the coagulation and complement systems in thromboinflammation. *J Thromb Haemost.* 14: 531-545 (2016)

54) Takahashi M, Ishida Y, Iwaki D, Kanno K, Suzuki T, Endo Y, Homma Y, Fujita T. Essential role of mannose-binding lectin-associated serine protease-1 in activation of the complement factor D. *J Exp Med.* 207: 29-37 (2010)

55) 林学, 石田由美, 町田豪, 尾形裕介, 大森智子, 高住美香, 遠藤雄一, 関亦正幸, 伊川正人, 大平弘正, 藤田禎三, 関根英治. 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. 補体. 55: 52-53 (2018)

56) Monk PN, Scola AM, Madala P, Fairlie DP. Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. *Br J Pharmacol.* 152: 429-448 (2007)

57) Klos A, Wende E, Wareham KJ, Monk PN. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. [corrected]. LXXXVII. Complement peptide C5a, C4a, and C3a receptors. *Pharmacol Rev.* 65: 500-543 (2013)

58) Ferluga J, Kouser L, Murugaiah V, Sim RB, Kishore U. Potential influences of complement factor H in autoimmune inflammatory and thrombotic disorders. *Mol Immunol.* 84: 84-106 (2017)

59) Jozsi M. Factor H Family Proteins in Complement Evasion of Microorganisms. *Front Immunol.* 8: 571 (2017)

60) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, Del-Favero J, Plaisance S, Claes B, Lambrechts D, Zoja C, Remuzzi G, Conway EM. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 361: 345-357 (2009)

61) Feng S, Liang X, Kroll MH, Chung DW, Afshar-Kharghan V. von Willebrand factor is a cofactor in complement regulation. *Blood.* 125: 1034-1037 (2015)

62) Weismann D, Hartvigsen K, Lauer N, Bennett KL, Scholl HP, Charbel Issa P, Cano M, Brandstatter H, Tsimikas S, Skerka C, Superti-Furga G, Handa JT, Zipfel PF, Witztum JL, Binder CJ. Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress. *Nature.* 478: 76-81 (2011)

63) Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science.* 308: 385-389 (2005)

64) Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Noureddine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science.* 308: 419-421 (2005)

65) Edwards AO, Ritter R, 3rd, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science.* 308: 421-424 (2005)

66) http://exac.broadinstitute.org/variant/1-196659237-C-T.

67) Higasa K, Miyake N, Yoshimura J, Okamura K, Niihori T, Saitsu H, Doi K, Shimizu M, Nakabayashi K, Aoki Y, Tsurusaki Y, Morishita S, Kawaguchi T, Migita O, Nakayama K, Nakashima M, Mitsui J, Narahara M, Hayashi K, Funayama R, Yamaguchi D, Ishiura H, Ko WY, Hata K, Nagashima T, Yamada R, Matsubara Y, Umezawa A, Tsuji S, Matsumoto N, Matsuda F. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *J Hum Genet.* 61: 547-553 (2016)

68) Calippe B, Augustin S, Beguier F, Charles-Messance H, Poupel L, Conart JB, Hu SJ, Lavalette S, Fauvet A, Rayes J, Levy O, Raoul W, Fitting C, Denefle T, Pickering MC, Harris C, Jorieux S, Sullivan PM, Sahel JA, Karoyan P, Sapieha P, Guillonneau X, Gautier EL, Sennlaub F. Complement Factor H Inhibits CD47-Mediated Resolution of Inflammation. *Immunity.* 46: 261-272 (2017)

69) Rayes J, Roumenina LT, Dimitrov JD, Repesse Y, Ing M, Christophe O, Jokiranta TS, Halbwachs-Mecarelli L, Borel-Derlon A, Kaveri SV, Fremeaux-Bacchi V, Lacroix-Desmazes S. The interaction between factor H and VWF increases factor H cofactor activity and regulates VWF prothrombotic status. *Blood.* 123: 121-125 (2014)

70) Nolasco L, Nolasco J, Feng S, Afshar-Kharghan V, Moake J. Human complement factor H is a reductase for large soluble von Willebrand factor multimers--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 33: 2524-2528 (2013)

71) Barnum SR. C4a: An Anaphylatoxin in Name Only. *J Innate Immun.* 7: 333-339 (2015)

72) Robertson N, Rappas M, Dore AS, Brown J, Bottegoni G, Koglin M, Cansfield J, Jazayeri A, Cooke RM, Marshall FH. Structure of the complement C5a receptor bound to the extra-helical antagonist NDT9513727. *Nature.* 553: 111-114 (2018)

73) Foreman KE, Vaporciyan AA, Bonish BK, Jones ML, Johnson KJ, Glovsky MM, Eddy SM, Ward PA. C5a-induced expression of P-selectin in endothelial cells. *J Clin Invest.* 94: 1147-1155 (1994)

74) Redecha P, Franzke CW, Ruf W, Mackman N, Girardi G. Neutrophil activation by the tissue factor/Factor VIIa/PAR2 axis mediates fetal death in a mouse model of antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest.* 118: 3453-3461 (2008)

75) Kambas K, Markiewski MM, Pneumatikos IA, Rafail SS, Theodorou V, Konstantonis D, Kourtzelis I, Doumas MN, Magotti P, Deangelis RA, Lambris JD, Ritis KD. C5a and TNF-alpha up-regulate the expression of tissue factor in intra-alveolar neutrophils of patients with the acute respiratory distress syndrome. *J Immunol.* 180: 7368-7375 (2008)

76) Kourtzelis I, Markiewski MM, Doumas M, Rafail S, Kambas K, Mitroulis I, Panagoutsos S, Passadakis P, Vargemezis V, Magotti P, Qu H, Mollnes TE, Ritis K, Lambris JD. Complement anaphylatoxin C5a contributes to hemodialysis-associated thrombosis. *Blood.* 116: 631-639 (2010)

77) Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, Rittirsch D, Neff TA, McGuire SR, Lambris

JD, Warner RL, Flierl MA, Hoesel LM, Gebhard F, Younger JG, Drouin SM, Wetsel RA, Ward PA. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med.* 12: 682-687 (2006)

78) Krisinger MJ, Goebeler V, Lu Z, Meixner SC, Myles T, Pryzdial EL, Conway EM. Thrombin generates previously unidentified C5 products that support the terminal complement activation pathway. *Blood.* 120: 1717-1725 (2012)

79) Leung LLK, Morser J. Carboxypeptidase B2 and carboxypeptidase N in the crosstalk between coagulation, thrombosis, inflammation, and innate immunity. *J Thromb Haemost.* (2018)

80) Foley JH, Kim PY, Hendriks D, Morser J, Gils A, Mutch NJ, Subcommittee on Fibrinolysis. Evaluation of and recommendation for the nomenclature of the CPB2 gene product (also known as TAFI and proCPU): communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 13: 2277-2278 (2015)

81) Esmon CT. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Semin Thromb Hemost.* 32 Suppl 1: 49-60 (2006)

82) Morser J, Shao Z, Nishimura T, Zhou Q, Zhao L, Higgins J, Leung LLK. Carboxypeptidase B2 and N play different roles in regulation of activated complements C3a and C5a in mice. *J Thromb Haemost.* 16: 991-1002 (2018)

83) Mueller-Ortiz SL, Wang D, Morales JE, Li L, Chang JY, Wetsel RA. Targeted disruption of the gene encoding the murine small subunit of carboxypeptidase N (CPN1) causes susceptibility to C5a anaphylatoxin-mediated shock. *J Immunol.* 182: 6533-6539 (2009)

84) Asai S, Sato T, Tada T, Miyamoto T, Kimbara N, Motoyama N, Okada H, Okada N. Absence of procarboxypeptidase R induces complement-mediated lethal inflammation in lipopolysaccharide-primed mice. *J Immunol.* 173: 4669-4674 (2004)

85) Plug T, Meijers JC. Structure-function relationships in thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J Thromb Haemost.* 14: 633-644 (2016)

86) Song JJ, Hwang I, Cho KH, Garcia MA, Kim AJ, Wang TH, Lindstrom TM, Lee AT, Nishimura T, Zhao L, Morser J, Nesheim M, Goodman SB, Lee DM, Bridges SL, Jr., Consortium for the Longitudinal Evaluation of African Americans with Early Rheumatoid Arthritis (CLEAR) Registry, Gregersen PK, Leung LL, Robinson WH. Plasma carboxypeptidase B downregulates inflammatory responses in autoimmune arthritis. *J Clin Invest.* 121: 3517-3527 (2011)

87) Wang H, Ricklin D, Lambris JD. Complement-activation fragment C4a mediates effector functions by binding as untethered agonist to protease-activated receptors 1 and 4. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114: 10948-10953 (2017)

88) Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature.* 407: 258-264 (2000)

89) Kataoka H, Hamilton JR, McKemy DD, Camerer E, Zheng YW, Cheng A, Griffin C, Coughlin SR. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate thrombin signaling in endothelial cells. *Blood.* 102: 3224-3231 (2003)

90) Nording H, Langer HF. Complement links

platelets to innate immunity. *Semin Immunol.* 37: 43-52 (2018)

91) Han X, Nieman MT. PAR4 (Protease-Activated Receptor 4): PARticularly Important 4 Antiplatelet Therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 38: 287-289 (2018)

92) Wong PC, Seiffert D, Bird JE, Watson CA, Bostwick JS, Giancarli M, Allegretto N, Hua J, Harden D, Guay J, Callejo M, Miller MM, Lawrence RM, Banville J, Guy J, Maxwell BD, Priestley ES, Marinier A, Wexler RR, Bouvier M, Gordon DA, Schumacher WA, Yang J. Blockade of protease-activated receptor-4 (PAR4) provides robust antithrombotic activity with low bleeding. *Sci Transl Med.* 9: (2017)

93) Wilson SJ, Ismat FA, Wang Z, Cerra M, Narayan H, Raftis J, Gray TJ, Connell S, Garonzik S, Ma X, Yang J, Newby DE. PAR4 (Protease-Activated Receptor 4) Antagonism With BMS-986120 Inhibits Human Ex Vivo Thrombus Formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 38: 448-456 (2018)

94) Morgan BP. Complement membrane attack on nucleated cells: resistance, recovery and non-lethal effects. *Biochem J.* 264: 1-14 (1989)

95) Morgan BP. The membrane attack complex as an inflammatory trigger. *Immunobiology.* 221: 747-751 (2016)

96) Morgan BP, Boyd C, Bubeck D. Molecular cell biology of complement membrane attack. *Semin Cell Dev Biol.* 72: 124-132 (2017)

97) Morgan BP, Dankert JR, Esser AF. Recovery of human neutrophils from complement attack: removal of the membrane attack complex by endocytosis and exocytosis. *J Immunol.* 138: 246-253 (1987)

98) Meri S, Morgan BP, Davies A, Daniels RH, Olavesen MG, Waldmann H, Lachmann PJ. Human protectin (CD59), an 18,000-20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers. *Immunology.* 71: 1-9 (1990)

99) Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T, Takami T, Ojima A, Ono H, Tanaka H, Kondo N, Orii T, Okada N, et al. Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med.* 323: 1184-1189 (1990)

100) Hochsmann B, Dohna-Schwake C, Kyrieleis HA, Pannicke U, Schrezenmeier H. Targeted therapy with eculizumab for inherited CD59 deficiency. *N Engl J Med.* 370: 90-92 (2014)

101) Ozen A, Comrie WA, Ardy RC, Dominguez Conde C, Dalgic B, Beser OF, Morawski AR, Karakoc-Aydiner E, Tutar E, Baris S, Ozcay F, Serwas NK, Zhang Y, Matthews HF, Pittaluga S, Folio LR, Unlusoy Aksu A, McElwee JJ, Krolo A, Kiykim A, Baris Z, Gulsan M, Ogulur I, Snapper SB, Houwen RHJ, Leavis HL, Ertem D, Kain R, Sari S, Erkan T, Su HC, Boztug K, Lenardo MJ. CD55 Deficiency, Early-Onset Protein-Losing Enteropathy, and Thrombosis. *N Engl J Med.* 377: 52-61 (2017)

102) Hattori R, Hamilton KK, McEver RP, Sims PJ. Complement proteins C5b-9 induce secretion of high molecular weight multimers of endothelial von Willebrand factor and translocation of granule membrane protein GMP-140 to the cell surface. *J Biol Chem.* 264: 9053-9060 (1989)

103) Hamilton KK, Hattori R, Esmon CT, Sims PJ. Complement proteins C5b-9 induce vesiculation of the endothelial plasma membrane and expose catalytic surface for assembly of the prothrombinase enzyme complex. *J Biol Chem.* 265: 3809-3814 (1990)

104) Sims PJ, Wiedmer T. Repolarization of the membrane potential of blood platelets after complement damage: evidence for a Ca++ -dependent exocytotic elimination of C5b-9 pores. *Blood.* 68: 556-561 (1986)

105) Wat JM, Foley JH, Krisinger MJ, Ocariza LM, Lei V, Wasney GA, Lameignere E, Strynadka NC, Smith SA, Morrissey JH, Conway EM. Polyphosphate suppresses complement via the terminal pathway. *Blood.* 123: 768-776 (2014)

106) George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med.* 371: 654-666 (2014)

107) Yoshida Y, Miyata T, Matsumoto M, Shirotani-Ikejima H, Uchida Y, Ohyama Y, Kokubo T, Fujimura Y. A novel quantitative hemolytic assay coupled with restriction fragment length polymorphisms analysis enabled early diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome and identified unique predisposing mutations in Japan. *PLoS One.* 10: e0124655 (2015)

108) Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H, Kagami S, Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol.* 20: 536-543 (2016)

109) Fakhouri F, Zuber J, Fremeaux-Bacchi V, Loirat C. Haemolytic uraemic syndrome. *Lancet.* 390: 681-696 (2017)

110) Goodship TH, Cook HT, Fakhouri F, Fervenza FC, Fremeaux-Bacchi V, Kavanagh D, Nester CM, Noris M, Pickering MC, Rodriguez de Cordoba S, Roumenina LT, Sethi S, Smith RJ, Conference Participants. Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int.* 91: 539-551 (2017)

111) Kato H, Nangaku M, Okada H, Kagami S. Controversies of the classification of TMA and the terminology of aHUS. *Clin Exp Nephrol.* 22: 979-980 (2018)

112) Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, Bienaime F, Dragon-Durey MA, Ngo S, Moulin B, Servais A, Provot F, Rostaing L, Burtey S, Niaudet P, Deschenes G, Lebranchu Y, Zuber J, Loirat C. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome: a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol.* 8: 554-562 (2013)

113) Fujisawa M, Kato H, Yoshida Y, Usui T, Takata M, Fujimoto M, Wada H, Uchida Y, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T, Nangaku M. Clinical characteristics and genetic backgrounds of Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin Exp Nephrol.* (2018)

114) Ricklin D, Reis ES, Lambris JD. Complement in disease: a defence system turning offensive.

Nat Rev Nephrol. 12: 383-401 (2016)

115) Dane MJ, van den Berg BM, Lee DH, Boels MG, Tiemeier GL, Avramut MC, van Zonneveld AJ, van der Vlag J, Vink H, Rabelink TJ. A microscopic view on the renal endothelial glycocalyx. *Am J Physiol Renal Physiol.* 308: F956-966 (2015)

116) Rabelink TJ, de Zeeuw D. The glycocalyx--linking albuminuria with renal and cardiovascular disease. *Nat Rev Nephrol.* 11: 667-676 (2015)

117) Sartain SE, Turner NA, Moake JL. TNF Regulates Essential Alternative Complement Pathway Components and Impairs Activation of Protein C in Human Glomerular Endothelial Cells. *J Immunol.* 196: 832-845 (2016)

118) Sartain SE, Turner NA, Moake JL. Brain microvascular endothelial cells exhibit lower activation of the alternative complement pathway than glomerular microvascular endothelial cells. *J Biol Chem.* (2018)

119) Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi T, Suzumiya J, Kaketani K. Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. *Thromb Res.* 38: 469-479 (1985)

120) Feys HB, Roodt J, Vandeputte N, Pareyn I, Lamprecht S, van Rensburg WJ, Anderson PJ, Budde U, Louw VJ, Badenhorst PN, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura directly linked with ADAMTS13 inhibition in the baboon (Papio ursinus). *Blood.* 116: 2005-2010 (2010)

121) Tsai HM, Chandler WL, Sarode R, Hoffman R, Jelacic S, Habeeb RL, Watkins SL, Wong CS, Williams GD, Tarr PI. von Willebrand factor and von Willebrand factor-cleaving metalloprotease activity in Escherichia coli O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Res.* 49: 653-659 (2001)

122) Hosler GA, Cusumano AM, Hutchins GM. Thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome are distinct pathologic entities. A review of 56 autopsy cases. *Arch Pathol Lab Med.* 127: 834-839 (2003)

123) Magro CM, Momtahen S, Mulvey JJ, Yassin AH, Kaplan RB, Laurence JC. Role of the skin biopsy in the diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome. *Am J Dermatopathol.* 37: 349-356; quiz 357-349 (2015)

124) Ueda Y, Mohammed I, Song D, Gullipalli D, Zhou L, Sato S, Wang Y, Gupta S, Cheng Z, Wang H, Bao J, Mao Y, Brass L, Zheng XL, Miwa T, Palmer M, Dunaief J, Song WC. Murine systemic thrombophilia and hemolytic uremic syndrome from a factor H point mutation. *Blood.* 129: 1184-1196 (2017)

125) Fuchs TA, Kremer Hovinga JA, Schatzberg D, Wagner DD, Lammle B. Circulating DNA and myeloperoxidase indicate disease activity in patients with thrombotic microangiopathies. *Blood.* 120: 1157-1164 (2012)

126) Gushiken FC, Han H, Li J, Rumbaut RE, Afshar-Kharghan V. Abnormal platelet function in C3-deficient mice. *J Thromb Haemost.* 7: 865-870 (2009)

127) Subramaniam S, Jurk K, Hobohm L, Jackel S, Saffarzadeh M, Schwierczek K, Wenzel P, Langer F, Reinhardt C, Ruf W. Distinct contributions of complement factors to platelet activation and fibrin formation in

venous thrombus development. *Blood.* 129: 2291-2302 (2017)

128) Chen VM, Hogg PJ. Encryption and decryption of tissue factor. *J Thromb Haemost.* 11 Suppl 1: 277-284 (2013)

129) Muller-Calleja N, Ritter S, Hollerbach A, Falter T, Lackner KJ, Ruf W. Complement C5 but not C3 is expendable for tissue factor activation by cofactor-independent antiphospholipid antibodies. *Blood Adv.* 2: 979-986 (2018)

130) Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, Taylor FB, Esmon NL, Lupu F, Esmon CT. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med.* 15: 1318-1321 (2009)

131) Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, Dale GL, Friese P, Esmon NL, Esmon CT. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood.* 118: 1952-1961 (2011)

132) Mizuno T, Yoshioka K, Mizuno M, Shimizu M, Nagano F, Okuda T, Tsuboi N, Maruyama S, Nagamatsu T, Imai M. Complement component 5 promotes lethal thrombosis. *Sci Rep.* 7: 42714 (2017)

133) Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema: a new experimental studies of ischemic brain edema: 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke.* 8: 1-8 (1986)

134) Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 20: 84-91 (1989)

135) Denorme F, De Meyer SF. The VWF-GPIb axis in ischaemic stroke: lessons from animal models. *Thromb Haemost.* 116: 597-604 (2016)

136) Yang D, Nakajo Y, Iihara K, Kataoka H, Nakagawara J, Zhao Q, Yanamoto H. An integrated stroke model with a consistent penumbra for the assessment of neuroprotective interventions. *Eur Neurol.* 71: 4-18 (2014)

137) https://figshare.com/articles/Supplementary_Material_for_An_Integrated_Stroke_Model_with_a_Consistent_Penumbra_for_the_Assessment_of_Neuroprotective_Interventions/5125759.

138) Alawieh A, Elvington A, Tomlinson S. Complement in the Homeostatic and Ischemic Brain. *Front Immunol.* 6: 417 (2015)

139) Zhang M, Austen WG, Jr., Chiu I, Alicot EM, Hung R, Ma M, Verna N, Xu M, Hechtman HB, Moore FD, Jr., Carroll MC. Identification of a specific self-reactive IgM antibody that initiates intestinal ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101: 3886-3891 (2004)

140) Zhang M, Alicot EM, Chiu I, Li J, Verna N, Vorup-Jensen T, Kessler B, Shimaoka M, Chan R, Friend D, Mahmood U, Weissleder R, Moore FD, Carroll MC. Identification of the target self-antigens in reperfusion injury. *J Exp Med.* 203: 141-152 (2006)

141) Kulik L, Fleming SD, Moratz C, Reuter JW, Novikov A, Chen K, Andrews KA, Markaryan A, Quigg RJ, Silverman GJ, Tsokos GC, Holers VM. Pathogenic natural antibodies recognizing annexin IV are required to

develop intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Immunol.* 182: 5363-5373 (2009)

142) Zhang M, Takahashi K, Alicot EM, Vorup-Jensen T, Kessler B, Thiel S, Jensenius JC, Ezekowitz RA, Moore FD, Carroll MC. Activation of the lectin pathway by natural IgM in a model of ischemia/reperfusion injury. *J Immunol.* 177: 4727-4734 (2006)

143) McMullen ME, Hart ML, Walsh MC, Buras J, Takahashi K, Stahl GL. Mannose-binding lectin binds IgM to activate the lectin complement pathway in vitro and in vivo. *Immunobiology.* 211: 759-766 (2006)

144) Hart ML, Ceonzo KA, Shaffer LA, Takahashi K, Rother RP, Reenstra WR, Buras JA, Stahl GL. Gastrointestinal ischemia-reperfusion injury is lectin complement pathway dependent without involving C1q. *J Immunol.* 174: 6373-6380 (2005)

145) Elvington A, Atkinson C, Kulik L, Zhu H, Yu J, Kindy MS, Holers VM, Tomlinson S. Pathogenic natural antibodies propagate cerebral injury following ischemic stroke in mice. *J Immunol.* 188: 1460-1468 (2012)

146) Zhou W, Farrar CA, Abe K, Pratt JR, Marsh JE, Wang Y, Stahl GL, Sacks SH. Predominant role for C5b-9 in renal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest.* 105: 1363-1371 (2000)

147) Lee H, Green DJ, Lai L, Hou YJ, Jensenius JC, Liu D, Cheong C, Park CG, Zhang M. Early complement factors in the local tissue immunocomplex generated during intestinal ischemia/reperfusion injury. *Mol Immunol.* 47: 972-981 (2010)

148) Cernoch M, Viklicky O. Complement in Kidney Transplantation. *Front Med (Lausanne).* 4: 66 (2017)

149) Huang J, Kim LJ, Mealey R, Marsh HC, Jr., Zhang Y, Tenner AJ, Connolly ES, Jr., Pinsky DJ. Neuronal protection in stroke by an sLex-glycosylated complement inhibitory protein. *Science.* 285: 595-599 (1999)

150) Mocco J, Mack WJ, Ducruet AF, King RG, Sughrue ME, Coon AL, Sosunov SA, Sciacca RR, Zhang Y, Marsh HC, Jr., Pinsky DJ, Connolly ES, Jr. Preclinical evaluation of the neuroprotective effect of soluble complement receptor type 1 in a nonhuman primate model of reperfused stroke. *J Neurosurg.* 105: 595-601 (2006)

151) Ducruet AF, Mocco J, Mack WJ, Coon AL, Marsh HC, Pinsky DJ, Hickman ZL, Kim GH, Connolly ES, Jr. Pre-clinical evaluation of an sLe x-glycosylated complement inhibitory protein in a non-human primate model of reperfused stroke. *J Med Primatol.* 36: 375-380 (2007)

152) Li S, Xian J, He L, Luo X, Tan B, Yang Y, Liu G, Wang Z. The protective effect of SCR(15-18) on cerebral ischemia-reperfusion injury. *Neurol Res.* 33: 866-874 (2011)

153) Atkinson C, Zhu H, Qiao F, Varela JC, Yu J, Song H, Kindy MS, Tomlinson S. Complement-dependent P-selectin expression and injury following ischemic stroke. *J Immunol.* 177: 7266-7274 (2006)

154) De Simoni MG, Storini C, Barba M, Catapano L, Arabia AM, Rossi E, Bergamaschini L. Neuroprotection by complement (C1) inhibitor in mouse transient brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 23: 232-239 (2003)

155) De Simoni MG, Rossi E, Storini C, Pizzimenti S, Echart C, Bergamaschini L. The powerful

neuroprotective action of C1-inhibitor on brain ischemia-reperfusion injury does not require C1q. *Am J Pathol.* 164: 1857-1863 (2004)

156) Gesuete R, Storini C, Fantin A, Stravalaci M, Zanier ER, Orsini F, Vietsch H, Mannesse ML, Ziere B, Gobbi M, De Simoni MG. Recombinant C1 inhibitor in brain ischemic injury. *Ann Neurol.* 66: 332-342 (2009)

157) Lu F, Chauhan AK, Fernandes SM, Walsh MT, Wagner DD, Davis AE, 3rd. The effect of C1 inhibitor on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 295: G1042-1049 (2008)

158) Atkinson C, Qiao F, Yang X, Zhu P, Reaves N, Kulik L, Goddard M, Holers VM, Tomlinson S. Targeting pathogenic postischemic self-recognition by natural IgM to protect against posttransplantation cardiac reperfusion injury. *Circulation.* 131: 1171-1180 (2015)

159) Sihag S, Haas MS, Kim KM, Guerrero JL, Beaudoin J, Alicot EM, Schuerpf F, Gottschall JD, Puro RJ, Madsen JC, Sachs DH, Newman W, Carroll MC, Allan JS. Natural IgM Blockade Limits Infarct Expansion and Left Ventricular Dysfunction in a Swine Myocardial Infarct Model. *Circ Cardiovasc Interv.* 9: e002547 (2016)

160) Gorsuch WB, Chrysanthou E, Schwaeble WJ, Stahl GL. The complement system in ischemia-reperfusion injuries. *Immunobiology.* 217: 1026-1033 (2012)

161) Panagiotou A, Trendelenburg M, Osthoff M. The Lectin Pathway of Complement in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury-Review of Its Significance and the Potential Impact of Therapeutic Interference by C1 Esterase Inhibitor. *Front Immunol.* 9: 1151 (2018)

162) Orsini F, Villa P, Parrella S, Zangari R, Zanier ER, Gesuete R, Stravalaci M, Fumagalli S, Ottria R, Reina JJ, Paladini A, Micotti E, Ribeiro-Viana R, Rojo J, Pavlov VI, Stahl GL, Bernardi A, Gobbi M, De Simoni MG. Targeting mannose-binding lectin confers long-lasting protection with a surprisingly wide therapeutic window in cerebral ischemia. *Circulation.* 126: 1484-1494 (2012)

163) Osthoff M, Katan M, Fluri F, Schuetz P, Bingisser R, Kappos L, Steck AJ, Engelter ST, Mueller B, Christ-Crain M, Trendelenburg M. Mannose-binding lectin deficiency is associated with smaller infarction size and favorable outcome in ischemic stroke patients. *PLoS One.* 6: e21338 (2011)

164) Larsen JB, Hvas CL, Hvas AM. The Lectin Pathway in Thrombotic Conditions-A Systematic Review. *Thromb Haemost.* 118: 1141-1166 (2018)

165) La Bonte LR, Pavlov VI, Tan YS, Takahashi K, Takahashi M, Banda NK, Zou C, Fujita T, Stahl GL. Mannose-binding lectin-associated serine protease-1 is a significant contributor to coagulation in a murine model of occlusive thrombosis. *J Immunol.* 188: 885-891 (2012)

166) Barr JD, Chauhan AK, Schaeffer GV, Hansen JK, Motto DG. Red blood cells mediate the onset of thrombosis in the ferric chloride murine model. *Blood.* 121: 3733-3741 (2013)

167) Schwaeble WJ, Lynch NJ, Clark JE, Marber M, Samani NJ, Ali YM, Dudler T, Parent B, Lhotta K, Wallis R, Farrar CA, Sacks S, Lee H, Zhang M, Iwaki D, Takahashi M, Fujita T, Tedford CE, Stover CM. Targeting of

mannan-binding lectin-associated serine protease-2 confers protection from myocardial and gastrointestinal ischemia/reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108: 7523-7528 (2011)

168) Orsini F, Chrysanthou E, Dudler T, Cummings WJ, Takahashi M, Fujita T, Demopulos G, De Simoni MG, Schwaeble W. Mannan binding lectin-associated serine protease-2 (MASP-2) critically contributes to post-ischemic brain injury independent of MASP-1. *J Neuroinflammation.* 13: 213 (2016)

169) Medcalf RL. Fibrinolysis: from blood to the brain. *J Thromb Haemost.* 15: 2089-2098 (2017)

170) Zhao XJ, Larkin TM, Lauver MA, Ahmad S, Ducruet AF. Tissue plasminogen activator mediates deleterious complement cascade activation in stroke. *PLoS One.* 12: e0180822 (2017)

171) Lee BC, Mayer CL, Leibowitz CS, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S. Quiescent complement in nonhuman primates during E coli Shiga toxin-induced hemolytic uremic syndrome and thrombotic microangiopathy. *Blood.* 122: 803-806 (2013)

172) Keshari RS, Silasi R, Lupu C, Taylor FB, Jr., Lupu F. In vivo-generated thrombin and plasmin do not activate the complement system in baboons. *Blood.* 130: 2678-2681 (2017)

173) Keshari RS, Silasi R, Popescu NI, Patel MM, Chaaban H, Lupu C, Coggeshall KM, Mollnes TE, DeMarco SJ, Lupu F. Inhibition of complement C5 protects against organ failure and reduces mortality in a baboon model of Escherichia coli sepsis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2017)

174) Skjeflo EW, Christiansen D, Fure H, Ludviksen JK, Woodruff TM, Espevik T, Nielsen EW, Brekke OL, Mollnes TE. Staphylococcus aureus-induced complement activation promotes tissue factor-mediated coagulation. *J Thromb Haemost.* (2018)

175) 香美祥二, 岡田浩一, 南学正臣, 要伸也, 丸山彰一, 安田隆, 加藤秀樹, 吉田瑶子, 服部元史, 芦田明, 幡谷浩史, 日高義彦, 澤井俊宏, 伊藤秀一, 藤丸季可, 藤村吉博, 宮川義隆. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診療ガイド 2015. *https://wwwjsnorjp/guideline/ahus-2016php.* (2016)

176) Furie B, Flaumenhaft R. Thiol isomerases in thrombus formation. *Circ Res.* 114: 1162-1173 (2014)

177) Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, Manukyan D, Pfeiler S, Goosmann C, Brinkmann V, Lorenz M, Bidzhekov K, Khandagale AB, Konrad I, Kennerknecht E, Reges K, Holdenrieder S, Braun S, Reinhardt C, Spannagl M, Preissner KT, Engelmann B. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med.* 16: 887-896 (2010)

受賞寄稿

右心室疾患における補体系の役割の解明

伊藤　章吾
慶應義塾大学医学部循環器内科

The analysis for relationship between right ventricular originated diseases and complement system

Shogo Ito
Department of Cardiology, Keio University School of Medicine

［はじめに］

右室機能障害を呈する疾患は右心不全、肺高血圧症、致死性心室性不整脈などが存在し、右室機能障害自体は決して珍しくない。一方、左心不全に対しては、これまでに広く病態解明研究が行われ、新たな治療ターゲットを生み出そうと努力が重ねられている。右心室は単に肺へ血液を送ることが主要な役割と考えられているが、後述するように一度機能不全に陥ると予後が悪いことが明らかとなってきた。しかし、右室疾患は共通して基礎研究からのエビデンスが乏しく、特異的な治療法が存在しない。本稿では、主要な右心室疾患のまとめ、我々の研究の概要を記し、右心室疾患に特異的な治療法開発の必要性について考察したい。

［右心不全について］

右心不全は、左心不全に伴って受動的に生じる右心不全、右心室固有の機能障害に由来する右心不全がある。

左心不全に伴って生じる右心不全は厄介な存在である。左心不全に合併する腎不全の程度は左室の駆出量ではなく、右心機能の程度と正相関する事がわかってきた [1]。また、低左室機能患者に用いられる植込み型補助人工心臓留置後に、右心不全を生じ、右室にも補助循環を要する症例は極めて予後が悪い [2]。また、左室への補助循環のみであれば体内植込み型が適用されるが、両心室補助循環であれば体外式となり長期間の入院加療を強いられることになる。

右心室固有の機能障害の原因と治療法をまとめると、右室梗塞・右室心筋症に対しては低心拍出が解除されない場合は強心剤・機械的循環補助が選択され、先天性心疾患・収縮性心膜炎に対しては外科的手術が選択される。右室低心拍出によって右室容量が増加すると、左室を圧迫し左室容量を低下させ、左室低心拍出となるが [3]、現状この悪循環を断つ薬物治療法は強心剤のみである。しかし、強心剤は心筋酸素消費量を低減しない治療法であり、予後改善効果は無い。左心不全に対してはβ受容体遮断薬、利尿剤、アンジオテンシン変換酵素阻害剤などの有用性が広く知られているが、右心不全においては有害に作用する場合がある [4]。

つまり、「右心室の機能低下を防ぎつつ体循環に有害に作用せず患者の予後を改善する治療薬」は存在せず、右心不全に関連する諸問題は改善されないままとなっている。

［肺高血圧症］

肺動脈性肺高血圧症は、右心不全が必発する疾患

である。肺動脈のリモデリングの進行により、右室に圧負荷がかかり、右室の拡大、左室の圧迫を来す。肺動脈性肺高血圧症そのものも難治性で、エンドセリン受容体拮抗薬、シルデナフィル、エポプロステノール等の併用療法が選択される。しかしそれでも緩徐に肺動脈リモデリングが進行し、最終的に右心不全を合併した場合、強心剤と利尿剤の使用が主体となる [5]。しかし、基礎疾患の病態が重症であるため長期予後を検討した研究は乏しく、効果の高い薬剤がどれかは分かっていない。このため個々の症例に応じて、後追いで薬剤の選択をせざるを得ない。

［致死性心室性不整脈について］

致死性心室性不整脈疾患は、Brugada 症候群、催不整脈性右室心筋症などが知られており、青壮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 歳以下の人数は少なくとも年間 2000 人と考えられている [6]。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おり、同部位が不整脈に維持にとって重要な部位として機能する事がわかってきた [7]。繊維脂肪変性を来した部位のカテーテルアブレーションが有用である一方、治療後再発した場合は手技的に再治療が困難である。現在、突然死予防効果が証明されている治療は植え込み型除細動器のみであり、除細動ショックの予期不安・誤作動により患者の生活の質の向上に寄与しない。よって病態を解明し、薬物療法を確立する必要性が高い疾患であると考えられる。

［右心疾患に対する新たな治療標的の探索］

右心疾患に特異的に効果を発揮する治療法が創出される必要性が高いことを述べたが、我々は特に右室流出路に注目した。右室流出路は催不整脈性の高い部位であり、発生起源も神経堤由来と独特な部位であるが、成人期においてどのような特徴を有するかは分かっていない [8]。しかし、RVOT は特有の性質を有しているということは、RVOT に高い生理活性物質が存在する可能性があるためであると考え、それを検出する目的で網羅的遺伝子発現解析を行なった。

［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 mRNA 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。

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、mRNA 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 mRNA 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約 950 種類の発現変動遺伝子を抽出できた。この発現変動遺伝子を、Ingenuity Pathway Analysis (QIAGEN®)を用いて解析し、RVOT では補体経路が

活性化していることが示唆された。ネットワーク解析をみると、特に補体副経路に含まれる遺伝子が多く存在し、中でも Cfd が他部位の 25 倍以上と、著明に高発現であった。

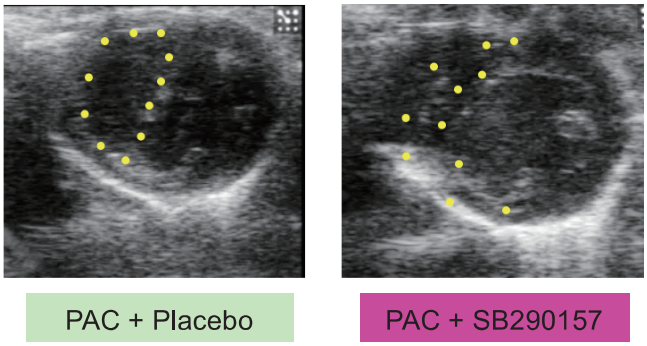
2. *in vitro* 解析

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。

現在まで、C3a が心筋細胞に対してどの経路を介して特異的作用をもたらすか分かっていなかった。我々は次に、C3a リコンビナントタンパクを投与した NRVM を用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。統計学的解析を行い、ストレス応答性 MAP キナーゼパスウェイの JNK が活性化している可能性が分かった。

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、C3KO と野生型の TAC モデルを比較したところ、28 日目の左心機能の低下度に差が無かった。しかし予想外なことに、C3KO では RV・RVOT の線維化マーカー、心不全マーカーの遺伝子発現が特異的に抑制された。次に、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。



【図 1】肺動脈縮窄モデル(PAC)に対する薬剤投与実験 SB290157(C3a 受容体アンタゴニスト)投与によって、右室拡大、右室収縮能低下が抑制された。

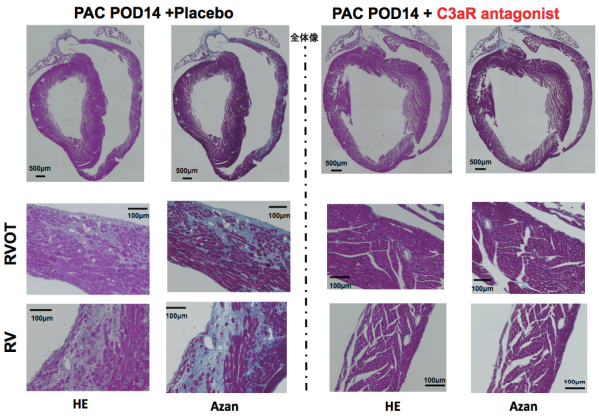


図 2. 薬剤投与実験における組織像。
PAC 後、右室広範囲に認められる線維化が SB290157 投与によって抑制されている。

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。右心不全時に、RVOT に発現する Cfd によって C3a が産生され、右心不全を増悪させる効果をもたらしていると考えられた。

［考察］

本研究で、①右室流出路に Cfd が多く存在していた、②C3a タンパク投与によって心筋細胞は不全心筋の特性を獲得した、③C3-C3a を阻害することで右心不全の進行が抑制された、といった知見が得られた。

RV と LV の心筋細胞の性質の違いについての報告は限られている。Ikeda[8]らは RV の方が急性の圧負荷に対して ROCK2 発現上昇が急峻であるため、RV 心筋の負荷脆弱性がより強いと述べている。このように特定の分子の働きによって左右の心室筋がそれぞれ特有の性質を有している可能性は大いにあると考えられる。本研究では左心不全モデル・右心不全モデルで共通して、C3 を阻害すると RV での心不全の表現型が減弱した。特に PAC モデルにおいて RV のリモデリングを強力に抑制したモデルは数少なく、このメカニズムの解明を進める必要がある。

本研究は未だ preliminary な段階であり、まだ細胞生物学的メカニズムは解明できていない。しかも、本研究の出発点が、健常な野生型マウスの RVOT で Cfd が高発現であったという点であり、健常な状態に対する Cfd の役割もまた明らかにすべきである。本研究の最初のゴールは、「右心不全に対して C3-C3a の抑制が有効である」という点であるため、健常な状態での Cfd の役割が明らかとならなければ、実臨床への応用ができない。更に、RVOT を起源とする致死性不整脈が Cfd や C3-C3a の阻害によって抑制できるかについても、マウス心臓の電気生理学的検討によって明らかにしたい。

Limitation として、TAC モデル・PAC モデルが理想的な心不全のモデルとして良いかについては現在でも議論が分かれている。以前に比べて虚血性心疾患による死亡者が減少傾向であるため、冠動脈結紮ではなく TAC・PAC モデルを用いた研究が世界的に好まれるようになってきた。しかし、大血管を結紮し、心室に非常に強い圧負荷を与え、短期間で末期心不全になるようなモデルであり、当然ヒトではこのような状態になることはあり得ない。一方で他の心不全モデルとして高頻度ペーシングモデル、カテコラミン負荷モデル、アンジオテンシン持続投与モデルなどが用いられるが、再現性を持って必ず同程度の心不全を作製できるモデルは少なく、どの方法も limitation は存在する。よって TAC・PAC モデルに頼らざるを得ない[9]。

現在、補体経路に対する分子標的療法の開発が進み、Cfd を阻害する小分子化合物まで登場している[10]。本研究を通じ、Cfd 阻害が、右心不全から RVOT 起源の致死性不整脈疾患まで幅広く効果のある治療法に応用される事が我々の目標である。先に述べた通り、右心不全に有効な治療法も無ければ、単一の分子を標的とした心不全そのものに有効な治療法も存在しない[11-13]。双方の課題を克服する第一歩となるよう、更に研究を遂行させたい。

［結論］

RVOT で高発現する Cfd により局所的に産生される 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。

［謝辞］

第 55 回日本補体学会学術集会にて、日本補体学会より奨励賞を賜り、また本受賞寄稿を賜り心より感謝申し上げます。また、本研究の遂行において日本補体学会より委託研究として多大なるご支援・ご指導を頂いておりますことに対し、この場をお借りし深く感謝申し上げます。

［利益相反］

本論文内容に関連した開示すべき COI はありません。

［文献］

1) Damman K, van Deursen VM, Navis G, et al. Increased central venous pressure is associated with impaired renal function and mortality in a broad spectrum of patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 53: 582-588 (2009)

2) Meyer P, Filipatos GS, Ahmed MI, et al. Effects of right ventricular ejection fraction on outcomes in chronic systolic heart failure. *Circulation* 121: 252-258 (2010)

3) Carroll JD, Lang RM, Neumann AL, et al. The differential effects of positive inotropic and vasodilator therapy on diastolic properties in patients with congestive cardiomyopathy. *Circulation* 74: 815-825 (1986)

4) Leier CV, Bambach D, Nelson S, Hermiller JB, Huss P, Magorien RD, Unverferth DV, et al. Captopril in primary pulmonary hypertension. *Circulation* 67: 155-161 (1983)

5) Westerhof BE, Saouti N, van der Laarse WJ, et al. Treatment strategies for the right heart in pulmonary hypertension. *Cardiovasc Res.* 113: 1465-1473 (2016)

6) Bagnall R.D, Weintraub RG, Ingles J, et al. A prospective study of sudden cardiac death among children and young adults. *N Engl J Med.* 374:2441-52 (2016)

7) Nademanee K, Raju H, de Noronha SV, et al. Fibrosis, Connexin-43, and Conduction Abnormalities in the Brugada Syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 66: 1976-1986 (2015)

8) Ikeda S, Satoh K, Kikuchi N, et al. Crucial role of rho-kinase in pressure overload-induced right ventricular hypertrophy and dysfunction in mice. *Arterioscler Thromb Vasc* Biol. 34: 1260-1271 (2014)

9) Mohamed BA, Hartmann N, Tirilomis P, et al. *Sci Transl Med.* 10: eaan0724 (2018)

10) Crowley AC, Delgado, O, Will-Orrego A, et al. Induction of Ocular Complement Activation by Inflammatory Stimuli and Intraocular Inhibition of Complement Factor D in Animal Models. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 59:940-951 (2018)

11) Packer M, O'Conner C, McMurray JJV, et al. Effect of ularitide on cardiovascular mortality in acute heart failure. *N Engl J Med* 376: 1956–1964 (2017).

12) Meyer S, Teerling JR, Metra M, et al. Sex differences in early dyspnea relief between men and women hospitalized for acute heart failure: insights from the RELAX-AHF study. *Clin Res Cardiol.* 106: 280-292 (2017)

13) Nanasi P, Komaromi I, Gaburjakova M, et al. Omecamtiv mecarbil: A myosin motor activator agent with promising clinical performance and new *in vitro* results. *Curr Med Chem* 15: 1720-1728 (2018)

第 27 回 International Complement Workshop に参加して

大谷　克城
酪農学園大学 農食環境学群 食と健康学類 臨床栄養学研究室

Report of The 27th International Complement Workshop

Katsuki Ohtani
Department of Food Science and Human Wellness,
College of Agriculture, Food and Environment Sciences, Rakuno Gakuen University

隔年開催される International Complement Workshop が、2018 年 9 月 16 日から 20 日の 5 日間、Andrea Tenner を会長としてアメリカ南西部ニューメキシコ州のサンタフェにて開催された。8 年前のニューヨーク以来の米国開催となった。私は、前開催の金沢に続き 2 回目の参加でした。

ICW2018 プログラムの表紙

開催初日には、学生やポスドクを対象とした Teaching Day が行われた。対象外でしたが午前中のレクチャーに参加した。補体の基礎だけでなく、最新の研究のトピックス、補体関連疾患やその治療について、とてもわかりやすく解説され、勉強不足の私にとってもとても良い機会となった。午後の Exercise には、若宮会長が講師として参加し、多くの若手研究者が真剣かつ楽しそうに取り組んでいた。補体活性化経路はとても複雑で医師でさえ、「あまり詳しくはわからない」と思っている人が多い状況ですので、日本の学会において今後このような教育的な取り組みも必要であると感じた。この日の夜は、ラ フォンダホテルでウェルカムレセプションが行われ、ステージでの伝統的な歌や踊り、食事を堪能しながら、久しぶりの再会にあちこちで話が盛り上がっていた。

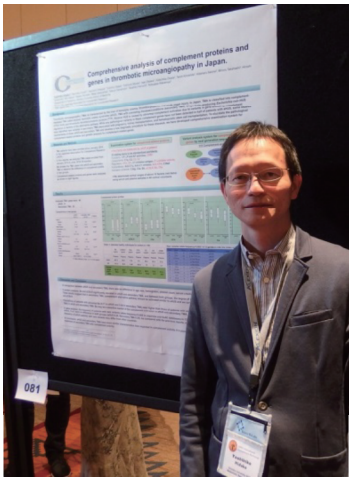
2 日目、国際補体学会の Michael Holers 会長、Andrea J. Tenner 集会長のあいさつに続き、セッションがスタートした。プレナリーレクチャーでは、Eric Huang 博士による神経系における新たな補体 C1q の役割について紹介された。補体 C1q 産生亢進が，ミクログリアを介して異常行動を引き起こし，この病態において補体活性化を抑制することにより行動の異常が改善すること等が報告された。脳にお

会場の様子

ける補体の新規な機能に関する研究は、近年積極的に進められ、その成果も多く報告されている。さらなる成果の報告が期待される。また、Marina Noris博士からは、aHUS（非定型溶血性尿毒症症候群）と補体について、治療薬の効果や最新の知見について紹介された。aHUSに関しては、今後の治療経験の蓄積により病態解明が進み、治療も新たな展開が期待される。また抗C5抗体の新たな疾患への治療薬としての適応拡大も想定され、今後その動向が注目されると考えられる。

一般講演は口頭発表とポスター発表をあわせて253演題の発表が行われた。口頭発表は11のセッションに分けて行われたが、どのセッションも質疑応答が活発に行われ、座長が困る場面も多く見受けられた。ポスターセッションは、2日目、3日目に奇数偶数番号に分けて行われた。今回、福島県立医科大学の林学氏が、MASP-1、MASP-3がレクチン経路と第二経路の活性化に独立して寄与することを明らかにした成果についての発表に対して27th ICW Travel Awardを受賞されました。また、京都大学大学院医学研究科の日下部治郎氏が、C5ノックアウトマウスを用いて肝臓における虚血再灌流障害が、主にC5aを介した経路を阻害することにより改善することを明らかにした発表に対して27th ICW Poster Presenting Awardを受賞されました。日本からの若手研究者のこのような受賞は、とても喜ばしいことであり、他の若手研究者においてはとても刺激になったと思います。今後「次は私が受賞する」との思いを抱いて研究を進めていただきたいと思います。日本補体学会でもWorkshopに演者としてポスターまたは口演発表を行う学生会員に対して参加費等の補助を行うなど若手研究者の支援を行っているので、大いに活用していただきたい。今回の受賞内容に関しては、受賞寄稿をご覧ください。

日本補体学会における補体検査の取り組みについての報告として、今回「日本の血栓性細小血管症（TMA）における補体タンパク質と遺伝子の包括的解析について」と題して信州大学の日高義彦氏がポスター発表を行った。今回私は、日本補体学会において補体検査を行っている立場として、情報収集を行った。2日目に行われたICW Standardization Meetingに参加し、国際補体学会で取り組んでいる補体検査の標準化についての報告を受け、今後の外部精度評価（External Quality Assessment）による妥当性評価についての取り組みに関して現況および今後の予定について確認した。現在欧米では20項目の補体検査の標準化が進められているが、多くは研究段階であり、世界中で補体関連疾患の診断に有用な検査の開発が試みられている。ポスター発表にて、検査施設や検査・研究用試薬メーカーからいくつか成果が報告された。現在、10項目について、日本における基準値を設けて検査を進めているが、早急に項目を増やして行きたいと考えている。



ポスター発表を行う日高義彦氏

今回の開催地サンタフェは、ニューメキシコ州北部、ロッキー山脈の南側に位置し、スペインの植民地として開けた後、アメリカ先住民やメキシコ人の侵攻により変遷してきた町である。ダウンタウンはプエブロ・インディアン・スタイルの建物に統一さ

アメリカ最古の教会「サンミゲル教会」

れて、とても美しい街並みであった。内陸に位置し、海抜 2100m の高地の乾燥地帯であったが、訪れた頃の気候は気温が 10～27℃で過ごしやすく快適であった。しかしながら日差しはきつく日光を浴びるとじりじりした暑さを感じた。

バンデリア国立公園

4日目午後のエクスカーションは、好天に恵まれ、バンデリア国立公園等を訪れ、アメリカ先住民の生活を想像しながら、一汗かく場面もあった。最終日の夜は、再びラ フォンダホテルで、Gala Dinner が開催され、ダンスパーティーで会場は大盛り上がりとなり、いつまで続いたかは定かではない。

次回、第28回ICWは2020 年9 月13 日～17 日、ドイツのベルリンにて Peter Zipfel 氏を会長として開催される予定である。また、前年の 2019 年9 月14～17 日には、Santiago Rodríguez de Córdoba を会長としてスペインのマドリードで第 17 回 European Meeting on Complement in Human Disease (EMCHD 2019) が開かれる。

Gala Dinner

［謝辞］

今回、日本補体学会によるサポートにより本 meeting に参加させていただきましたことを感謝いたします。

［利益相反］

著者の COI 開示：本学会報告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。

学会報告

27th International Complement Workshop 参加報告

林　学
福島県立医科大学医学部　免疫学講座

Report of 27th International complement workshop

Manabu Hayashi
Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine

この度、日本補体学会による参加費等補助の支援を頂き、2018 年 9 月 16 日から 20 日に開催された 27th International Complement Workshop (ICW) へ参加しました。自身の研究成果を報告できただけではなく、補体研究の最前線に触れることができましたので簡単ながらご報告致します。

アメリカ、ニューメキシコ州のサンタフェにある Community Convention Center で学会が開催されました。アルバカーキ空港とサンタフェ空港が最寄りの空港となりますが、サンタフェ空港を利用する方はタクシーを予約することをお勧めいたします。強い日差しと青い空が印象的であり、建築物は土と藁によるアドビ建築で統一されている落ち着いた雰囲気の綺麗な街でした（図 1)。

学会初日には Teaching Day が開催され、私のような初学者には大変理解のしやすい構成となっておりました。古典経路、レクチン経路、第二経路の 3 つの活性化経路について発表があり、その後に現在注目されている分野である神経系、獲得免疫と補体の関連、そして補体を標的とした治療についての展望を聞くことができました。

（図 1 サンタフェの青い空）

私は学会 2 日目の Session3: Lectin and Alternative Pathway: Deep Connections? で MASP-1 and MASP-3 play independent roles in activation of the complement pathways1) について口演発表を行いました。CRISPR/Cas9 システムによる遺伝子改変を行うことで、MASP-1 単独欠損マウス、そして MASP-3 単独欠損マウスを作成し、その解析により MASP-1 はレクチン経路へ、そして MASP-3 は第二経路にそれぞれ必須であること、さらに MASP-1 欠損マウスで MASP-3 が活性化していることを明らかにしました。これらの結果は近年報告されている MASP-1 と第二経路、そして MASP-3 活性化への関連は *in vivo* では必須ではないことを示しておりました。会場の先生方からの質問は脂肪との関連、欠損マウスの骨格についてなどいずれも重要な問題ばかりであり、今後の研究で明らかにしていきたいと思います。

（図２　関根教授と私）

神経発達、疾患と補体の関わりについては複数の発表があり、注目度の高さを伺い知ることができました。C5aR1 is required for α-synuclein mediated NLRP3 inflammasome activation in microglia: implications for Parkinson's disease1) では補体とインフラマソームがパーキンソン病の病態へ関与することが報告され、新たな障害経路の解明が期待できるとても興味深いものでした。The role of complement factor H in the hepatic inflammation-steatosis-cancer axis1) では、第二経路が肝臓の脂肪化、そして癌化へ影響していることを示していました。糖尿病患者には発がんが多く、その大半が肝細胞癌であることが明らかとなっておりますが、本発表ではその機序へ第二経路が関与していることを示唆しておりさらに発展が期待される分野であると感じました。

今回の ICW では、Travel award を頂くことができました（図 2)。学会の最終日には受賞者が一人ずつ壇上で表彰していただける機会もあり、恐縮するとともにさらに研究を進めていきたいとの気持ちを新たにしました。壇上では自己紹介するように促され、英語に不慣れなため動揺しましたが冷静を装い簡単な自己紹介を行いました。夜には Closing Fiesta が催され華やかな雰囲気で食事を楽しむことができ(図 3)、日本から参加された先生方から気さくに話しかけて頂いたことは発表と同じように貴重な経験となりました。

（図３　鶏肉のフライ、ポテトと豆を添えて）

研究を指導していただきました関根英治教授ならびに当教室の先生方、そして発表についてご指導いただいた藤田禎三先生へこの場を借りて御礼申し上げます。

[謝辞]

27th ICW 参加に際し、日本補体学会より 27th International Complement Workshop 参加費等補助を賜り参加できました事を感謝いたします。

[文献]

1) Abstracts for the 27th ICW. *Mol Immunol.* 102, 129-235 (2018)

学会報告

27th International Complement Workshop 参加報告

日下部　治郎
京都大学大学院医学研究科肝胆膵・移植外科

A Report of the 27th International Complement Workshop

Jiro Kusakabe
Division of Hepato-biliary-Pancreatic Surgery & Transplantation
Kyoto University Graduate School of Medicine

今回、日本補体学会の助成を頂き、米国ニューメキシコ州サンタフェで 2018 年 9 月 16-20 日に開催された、27th International Complement Workshop (ICW) (第 27 回国際補体学会)に参加させて頂いた。以下に参加報告を記載する。

隔年で行なわれる ICW は、前回の日本開催に引き続き、今回は米国のサンタフェで開催された。Teaching day を含めると期間も 5 日と非常に長く、予想以上に多くの補体研究者が参加していた。純粋な基礎研究のみならず、臨床応用を見据えた、各病態に即した研究も多く発表されており、補体分野の今後の発展を予感させる学会であった。また、口演・ポスターのメモを熱心にとったり、質疑応答を行う参加者の姿を見ていると、今まで参加した国内・国際学会以上に熱意を感じさせる印象を受けた。初日は Teaching day ということで、午前に各補体経路や各臓器における補体の役割、そして補体関連の治療に関する最新の傾向のレクチャーが行われた。午後は学生・ポスドクのみの参加で、小グループに別れてディスカッションする、というものであった。日本人の参加は私一人？であったが、補体関連薬を rare disease から common disease に応用するために必要なことは？アルツハイマー病の改善に最適な補体ターゲットは？といった topic に対して参加者が brain-storming を行うものであった。大まかな概要だけでなく、臨床試験でどのような患者を選択し、どのような評価項目を用いるか、といった詳細な話し合いも行われた。こうした、学生の主体的な参加を促す教育方法は欧米では当たり前なものであるが、改めてその良さを感じさせて頂いた。偶然にもファシリテーターが Australia の Trent Woodruff 先生で、自分の研究の中で抱いていた C5a/C5aR に関する疑問点を相談して解消することができ、国際学会に参加する意義を早速実感させて頂いた。

2 日目以降は New Technologies Shed Light on Long Held Questions, Complement in the Nervous System, Lectin and Alternative Pathway: Deep Connections?, Extracellular Complement Influences Acquired Immunity, Complement vs Pathogens, Intracellular Complement System, Genetic and Protein Variances in Human Disease, C3G and aHUS, Pros and Cons of FH and FHR Proteins, Complement Therapeutics, C3a/C5a Mediating and Modulating Inflammatory Responses の 11 セッションの口演、Plenary lectures, YIA Talk 等から構成されていた。外科医として基礎研究を始めてまだ 2 年しか経っておらず、専門である肝臓以外の臓器の研究など、すべての発表を理解することは正直なところ困難であった。しかし、Properdin, factor D/H を始めとした Alternative Pathway, aHUS, C3a/C3aR および C5a/C5aR と各種病態の関わりなど、今後自分の研

究にも関わるであろう多くの知見を学ばせて頂いた。とりわけ腎臓領域の補体研究はかなり進んでおり、自分の専門分野である肝臓領域にも応用できればと考えている。

今回、我々はマウスの肝虚血再灌流障害（IRI)モデルを用いて、抗 C5 抗体投与による肝障害改善効果の検討を行い、発表させて頂いた。口演ではなくポスター発表となったが、思いがけず Poster Presenting Award/ Travel Grant を頂くことができた。肝 IRI は依然として肝切除・肝移植における克服すべき大きな問題であるが、補体制御に関してはまだ解明が進んでいない。今回我々は野生型および C5 欠損マウスに抗 C5 抗体（BB5.1）あるいはコントロール抗体を経静脈投与し 、70%部分肝虚血(90 分)/再灌流を施行した。更に C5a 受容体阻害抗体(PMX53)を用いて同様の評価を行った。補体活性は虚血中から徐々に上昇し、再灌流 2 時間後に最大となり 24 時間で前値に復した。血清 ALT は 6 時間で最高となり、抗 C5 抗体(および C5 欠損)で著明に抑制され(18,417 ± 1,433 vs 3,138 ± 649, P<0.001)、保護効果は病理組織学的にも確認された（P<0.001)。再灌流後 2 時間では、抗 C5 抗体により血小板凝集(CD41 免疫染色)が有意に抑制され、肝臓の homeostasis に関わる Kupffer 細胞は維持された。再灌流後 6 時間では炎症性サイトカイン（IL-1b, IL-6, TNF-α）や浸潤性マクロファージが有意に抑制され、好中球浸潤（Ly6G 免疫染色）やアポトーシス(ssDNA 染色)の改善が確認された。C5a 阻害は抗 C5 抗体と同等の肝障害低減効果（ALT: P<0.001）を示したが、アポトーシスや好中球浸潤は抗 C5 抗体投与でより抑制される傾向にあった。肝 IRI において、補体系は C5a 優位に肝 IRI 病態に関与し、補体制御の有効性が示された。

多くの参加者と質疑応答をさせて頂き、木下タロウ先生、井上徳光先生、武田薬品工業の仁尾先生、ペンシルベニア大の三輪先生始め、多くの先生方にアドバイスを頂くことができ、早速帰国後の研究に生かしたいと考えている。海外学会参加の醍醐味は、日本補体学会の先生方との交流を深められることにもあると思う。学会長の若宮伸隆先生には貴重なお話をたくさん聞かせて頂いた。共同研究先であるアレクシオン社の現地の方々とも、研究の進捗状況や新薬の開発状況の情報交換を通して、相互の理解を深めることができたと思う。特殊なマウスの補体活性測定に関しても、改めて情報を得ることができ、今後の研究に生かしたいと考えている。補体研究は予想以上に進んでおり、近い将来 C1 阻害剤、Eculizumab 以外の薬剤が臨床応用される日が必ず来ると思われる。補体研究を続ける限り、次回以降の ICW にも是非参加したいと考えている。

［謝辞］

今回、27th International Complement Workshop 参加に際し、日本補体学会より参加費用の補助を賜り、参加できました事を深く感謝いたします。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、研究に関して多くの助言を頂きました神戸常盤大学北村肇先生、北野悦子先生、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。

学会報告

27th International Complement Workshop

福井　聡介
名古屋大学大学院医学系研究科　腎臓内科

27th International Complement Workshop

Sosuke Fukui
Department of Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine

この度、平成 30 年 9 月 16 日から 20 日まで米国は Santa Fe, New Mexico で開催された 27th International Complement Workshop に参加し、「Peritoneal expression of membrane complement regulators in peritoneal dialysis patients with fungal peritonitis.」をポスター発表致しました。日本補体学会においては昨年福島にて開催された第 54 回学術集会にて同テーマで口演の機会を頂きました。国際学会では発表はおろか参加すら初めてという若輩者にて、不安でいっぱいの渡米となりましたが、各方面よりご助力頂いてなんとか発表を終えることができました。小規模ながら創設より 400 年以上の歴史を持つ Santa Fe の街で、補体に関わる各国の先生方の研究成果に触れ、大変大きな刺激となりました。

以下、今回 27th ICW で発表致しました内容に関して、概要を記述させて頂きます。

［演題名］

Peritoneal expression of membrane complement regulators in peritoneal dialysis patients with fungal peritonitis　~真菌性腹膜炎を発症した腹膜透析患者の腹膜における膜補体制御因子の発現~

［はじめに］

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

腹膜障害進展には補体活性化経路が関与しており、これまで我々は動物実験にて

1. 真菌由来成分の投与が補体活性増大を引き起こし、長期にわたる腹膜障害を呈する事
2. また宿主の膜補体制御因子（以下 CRegs）を抑制することで腹膜障害が惹起され、補体活性の非制御が腹膜障害を増悪させること　を報告した。

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

［方法］

名大病院及び関連病院に通院中の PD 患者のうち、真菌性腹膜炎を発症してカテーテル抜去に至った際に採取した腹膜組織で腹膜表面の CRegs（CD46, 55, 59）の発現を免疫染色で評価した（真菌性腹膜炎群）。また腹膜炎イベントを起こしていない患者、細菌性腹膜炎を発症した患者から採取した腹膜組織で同様に補体制御因子を評価（非真菌性腹膜炎群）し、各群間で比較を行った。

加えて同患者らから採取した PD 排液中の sC5b-9 を測定し、これも各群間で比較した。

［結果］

腹膜炎の PD 患者 6 名（真菌性 3 名、グラム陽性球菌性 3 名）から採取した腹膜組織を光学顕微鏡下で観察したところ、腹膜下層における細胞浸潤を多く認め、また特に真菌性腹膜炎患者組織にて表層に分布する腹膜中皮細胞の脱落が強く認められた。一方で非腹膜炎群では、腹膜表層の腹膜中皮細胞層は良く保たれており、腹膜下層の細胞浸潤も乏しかった。上記 2 群について同じ組織を免疫染色で CRegs の分布を調べたところ、真菌性腹膜炎群では腹膜表層の CRegs の発現に乏しかった。これは中皮細胞の脱落と関係していた。非真菌性腹膜炎群では、腹膜表層の CRegs の発現が比較的良好に保たれていた。

PD 排液中の sC5b-9 は腹膜炎群で非腹膜炎群と比較して有意に高値を示した。真菌性腹膜炎群と細菌性腹膜炎群の間に有意な差は見られなかった。

［考察］

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

これまで我々は、動物実験にて補体活性増大により腹膜障害が惹起されること、CRegs の抑制が腹膜障害をより増悪することを報告した。また炎症誘発目的の腹腔内真菌由来成分投与を終了した後も経時的に腹膜障害が進行することを示した。これらの結果は、真菌性腹膜炎では腹膜中皮細胞及びそこに発現する CRegs が障害を受けることで局所での補体活性化が遷延・持続し、これが腹膜障害の進展に大きく関わっている可能性を示唆する。

我々の結果から、PD 関連真菌性腹膜炎患者の腹膜組織にて高度な中皮細胞・CRegs の喪失を認め、ヒトの実臨床から得られた病理組織においても、動物モデルで証明してきた上記の可能性を支持するものと考えられた。

［結論］

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

腹膜透析においては、腹膜傷害・腹膜劣化、それに伴う被嚢性腹膜硬化症が未克服の課題として残っています。当研究室ではこれらの合併症に対して補体異常活性の観点からアプローチし、将来的には近年進歩が著しい補体関連薬剤の適切な投与などによって、発症予防・進展の緩和に繋げていくことを目指しています。今後も日本補体学会を始め国際学会も含めた発表を通じて貴重なご意見を賜り、研究を進めていきたいと考えております。今後ともよろしくお願い申し上げます。

［謝辞］

今回、日本補体学会よりサポートを賜り 27th International Complement Workshop に参加できました事を感謝いたします。

教室紹介

福島医大　免疫学講座のご紹介

関根英治
福島県立医科大学医学部　免疫学講座

福島県立医科大学 免疫学講座は、1991 年に生化学第二講座として開講し、2005 年４月より講座名が免疫学講座へと改名されました。初代教授はレクチン経路（MASP-1)を発見された藤田禎三 福島医大名誉教授ですが、筆者は開講当初の医学部生時代から講座に出入りし、無脊椎動物のマボヤでのレクチン GBL の同定で学位を取得しました。卒後は福島医大第二内科（現リウマチ膠原病内科）でリウマチ学を学び、米国サウスカロライナ医科大学への留学を経て、2012 年８月より講座を引き継いでおります。このような経緯から、講座での研究は藤田先生からの流れを汲む補体学と、リウマチ学に関する研究をメインとして進めております。誌面をお借りして、講座の研究を紹介させて頂きます。

講座のスタッフは、教員４名、医療技師１名、大学院生１名の計６名です。少ないメンバーですが、それぞれが独自の研究テーマに取り組んでいます。

１）補体因子 MASP に関する研究

補体因子 MASP 関連タンパク質は、*Masp1* 遺伝子から転写される MASP-1,MASP-3,MAp44 の 3 つと、*Masp2* 遺伝子から転写される MASP-2,sMAP の 2 つのスプライスバリアントがあります。当講座の林学大学院生と石田由美医療技師は、生体内での補体活性化における MASP-1 と MASP-3 の個別の役割の解明に取り組んでいます。

セリンプロテアーゼに属する補体因子 MASP-1 は、生体内でパターン認識分子のマンノース結合レクチン(MBL)と複合体を形成し、MBL が微生物上の糖鎖末端のマンノースや GlcNAc を認識すると 3 次元構造変化で自己活性化し、MASP-2 や C２を活性化することで、レクチン経路の活性化に関与します。MASP-1, MASP-3, MAp44 の 3 つのスプライスバリアントを欠損する *Masp1* 遺伝子ノックアウトマウスでは、レクチン経路と第二経路が活性されないことが講座の故高橋実准教授の研究で示されていましたが、生体内における各スプライスバリアントの個別の機能や相互作用は不明のままでした[1)]。そこで、CRISPR/Cas9 で MASP-1 と MASP-3 に特異的なエクソンを切除し、MASP-1 と MASP-3 各単独欠損マウスを作成したところ、MASP-1 はレクチン経路の活性化に関与するが、MASP-3 や第二経路の活性化には必須でない(おそらく関与しない)ことが判明し、逆に MASP-3 は D 因子を活性化することで第二経路の活性化に関与するが、レクチン経路の活性化には必須でない(おそらく関与しない)ことが判明しました。MASP-1 と MASP-3 はレクチン経路と第二経路の活性化に個別に関与することが示された研究報告に対して、林氏は ICW2018 のトラベルアワードを受賞しました。林氏の ICW2018 参加記が別頁にありますので、ご参照頂けますと幸いです。

２） 加齢黄斑変性(AMD)への補体の関与に関する研究

加齢黄斑変性(AMD)は欧米での失明原因の第１位(本邦では第４位)で、脈絡膜からの新生血管により視力障害が引き起こされますが、その原因として補体の制御異常が指摘されています。GWAS で H 因子との関連が認められたことから、第二経路の制御異常によるものと推測されていましたが、培養細胞などを用いた近年の研究報告では、酸化ストレスを受けた網膜色素上皮に対して、レクチン経路が活性化するメカニズムが提唱されています。当講座の大森

智子助教は、本学の眼科学講座と連携しながら、生体眼の検体を用いてAMDのバイオマーカーとなりうる補体因子の同定や、モデルマウスを用いた研究を行っております。

３） 全身性エリテマトーデス(SLE)の腎炎への補体の関与に関する研究

自己免疫疾患の全身性エリテマトーデス(SLE)では、抗DNA抗体などの自己抗体がつくられ、自己抗原と自己抗体との複合体が腎臓の糸球体などに沈着してしまいます。その結果、古典経路を通じて補体が活性化され、糸球体腎炎が引き起こされます。当講座では、町田豪講師が*Masp1*遺伝子をノックアウトしたSLEモデルマウス(MRL/*lpr*系)を作成し、このマウスにおいて糸球体腎炎が著しく改善することを報告しました[2)]。上記でも触れましたが、腎炎の改善効果がMASP-1とMASP-3どちらの効果によるものか不明なため、これを解決すべく北大 免疫・代謝内科から派遣された尾形裕介助手がこのテーマに取り組んでいます。さらに町田講師は、自己抗体産生への辺縁帯Ｂ細胞の役割について、SLE モデルマウスを用いて研究を進めています。

４） レクチン経路と第二経路を標的とする融合ポリペプチドsMAP-FHの開発

AMD および、脳梗塞や心筋梗塞、臓器移植時に見られる虚血・再還流障害において、レクチン経路と第二経路の両方が関与する病態が近年提唱されています。そこで当講座では、高住美香氏がレクチン経路と第二経路を標的とする抗補体薬の開発を目的に、レクチン経路の調節性因子であるsMAPと、第二経路の制御因子であるH因子の一部を融合したsMAP-FHを作成しました。この融合ポリペプチドをマウスに投与し、*in vivo*においてレクチン経路と第二経路の両方の活性化を抑制することを示し、特許出願しました。この研究成果で、高住氏はこの秋に学位(医学博士)を取得しました（写真）。

以上のように、当講座の特色として、補体や自己免疫疾患に関する基礎医学研究と、臨床医学研究との関連に重点を置いた研究を行っている点があげられます。学会員の皆様には、これからもご支援とご指導を賜りますよう、どうぞよろしくお願い申し上げます。

［文献］

1) Takahashi M, Ishida Y, Iwaki D, Kanno K, Suzuki T, Endo Y, Homma Y, and Fujita T. 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) Machida T, Sakamoto N, Ishida Y, Takahashi M, Fujita T, and Sekine H. Essential Roles for Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease-1/3 in the Development of Lupus-Like Glomerulonephritis in MRL/*lpr* Mice. *Front Immunol.* 28:1191 (2018)

学位記
福島医学雑誌
nature
nature
nature
Affinity Chromatography

第 56 回 日本補体学会学術集会開催のご案内

下記の要領で、第 56 回日本補体学会学術集会を東京日本橋にて開催いたします。
多くの皆さまのご参加をお待ちしております。

1. 会　　期: **2019 年 8 月 23 日(金) ・ 24 日(土)**

2. 会　　場: コングレスクエア日本橋 2 階 ホール
東京都中央区日本橋 1-3-13　TEL: 03-3275-2090
http://congres-square.jp/access/

3. 参 加 費: 一　般　5,000 円
学　生　2,000 円
懇親会費　3,000 円

4. 集 会 日 程: 以下を予定しております。
確定後の日程は、学会ホームページでご確認ください。

8 月 23 日(金)	13:00 ～ 17:45	集会
	18:00 ～ 20:00	懇親会
8 月 24 日(土)	9:00 ～ 16:30	集会
	11:15 ～ 11:45	日本補体学会総会

5. 懇親会会場: コングレスクエア日本橋 2 階 ホワイエ
8 月 23 日(金) 18:00～20:00 (予定)

6. 内　　容: 招待講演、シンポジウム、ランチョンセミナーを企画中です。

7. 抄 録 締 切: **2019 年 5 月 31 日(金)必着**

8. 抄録送付先: 後述の方法で作成の上、下記運営事務局(ネクストイノベーションパートナーズ株式会社)宛に E-mail で送付してください。
運営事務局宛: hotai2019@nextinnovationpartners.com

9. 発 表 方 法: すべて口頭発表とし、PC プレゼンテーションで行います。
一般演題は、討論を含めて 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. 抄録作成および送付方法:
別紙抄録作成および送付要項をご参照の上、添付見本のように作成し、**Word ファイルおよび PDF ファイルの両方**を運営事務局宛に E-mail でお送りください。
(日本補体学会ホームページの Microsoft Word サンプルをテンプレートとしてご利用下さい。)
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、発信者の氏名、会員番号および 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・奨励賞について:

学術集会に応募された演題発表者の中から、原則各１名を**「優秀賞」「奨励賞」**として選考し、顕彰します。

詳しい応募要項が決定次第、日本補体学会ホームページに掲載予定です。

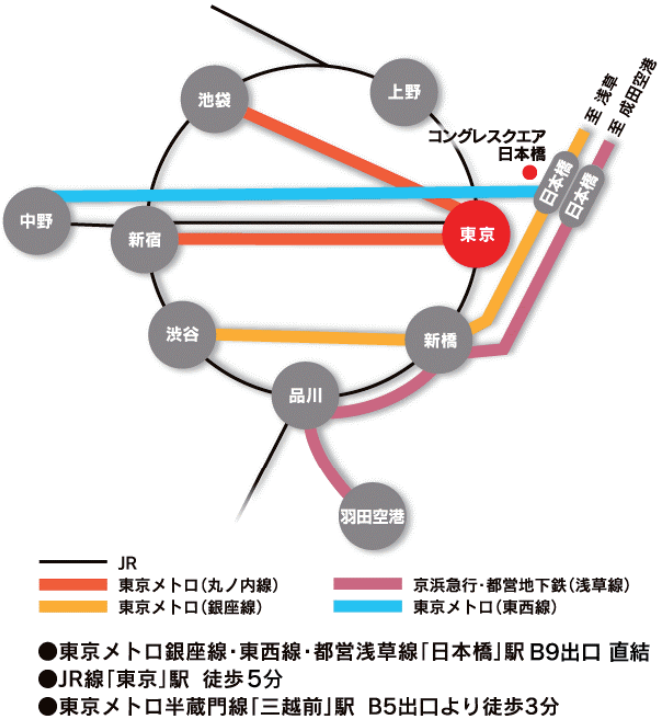
奮ってご応募ください。

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」と明記してください。

13. 会場へのアクセス:



●東京メトロ銀座線・東西線・都営浅草線「日本橋」駅 B9出口 直結
●JR線「東京」駅　徒歩５分
●東京メトロ半蔵門線「三越前」駅　B5出口より徒歩3分

日本補体学会学会誌　論文投稿規定

1）論文内容について

論文内容は、補体研究ならびにこれに関連する研究分野に関わる内容で、他誌に発表されていないもの、または投稿中でないものに限る。論文投稿者は、論文の題名、執筆者名、内容など、関連する事項すべてに責任を負う。

2）投稿資格について

投稿論文の筆頭著者および責任著者は、一般社団法人日本補体学会の普通会員（正会員、名誉会員、学生会員)、かつ年会費を滞納していないものとする。ただし、編集者が依頼した原稿についてはこの限りでは無い。

3）著作権の保護について

投稿者は、本誌に掲載する著作物に関わる権利を（社）日本補体学会に譲渡する。原則、既に掲載されているものの再投稿は認めないが（二重投稿の禁止)、総説など、やむを得ず著作権の発生している著作物、図、表のすべて、もしくはその一部を使用する場合には、著者がその著作権を保有しているものから許可を取得する必要がある。また、原稿にはその旨明記すると同時に許可を証明するものを合わせて投稿する必要がある。

4）倫理的配慮とプライバシーの保護、動物実験についての配慮

投稿内容が臨床研究の場合には、「ヘルシンキ宣言（以後の改訂を含む)」に準拠し、施設の倫理委員会の承認を得て行っていること、かつ容易に個人が特定されないように、個人情報に十分に配慮した内容であること、動物実験の場合には、施設のガイドラインに従って行われていることを論文中に明記すること。

5）論文査読について

投稿された論文は、編集委員（編集委員長、日本補体学会会長、副会長、当期および次期学術集会集会長、事務局長、及び前にあげる編集委員によって指名を受けたもの）によって査読を受ける。

6）論文の採択

投稿論文の採否は編集委員によって決定する。

7）論文の様式

論文は、原著、症例報告、総説、研究会または学会記事、教室紹介、letter to editor とし、その区分を 1 ページ目に明示して提出する。

8）原稿の長さ

原著、総説は制限なしとし、症例報告は 4 ページ以内、その他は 2 ページ以内とする。

9）原稿の書式

1. 基本的な書式は、学会抄録に準ずる。原稿は、ワードプロセッサソフトウエアの MS-Word を用い、ページ設定を A4 用紙にして、見本を参考に作成する。

2. 論文本体の言語は、日本語を基本とするが、英語も可とする。ただし、英語の校正については、編集の過程で行われないため、著者の責任において、英文校閲を受けたものに限る。
3. 別紙の見本を参考に、題名、著者名、所属、題名（英語記載）、著者名（英語記載）、所属（英語記載）、[抄録]、5 語以内のキーワードを一段組みで記載する。改行して、［背景]、[方法]、[結果]、[考察]、[結論]、[謝辞]、[利益相反]、[文献]の順番で、2 段組で記載する。抄録は日本語 400 字以内とし、英語の場合は 250words 以内とする。図、表は、適切な位置に見本を参考に挿入する。大きさを考慮の上、鮮明な原図あるいは写真（白黒）を原稿中に添付する。（縮小あるいは拡大の指定はご遠慮下さい）
   フォントは、日本語は MS 明朝、英語と数字は Century を用い、英字、数字は半角とする。文字サイズは、演題名は 14 pt を用い、氏名、所属、および本文には 10 pt を用いる。また、行間は、1 行として下さい。題名から 1 行あけて氏名を記入し、その下に所属を記入する。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、順に所属を記入する。所属より 1 行あけて、英字のタイトル、氏名、および所属を、それぞれ行を変えること。英語の所属より 1 行あけてから本文を開始する。2 ページ目は、左上隅から作成する。
4. 図表の説明は、日本語は MS ゴシック、英語と数字は Arial、文字サイズは、10 pt とする。図表の表題は、太字とする。
5. 度量衡は CGS 単位とし、kg、g、mg、km、mm、L、dL、mL、mEq/L、mg/dL などを用い、数字は算用数字（1,2,3 など）を用いる。
6. 略語を使用する場合には、最初に表記された箇所で（）内に適切な略語を表記する。
7. 引用文献は、本文中では引用順に右肩に番号をつけ、[文献]の項では著者名（すべて記載）、論文名、雑誌名、巻数、ページ（初め-終わり）、および西暦年号（括弧内に入れる）を、この順に記載する。尚、文献数は、原書は 30 以内、その他は 10 以内とする。総説においては、制限はない。

例）1）若宮ＯＯ、木下ＯＯ、・・・、井上ＯＯ．補体研究会の歴史．補体 52 : 222-240 (2015)

2) Matsushita M, Mizuno M, ・・・, Fujita T. OOOOOOO. *Mol. Immunol.* 44: 197-203 (2012)

3）書籍の場合

著者名．論文名．編者名．書籍名．都市名: 出版社名，ページ（初めー終わり）(発行年，西暦)

Kinoshita T, ・・・, Takahashi M. OO(論文名)OOO. In: Kinoshita T, Matsuo S, eds. “書籍名”. Tokyo: 所在地（都市名）:出版社名, 187-888 (2010)

8. 用紙は、上下 3.0 cm、左右 2.0 cm ずつのマージンをとる。

１０）　利益相反について

著者は投稿論文の内容に関わる内容について、利益相反状況を開示する必要がある。謝辞

のあとに利益相反について記載する。

記載方法

(1) 開示すべき COI がない場合：

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。

(2) 開示すべき COI がある場合：

本研究に関わる著者の COI 開示を以下に行う。1. 補体太郎　奨学寄付金（oooo 製薬株式会社)、2. 補体次郎　講演謝礼（OOO 製薬会社)、3.・・・・・。

１１）　送付先

日本補体学会学会誌「補体」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

水野正司　E-mail: mmizu@med.nagoya-u.ac.jp

フォントは、日本語は MS 明朝、英語と数字は Century かつ英字、数字は半角です。

演題名、氏名、所属は、中央に揃える

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。→

ループス腎炎における血清補体蛋白の解析

←演題名の文字サイズは、14 point

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。　→

補体　一郎 [1]、補体 花子 [1]、○○　○○[2]、・・・、補体　次郎 [2]

[1]補体大学大学院医学系研究科　免疫学、[2]補体大学附属病院 内科学

←氏名、所属、本文の文字サイズは、10 point

Analysis of serum complement components in patients with lupus nephritis.

Ichiro Hotai[1], Hanako Hotai[1], ○○　○○[2],・・・and Jiro Hotai[1]

[1] Immunology, Complement University Graduate School of Medicine,

[2] Internal Medicine, Complement University Hospital

英語の所属より１行あけてから←本文を印字

［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］

↓

［抄録］

ループス腎炎は、○○○

○○○○。

［結論］

○○○○

日本補体学会利益相反規程

第1条 定義

本会会員が、産学連携による研究をなす場合には、学術的・倫理的責任を果たすことによって得られる成果の社会への還元（公的利益）だけでなく、産学連携に伴って取得する金銭・地位・利権等（私的利益）が発生する場合がある。本会では、この状況が研究者個人の中に生じる状態を利益相反（conflict of interest: COI）と定義する。

第2条 利益相反事項の開示について

開示は、活動内容が、それに関連する企業や営利を目的とする団体にかかわる利益と関連する場合に限定し、関連のない場合は必要としない。関連する場合は、事業を行う本人、配偶者および住居を一にする1親等の者、生計を共にする者が、過去1年間において以下の第3条の（1）～（7）の事項に定める基準を超えて経済的利益関係をもつ場合に開示を行う。なお、企業や営利を目的とする団体に所属する者が、活動時にその所属を明らかにする場合は、開示を必要としない。

第3条 開示または自己申告が必要な事項と申告基準額は、以下の通りとする。

（1）企業や営利を目的とした団体の役員、顧問職については、一つの企業・団体からの報酬額が年間100万円以上はこれを申告する。

（2）株式の保有については、一つの企業についての1年間の株式による利益（配当、売却益の総和）が100万円以上の場合、あるいは当該全株式の5%以上を所有する場合はこれを申告する。

（3）企業や営利を目的とした団体からの特許権使用料については、一つの特許権使用料が年間100万円以上の場合はこれを申告する。

（4）企業や営利を目的とした団体から、会議の出席（発表）に対し、研究者を拘束した時間・労力に対して支払われた日当（講演料等）については、一つの企業・団体からの年間の講演料等が合計50万円以上の場合はこれを申告する。

（5）企業や営利を目的とした団体がパンフレット等の執筆に対して支払った原稿料については、一つの企業・団体からの年間の原稿料が合計50万円以上の場合はこれを申告する。

（6）企業や営利を目的とした団体が提供する研究費（受託研究費、奨学寄附金、委任経理金等）及び寄附講座について、発表内容に関連して一つの企業から支払われた受託研究或いは共同研究経費の総額が年間200万円以上の場合は申告する。奨学（奨励）寄附金については、一つの企業・組織や団体から、申告者個人または申告者が所属する部局（講座・分野）あるいは研究室の代表者に支払われた総額が年間200万円以上の場合とする。寄附講座については、企業・組織や団体が提供する寄附講座に申告者らが所属している場合とする。申告者が本項に定める企業や組織から個人的に受け取っている対価がある場合には別途申告する。

(7) その他の報酬(研究とは直接無関係な、旅行、贈答品等)については、一つの企業・団体から受けた報酬が年間5万円以上の場合は申告する。

第4条　学会学術集会等における利益相反事項の申告と開示

筆頭発表者及び責任研究者(非学会員を含む)は、本会が主催する学術集会、シンポジウム等で発表・講演を行う場合、本規程第3条に定める事項に関して、演題登録時から遡って過去1年間における発表演題に関連する企業との利益相反状態の有無を、様式1によって発表・講演時にこれを開示する。

第5条　学会誌『補体』等における利益相反事項の申告と開示

本会の学会誌『補体』等の発表を行う著者は、発表論文に関連する企業との利益相反状態について、本規程に沿い、様式2によって開示する。「開示」の記載内容は論文に掲載される。

第6条　役員等の利益相反事項の申告と開示

本会役員(理事・監事)、学術集会会長、倫理・利益相反委員会委員ならびに学会誌編集委員長は、本規程第3条に定める申告を行う。「役員の利益相反自己申告書」(様式3)にもとづき、就任時にこれを会長に提出する。様式2にて申告する利益相反状態は、本規程第3条記載の申告が必要な事項、及び申告基準額と同一とする。また、就任時から遡って過去1年間分を記入し、その期間を明示する。申告内容は、学会が行う事業に関連する企業や営利を目的とする団体に関わるものに限定する。在任中に利益相反事項に変更が生じたときは、すみやかに様式3にもとづき申告する。

第7条　利益相反事項の取り扱い

本会に提出された利益相反申告書は、会長を管理責任者とし、学会事務局内において、個人情報として厳重に保管・管理する。役員及び委員の任期を終了した者、又は委嘱の撤回あるいは辞任が確定した者等に関する利益相反申告書は、最終の任期満了等その職を辞した日から2年経過したときに、管理責任者の監督下において削除・廃棄される。但し、理事会が削除・廃棄することが適当でないと認めた場合には、当該申告者の利益相反申告書の削除・廃棄を保留できるものとする。学術集会会長に関する利益相反申告書に関しても学会役員の場合と同様の扱いとする。

2　利益相反内容は、本会の役員・関係役職者・関係機関役職者に対し、当該個人と本会の活動との間における利益相反の有無・程度を判断の上、管理責任者の書面による許可のもとに、本規程に従い、随時開示することができるものとする。開示は、利用目的に必要な限度を超えてはならず、また、開示が必要とされる者に対してのみ開示する。

3　利益相反内容は、原則として非公開とするが、必要があるときは、理事会の議を経て、必要な範囲で本会の内外に開示若しくは公開することが可能である。この場合、利益相反内容が開示若

しくは公開される当事者は、理事会に対して、事前に意見を述べることができる。

第8条 倫理・利益相反委員会

理事会が指名する理事若干名、および外部委員1名以上により、倫理・利益相反委員会を構成する。委員長は会長が指名する。倫理・利益相反委員会は、理事会、出版委員会との連携にて、本規程に定めるところにより、本会におけるCOIに関わる事項を取り扱う。

第9条 申告違反への措置

本学会誌などで発表を行う著者、および学術集会等の発表予定者が提出した利益相反自己申告事項について、疑義もしくは社会的・道義的問題が発生した場合、理事会は、倫理・利益相反委員会に対し、学会として社会的説明責任を果たすため、その問題に関して事実関係の調査と審議を行い、答申するよう諮問する。理事会は、倫理・利益相反委員会からの答申にもとづき、措置内容について決定する。理事会は、深刻な利益相反状態が見込まれ、かつ説明責任が果たせない虞がある場合には、緊急の措置として、当該発表予定者の学会発表や論文発表の差止め等の措置を講じることができる。

既に発表された後に同様の問題が発生した場合には、事実関係を倫理・利益相反委員会が調査し、掲載論文の撤回等の処分をなすことができる。また、理事会は、本会の社会的信頼性を著しく損なう場合には、本学会の定款にしたがい、会員資格などに対する措置を講ずる。

2 倫理・利益相反委員会が、役員、学術集会会長及び本規程において利益相反情報の自己申告が定められている委員等のなした利益相反申告内容に疑義が有ることを指摘した場合、同委員会委員長は会長に対し、文書をもって報告し、理事会は、役員及び委員の委嘱撤回等を含めた適切な措置を取ることができる。

第10条 措置に対する不服申し立て

審査請求と審査手続は以下のとおりとする。第9条の措置に対して不服のある者は、理事会議決の結果の通知を受けてから7日以内に、会長宛てに審査請求の申立てをすることができる。審査請求書には、理事会が文書で示した措置に対する具体的な反論・反対意見を、簡潔に記載するものとする。その場合、会長に開示した情報に加えて、異議理由の根拠となる関連情報を文書で示すことができる。

審査手続

(1) 会長は審査請求を受けた場合、速やかに利益相反問題管理委員会（以下、管理委員会という）を設置しなければならない。管理委員会は会長が指名する理事若干名、外部委員1名以上により構成され、委員長は会長が指名する。倫理・利益相反委員会委員は管理委員会委員を兼ねることはできない。管理委員長は、審査請求書を受領してから30日以内に管理委員会を開催し、その審査を行う。

(2) 管理委員会は、当該審査請求にかかる倫理・利益相反委員会・委員長、並びに審査請求者

から、直接意見を聞くものとする。但し、定められた意見聴取の期日に出頭しない場合は、その限りではない。

(3) 管理委員会は、特別の事情がない限り、審査に関する第1回の委員会開催日から2ヶ月以内に審査請求に対する答申書をまとめ、会長に提出し、理事会でその処分又はその取消を決定する。

第11条 本規程の変更

本規程は原則として、数年ごとに見直しを行うこととし、倫理・利益相反委員会で本規程の見直しのための審議を行い、理事会の承認を得るものとする。

附則

1 本規程は、平成28年1月1日から施行する。

2 本規程施行のときに既に役員に就任している者については、本規程を準用して速やかに所要の報告等を行わせるものとする。

作成見本　（記入用の書式は次のページにあります）

様式２

日本補体学会学会誌：自己申告によるＣＯＩ報告書

著者名：日本太郎、富士山花子　・・・　・・・（著者全員の名前を記載）
（共著者を含む）

論文題名：論文タイトルを記載

（著者全員とその対象者の配偶者，一親等の親族，収入・財産を共有する者が、投稿時から**遡って過去1年間以内**での発表内容に関係する企業・組織または団体との COI 状態を記載）

項目	該当の状況	有であれば、著者名：企業名などの記載
① 報酬額 1 つの企業・団体から年間 100 万円以上	有 ・ (無)	
② 株式の利益 1 つの企業から年間 100 万円以上，あるいは当該株式の 5%以上保有	有 ・ (無)	
③ 特許使用料 1 つにつき年間 100 万円以上	有 ・ (無)	
④ 講演料 1 つの企業・団体からの年間合計 50 万円以上	(有) ・ 無	例：日本太郎：〇〇製薬
⑤ 原稿料 1 つの企業・団体から年間合計 50 万円以上	有 ・ (無)	
⑥ 研究費・助成金などの総額 1 つの企業・団体からの研究経費を共有する所属部局（講座、分野あるいは研究室など）に支払われた年間総額が 200 万円以上	(有) ・ 無	例：日本太郎：〇〇製薬 富士山花子：□□□製薬
⑦ 奨学（奨励）寄附などの総額 1 つの企業・団体からの奨学寄附金を共有する所属部局（講座、分野あるいは研究室など）に支払われた年間総額が 200 万円以上	有 ・ (無)	
⑧ 企業などが提供する寄附講座 （企業などからの寄附講座に所属している場合に記載）	有 ・ (無)	
⑨ 旅費，贈答品などの受領 1 つの企業・団体から年間 5 万円以上	有 ・ (無)	

（本 COI 申告書は論文掲載後 2 年間保管されます）

（申告日）　20XX　年　XX　月　XX　日

（必ず押印）

Corresponding author（署名）　日本太郎　(日本)

様式２

日本補体学会学会誌：自己申告によるＣＯＩ報告書

著者名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（共著者を含む）

論文題名：＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

（著者全員とその対象者の配偶者，一親等の親族，収入・財産を共有する者が、投稿時から**遡って過去1年間以内**での発表内容に関係する企業・組織または団体との COI 状態を記載）

項目	該当の状況	有であれば、著者名：企業名などの記載
① 報酬額 1 つの企業・団体から年間 100 万円以上	有 ・ 無	
② 株式の利益 1 つの企業から年間 100 万円以上，あるいは当該株式の 5%以上保有	有 ・ 無	
③ 特許使用料 1 つにつき年間 100 万円以上	有 ・ 無	
④ 講演料 1 つの企業・団体からの年間合計 50 万円以上	有 ・ 無	
⑤ 原稿料 1 つの企業・団体から年間合計 50 万円以上	有 ・ 無	
⑥ 研究費・助成金などの総額 1 つの企業・団体からの研究経費を共有する所属部局（講座、分野あるいは研究室など）に支払われた年間総額が 200 万円以上	有 ・ 無	
⑦ 奨学（奨励）寄附などの総額 1 つの企業・団体からの奨学寄附金を共有する所属部局（講座、分野あるいは研究室など）に支払われた年間総額が 200 万円以上	有 ・ 無	
⑧ 企業などが提供する寄附講座 （企業などからの寄附講座に所属している場合に記載）	有 ・ 無	
⑨ 旅費，贈答品などの受領 1 つの企業・団体から年間 5 万円以上	有 ・ 無	

（本 COI 申告書は論文掲載後 2 年間保管されます）

（申告日）　　年　　月　　日

Corresponding author（署名）＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿ ㊞

一般社団法人日本補体学会入会のご案内

日本補体学会では随時入会を受け付けております。

日本補体学会入会申込書（日本補体学会ホームページからダウンロードできます。http://square.umin.ac.jp/compl/Admission/admission.html）に必要事項をご記入の上、日本補体学会事務局宛にファックスしていただくか、または必要事項を E-メールでお知らせ下さい。折り返し年会費納入のご案内をさせて頂きます。

年会費（7 月～翌年の 6 月）は、一般会員 5,000 円、学生会員 3,000 円、賛助会員 30,000 円/1 口となっており、年会費を納入されると同時に会員となられます。会員の皆様には、日本補体学会学術集会の開催案内をはじめ、いろいろなご連絡を差し上げるほか、日本補体学会学会誌「補体」（日本補体学会学術集会講演集を含む）をお送りいたします。

＜連絡先＞

一般社団法人日本補体学会事務局　（事務局長：井上徳光）

〒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

Tel & FAX: 06-6314-6802

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

<必要事項＞

ご氏名（ふりがな）、Name（ローマ字）

ご連絡先（ご所属先名前、ご住所、電話、FAX、E-メール）

郵便等送付先ご住所（連絡先と異なる場合）

学生の方は学年と学生証番号 (学生証の写し)、指導教員の氏名と所属

一般社団法人日本補体学会入会申込書

〒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
一般社団法人日本補体学会事務局宛
Tel & FAX: 06-6314-6802
E-mail: hotai-gakkai@umin.ac.jp

一般社団法人日本補体学会に入会いたします。

申込日(西暦)　　年　　月　　日

ふりがな
氏名 ……

Name(ローマ字) ……

所属 ……

所属先住所　〒 ……

……

郵便等送付先住所　〒 ……
(所属先と異なる場合)

……

TEL ……

FAX ……

E-mail ……

□学生（学年：　　学生証番号：　　）

□指導教員氏名・所属（　　）

□学生証のコピーをお送りください。

学会誌の転載許諾基準および転載許諾申請方法

一般社団法人　日本補体学会
2017 年 2 月 9 日 施行

学会誌「補体」に掲載された著作物の著作権は一般社団法人日本補体学会に帰属しています。本誌に掲載された著作物を利用する者は、以下の規約を遵守することが求められます。

著者以外が利用する場合

＜非営利目的の研究、教育目的のために引用する場合＞

許諾を求めることなく、「補体」に掲載された論文について、以下を利用することができます。

1. テキストの抜粋
   - 出典を明示すること。
   - 引用する必然性があり、引用部分が明確に区分されていること。
2. 図表の転載
   - 文献記載例に倣い、出典を明示すること。
   - 改変は不可とする。
   - 1 論文単位図表 3 点までの転載を可とする。

＜商業目的に利用する場合＞

転載許諾の申請を行い、規定の料金をお支払ください。

1. 許諾対象
   - 図表に限る。
   - 本文の転載は原則不可。
   - 改変は原則不可。ただし、改変が必要な場合は事前に事務局に内容を明示して、申請を行い、会長、事務局、編集委員長がこれを許可した場合に限り、改変することができる。なお、改変した内容についての記載を図表の説明文に加えるものとする。
2. 許諾条件 ※転載許諾願*（別紙）の提出を必須とする。
   (a) 以下の各媒体への利用は有料とする。
   (1) パンフレット等の紙媒体
   (2) プレゼンテーション（パワーポイント等での上映）
   (3) Web への掲載
   - コピーおよびダウンロードできない形式で掲載すること。
   - URL を編集部まで連絡すること。
   - 6 ヶ月を超えての掲載は不可とする。転載許諾願の「5．使用開始予定日」の項目に掲載開始年月日及び終了日を明記すること。

   (4) その他
   (b) 筆頭著者の確認を得ること。
3. 利用者による料金
   (a) 図表 1 点につき 10 円とし、これに紙媒体の複写数を乗じる金額（税別）とする。
   (b) プレゼンテーション（パワーポイント等での上映）および Web 等への掲載など複写数が正確に把握できないものについては、1 点につき 50,000 円（税別）とする。
   (c) 転載許諾料は請求書送付後 1 ヶ月以内に指定の口座に振り込むこととする。
4. 転載申請方法

転載希望の場合は、上記転載許諾基準を確認し、転載許諾願*（別紙）に必要事項を記入の上、転載元論文コピー、転載先原稿コピー、返信用封筒を同封して、事務局まで 2 部郵送してください。転載元論文及び転載先原稿コピーは、転載箇所及び引用文献（出典）の記載内容が確認出来るものをご用意ください。

転載許諾願受領後、会長、事務局、編集委員長がその判断で許諾するかどうかを決定し、許諾する場合、転載許諾書（請求書も同封）を郵送しますので、受領後 1 ヶ月以内に指定口座まで転載料金のお振込みを

お願いします。

著者が再利用する場合

「補体」に論文が掲載された著者は、科学活動、授業、および学術コミュニケーションを支援する目的に限定した範囲で、自分の論文を使う権利を保有します。著者は、学会誌に掲載された著作物（以下、「論文」といいます。）の著作権を学会に譲渡した後も学会の事前の許諾なしに、以下のことを行うことができます。なお、以下に規定されていない事項は許諾されていませんのでご注意下さい。

※ただし、営利目的または組織的な利用は認められていません。
※著者が作成したバージョンの最終原稿の利用のみ認めます。雑誌・Online Journal 掲載用に出版社が作成した原稿の使用は認めません。
① 個人的な使用または著者自身の授業での使用のために、著者の論文のコピー（紙または電子）を作成すること。
② 論文のコピーを作成し、個人的な使用の目的で配布すること（電子メールによる配信も含む）。
③ ミーティングあるいはカンファレンスで論文を紹介し、コピーを出席者に配布すること。
④ 著者の雇用主が、論文の全部または一部を社内または学内の研修などで使用すること。
⑤ 論文に記載されている特許、商標登録、工程または手順に対する権利を保持すること。
⑥ 論文の全部または一部を使用して他の派生的な著作物を作成すること（論文を書籍の長さに拡張することを含む）。各著作物には、出典として、オリジナルの論文が「補体」に掲載されたことを記載する必要があります。
⑦ 著者個人や著者が属する機関などの Web ページなどに掲載すること*。
*「機関リポジトリへの登録について」参照

機関リポジトリへの登録について

「補体」に掲載された論文について、下記条件を遵守することにより、著者によるインターネット公開を認めます。

1．下記 Web ページに限り、公開を認める。
①著者個人の Web ページ
②著者が属する機関等の Web ページ（機関リポジトリも含む）
③研究資金助成機関の Web ページ
但し、③の研究資金助成機関の公開については、出版後 12 ヶ月経過後を条件とする。
2．インターネット上で公開する場合の形態
①著者が作成したバージョンの（最終）原稿であれば認める。
②雑誌・Online Journal 掲載用に出版社が作成した原稿の使用は認めない。
3．インターネット上で公開する場合の条件について
●「補体」掲載論文
① 事前に下記日本補体学会事務局および水野正司 編集委員長に連絡をし、会長の許諾を得ること。
日本補体学会事務局：hotai-gakkai@umin.ac.jp
「補体」水野正司 編集委員長：mmizu@med.nagoya-u.ac.jp
② 論文とともに、掲載されていた雑誌の情報を表示する（出典表示）
且つ、下記、電子ジャーナルのサイトへのリンクを表示する。
http://square.umin.ac.jp/compl/activity/

平成　　年　　月　　日

一般社団法人　日本補体学会　御中

住所：〒　　－
依頼事業者名　　印
部署名　　担当者名　　印
電話　　（　　）　　e-mail　　@

転 載 許 諾 願

貴学会の転載許諾基準に則り、下記の出版物から転載させていただきたく、お願い申し上げます。

１．転載許諾を希望する誌名および該当箇所
誌名（掲載年・巻号も明記）：
筆頭著者名：
（該当頁，図表：　　）
（図表の場合は，図表番号を明記すること）

２．転載先媒体等

□利用形態（書籍名、パンフレット、CD-R、ウェブサイト等）
（　　）

※配布物の場合は配布部数を明記：　　部

３．利用者名

４．利用目的

５．使用開始予定日
（※ウェブサイト掲載の場合、掲載開始年月日及び終了日を明記）

以　上

転 載 許 諾 書

上記申請につきまして、転載を許可いたします。
なお、下記の条件に必ず従ってください。

■筆頭著者に必ず確認すること。
■引用元の出典を明確に記載すること。

平成　　年　　月　　日
一般社団法人　日本補体学会
会長　若宮　伸隆　　印

・・・・編集後記・・・・・

今年も年の瀬が近づいてきました。一年はあっという間に過ぎていきます。学会員の皆様にとっては、どのような一年でしたか？今年度から日本補体学会では、学術集会の際にこれまでの優秀賞に加えて、新進気鋭の若手研究者のために奨励賞が新たに作られました。また、今年はICW開催の年であり、ICWからTravel Award、Poster Presenting Awardを受賞された先生、学生の学会員に積極的に発表していただくために、日本補体学会によるサポートを受けられた先生方など4名による発表報告を本号に掲載させていただきました。

本号編集にあたり、井上徳光先生、今井優樹先生、事務局の方々には、ご多忙の中ご尽力をいただきました。この場を借りて深く感謝致します。

これまで本誌の寄稿は、編集部から直接依頼させていただいたものがほとんどですが、今までも、そしてこれからも、会員の皆様からの投稿を広く募集しております。ご投稿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55巻　第2号　(2018)

平成30年12月15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
〒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
一般社団法人日本補体学会事務局
Tel & FAX: 06-6314-6802
E-mail: hotai-gakkai@umin.ac.jp
URL: http://square.umin.ac.jp/compl/index.html
印　刷　所　株式会社クラスタップ
〒540-0039　大阪市中央区東高麗橋1－10　ユニ高麗橋ビル105
TEL：06-4801-8277　Fax: 06-6809-2887