

補体

VOL. 51. No.1 (2014)

目次

■補体研究会会長就任のあいさつ	若宮伸隆 … 3
■国際補体ワークショップの日本開催について	藤田貞三 … 5
■補体シンポジウム 50 年の歴史	北村 肇 … 6
■遺伝性血管性浮腫 (HAE) ガイドライン 2010 -作成の背景とその意義-	堀内孝彦 … 16
■補体シンポジウム優秀賞候補者募集のお知らせ	… 21
■補体研究会入会のご案内	… 22
■会員登録事項変更届	… 24
■第 51 回補体シンポジウム講演集	
補体シンポジウムによせて	畑中道代 … 25
参加案内	… 27
日程表・プログラム	… 30
招待講演 “Non canonical roles of the complement system at maternal-fetal interface”	Roberta Bulla … 39
特別講演 1 「制御性 T 細胞による免疫応答制御」	坂口志文 … 41
特別講演 2 「補体と発作性夜間ヘモグロビン尿症」	木下タロウ … 42
ミニシンポジウム 遺伝性血管性浮腫の現状	大澤 勲・堀内孝彦 … 44
ランチョンセミナー 補体測定 of 歴史と今後	北村 肇・他 … 52
一般演題	… 55
■補体研究会会則・細則	… 99
■補体研究会賛助会員・幹事一覧	…102
■編集後記	…103

補体研究会会長就任のあいさつ

若宮 伸隆

旭川医科大学 医学部 微生物学講座

平成 25 年 7 月 4～6 日旭川で行われた第 50 回補体シンポジウムに、多くの補体研究者のご参加を賜り、誠にありがとうございました。雨男である私のせいで、中日夕方には若干の雨が降りましたが、懇親会中に雨もやみ、若手、壮年研究者の和やかな歓談や討論の光景が多くみられたことで、参加者皆様が、この補体研究会と北海道の味覚を楽しんでいたと感じ、大変うれしく思いました。

さて、この第 50 回の記念すべき補体シンポジウムの運営委員会と総会で、木下タロウ先生の後任として若宮が 4 年間会長を務めるように推挙されました。補体研究会への参加の歴史が浅く、研究会に大した貢献もしていなかった私が、会長を務めるのは力不足という思いを持ちましたが、私が行ってきたコレクチン研究や小児科医から出発したキャリアが皆様のお役に立てることがあると信じ、会長を引きうけることにしました。

ここ数年の補体研究は、大きな転換期を迎えていると感じます。遺伝性血管性浮腫（HAE）は、C1 インヒビター（C1-INH）の量的または質的欠損でおこる疾患でありましたが、日本での患者把握が進んでおらず、補体研究会が率先してその疾患の啓蒙や治療ガイドラインの策定に貢献しました。その結果、多くの患者さんに C1-INH 製剤（商品名ベリナート®P）が適切に投与され、福音がもたらされました。また、補体関連薬としての初めて分子標的薬で

ある、抗 C5 単クローン抗体 Eculizumab（商品名 Soliris）が、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）に対する薬として 2010 年に認可され、実際に使用され非常に良い結果が得られました。さらに、この分子標的薬が、PNH 以外の疾患である aHUS（非典型溶血性尿毒症症候群）に対しても効果を発揮し、昨年 9 月に厚生労働省に認可され、補体関連薬として注目すべき薬となりうることを世間に知らせました。

いままで、補体研究という研究分野は存在してきましたが、補体関連因子に対する抗体や因子そのものが薬剤として実際にはそれほど成功しなかったために、臨床医の補体研究者が減少してきた歴史があります。本研究会もその影響をうけて、補体研究会の会員が大幅に減少しました。しかし、今回の補体シンポジウムにおいて、今まで参加されなかった分野の臨床の先生方の参加がみられ、さらに今回残念ながら発表に至りませんでした。次回は是非参加したいというご意見も多数お聞きしました。よって、私の感想では、会員数の減少が木下会長時代に底をうって、現在はあきらかに会員数の上昇モードに入ったように感じております。

そこで私の役割としては、今までの非臨床系補体学という分野はさらに高みを目指すことはもちろんですが、この臨床系補体学というべきジャンルを拡大して、より多くの臨床系研究者の参加を促したい

と思っております。さいわい、HAE のガイドライン作りに多大の貢献をされた堀内孝彦先生（九州大学病院 別府病院内科）に会長補佐を引きうけていただきましたので、井上徳光事務局長と 3 人で協力して頑張っていきたいと思っています。

また、国際補体ワークショップ（ICW）は、1993 年に大阪大学井上教授により開催されましたが、本ワークショップを 2016 年金沢に誘致することを、運営委員会で決定いたしました。そして、ICW 誘致のために、2013 年に開催された補体関連の国際会議に出席し、そこで行われる運営委員会での働きかけを行い、2016 年 ICW 金沢の開催が決定いたしました。そこで、2016 年 ICW 金沢の成功のためにも、

すこし遠方ですがブラジルで開かれる 2014 年 ICW に、是非多くの日本人研究者の研究発表を望みます。

最後になりますが、補体研究会は、次世代の補体研究者へ良い状態でバトンを渡せるように、平成 26 年度内に法人化と日本学術学議に協力する「学術研究団体」に認定されることを考えております。その第一歩として、平成 26 年度の神戸での補体シンポジウムの講演集を学会誌「補体」に変更させていただきます。執行部は、このように精一杯努力いたしますので、4 年間どうぞよろしくお願い申し上げます。

国際補体ワークショップの日本開催について

藤田 禎三

福島県立総合衛生学院

国際補体ワークショップ (ICW: International Complement Workshop) は、ICS: International Complement Society (国際補体学会) が主催する補体研究の国際会議です。1963年に第1回のICWがワシントンのベセスタで開催され、その後ほぼ2年に1度開催されています。日本では、1993年に京都で大阪大学井上教授により第15回ICWが開催されました。今年、第25回ICWが9月14日から18日までブラジルのリオデジャネイロで開かれます。ICSは、補体研究の発展のために寄与してきた中心的な学会です。ICSは、Focus on Complementを年に四回発行するとともに、補体成分の命名法や補体測定法の標準化を行っています。ICSの詳細内容は、ネット (<http://www.complement.org>) から見る事が出来ます。

次回のICWは、2016年9月4日から8日まで金沢で開催されることが決定しております。現在、ほぼ決定している予定は、以下の通りです。

- 9月4日(日) Teaching day、Welcome party
- 9月5日(月) 学会(口頭発表、ポスター発表)
- 9月6日(火) 学会(口頭発表、ポスター発表)
- 9月7日(水) 学会(口頭発表、Excursion)
- 9月8日(木) 学会(口頭発表、Gala dinner)

Teaching dayは、ICSが主催する学生、大学院生、ポスドクのための入門コースです。Welcome partyは、金沢城の五十間長屋を予定しております。

Excursionは、世界遺産の白川郷観光と兼六園などの市内観光を考えています。

日本の補体研究は、これまで補体研究会を中心に、ICWとほぼ同じ歴史を持っております。ICW 2016 KANAZAWAは、日本の補体研究のさらなる活性化のために企画されたものです。学会開催まで2年ほどですが、今から参加する準備をされることを強く希望いたします。

(図は、ICSに提出した企画書の表紙です)



補体シンポジウム 50 年の歴史

北村 肇

神戸常盤大学 保健科学部 客員教授

《はじめに》

補体シンポジウムは、50 周年を迎えた。第 1 回は東京オリンピックと東海道新幹線開通の好景気に沸く 1964 年、(集会長)進藤宙二先生、(世話人)西岡久寿弥先生により、箱根で行われている。記録によると、C'3 と呼ばれていた補体成分は C3'c~C3'd の 6 種の異なるタンパク(後の C3~C9)からなることが発表されている。当時補体は新しく発見された“謎多き血清タンパク群”であった。以来、半世紀に亘り、補体シンポジウムは毎年欠かさず開催され続けている。そこで発表された内容は、私たち補体研究者が情熱を持って追求してきた足跡であり、まさに夢の証である。50 年間積み重ねた成果は目覚ましく、今では補体系の全容の大凡がわかるまでになっている。

今回、若宮会長からの依頼を受け、今後の更なる補体研究会の発展を期待して、この 50 年の歴史を振り返ってみる。本文は、主として各期の抄録集からのデータを元に、筆者の独断と偏見により纏めたものであることを予めお許しいただきたい。

《研究テーマの変遷》

各期開催の補体シンポジウムの内容を、表 1 にまとめた。50 年を前期、中期、後期の 3 期に分けて、その報告内容の変遷を考えてみた。

前期 (第 1 回から第 17 回まで) …黎明期

この時期は、補体シンポジウム黎明期、すなわち、発見と問題提起の時期である。

第 1 回で発表された新しい補体タンパクの、国際学会での統一名称が第 4 回で報告されている。当然のことながら、当初の補体経路は古典経路のみしかなく、補体成分の精製法と測定法が次々と報告された。特に、溶血活性法、免疫粘着現象 (Immune Adherence, IA) や特異抗体を使ったゲル内沈降反応 (電気泳動法やオクタロニー、SRID など) が頻用さ

れ、古典経路活性化機構、膜侵襲複合体 (MAC) 形成機構、補体成分の構造や活性化による分解などの研究が進んだ。補体成分の中では、C3 の conversion を含む、C3 に関する話題や C1 の subcomponent の研究が登場している。

初期の補体機能の研究は、免疫溶解や免疫溶血が中心であった。後に、chemotactic factor、貪食 (第 13 回) や免疫複合体の可溶化 (第 16 回) が登場し、補体の多機能ぶりが明らかになっている。

第 2 経路の報告は、第 10 回に GBG (後の B 因子) として初めて登場し、第 11~13 回には、ザイモザン、Properdin、B 因子、CVF-B 複合体の報告が見られる。

補体制御タンパクでは、C1-inactivator (INA) が第 2 回に (C1 destroyer として) 登場、第 4 回にはその精製法が報告されている。第 14 回には、I 因子、H 因子も登場する。補体レセプターについては、第 6 回の IA レセプター (後の CR1) が最初であろう。赤血球膜上のレセプターとして、第 10 回及び第 13 回に報告がある。第 15 回には I 因子のコファクター、第 16 回には C4bp も登場する。マウスやモルモットなど実験動物の補体に関する報告も多い。

臨床研究では、各種の疾患患者血清中の補体測定が始まっている。手法は、主として補体成分のタンパク定量やオクタロニー、補体価 (CH50) などの溶血活性法で、疾患は、SLE や肝疾患、腎疾患の報告が多い。第 5 回に遺伝性血管性浮腫 (H(A)N(E)) が登場し、第 8 回には、発作性夜間血色素尿症 (PNH) に於ける補体の関わり of 最初の報告がある。第 16 回には、C1q を介する免疫複合体定量法が発表されている。第 11 回には、肝疾患患者に多く見られる「血清と血漿の補体価の乖離」が複数の異なる研究機関から報告され、第 12 回にその原因は、採血後の低温による古典経路活性化であることが明らかになり、Cold Activation 現象と名付けられた。第 14 回には C3 Nephritic Factor (Nef) の報告が見られる。世界初の C9 欠損症 (第 15 回) や複数の C3 欠損症例 (第

16回)の報告もあった。他には、C3やC4などの多型性と遺伝子座の研究が始まっている。

このように、この時期は、補体に関する種々のタンパクや興味深い現象の発見が相次いだ時期である。ただし、その現象のメカニズムについては、未だ解明されていない頃でもあった。筆者は、第7回から出席しているが、特にこの頃の補体シンポジウムは、毎年いくつもの新しい知見が次々と登場し、非常に exciting な会合であった。

中期 (第18回～第34回) …発展期

この時期は、前期の黎明期に続く発展期であり、初期に提示された現象の機構的解明が進んだ時期でもある。

基礎研究では、補体成分のタンパク構造の研究が進み、第23回にはC3高次構造、第24回にはC1s、B因子、C5転換酵素の構造が報告されている。機能としては、chemotactic factor、免疫沈降阻止、免疫複合体の可溶化やその clearance 機構、C3dによる抗体産生増強などが詳しく報告されている。

制御因子の報告も相次いだ。第18回では、補体による侵襲を逃れる赤血球の膜タンパクの追求の報告があり、その7年後の第25回には、2つの異なる研究機関から、新しい膜タンパクの発見として同時に発表された。これが後のCD59である。他の制御因子としては、第23回にはDAF、第24回にはMCP、第28回にはSP-40,40が登場している。レセプターでは、第22回にCR2の報告がある。

レクチン経路の最初の報告は、第24・25回のRaRFであろう。第29回にMBP、第31回にMASPが報告され、これ以降の本格的なレクチン経路の解明に繋がる。

PNHでは、赤血球にGPIアンカータンパクが欠損していることが判明した(第25回)。第30回には、PNH病因遺伝子PIG-Aの解析が始まっている。

系統発生では、*Xenopus*のB因子、C3、C4の発現、メダカのB因子とC3、コイC3とC3レセプターのcDNAクローニング、マボヤの補体系など多数に亘る。

また、*in vitro*での補体成分産生の報告も最盛期を迎える。第28回には、血管内皮細胞によるC1q、C4、C2の産生、マウス白血球によるC3の産生、単球系細胞株P31によるC3の産生、ヒトメサンギウム細胞によるDAFの産生などの報告が見られ、*in vivo*では、肝臓だけではなく、必要に応じて局所で補体成分が産生されることが示唆された。

臨床研究では、各種の補体成分欠損症例が数多く報告された。そのうちの1つ、C3欠損症患者血清の解析(第19回)から、C3 bypass経路の存在も報告された(第20回)。補体成分欠損症の我が国での頻度については、献血者集団の解析(第21回)から明らかになり、特にC9欠損症は、欧米よりも遥かに高頻度であることが示された。第28回と第34回には、補体欠損症の遺伝子解析が報告されている。

疾患との関係では、古典経路のNeFや膜性増殖性糸球体腎炎(MPGN)と補体、あるいは慢性腎疾患における血清中や尿中のD因子の増加(第26・27回)、透析患者の補体など、腎疾患に新しい報告が多く見られる。興味深かったのは、脂質と補体の関係に関する報告(第29・30回)であった。移植における補体の動き(第23回)やbio-materialと補体(第22回)の相互反応の解析も進んだ。なお、第30回には、Cold Activation現象はC型肝炎患者に起こることが報告されている。同現象の発見から18年後に当たる。

このように、この時期は、レセプターや制御因子の発見が相次ぎ、第2経路やレクチン経路の存在、更には各種の細胞との関わりも明らかになり、補体系のアウトラインが見えた時期であるといえよう。

後期 (第35回～第50回) …拡張期

狭義の補体学は、中期でそのあらましが解明され、この時期は、補体系以外の分野(コレクチンファミリーや自然免疫)との関連が注目されてきた時期であるといえる。同時に、補体関連タンパクとして発見された因子が、発生や発達に大きく関わる因子であることが判明しつつあることも特徴的である。

まず、基礎研究では、2種類のMASP(第35回)、ficolin (ficolin/P35と博多抗原)(第38回)、Ficolin AとFicolin B(第40回)、L-ficolin/MASP複合体のLP活性化機構(第44回)など、次々とレクチン経路の詳細が明らかにされた。第46回には、コレクチン(CL-P1など)が登場した。この経路は、ホヤなどの原索動物ですでに発現されており、起源は古く、自然免疫あるいは先天性の生体防御に大きく関わることを示された。

また最近では、MASP1/3欠損症と3MC症候群(第49回)、GPI欠損症とMabry症候群(第50回)など、補体関連タンパクが発生や発達に関わるタンパクであることが示されたのは、非常に興味深い。PNHの基礎研究も大いに進み、GPIの生合成の経路が明らかになり(第40回)、またクローン拡大に

表1 補体シンポジウム 50年の年表

年 開催地 集会長	社会の 重大ニュース	主たる出席者、 初参加者(初) or 座長(座)	主たるテーマ
第1回 1964 箱根 進藤宙二	東京オリンピック、 東海道新幹線 開通	進藤宙二、橋武彦、藤井源七郎、西岡久寿弥、高橋守信、真弓忠、松橋直、井上公蔵、稲井真弥、永木和義、酒井好古	抗体の補体結合 C'3群は、C'3c, C'3b, C'3'e, C'3'f, C'3'a, C'3'dへ EAC1とC4の反応の基礎 免疫粘着現象(Immune Adherence, IA) IAによる補体定量
第2回 1965 六甲 稲井真弥	日韓基本条約 調印	(初) 鳥巢要道、深山昭雄、岡田秀親、近藤元治	補体成分(C2など)の精製 C1(polymerとmonomer), C1 destroyer モルモットの補体、C3の電気泳動 疾患患者血清の補体価やIA活性測定
第3回 1966 箱根 進藤宙二	ビートルズ来 日	(初) 田村昇、大河内一雄、米増国雄、長島秀夫、吉田孝人、浅野誠一	ヒトC2の精製とEAC142のdecay ヒト補体とモルモット補体の抗体の交差反応 β 1C-Aのconversion C4の免疫電気泳動、SLEなどの補体価
第4回 1967 東京	美濃部革新都 政、 ミニスカート	(座) 西岡、田村、橋、小林敏夫、長島、稲井、藤井、勝田保男	C1-inactivator(INA)の精製 免疫殺菌、免疫食菌反応 C3と β 1C、SLEのCH50と β 1C 国際会議報告:nomenclature(C'3d→C'9など)
第5回 1968 東京 浅野誠一	三億円事件、 日本初の心臓 移植	(初) 関根輝彬、島田孝吉、白石聡、広瀬俊一、谷本潔昭	抗補体成分抗体作成 C3 inactivator 精製、aggregated γ -gl ヒト白血球のIAレセプター 遺伝性血管性浮腫(Hereditary angioedema, HAE)症例
第6回 1969 東京 西岡久寿弥	アポロ11号人 類初の月面着 陸、 安田講堂攻防	(初) 奥田智子、松浦美喜雄、横張龍一	抗補体成分抗体作成 EAC1-8の溶血 C3のtrypsinによる分解 IAの応用(抗原あるいは抗体検出/定量) IAレセプター
第7回 1970 金沢 西岡久寿弥	大阪万博、 三島由紀夫割 腹自殺、 よど号事件	(初) 河島敏夫、辻孝夫、天野哲基、北村肇	各種疾患の補体測定 (SLE、自己免疫性溶血性貧血、RA、慢性肝疾患など) C4欠損ヒト血清(後のCold Activation現象?) 蛍光抗体法、肝組織のC4&C3 ヒト株化細胞によるC4産生
第8回 1971 大阪 稲井真弥	ドル・ショッ ク、 スモン訴訟	(座) 高橋守、真弓、橋、田村、永木、井上公、西岡、近藤 (初) 手島秀毅、村松睦、西岡久寿樹、藤田禎三、	発作性夜間血色素尿症(PNH) リンパ球マーカーと補体、C1欠損モルモット ヒト血清中の β 1C/1Aと β 1E定量 モルモットC3の構造と活性 免疫溶血反応の最終step
第9回 1972 横須賀 西岡久寿弥	浅間山荘事件、 札幌五輪、 沖縄復帰、 上野動物園に パンダ	(初) 行山康、高橋セイ	C1r精製、C1q精製、 C1-INAの精製&反応 モルモットC3、マウスC3 EAC1-8とC9 肝移植後の血清中C4、C3及びC5の動き
第10回 1973 福岡 鳥巢要道	石油危機、 金大中拉致事 件、 江崎玲於奈に ノーベル賞	(座) 井上公、真弓、田村、橋、岡田秀、酒井、近藤、園崎秀吉、永木、鳥巢、米増、広瀬、高橋守、谷本 (初) 飯田恭子、山本健一、大井洋之、尾上薫	EAC14作成TTHA法、SRIDによるC9定量 無脊椎動物(カイコ)の補体 C3の分解 IAレセプターとは別のC3レセプター GBG(後のB因子)

第 11 回 1974 岡山 小坂淳夫 大藤真	田中金脈問題、 佐藤栄作にノ ーベル賞、 ニクソン辞任	(座) 井上公、田村、岡田 秀、酒井、近藤、永木、鳥 巢、稲井、大藤真、広瀬、 高橋守、西岡 (初) 木下 タロウ、長沢滋治、松本美 佐子	活性型 C56 複合体 血清と血漿の補体価の乖離 (凝固と補体) C9 と炎症 ザイモザンの血清補体への影響 Wegener 肉芽種で CH50 上昇
第 12 回 1975 愛知県幸 田町 進藤宙二	ベトナム和平、 第 1 回サミッ ト、 天皇訪米		Cold activation 現象 AP 活性化機構、 AP 測定法 Properdin の精製、B 因子、コブラ毒因子 (CVF) GBG (後の B 因子) の多型性 グルカンやムコ多糖体による補体第 2 経路活性化
第 13 回 1976 東京 宮沢正栄	ロッキード事 件		補体測定 (腎移植・透析、IgA 腎症、高齢者など) 抗補体活性 cryoglobulin など 炎症局所の好中球遊走因子、 Properdin、 CVF-B 複合体、 ヒト赤血球の C3 レセプター
第 14 回 1977 札幌 平井秀松	日航機ハイジ ャック事件、 有珠山爆発	(初) 竹村周平、中西功、 福岡良博、岡田則子、高田 明和	膜増殖性糸球体腎炎(MPGN)と Nephritic Factor(NeF) C1 分子内活性化機構 H 因子の反応と作用機作 C3b INA の作用機作 補体レセプターの組織内分布、リンパ球
第 15 回 1978 大阪 井上公蔵	日中平和友好 条約調印、 成田空港開港	(初) 洪郷秀	C9 欠損症の第 1 例 K-76-COOH マウス C1q、マウス C4 I 因子のコファクター
第 16 回 1979 別府 酒井好古	日本坂トンネ ル事故	(座) 岡田、長沢、広瀬、 高橋、井上、永木、近藤、 鳥巢、深山、辻、橘、北村、 白石、手嶋、行山、天野 (初) 西向弘明	C1q binding test & C1q deviation test C4bp、 免疫複合体の可溶化 マクロファージによる B 因子産生 マウス C3 の遺伝子座、 C3 の多型性、 C3 欠損症 2 例
第 17 回 1980 仙台 橘武彦	川治温泉でホ テル火災、 1 億円拾得事 件	(座) 長沢、高田、稲井、 井上、広瀬、鳥巢、深山、 天野、近藤、酒井、西岡、 永木、高橋、北村、田村、 米増、岡田、藤田 (初) 野中勝、瀬谷司	下等動物の補体 ニジマス マウスの C4、マウス C3 の遺伝子座 C4bp の遺伝子座、 C4 の多型性 単球による H 因子産生 C3 NeF、 C9 欠損症 3 題
第 18 回 1981 大津 近藤元治	神戸ポートピ ア、 福井謙一にノ ーベル賞	(座) 西岡、永木、深山、 橘、酒井、稲井、岡田、竹 村、嶋田孝吉、高橋、辻、 天野、鳥巢、白石、高田、 行山、田村、井上	血液透析膜による補体活性化 C4NeF、 H 因子 Chemotactic factor C4 の分解
第 19 回 1982 松山 白石聡	日航機羽田沖 墜落、 ホテル・ニュー ジャパン火災	(座) 稲井、北村、近藤、 行山、橘、鳥巢、井上、深 山、高橋、岡田、田村、内 海 (初) 鈴木好夫、赤垣洋二、 松下操	レーザーネフェロ法による定量 C9 欠損症のスクリーニング C1q 欠損症、 C5 欠損症 補体による免疫複合体沈降反応阻害と可溶化 C3 欠損症患者血清中の C3 様因子 ニジマスの補体
第 20 回 1983 東京 西岡久寿 弥	大韓航空機墜 落、 三宅島大噴火、 東京 DL 開園、 おしん	(座) 高田、広瀬、田村、 北村、長沢、奥田、岡田、 行山、井上、藤田、鳥巢、 永木、近藤、白石、天野、 酒井、稲井、高橋、橘、深 山 (初) 富田基郎、竹田 潤二、徳永勝士、福森康雄	補体の障害から自分を守る赤血球膜物質 各種疾患の赤血球 C3b レセプター HANE のダナゾールによる治療 献血者の補体成分欠損症頻度 C3d レセプター (後の CR2 or CD21) C3 非依存性溶血反応 (C3 bypass 経路)

第 21 回 1984 大阪 稲井真弥	グリコ・森永事件	(座) 大井、中西、高橋、岡田、田村、高田、永木、藤田、内海、長沢、深山、北村、井上、広瀬、飯田、行山、近藤、奥田、山本健一、天野、酒井、白石	透析と補体、 SLE 患者赤血球の CR1 モノクローナル抗体による解析 (C1s、C4bp) reactive lysis、 B 因子阻害タンパク 合成高分子材料による補体活性化 免疫複合体結合 C3 と赤血球 CR1 との結合
第 22 回 1985 名古屋 深山昭雄	日航ジャンボ機墜落、豊田商事、ロス疑惑	(座) 酒井、大井、米増、永木、天野、行山、長沢、藤田、岡田、稲田、飯田、奥田、坂井、徳永、北村、稲井、白石	bio-material と補体 C4b 分子内の C2・C4bp 結合部位 C3 非依存性 C5 活性化、 単球の CR2 抗 CR2 によるリンパ球増殖 (C3d による抗体産生増)
第 23 回 1986 東京 田村昇	三原山大噴火、チェルノブイリ原発事故	(座) 近藤、北村、高橋、徳永、稲井、大井、西岡、行山、長沢、深山、岡田、奥田、広瀬、天野、井上、橋 (初) 宮川周士、安田正之、神宮政男、杉田雄二	遺伝的変異と疾患、 MPGN と補体 C5a 測定法、 C3 高次構造 ラット心移植時の補体変動、 赤血球より CR1 精製 LPS、活性酸素、血管内皮細胞による補体活性化 マウス Slp 遺伝子、 C9 欠損症の遺伝子解析 DAF の構造と PNH での欠損
第 24 回 1987 福岡 岡田秀親	地価の異常、利根川進にノーベル賞	(座) 北村、酒井、行山、高岡、天野、富田、高橋、米増、奥田、長沢、木下、岡田、藤田 (初) 高岡哲朗、山本哲郎、川上正也 特別講演: Müller-Everhard & Irma Gigli	血清殺菌因子 Ra-reactive factor (RaRF) C1s の構造と機能 B 因子の C3b との結合部位 C5 転換酵素の構造と機能 マクロファージによる腫瘍細胞傷害に CR3 が関与 MCP
第 25 回 1988 東京 富田基郎	リクルート疑惑	(座) 北村、白石、天野、金子勲、長沢、竹村、岡田則、平野、瀬谷、杉田、木下、岡田秀	C9 欠損血清の殺菌作用 RaRF の構造解析及び C4・C2 活性化機構 ヒト赤血球膜の補体抑制因子 (IF5 抗原) ヒト赤血球膜の Mac 形成阻害因子 (MACIF) PNH 赤血球は GPI アンカータンパクを欠損
第 26 回 1989 大阪 北村肇	消費税スタート、昭和天皇崩御、ベルリンの壁崩壊	(初) 北野悦子、安藤文英	慢性腎疾患患者尿中 D 因子 疾患と補体成分アロタイプ (Buerger 病と C7) 関連 マウス H 因子遺伝子、 カプトガニの補体 carboxy peptidase、 RaRF、 MCP、 SP-40,40 マクロファージの CR3 依存性細胞障害
第 27 回 1990 東京 広瀬俊一	国際花と緑の博覧会、バブル崩壊	(座) 天野、北村、広瀬、行山、大井、平野、杉田、藤田、岡田、木下、近藤、長沢、瀬谷、金子、岡田則子 (初) 遠藤守人、阿部正義、畑中道代、塚本浩、宮田敏男、前田憲志	DAF と CD59 の組織分布 腎組織、皮膚 HRF20 欠損患者の遺伝子解析 PNH 患者からの GPI アンカー欠損細胞培養系 C5 転換酵素の構造解析、 C9 の C5b-8 への結合部位 胸水中の SC5-9 複合体
第 28 回 1991 岡山 太田善介 (天野)	雲仙・普賢岳で火砕流、湾岸戦争	(初) 三浦南虎、崎山比早子	C8 欠損症の遺伝子解析 肝外 (<i>in vitro</i>) 補体産生 (血管内皮細胞など) 第 2 経路の C5 転換酵素 (C3b 二量体) の構造解析 好中球 MCP の多型性、マウス H 因子 DAF、 DAF による単球活性化 C9 の構造、SP-40,40 の構造、CD59 の構造
第 29 回 1992 福島 藤田禎三	佐川献金疑惑、竹下「ほめ殺し」	(初) 中尾実樹、高橋実、徳永勝士	MBP、 Recombinant CD59 系統発生(ヤツメウナギ C3 遺伝子、コイ C8 と C9) GPI アンカー生合成異常の解析 H 因子由来の単球遊走活性 SMAC に HDL が取り込まれる 精子・精液に DAF と MCP が発現

第 30 回 1993 東京 西岡久寿 弥 (大井)	細川連立内閣 発足、 天皇沖繩訪問、 皇太子ご成婚	(初) 水野元夫	C1s は軟骨内骨化に参加 Tanjier 病 (HDL 欠損症) の補体 消化管粘膜に MCP や CD59 が発現 PNH 病因遺伝子 PIG-A の解析 Cold Activation 現象は C 型肝炎患者に見られる ヒト MCP, DAF のブタ血管内皮細胞への強制発現
第 31 回 1994 札幌 長澤滋治	松本サリン事 件、 村山内閣	(初) 櫃本泰雄、遠藤雄一、 坂井俊之助、西浦弘志、井 上徳光	肝疾患患者血清中の可溶性 CR1 (sCR1) PIG-B 遺伝子 MASP の遺伝子構造解析 Xenopus B 因子、コイ C3 多型、モルモット DAF MCP の多型、構造と機能 アポトーシス細胞のクリアランスに補体が関与
第 32 回 1995 岡山 辻孝夫	阪神大震災、 地下鉄サリン 事件	(初) 堀内孝彦、大澤勲、寺 井格、松尾清一、	潰瘍性大腸炎の大腸組織に C3b, iC3b/C3dg が沈着 CPR は C5a を中和してショックを制御 ヒト表皮細胞の C3 産生、正常脳組織の CD59 PIG-A、PIG-B の遺伝子産物 C1-INa による MASP 活性制御、 MASP と $\alpha 2M$ の結合 ヒト精巢の CD46(MCP)
第 33 回 1996 名古屋 岡田秀親	O-157、 豊浜トンネル 岩盤崩落事故	(初) 水野正司、若宮伸隆、	MBP、 endotoxin shock に補体が参加 C5a と C5a レセプター、C3a と C3a レセプター アポトーシス細胞の処理にマクロファージの CR3 モルモット MCP、ブタ MCP、マウス DAF 系統発生 (メダカ C3、コイ C3 レセプター、マボヤ) 大腸がん患者便中 DAF、腎疾患患者尿中 DAF&CD59
第 34 回 1997 福岡 酒井好古	神戸小学生殺 害事件、 ダイアナ事故 死、 香港返還	(座) 天野、水野元、瀬谷、 岡田則、阿部、長澤、北村、 大井、奥田、松下 (初) 村 上良子、大石一人 特別講演 J.E. Volanakis & B.P.Morgan	MBP 欠損 C5a による I 型アレルギー増悪の機構 補体成分 (C6, C7, C8 と C9) 欠損症の遺伝子診断 ヒト大腸上皮細胞株の DAF 放出 C3a アゴニストペプチド C42-Tmax (C42 generation assay)
第 35 回 1998 大阪 瀬谷司	長野冬季五輪、 郵便番号 7 桁、 和歌山カレー 毒物混入事件、 明石海峡大橋 開通	(初) 小林恵美	R95X (C9 欠損遺伝子) の頻度、2 種類の MASP sCR1 関節内投与により関節炎改善 尿細管でアンモニアが (漏出タンパクの) 補体活性化 麻疹ウイルスレセプターとしての CD46 動脈硬化発症機序に酸化 LDL と補体が関与 アポトーシス細胞の貧食除去
第 36 回 1999 東京 西岡久寿 弥	東海村で臨 界事故、 初の脳死臓器 移植、 ユーロ導入	(座) 北村、酒井、福岡、 阿部、野中、瀬谷、長澤、 大石、松下、堀内、水野正、 水野元、	アルツハイマー成因に補体関与 C3 欠損症の遺伝子解析 Antisense Homology Box (AHB) C3a アゴニスト投与による健忘改善効果 elongation factor-1 α (EF-1 α) マウス CD46 の精巣特異的発現調節機構 大腸癌患者便中 DAF は可溶性分子
第 37 回 2000 大阪 木下タロ ウ	南北朝鮮首脳 会談、 雪印乳業食中 毒事件、 三宅島噴火	(座) 阿部、井上徳、遠藤、 野村みどり、大石、北村、 小野寺秀紀、水野元、木下、 藤田、野中、松本、岡田秀、 松本芳嗣	HCV(+)/MPGN の成因に LP が関与 血栓形成性腎炎に、sCR1 や C5aR 拮抗薬が効果 PNH モデルマウス、Pig-o と Pig-f の働き Dol-P-Man 合成酵素の解析 正常肝細胞による D 因子産生 マボヤの ficolin 様レクチン、CR3 進化 (MASP1、C3、B 因子などが新口動物に)

第 38 回 2001 京都 藤田禎三	米国同時多発 テロ (9.11)、 附属池田小事 件、 明石花火大会 歩道橋事件	(座) 松尾、松下、遠藤、 水野元、野中、瀬谷、岡田 秀、井上徳、中尾、北村、 寺井、藤田	2 種類のフィコリン(ficolin/P35 と博多抗原) ループ腎炎の糸球体に C3aR の発現 C5a or C3a の受容体拮抗剤は抗喘息薬に成り得る 尾索動物が LP とその制御機構を持つ 血清補体価(CH50)は AP 活性化を反映しない GPI 欠損細胞は免疫担当細胞の攻撃に抵抗性
第 39 回 2002 東京 大井洋之	日朝首脳会談、 ノーベル賞(小 柴、田中)、 牛肉偽装事件、 拉致被害者帰 国	(座) 野中、瀬谷、松下、 松本、山本、岡田則、松尾、 阿部、北村、岡田秀、	マボヤ補体制御因子、 Xenopus の ficolin コイ B 因子/C2 アイソタイプ遺伝子 PNH クローンの拡大に関わる遺伝子変異 RPS19 はアポトーシス細胞の貪食処理を促進 便中 DAF は便潜血とは独立した大腸癌マーカー
第 40 回 2003 熊本 山本哲郎	イラク戦争開 戦、 SARS 世界的 流行、 H タイガース 優勝	(座) 松下、今村、遠藤、 松本、木下、野中、西浦、 阿部、岡田則子、岡田秀親、 堀内、菅 (初) 関根英治	L-ficolin/P35 によるアポトーシス細胞結合とレクチン 経路 (LP) 活性化、 Ficolin A and Ficolin B GPI biosynthesis pathway DAF は Peanut Agglutinin(PNA)の認識糖蛋白の 1 つ C3a や C5a 脳室内投与効果 C5a の 活性阻害相補性ペプチドの解析
第 41 回 2004 東京 野中勝	スマトラ地震、 イラク情勢混 迷、 新潟県中越地 震	(座) 堀内、松下、松本、 遠藤、木下、岡田則子、山 本、藤田、中尾、瀬谷、南 学正臣	マウス ficolin A と ficolin B コイ補体 LP で機能する 2 種の MBL 様レクチン C5a 阻害ペプチド 糖尿病患者赤血球上の CR1、DAF、CD59 は減少 蛋白尿を有する患者における尿中 MAC 量の意義
第 42 回 2005 名古屋 松尾清一	JR 福知山線脱 線事故、 郵政民営化、 米南部でハリ ケーン被害	(座) 木下、岡田秀、岡田 則、松本、酒井、塚本、松 尾、野中、藤田、山本、松 下、堀内、松尾	フィコリン、 GPI アンカー MCP は spermatogenesis に関係 発生・進化 (コイ、ヤツメウナギなど) 好中球 C5aR によるアポトーシス促進 レクチン経路 (MASP-1 や sMAP 遺伝子欠損マウス)
第 43 回 2006 福岡 堀内孝彦	第 1 回 WBC 日本優勝、 安倍晋三内閣、 ジャブ島大地 震	(座) 酒井、末松栄一、西 向、福森、南学、塚本、松 下、中尾、井上徳、松本、 岡田秀、牟田耕一郎	MBL 補充療法 非ペプチド性低分子の C5a 受容体拮抗薬 加齢黄斑変性に補体活性化が関与 (ドルーゼンに C5、C5b-9、MCP、S-Protein) 発生・進化 ヒト遺伝性 GPI アンカー欠損症
第 44 回 2007 平塚 松下操	参院選で自民 党惨敗、 福田康夫内閣、 食品偽装、 米国サブプラ イム問題	(座) 岡田則、中尾、岡田 秀、堀内、大井、松尾、遠 藤、井上徳、野中、山本	カプトガニの補体、 イソギンチャクの補体系遺伝子 肺コレクチンのサーファクタントタンパク A と D 魚類の新規補体制御因子 L-ficolin/MASP 複合体の LP 活性化機構 C5aR を介した肥満細胞内カルシウム導入機構 TLR5 と SLE の関連
第 45 回 2008 札幌 瀬谷司	円高騰、 ノーベル賞 (南部、小林、 益川、下村)、 米大統領にオ バマ氏	(座) 松本、大井、堀内、 中尾、野中、木下、	黄斑変性カニクイザルの補体解析 カプトガニの補体活性化 MASP-1 による D 因子活性化 トロンビンによる第 2 経路活性化 C1s 欠損症の遺伝子解析
第 46 回 2009 福岡 中尾実樹	衆院選で民主 党大勝、 裁判員裁判ス タート、 M・ジャクソン 急死	(座) 岡田秀、井上徳、若 宮、岡田則、山本、遠藤、 堀内、西浦弘志、大井、野 中、中尾	脂肪組織からの D 因子前駆体分泌 CR2 と H 因子の融合蛋白質 CR2-fH コレクチン CL-P1 の Scavenger 受容体機能 ネクローシス細胞結合の抗体や補体による貪食細胞活 性化、 ヒト化抗 C5 抗体 Eculizumab の PNH の溶 血への効果

第 47 回 2010 福島 藤田禎三	平安遷都 1300 年祭、 東北新幹線全 通、 チリ鉱山落盤	(座) 松下、遠藤、山本、 井上、堀内、畑中、野中、 中尾、水野	MBL と MASP-1/3 複合体による D 因子前駆体活性化 ピーナッツ抽出物による活性化機構 低補体血症蕁麻疹様血管炎(HUVS)の抗 C1q 自己抗体 properdin directed pathway(PDP)
第 48 回 2011 名古屋 岡田則子	東日本大震災、 大阪に橋下市 長・松井知事、 野田佳彦内閣	(座) 松下、若宮、山本、 遠藤、藤田、中尾、水野正、 今井優樹、井上徳、畑中、 遠藤、	PNH のクローン拡大に関与する遺伝子 HMGA2 同定 異常クローンの良性腫瘍様増殖 膝島移植における C5a 阻害ペプチドの作用機序 HAE ガイドライン 2010 aHUS 患者における H 因子
第 49 回 2012 大阪 井上徳光	東京スカイツ リー開業、 山中教授にノ ーベル賞、 安倍晋三内閣	(座) 宮川、中尾、今井、 高橋、松本、木下、水野正、 関根英治、大澤、塚本、野 中、井上徳、村上良子	C1q は老化促進因子、本邦での aHUS 患者 3MC 症候群と LP タンパク MASP1/3 は形態形成に関わる aHUS に抗 C5 モノクロー抗体 Eculizumab が有効 新たな制御因子 CTRP6
第 50 回 2013 旭川 若宮伸隆	富士山が世界 遺産に、 2020 年東京オ リンピック決 定	(座) 関根、中尾、遠藤雄、 宮川、木下、堀内、大澤、 塚本、井上、水野正、	コレクチン CL-L1 の組織局在と分子構造 MBP による結腸がん細胞認識 精神発達遅延/てんかん症状を有する先天性 GPI 欠損症 肝移植後 TMA における補体系の関与 視神経脊髄炎における髄液中 C5a

関与する遺伝子の同定 (第 48 回) もなされている。他には、麻疹ウィルスレセプターとしての CD46 (第 35 回)、MASP-1 による D 因子活性化 (第 45 回)、トロンビンによる第 2 経路活性化 (第 45 回) など、が挙げられよう。

臨床研究では、この時期になって、いくつかの疾患において、その成因に補体が参加することが発見・報告されたことが特徴的であるといえよう。具体的には、動脈硬化症 (第 35 回)、アルツハイマー (第 36 回)、HCV(+)/MPGN (第 37 回)、血栓形成性腎炎 (第 37 回)、加齢黄斑変性 (第 43 回、45 回)、aHUS (第 48 回) などである。これらの疾患では、補体活性化が疾患形成に加わるため、補体活性化抑制剤が治療や予防に有効であろうことは容易に推察でき、実際にそのような報告も多い。すなわち、ヒト化抗 C5 モノクローナル抗体、CPR、sCR1、C5aR-C5 の活性阻害相補性ペプチド、C5aR 拮抗薬などの抗補体剤であり、これらの有効性も報告されている。その他、大腸がん患者の診断にもなり得ると報告された便中 DAF が興味深い (第 36 回ほか)。

このように後期は、基礎研究では、自然免疫機構でのレクチン経路の役割の解明、一部の補体関連タンパクが発生・発達に参加するタンパクであること

の発見が、臨床研究では、補体活性化がいくつかの疾患の形成に関わることが示されたことが特徴であろう。

以上の 3 期の主たるテーマの変遷を簡単に、表 2 にまとめた。この半世紀の間の研究成果、すなわち、多くの新しいタンパクの発見とその機能の解明、活性化経路の発見、補体系と免疫系や生体防御系との関連の解明、さらに、各種疾患に於ける補体の動態の大凡の解明までの、補体研究の流れが、この表からわかる。

《補体関連疾患の特徴》

一方、50 年の歴史から見ると、補体関連疾患は 3 つのタイプに分けることができる (表 3)。前期から注目されて来た SLE を代表とする活性化型では、出現する免疫複合体などの trigger によって激しい活性化が生じ、補体は消費され血清補体濃度は低下する。中期に報告が相次いだ補体欠損症では、補体タンパク産生不能により活性化が起こらず、補体機能を発揮できず、反復感染や免疫複合体病が生じる。一方、後期に報告が多い疾患形成参加型は、前二者とは大いに異なる。ここでは補体は疾患形成に参加するが、補体活性化あるいは消費は、病態の局所で

表2 3期のまとめ

	前期 (第 1~17 回) 1964~1980	中期 (第 18~34 回) 1981~1997	後期 (第 36~50 回) 1998~2013
基礎	古典経路 活性化機構 溶血法、IA 測定法 精製法 構造 機能 (免疫溶解、貪食) 第2経路	制御因子 (液性&膜性) レセプター 新しい機能 (IC可溶化、 IC運搬、抗体産生増強、 沈降反応阻害、アポトー シス細胞の除去) 系統発生・進化 肝外 (<i>in vitro</i>) 産生 レクチン経路登場	遺伝子解析 レクチン経路発展 新しいLP関連タンパク 制御タンパク・レセプターの 新機能 自然免疫 系統発生・進化 GPI-アンカー
臨床	SLE 肝臓疾患 腎疾患 Cold Activation 現象 補体成分欠損症	補体成分欠損症 biomaterialと補体 NeF 腎疾患とD因子 PNH 欠損症の遺伝子解析	疾患 (アルツハイマー、ショック、 HCV(+)MPGN、血栓形成性腎炎、 動脈硬化、HUVS、加齢黄斑変性、 aHUS) 大腸がん (便中 D 因子) 抗補体剤 (CPR、ヒト化抗 C5、 C5の活性阻害相補性ペプチド、 C5aR拮抗薬、CR2-fH)

起こるためか軽度である。そのため、血清中の補体は大きく変動することは少なく、CH50やC4・C3のタンパク濃度の測定などの通常の補体検査測定は、診断にほとんど役に立たない。また、このタイプの疾患に於ける補体は“補体は生体防御に働く”という従来の定義でシンプルに説明できず、補体の二面性を実証するものであり、言い換えれば、補体の奥深さを示しているともいえる。

《研究テーマ以外の変遷》

半世紀ともなれば社会・文化も研究者たちの意識も大きく変遷する。補体シンポジウムでも、そのスタイルは変貌している。初めの頃、お寺を会場として、講演はもちろん、食事や宿泊も参加者みんな一緒で行ったことがあった (第7回、第15回)。いわゆる、カンヅメ状態で、夕食や風呂の後にも大きな部屋に多くの方々が集まり、他の研究機関の先生方と、研究テーマについて discussion したことを思い出す。今思えば、懐かしく、古き良き時代であった。発表方法も手書きやスライド (当時、幻灯機ともいった) で、抄録原稿も手書きで仕上げて郵送していた。現在の、PCとPowerPointによる発表とE-mail

によるデータのやりとりとは雲泥の差がある。

参加人数は、第20~30回頃が最大で、この頃は、毎回200人を越える研究者が集まった。第35回頃から参加者は減っている。演題数も同様の傾向を示し、臨床研究の演題が特に減少している。

また、この50年の間には、補体シンポジウムの会則を決め、ホームページを立ち上げ、数年前には、30年間新著や改訂がなかった補体のテキストを2冊出版した。

《補体シンポジウムの特徴》

次に、補体シンポジウムの特徴を挙げてみよう。まずは研究レベルについてであるが、欧米と並び、世界レベルといえる。これは、前述の発表テーマの内容からご理解いただけると思う。次に、一貫して基礎研究と臨床研究の双方を大切にしてきたことも特徴として挙げられる。また、筆者が以前から思うのは、研究者間で、ライバル意識と仲間意識が同居していることが特徴的である。前者は、学問と研究への厳しさに繋がり、後者は友情と和やかさに繋がると思われる。筆者は、若い研究者達に、補体シンポジウムで発表すると、方針や実験法などについて、

表3 50年の歴史から見た、補体関連疾患の3つのタイプ

3型	活性化型	欠損型	疾患形成参加型
報告時期	前期から登場	中期に高頻度に登場	主として後期に登場
疾患	SLE、 腎炎、 肝疾患 (CA)	補体成分欠損症	PNH、アルツハイマー、 HCV(+MPGN、SIRS(ショック)、 血栓形成性腎炎、aHUS、 加齢黄斑変性、動脈硬化、 HUVS、移植片拒絶
補体系の参加	(全身性の) 激しい活性化	産生不能による補体機能不全	局所で、活性化が疾患形成に参加
血清中の補体	消費による減少	産生不能	消費は軽度
CH50、C3 & C4 測定	診断・重症度・予後判定に役立つ	診断に役立つ	殆ど役立たないことが多い
治療	原疾患の治療	iPS 細胞に期待	抗補体剤が有効

他機関の研究者から、親切で的確なアドバイスを得られることが多いと指導してきた。

《補体シンポジウムの課題》

大きな課題の1つは、補体に対する興味や関心を持ち理解できる人達の輪が、期待する程には大きくならないことである。補体を志す若い研究者や医師たちが少なく、他分野からの参入も少ない。この問題点は、指摘されてから久しい。補体研究会として、ホームページでの各種アナウンスと補体相談や測定検査受諾、疾患ガイドラインなどの作成と公表、テキスト出版、シンポジウム内での教育講演など、地道に対策を講じて来たが、残念ながら解決にはほど遠い現状である。補体系のほぼ全容が明らかになった今となつては、関心の低下は当然かも知れないが、一方で、一般の臨床医が補体を理解しているとは考えにくく、遺憾である。

《おわりに》

半世紀に亘る補体シンポジウムを振り返ってみた。癌研究のパイオニア、山極勝三郎先生の言葉に、

－ 行きつけば、また新しき里が見え －
がある。私たちはこれを、補体の分野で50年間繰り返してきた。この50年間は、「継続して夢を追い、（気が付くと）大きな成果が得られた期間」といえよう。筆者個人にとって、補体シンポジウムは、まさに青春の舞台であった。その舞台を設定していただいた先輩方、同じ舞台に立ち、discussionしていただいた同輩の方々、批判や評価をしていただいたすべての方々に、この場を借りて謝意を表したい。

四半世紀前、故 稲井真弥先生が「補体シンポジウムの25年を振り返って」の文を寄せられている（第26回抄録集）。その25年後の今回、奇しくも弟子である筆者が50年の歴史を書かせていただいた。また、本文執筆中に、今年偶然にも、補体シンポジウム／補体研究会は、正式の学会に昇格するであろうという吉報を聞いた。この喜ばしいニュースに、更なる発展への期待が高まる。

この拙文が、今後の補体シンポジウム発展の一助になれば、幸いである。

「遺伝性血管性浮腫 (HAE) ガイドライン 2010」 ～作成の背景とその意義～

九州大学病院別府病院内科 堀内孝彦

A Guideline for hereditary angioedema (HAE) 2010 by the Japanese Association for Complement Research

Takahiko Horiuchi MD PhD, Department of Internal Medicine, Kyushu University Beppu Hospital, Beppu, 874-0838 Japan

Key Words: Angioedema, C1 Inhibitor, Complement, Bradykinin

Abbreviation: C1 インヒビター (C1-INH)

はじめに

遺伝性血管性浮腫 (Hereditary angioedema; HAE)は補体抑制因子のC1インヒビター(C1-INH)の遺伝的欠損によって顔面や四肢、喉頭、腸管など様々な部位に突発性の浮腫を生じる疾患である。わが国では遺伝子異常による補体欠損症として MBL 欠損症が 5%¹⁾、C9 欠損症が 0.1%²⁾の頻度で報告されているが、HAE はおそらくそれに次ぐ頻度 (0.002%、5万人に1人)と推測されている。わが国では「対象患者数5万人未満」を稀少疾患の条件としているので、推定患者数2,400人のHAEも稀少疾患の一つである。HAEを疑う契機として重要なポイントは、皮膚の浮腫、腹痛、喉頭浮腫のいずれかあるいはすべてを発作性に繰り返す場合である。とくに血縁者に同様の症状があればHAEの可能性はきわめて高い。図1にHAEの病態と治療法を記した³⁾。

ガイドライン作成の背景

HAEは気道閉塞や激しい腹痛を生じて重篤になりうる疾患であるが、疾患自体があまり知られていない。単に頻度が低いというだけはその理由ではない。患者も主治医も、腹痛と浮腫が一つの病態、すなわち発作性の浮腫によって起きていることに気づかないのである。事実、我々が解析したわが国の

HAE患者132例(1969年～2010年10月の英文、和文、学会でのすべての報告例)のうち68%が診断まで10年以上かかっており、平均19年診断に要していた^{4) 5)}。

おまけにややこしいのが用語である。HAEは、つい十数年前まで「遺伝性血管神経性浮腫(Hereditary angioneurotic edema; HANE)」と呼ばれていた。その後、病態に基づく病名にするために神経性(neurotic)をはずしてHAEとなったのである。しかし稀な病気の名前を急に変えられても臨床医はついていけない。さらに「クインケ浮腫」という言葉も紛らわしい。突発性浮腫(=血管性浮腫)のすべてがクインケ浮腫で片づけられ、なぜか「原因不明だが予後が良く、特段の治療は必要ない病態」としてしばしば誤解されている^{6) 7)}。さらに申し上げれば、医学生時代に補体学の教育を受ける機会が乏しいため、補体欠損症についての講義もほとんどない。HAEという病気を知らないのである。病気を知らなければ診断はできない。これらいくつかの要因のためにHAEの認知度が低いのである。従って、当然のことながら診断や治療法についての系統的なガイドラインもなかった。

補体研究会事務局の井上徳光先生がまとめてくださった過去の補体シンポジウム講演集をみても、1970年代はHAEについてたくさんの症例報告や研

究報告があるが、1980年代になるとその数が激減する。その後は2002年の第39回補体シンポジウムの臨床補体セッションの中で大澤勲先生がHAEの疾患認知度の低さを医療機関への調査に基づいて報告するまで、HAEに関する発表はない。ちなみにこの第39回補体シンポジウム集会長は大井洋之先生であり、この臨床補体セッションを企画されたのも大井先生であった。

ガイドライン作成の経緯

このような現状を打破する目的で、補体研究会によって「遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライン2010」が作成された^{8) 9)}。本ガイドラインは、補体研究会の先生方のご協力の賜物であるが、なかでも大井洋之先生のご尽力がなければ日の目を見ることはなかった。

2009年の夏ごろ、私は大井先生からHAEガイドラインを作成しないかとのお話をいただいた。当時、私の研究室では一人の研究生がHAEをテーマに研究をしていた。大井先生からのお話のちょうど1年前の2008年6月、関連病院からHAE患者の紹介を受けたのがきっかけだった(図2)。わが国のHAEの臨床像と遺伝子変異の種類を解明することをテーマに研究を進めていた私たちにとっても時機を得た有難いお話であった。

2009年11月初めに、ガイドラインの案を完成し大井先生にお見せした。「全体に簡潔でよくまとまっていると思いました。よいガイドラインになりそうですと思います。」というお言葉をいただき報われた気がした。同時に「遠慮なく意見を書かせていただきます。」というお言葉通り、率直なご意見を頂戴した。大井先生と私とでさらに練り上げたのち、補体研究会会長であった木下タロウ先生はじめ運営委員の先生方に最終的にお諮りしてご意見をいただき完成したのが「遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライン2010」である。

大井洋之先生はわが国の臨床補体学そして補体研

究会の発展に大きな力を注いでこられた。2002年「補体学への招待」(大井洋之編)、2011年「補体への招待」(大井洋之、木下タロウ、松下操編)の出版にこぎつけられたのも大井先生の情熱の賜物であった。1981年に出版された「補体とその周辺」(高田明和、山下昭、近藤元治、高橋守信編)以来、臨床補体学の教科書がなかった状況が先生のご努力でようやく解消された。同じく、わが国初のHAEガイドラインも大井洋之先生の強いリーダーシップによって誕生した。2010年初めには補体研究会HPで公開されて広く知られるようになった。

(<http://square.umin.ac.jp/compl/>)

ガイドラインの英文雑誌での発表

広島大学皮膚科秀道広教授から「遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライン2010」について良いご評価をいただき、日本アレルギー学会誌(Allergology International)での英文化を勧められた。日本のHAEガイドラインを世界に発信できるありがたいお話ではあったが、その一方で補体研究会の仕事をほかの学会誌に発表することに若干のためらいがあった。大井先生にご相談したところ、携わった人たちの労力が報われるので英文論文化を進めてくださいという優しいお言葉をいただいた。木下タロウ会長も賛同していただいた。私は、日本語のガイドラインを英文に逐語訳してEditorに送付し、いくつかの細かい修正を経た後、「遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライン2010」英語版はAllergology International 2012年12月号に掲載された⁹⁾。英文化されたガイドラインのタイトルには「by the Japanese Association for Complement Research」と入れて補体研究会の関与を明確にした。

ガイドラインの意義

多くの臨床医にとってHAEは馴染みのないものである。病気を知らなければ病気を診断することはできない。「遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライ

ン 2010」によって HAE の疫学、診断、治療の啓発が進むことが、HAE の診断がつかずに悩んでいる患者を一人でも多く救うことにつながることは論を待たない。

治療や診断の進歩に伴ってガイドラインは改訂されていくことは意義がある。その際に重要なのはわが国の HAE 患者の実態に即した改訂である。そのためには全国規模の患者登録が望まれる。実際、ドイツ、フランス、スウェーデン、オランダ、ハンガリーなど欧州の国々では全国規模で患者登録が進んでいる。患者登録により、詳細な HAE の実態把握と対応の策定が可能になる。我が国では NPO 法人血管性浮腫情報センター(Center for Research, Education, And Treatment of AngioEdema; CREATE)による患者登録システムが 2011 年 8 月から稼働を始めた。現在までに多数の施設の協力を得て患者登録を進めており、さらなる協力施設の追加と事業の展開を目指して活動している。いずれにしても補体研究会が作成した「遺伝性血管性浮腫 (HAE) ガイドライン 2010」が今後わが国 HAE のガイドライン更新においてその出発点となることは疑う余地がない。補体研究会がさまざまな診療科の専門医の参加をいただきながら、今後のわが国の HAE ガイドライン策定の中心となって関与していくことが重要と考える。

HAE に適応がある薬剤は、わが国では唯一 C1-INH 製剤である。抗プラスミン薬のトラネキサム酸は、C1-INH の線溶系での消費を抑えることでわずかに残存した C1-INH 活性を保持する働きがある。あくまでも間接的な働きであるため、効果も限定的である。

欧米では、HAE の治療薬として、抗カリクレイン薬、ブラジキニン拮抗薬が承認されているが、わが国ではいまだ承認されていない。

文献

- 1) Horiuchi T, Gondo H, Miyagawa H, Otsuka J, Inaba S, Nagafuji K, Takase K, Tsukamoto H, Koyama T, Mitoma H, Tamimoto Y, Miyagi Y, Tahira T, Hayashi K, Hashimura C, Okamura S, Harada M: Association of MBL gene polymorphisms with major bacterial infection in patients treated with high-dose chemotherapy and autologous PBSCT. *Genes Immun.* 6(2): 162-166, 2005
- 2) Fukumori Y, Yoshimura K, Ohnoki S, Yamaguchi H, Akagaki Y, Inai S: A high incidence of C9 deficiency among healthy blood donors in Osaka, Japan. *Int Immunol* 1(1): 85-89, 1989
- 3) 堀内孝彦、柏木陽一郎、原島伸一：我が国における遺伝性血管性浮腫の現状と治療。アレルギー・免疫 20(2):254-262, 2013
- 4) 堀内孝彦、山本哲郎：C1 インヒビター欠損と遺伝性血管性浮腫 (HAE) In: 大井洋之、木下タロウ、松下操 編：補体への招待 pp.139-147, メジカルビュー社、東京、2011
- 5) Yamamoto T, Horiuchi T, Miyahara H, Yoshizawa S, Maehara J, Shono E, Takamura K, Machida H, Tsujioka K, Kaneko T, Uemura N, Suzawa K, Inagaki N, Umegaki N, Kasamatsu Y, Hara A, Arinobu Y, Inoue Y, Niuro H, Kashiwagi Y, Harashima SI, Tahira T, Tsukamoto H, Akashi K: Hereditary angioedema in Japan: Genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am. J. Med. Sci.* 343(3): 210-214, 2012
- 6) 堀内孝彦：突発性浮腫への対応 —遺伝性血管性浮腫 (HAE) の鑑別診断と治療—。日本医事新報 No.4545, 73-79, 2011
- 7) 堀内孝彦：遺伝性血管性浮腫。In: 別冊 日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.20, 先天性代謝異常症候群 (第二版) pp.902-906、日本

臨牀社、大阪、2012

- 8) 遺伝性血管性浮腫(HAE)ガイドライン 2010 (補体研究会)

<http://square.umin.ac.jp/compl/HAE/HAEGuideline.html>

- 9) Horiuchi T, Ohi H, Ohsawa I, Fujita T, Matsushita M, Okada N, Seya T, Yamamoto T,

Endo Y, Hatanaka M, Wakamiya N, Mizuno M, Nakao M, Okada H, Tsukamoto H, Matsumoto M, Inoue N, Nonaka M, Kinoshita T: Guideline for Hereditary Angioedema (HAE) 2010 by the Japanese Association for Complement Research- secondary publication. *Allergol Int* 61(4): 559-562, 2012

図1

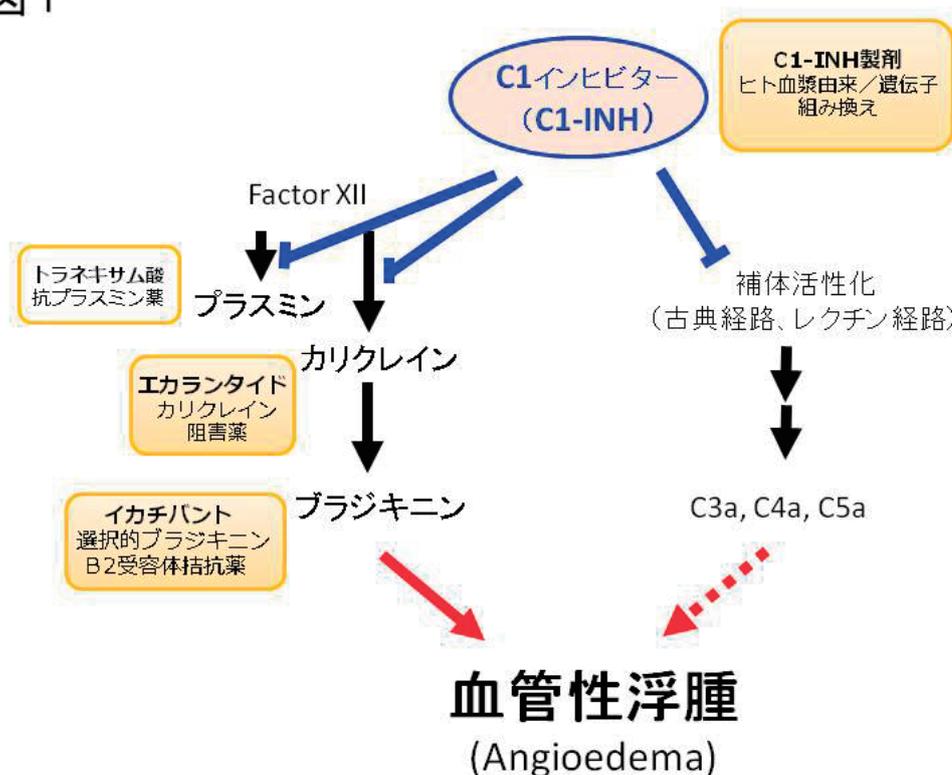


図1 HAEの病態と治療

C1インヒビター (C1-INH) は、補体系のC1活性化の抑制だけでなく、キニン・カリクレイン系、凝固・線溶系にも抑制的に働く。HAE患者ではC1-INH遺伝子異常によりC1-INH活性が低下するため、これらの系が活性化される。HAEにおける血管性浮腫の主たる原因はブラジキニンである。一方、C3aなどの補体分解産物も浮腫に関与している可能性がある。

ACEはブラジキニン分解作用もある。ACE阻害薬ではブラジキニン分解が抑制されて血管性浮腫という副作用を生じる。

図2 **非発作時**
(当科入院時)



発作時
(自宅にて、家族による撮影)



図2 HAE 患者における顔面の浮腫
C1-INH 遺伝子異常が確認されている HAE 患者の突発性浮腫である。30 歳代女性。

補体シンポジウム優秀賞候補者募集のお知らせ

毎年、補体シンポジウムに応募された演題発表者の中から、下記の要領で原則1名を優秀賞として選考し、顕彰します。優秀賞受賞者には、賞状と副賞（10万円：複数の場合は折半）を賞与します。奮ってご応募ください。

補体シンポジウム優秀賞候補者募集要項

応募締切：補体シンポジウムの抄録締め切り日、優秀賞候補者を募集の締め切りとします。

選考対象者：以下の項目に該当するもの

1. 独自の視点から生物の生体防御応答を解析し、補体またはそれに関連する分野で優れた業績を挙げている新進気鋭の研究者。
2. 補体研究会会員として3年以上の在籍経歴があること。
3. 候補者は、推薦制とします。推薦者は補体研究会会員とし、自薦他薦は問いません。選考は補体研究会運営委員会により行います。受賞者は補体シンポジウムにて受賞者講演を行ない、会長がこれを顕彰します。

推薦要項：以下の1~3を電子媒体にて事務局に送付する。

（送付先：事務局メールアドレス hotai-kenkyukai@umin.ac.jp）

1. 受賞候補者、業績題名、推薦者名を記した推薦書（A4：1枚）
（推薦者が署名捺印した書類のpdfファイル）
2. 発表演題の抄録（Wordファイル）
3. 受賞候補者の履歴書、研究歴、業績リスト（様式自由）
Wordファイルでお送りください。

補体研究会会長
若宮 伸隆

補体研究会入会のご案内

補体研究会では随時入会を受け付けております。

補体研究会入会申込書（補体研究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、補体研究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いただきます。

年会費（1月～12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ります。会員の皆様には、補体シンポジウム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、補体シンポジウム講演集をお送りいたします。

<連絡先>

補体研究会事務局（事務局長：井上徳光）

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-3

大阪府立成人病センター研究所

腫瘍免疫学部門内

Tel: 06-6972-1181 (ext. 4101)

Fax: 06-6973-5691

E-mail: hotai-kenkyukai@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

補体研究会入会申込書

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-3

大阪府立成人病センター研究所

腫瘍免疫学部門内

補体研究会事務局宛

Tel: 06-6972-1181 (ext. 4101)

Fax: 06-6973-5691

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

平成 年より補体研究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。

Proceeding of the Complement Symposium
Vol.51 (2014)



第 51 回
補体シンポジウム
講演集

会 期 : 2014 年 8 月 22 日 (金) ・ 23 日 (土)

会 場 : 学校法人 神戸常盤大学 4 号館
玉田学園
(兵庫県神戸市長田区大谷町 2-6-2)

集会長 : 学校法人 神戸常盤大学 保健科学部医療検査学科
玉田学園
畑中 道代

〒653-0838 兵庫県神戸市長田区大谷町 2-6-2

TEL: 078-940-2417 or 940-2497

FAX: 078-643-4361

E-Mail: hotai51@kobe-tokiwa.ac.jp

第 51 回補体シンポジウム開催によせて

第 51 回補体シンポジウム集会長
神戸常盤大学 畑中 道代

この度、平成 26 年 8 月 22 日、23 日に、神戸常盤大学において、第 51 回補体シンポジウムを開催させていただき運びとなりました。本シンポジウムは 1964 年に第 1 回が箱根で開催されて以来、毎年 7 月あるいは 8 月に各地で開催され、昨年第 50 回の開催を迎えました。50 年の半世紀を経て、今回は次の半世紀に向けた新たな幕開けの年となります。

近年、生体防御としての補体系の役割とは一線を画した新たな補体の機能が明らかになっています。一昨年の本シンポジウムでは、小室一成先生による「C1q は老化促進分子である」という御講演を伺いました。今回は老化とは対照をなす「妊娠」における C1q の新たな機能について Dr. Roberta Bulla に講演をお願いしております (CSL ベーリング社共催)。

特別講演では、坂口志文先生に「制御性 T 細胞による免疫応答制御」に関して御講演いただくことになりました。また、前会長の木下タロウ先生には「補体と発作性夜間血色素尿症」について御講演いただきます。

ミニシンポジウムでは、C1 インヒビター (C1-INH) の欠損でおこる遺伝性血管性浮腫 (HAE) の啓蒙活動にご尽力されてきた大澤勲先生、堀内孝彦先生に「遺伝性血管性浮腫の現状」を企画していただきました。

また、近年の治療薬 (Eculizumab (商品名 Soliris)、C1-INH 製剤 (商品名ベリナート®P)) の開発により、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)、HAE など補体が関連する疾患についての研究は、病態解析から治療という新たな stage へ展開していこうとしています。上記以外にも補体が病態形成に関わる可能性のある疾患での臨床応用が期待され、これにともない補体系測定の重要性が再認識されています。これを踏まえ、ランチョンセミナーでは長年にわたり補体活性測定により臨床の病態解析に寄与してこられた北村肇先生に「日本での補体測定の歴史」についてご紹介いただきます。神戸常盤大学では北村先生を顧問として、臨床の先生方からの依頼を受け補体活性の測定をしていますが、現状で種々の問題が生じております。これについてもご紹介いたします。また、補体が関与する腎臓疾患については、補体制御因子を解析しておられる宮田敏行先生のグループからも現状のご紹介を頂く予定です。補体測定の現状について問題点を含め、会員の先生方に認識していただき、今後の補体測定法の開発や発展に繋がればと考えております。

一般演題では、海外の研究室からの 2 題を含め、23 の演題の発表を予定しています。活発な討論と意見交換の場となりますよう祈念しております。

8 月の暑い時期での開催となりますが、多くの方の参加を心からお待ちしています。

第 51 回補体シンポジウム参加案内

- 会 場 神戸常盤大学 4号館 2階 講義室
〒653-0838 神戸市長田区大谷町2-6-2
TEL： 078-611-1821 (代)、078-940-2417 (ダイヤルイン)
- 受 付 第1日 8月22日(金) 12:00より
神戸常盤大学 4号館 2階 講義室前にて
参加費 一般 5,000円 学生 2,000円
懇親会費 3,000円
- 発表方法 全て口頭発表、PC プレゼンテーションで行います。一般演題は討論も含めて 15分間を予定しています。演題は、ご自身のPCまたはPowerPointで作成したプレゼンテーションファイルで受付することができます。
集会事務局で準備できるPCおよびPowerPointのバージョンは、以下の通りです。
Windows：PowerPoint 2010, 2013
Mac：PowerPoint 2011
ファイルはUSBメモリーでお持ちください。
(ファイル名は、演題番号+氏名)
動画を含む場合、あるいはファイルの互換性に問題が予想される場合は、ご自身のPCをお持ち下さい。Macの場合は上記に限らず、できればご自身のPCをお持ちくださるようお願いいたします。コネクタも忘れずにお持ちください。
ファイルの受付は、必ず発表があるセッションが始まる前までにお済ませ下さい。
講演会場である4号館2階の右手に演題受付カウンターがあります。
- 運営委員会 8月22日(金) 11:00～12:50 (研究室棟 3階 多目的室)
- 総 会 8月23日(土) 13:15～13:45 (4号館 2階 講義室)
- 懇 親 会 8月22日(金) 19:00～21:00
18:20 大学の正門から無料貸切バスにて出発
THE MARCUS SQUARE KOBE (TEL:078-367-1356)
(神戸ハーバーランドホテルクラウンパレス内)
- 優 秀 賞 第51回補体シンポジウムに応募された演題発表者の中から、原則1名を優秀賞として選考し、顕彰します。優秀賞受賞者には、賞状と副賞(10万円：複数の場合は折半)を賞与します。
- 交通費補助 学生参加者(筆頭発表者)には交通費の補助があります。該当者は、第51回補体シンポジウム事務局に連絡下さい。(hotai51@kobe-tokiwa.ac.jp)

年会費 会員で年会費未納の方、および新たに入会される方は、シンポジウム会場受付に、補体研究会事務局受付を併設致しますので、そちらでご納入下さい。

一般：5,000 円 学生：3,000 円（学生証等身分証明をご用意下さい）

【補体シンポジウム 事務局】

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-3

地方独立行政法人大阪府立病院機構

大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学部門内

事務局長 井上徳光 E-mail: hotai-kenkyukai@umin.ac.jp

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

13. 会場アクセス案内：

神戸常盤大学

詳細は神戸常盤大学ホームページ (<http://www.kobe-tokiwa.ac.jp/univ/>) の「交通アクセス」をご参照下さい。

・新幹線 新神戸駅から

市営地下鉄にのりかえ「新長田」駅下車 北へ徒歩約 15 分

あるいはタクシー（運賃約 820 円）

・新幹線 新大阪駅から

JR 西日本 新快速または快速で「三宮」駅へ

①普通に乗り換え「新長田」駅下車 北へ徒歩約 15 分

あるいはタクシー（運賃約 820 円）

②神戸高速鉄道・山陽電鉄 「西代（にしだい）」駅下車 北へ徒歩約 9 分

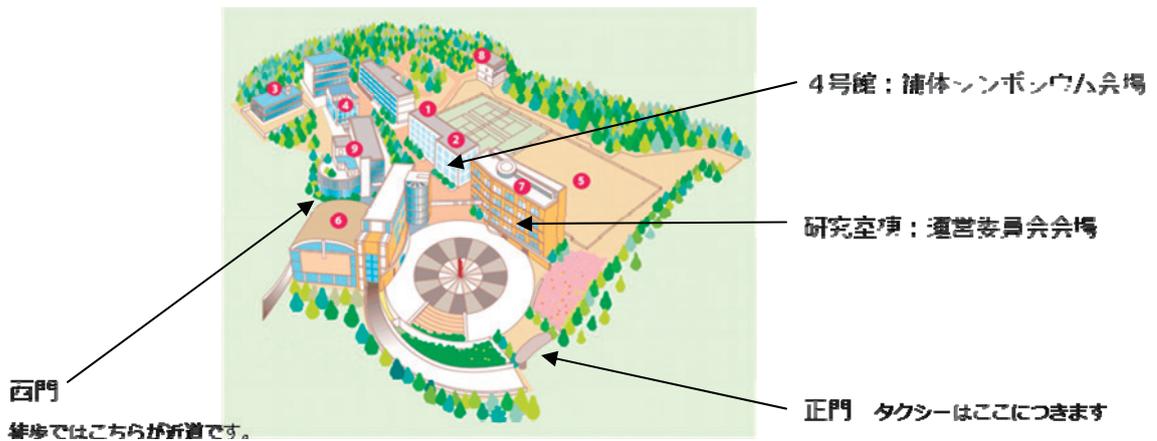
タクシーは利用できません。



<最寄り駅からの順路> 詳しくは HP 交通アクセス 「順路を見る」 をご参照ください。



<神戸常盤大学内案内図>



日 程 表

8月22日（金） 12:00 開場

12:55-13:00	開会の辞 畑中道代
13:00-14:30	セッションA：補体活性化・免疫応答 座長：関根英治、中尾実樹
14:30-14:45	休憩
14:45-16:00	セッションB：PNH・制御因子・進化 座長：野中 勝、高橋 実
16:00-16:15	休憩
16:15-17:15	特別講演1：制御性T細胞による免疫応答制御 演者：坂口志文 座長：瀬谷 司
17:15-18:15	招待講演：Non canonical roles of the complement system at maternal-fetal interface 演者：Roberta Bulla 座長：若宮伸隆 共催：CSL ベーリング
18:20-	(バスで懇親会会場に移動)
19:00-21:00	懇親会 「THE MARCUS SQUARE KOBE 5階」 (神戸ハーバーランド ホテルクラウンパレス内)

8月23日(土) 8:30 開場

9:00-10:30	セッションC: 補体と臨床 座長: 西村純一、水野正司
10:30-10:45	休憩
10:45-12:15	セッションD: 補体と検査 座長: 塚本 浩、宮川周士
12:15-13:15	ランチョンセミナー: 補体測定 of 歴史と今後 演者: 北村 肇・他 座長: 畑中道代 (昼食はご用意いたしています。)
13:15-13:45	総会および優秀賞表彰式
13:45-13:50	休憩
13:50-14:50	特別講演2: 補体と発作性夜間ヘモグロビン尿症 演者: 木下タロウ 座長: 井上徳光
14:50-15:05	休憩
15:05-16:45	ミニシンポジウム: 遺伝性血管性浮腫の現状 演者: 堀内孝彦 森桶 聡 本田大介 田村直顕 オーガナイザー: 大澤 勲、堀内孝彦
16:45-16:50	閉会の辞 畑中道代

第 51 回補体シンポジウム・学術プログラム

第 1 日 8 月 22 日 (金)

セッション A : 補体活性化・免疫応答

13:00~14:30

座長 : 関根英治、中尾実樹

A-1 Deficiency of the lectin complement pathway is associated with an impaired stress signal upon infection

Kazue Takahashi, Elizabeth Van Cott, Lakshmi Gowda, Abdala ElKhal, Lei Shi
Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Massachusetts General Hospital and
Department of Radiology, Harvard Medical School

A-2 腹膜炎-敗血症モデルにおける補体因子MASP-1/3の役割

戸塚直也、高橋実、町田豪、石田由美、関根英治
福島県立医科大学・医学部・医学科・免疫学講座

A-3 コレクチンCL-K1の生体防御機能に関する検討

黄仁秀、森健一郎、松田泰幸、ロイニタイ、大谷克城、若宮伸隆
旭川医大・医・微生物

A-4 好中球エラスターゼによるプロカルボキシペプチダーゼR 活性化機構の解析

河村剛至^{1,2)}、大澤真以¹⁾、今井由美¹⁾、松田佳和¹⁾、太田里永子²⁾、今井優樹²⁾、
羽二生久夫³⁾、岡田則子⁴⁾、岡田秀親⁴⁾
¹⁾ 日薬大・薬・臨床薬学教育センター、²⁾ 名市大・医・免疫、
³⁾ 信州大・医・バイオメディカル、⁴⁾ (株)蛋白科学研究所

A-5 がん微小環境における高乳酸が免疫応答にもたらす影響

井上徳光、赤澤 隆
大阪府立成人病センター研究所・主要免疫学部門 (旧分子遺伝学部門)

A-6 麻疹ウイルスの樹状細胞ハイジャックの仕組み

瀬谷 司、高木宏美
北海道大学大学院医学研究科・免疫学分野

座長：野中 勝、高橋 実

B-1 OPTIMA 試験：高精度フローサイトメトリ法による GPI アンカー膜蛋白欠損血球の測定法の臨床的意義－中間報告－

林 悟¹⁾、西村純一¹⁾、細川晃平²⁾、杉盛千春²⁾、米村雄士³⁾、小原直⁴⁾、中村嘉彦⁵⁾、野地秀義⁶⁾、七島勉⁶⁾、安藤潔⁵⁾、二宮治彦⁴⁾、千葉滋⁴⁾、川口辰哉³⁾、金倉譲¹⁾、中尾眞二²⁾

¹⁾ 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、²⁾ 金沢大学、³⁾ 熊本大学、⁴⁾ 筑波大学、⁵⁾ 東海大学、⁶⁾ 福島県立医科大学

B-2 先天性PIGA欠損症について

村上良子¹⁾、井上徳光²⁾、加藤 光広³⁾、木下タロウ¹⁾

¹⁾ 大阪大学微生物病研究所 ²⁾ 大阪府成人病センター ³⁾ 山形大学小児科

B-3 PNHにおける溶血と酸化ストレス

大里 真幸子¹⁾、西村純一¹⁾、本木 由香里²⁾、林 悟¹⁾、野島 順三²⁾、金倉譲¹⁾

¹⁾ 大阪大学大学院医学系研究科・血液・腫瘍内科学、²⁾ 山口大学大学院医学系研究科・生体情報検査学

B-4 CD46 様コイ補体制御因子 (Tecrem) の上皮細胞における表面発現動態

元部詩織、辻倉正和、中村亮太、柚本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

B-5 節足動物における補体系の進化

関口玲生、野中勝

東京大学大学院・理学系研究科生物科学専攻

特別講演 1

16:15~17:15

座長：瀬谷 司

制御性T細胞による免疫応答制御

坂口志文

WP I 大阪大学免疫学フロンティア研究センター・実験免疫学

招待講演

17:15~18:15

座長：若宮伸隆

Non canonical roles of the complement system at maternal-fetal interface

Roberta Bulla

Laboratory of Immunology, Department of Life Sciences, University of Trieste,

Trieste, Italy

第2日 8月23日(土)

セッションC：補体と臨床

9:00~10:30

座長：西村純一、水野正司

C-1 ブタ敗血症モデルにおける、nafamostat mesilate 投与効果の検討

今長谷尚史¹⁾、阪本雄一郎¹⁾、宮庄拓²⁾、山下和人³⁾、田村純³⁾、石塚友人³⁾、河村芳朗³⁾、佐野忠士²⁾、井上聡¹⁾

- 1) 佐賀大学医学部附属病院救命救急センター、
- 2) 酪農学園大学獣医看護学類、³⁾酪農学園大学獣医学類

C-2 自己免疫性神経疾患に対する新規治療法の開発

結城伸泰¹⁾、須藤 誠²⁾、高橋 良²⁾

- 1) シンガポール国立大学・医学部・内科学、生理学
- 2) シンガポール国立大学・医学部・内科学

C-3 抗CD20抗体リツキシマブ投与をした難治性自己免疫疾患患者における末梢血B細胞の量的、質的な抑制—残存B細胞表面のCD21発現量は低下する—

堀内孝彦、民本泰浩¹⁾、塚本浩²⁾

- 九州大学別府病院内科、¹⁾ 山口赤十字病院内科、²⁾ 九州大学免疫・膠原病・感染症内科

C-4 *C1qB* 遺伝子の新規スプライシング異常を認めた C1q 欠損症の一家系

樋口洋介^{1,2)}、清水順也²⁾、久保俊英²⁾、浅越健治³⁾、石村匡崇⁴⁾、高田英俊⁴⁾、原寿郎⁴⁾、小原 收⁵⁾、北野悦子⁶⁾、畑中道代⁶⁾、北村 肇⁶⁾

- 1) 岡山大学病院 小児科 2) 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター 小児科
- 3) 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター 皮膚科 4) 九州大学 小児科
- 5) かずさ DNA 研究所 ゲノム医学研究室 6) 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科

C-5 感染を繰り返した先天性補体 C3 欠損症の遺伝子解析

塚本 浩¹⁾、藤健太郎¹⁾、三苫弘喜¹⁾、新納宏昭²⁾、有信洋二郎¹⁾、赤星光輝¹⁾、赤司浩一¹⁾、北野悦子³⁾、畑中道代³⁾、北村 肇³⁾、堀内孝彦⁴⁾

- 1) 九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、²⁾ 九州大学病院 臨床教育研修センター、
- 3) 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科、⁴⁾ 九州大学病院 別府病院 内科

C-6 日本人の非典型溶血性尿毒症症候群 41 人の遺伝子解析

宮田敏行¹⁾、内田裕美子¹⁾、吉田瑤子²⁾、池島裕子¹⁾、Fan Xinping¹⁾、芦田明³⁾、和田英夫⁴⁾、大塚泰史⁵⁾、中村健治⁶⁾、石川智朗⁷⁾、八田和大⁸⁾、服部元史⁹⁾、久野正貴¹⁰⁾、才田謙¹¹⁾、西尾健治¹²⁾、瀧本智仁¹³⁾、幡谷浩史¹⁴⁾、大原敦子¹⁵⁾、川村尚久¹⁶⁾、波多江健¹⁷⁾、松本雅則²⁾、加藤秀樹¹⁸⁾、南学正臣¹⁸⁾、藤村吉博²⁾

- 1) 国立循環器病研究センター・分子病態部、2) 奈良県立医大・輸血部、
- 3) 大阪医科大学・小児科、4) 三重大学・臨床検査医学、5) 佐賀大学・小児科、
- 6) 大津赤十字病院・小児科、7) 奈良県立医大・小児科、
- 8) 天理よろづ相談所病院・総合内科、9) 東京女子医大・腎臓小児科、
- 10) 千葉県こども病院・腎臓科、11) 国立成育医療研究センター・腎臓科、
- 12) 奈良県立医大・総合診療科、13) 九州大学・小児科、
- 14) 東京都立小児総合医療センター・腎臓内科、
- 15) 公立八女総合病院・腎臓内科、16) 大阪労災病院・小児科、
- 17) 福岡赤十字病院・小児科、18) 東京大学・腎臓内分泌内科

セッション D : 補体と検査

10:45~12:15

座長：塚本 浩、宮川周士

D-1 ラット腎移植急性 T 細胞関連性拒絶反応モデルにおける補体系因子の解析

山中和明¹⁾、加藤大悟¹⁾、角田洋一¹⁾、阿部豊文¹⁾、今村亮一¹⁾、前田晃²⁾、
宮川周士²⁾、野々村祝夫¹⁾

- 1) 大阪大学大学院・医学系研究科 器官制御外科学（泌尿器科）
- 2) 大阪大学大学院・医学系研究科 小児成育外科・移植臓器学

D-2 肝移植周術期における補体活性測定の意義

田中 宏和^{1,2)}、秦 浩一郎¹⁾、稲本 道¹⁾、久保田 豊成¹⁾、岡村 裕輔¹⁾、平尾 浩史¹⁾、
和田 道彦³⁾、上本 伸二¹⁾

- 1) 京都大学大学院医学研究科・肝胆膵移植外科、2) 丹後中央病院・外科、
- 3) アレクシオンファーマ

D-3 敗血症患者における血中 C 1 - inhibitor の経時的変化 - preliminary report -

廣瀬 智也¹⁾、小倉裕司¹⁾、姜 晋求¹⁾、中村 洋平¹⁾、嶋津 岳士¹⁾、北野 悦子²⁾、畑中 道代²⁾

- 1) 大阪大学医学部附属病院・高度救命救急センター、
- 2) 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科

D-4 腹膜透析排出液中の補体活性化産物測定により、腹膜炎の予後を予測できるか？

水野正司^{1,2)}、伊藤恭彦^{1,2)}、東出慶子²⁾、清祐実²⁾、井口大旗²⁾、坂田史子^{1,2)}、

鈴木康弘^{1,2)}、堀江正宣³⁾、B. Paul Morgan³⁾、松尾清一²⁾

¹⁾ 名古屋大学・医学部 腎不全治療システム学講座、²⁾ 名古屋大学・医学部 腎臓内科、

³⁾ 大雄会第一病院、⁴⁾ カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学講座

D-5 神戸常盤大学で測定依頼を受けた各種補体異常についてーその3

畑中道代¹⁾、北野悦子¹⁾、内堀恵美²⁾、北村 肇¹⁾

¹⁾ 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科、²⁾ 天理医療大学・医療学部・臨床検査学科

D-6 EDTA 血漿中の補体への温度の影響

北野悦子¹⁾、内堀恵美²⁾、畑中道代¹⁾、北村 肇¹⁾

¹⁾ 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科、²⁾ 天理医療大学・医療学部・臨床検査学科

ランチョンセミナー

12:15~13:15

座長：畑中道代

補体測定の歴史と今後

北村 肇

神戸常盤大学・保健科学部医療検査学科 客員教授

特別講演 2

13:50~14:50

座長：井上徳光

補体と発作性夜間ヘモグロビン尿症

木下タロウ

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・糖鎖免疫、同・微生物病研究所・免疫不全疾患

オーガナイザー：大澤 勲、堀内孝彦

ミニシンポジウム-1

わが国の遺伝性血管性浮腫（Hereditary angioedema; HAE）の実態解明に向けた NPO 法人血管性浮腫情報センターの活動

堀内孝彦

九州大学別府病院内科

ミニシンポジウム-2

凝固系と遺伝性血管性浮腫

森桶 聡、岩本和真、柳瀬雄輝、秀 道広

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院・統合健康科学部門・皮膚科学

ミニシンポジウム-3

遺伝性血管性浮腫における自己免疫異常

本田大介、大澤 勲、佐藤信之、久田温子、島本真美子、井下博之、恩田紀更、堀越 哲、
富野康日己

順天堂大学 腎臓内科

ミニシンポジウム-4

羊水塞栓症における C1 インヒビター活性の検討

田村直顕¹⁾、池田智明²⁾、金山尚裕¹⁾

¹⁾ 浜松医科大学・産婦人科、²⁾ 三重大学・産婦人科

Non canonical roles of the complement system at maternal-fetal interface

Roberta Bulla

Laboratory of Immunology, Department of Life Sciences, University of Trieste, Trieste, Italy

For a long time C has been viewed as an effector system that, once recognized the target to neutralize, acts by promoting the inflammatory process or by inducing cell damage. Data accumulated over the last few years indicate C components and C activation products may exhibit alternative functions. An important observation on the non canonical role of the C system in human placenta stems from studies conducted by our group showing that C1q is involved in placental development [2]. The early phase of pregnancy is characterized by an inflammatory-like process during which the endometrium of the uterus undergoes profound changes and transforms into decidua, a newly formed tissue that plays a critical role for successful embryo implantation and regular fetal growth. Interstitial trophoblasts depart from anchoring chorionic villi and invade the maternal decidua, myometrium. A distinct group of trophoblasts penetrate the uterine spiral arteries and migrate upward against the blood flow partially replacing the endothelial cells to form mosaic vessels [1]. These changes are contributed also by the complement system. More specifically, we found that C1q plays an important role in the replacement of decidual endothelial cells (DECs) by endovascular trophoblast that migrates along the decidual spiral arteries and in the extravillous trophoblast invasion of maternal

decidua. The original observation that started our studies was the detection of C1q on the surface of DECs in normal pregnancy in the absence of immunoglobulins and C4. C1q was found to be localized at the contact site between endovascular trophoblast and DECs suggesting its implication in the physical interaction between the two cell types. In vitro experiments of adhesion assay confirmed this hypothesis showing that the adhesion of purified trophoblast to a confluent monolayer of DECs is prevented by antibodies to C1q. This cell bound complement component acts as a bridge between endovascular trophoblast and decidual endothelium by virtue of its interaction with a receptor for the globular head of C1q (gC1qR) expressed on trophoblast. The finding that C1q is actively synthesized by extravillous trophoblast and is widely distributed in decidual stroma led us to recognize an additional function of the early C component in promoting trophoblast migration through the decidua. Trophoblast cells were found to adhere to and to migrate through C1q. Trophoblast cells interact with C1q through gC1qR and $\alpha 4$ and $\beta 1$ integrins expressed on their surface. The interaction triggers the activation of the MAP kinases pathway. The in vivo relevance of these findings is supported by the observation of impaired labyrinth development and decreased remodeling of decidual vessel associated with

increased fetal resorption rate, reduced fetal weight, and smaller litter size observed in C1q KO mice as compared with WT animals [3]. Analysis of decidua from PE patients showed a large number of unremodelled spiral artery surrounded by C1q negative trophoblast in contrast with C1q positive trophoblast surrounding the few remodelled vessels. The low/absent C1q expression was restricted to perivascular trophoblast and did not involve interstitial trophoblast, suggesting a direct relation of the defective C1q expression to the absence of vascular remodelling. In conclusion C1q, one of the component components produced at feto-maternal interface, serves an important function in placental development and may have clinical implications in the pathological pregnancies such as preeclampsia (PE), that are characterized by reduced trophoblast invasion.

1. Bulla, R., et al., *VE-cadherin is a critical molecule for trophoblast-endothelial cell interaction in decidual spiral arteries*. Exp Cell Res, 2005. **303**(1): p. 101-13.

2. Bulla, R., et al., *Decidual endothelial cells express surface-bound C1q as a molecular bridge between endovascular trophoblast and decidual endothelium*. Mol Immunol, 2008. **45**(9): p. 2629-40.

3. Agostinis, C., et al., *An alternative role of C1q in cell migration and tissue remodeling: contribution to trophoblast invasion and placental development*. J Immunol, 2010. **185**(7): p. 4420-9.

制御性 T 細胞による免疫応答制御

坂口志文

WPI 大阪大学免疫学フロンティア研究センター・実験免疫学

Control of immune responses by regulatory T cells

Shimon Sakaguchi

Laboratory of Experimental Immunology, WPI Immunology Frontier Research Center,
Osaka University

正常個体中に存在する制御性 T 細胞は、免疫自己寛容の維持、様々な免疫応答の抑制的制御に枢要である。内在性制御性 T 細胞の大部分は胸腺で、機能的に成熟した形で産生される。転写因子 **Foxp3** は、制御性 T 細胞に特異的に発現しており、制御性 T 細胞の発生、機能発現を制御するマスター制御遺伝子である。**Foxp3**+**CD25**+**CD4**+制御性 T 細胞の量的・質的異常は、様々な自己免疫疾患／炎症性疾患の直接的原因となる。例えば、典型的な場合として、小児の免疫不全疾患である **IPEX**(**I**mmune **d**ysregulation, **p**olyendocrinopathy, **e**nteropathy, **X**-linked)症候群では、高頻度に I 型糖尿病、甲状腺炎、炎症性腸疾患のみならず、重篤なアレルギー（皮膚炎、食物アレルギー）を発症する。制御性 T 細胞を標的としてその抗原特異的増殖により移植臓器に対する免疫寛容を誘導できる。逆に、その量的、機能的減弱を図ることで腫瘍免疫、微生物免疫を亢進させることができる。**Foxp3** の重要な機能として、正常 T 細胞に **Foxp3** を発現させると、機能、表現型の点で内在性制御性 T 細胞と同等の制御性 T 細胞に転換できる。しかしながら、**Foxp3** の発現のみでは、制御性 T 細胞の遺伝子発現プロファイルあるいは機能的安定性を付与できない。制御性 T 細胞を標的とする免疫応答制御の臨床応用に向けては、**Foxp3** 遺伝子のみならず制御性 T 細胞特異的遺伝子のエピジェネティック制御が重要である。本講演では、制御性

T 細胞による免疫抑制の分子機構、および制御性 T 細胞機能、細胞系譜の維持機構について、ヒト制御性 T 細胞への展開を含めて議論する。

Sakaguchi S. et al. *Nat Med.* 18:54 (2012) (review)Ohkura N. et al. *Immunity.* 38:414 (2013) (review)

補体と発作性夜間ヘモグロビン尿症

木下タロウ

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・糖鎖免疫、同・微生物病研究所・免疫不全疾患

Complement and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

Taroh Kinoshita

Immunology Frontier Research Center and Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University,
Suita, Japan

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) は、補体によって自己赤血球が破壊される後天性の疾患である。壮中年期を中心に小児期から高年期まで、発症時期には幅があり、いったん発症すると 10 年以上長期に持続する。10 万人あたり 1~2 人程度のまれな疾患である。発症時には、補体の作用に弱いクローン性の PNH 赤血球が出現していて、血液は正常赤血球と PNH 赤血球のモザイクになっている。感染等に伴って補体が活性化したとき PNH 赤血球が一度に破壊されることにより溶血発作が起こる。また第 2 経路の自然活性化による低レベルの溶血が睡眠時に亢進することから、PNH という病名がつけられた。補体による溶血、血栓と骨髄不全が 3 主徴である。本講演では、PNH の発症メカニズムを概説する。

PNH 赤血球では、decay-accelerating factor (DAF, CD55) と CD59 の 2 つの補体制御因子が欠損している。DAF は、同じ膜上に形成された C3 転換酵素 (C4b2a, C3bBb) から C2a あるいは Bb を速やかに遊離させて失活させることにより、一方 CD59 は、C5b-8 あるいは C5b-9_i に作用して膜障害性複合体 (C5b-9_n) の形成を妨げることにより、赤血球を保護している。

DAF と CD59 を欠損した異常細胞は、赤血球だけでなく、好中球、単球、血小板、T、B、NK リンパ球にも出現する。しかし、血液系以外の細胞には

証明されない。すなわち、異常な多能性造血幹細胞ができ、それ由来のクローン性の異常細胞集団が各血球系統に出現すると理解される。

DAF と CD59 は、どちらも糖脂質であるグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) によって膜にアンカーされている GPI アンカー型タンパク質である。GPI アンカーは、小胞体で 11 段階の反応を経て生合成され、DAF や CD59 など GPI アンカー付加シグナル配列を持つタンパク質の C 末端に付加され、膜アンカーとして働く。PNH 細胞では、GPI 生合成経路の第 1 ステップの反応が欠損しているため、DAF や CD59 に膜アンカーが付加されない。アンカーが付加されない前駆体タンパク質は、小胞体関連分解によって分解され、細胞表面に発現されない。

GPI アンカー生合成の第 1 ステップは、ホスファチジルイノシトール (PI) に、UDP-N アセチルグルコサミン (UDP-GlcNAc) から GlcNAc を転移して GlcNAc-PI ができる反応である。これに働く GlcNAc 転移酵素は、7 つのタンパク質の複合体で、そのうち PIGA が触媒サブユニットである。PNH 赤血球は、X 染色体遺伝子である PIGA に機能喪失型の体細胞突然変異を起こしている。女性であっても血液細胞などの体細胞では片方の X 染色体は不活化されているため、男女ともワンヒットの体細胞突然変異で GPI 生合成を欠損した異常細胞になる。同じ

変異が、好中球とリンパ球に存在するので、体細胞突然変異が多能性造血幹細胞で起こっていることが示された。

これまでに原因遺伝子が報告された 200 以上の PNH 症例では、1 例を除きすべてが PIGA の変異による GPI 欠損が起こっていた。それは、GPI 生合成に必要な 20 数遺伝子のなかで、PIGA だけが X 染色体遺伝子で、他のすべてが常染色体遺伝子であることで説明できる。常染色体遺伝子は両親由来の両方が働くので、同一細胞に 2 つの変異が重なって起こって初めて GPI 欠損細胞になる。このような頻度は極めて低いので、通常は原因遺伝子にならないと考えられる。唯一の例外は、PIGT 遺伝子が原因であることが証明された 1 例である。この場合は、一方のアレルの変異は、PNH 血球だけでなく正常血球にも存在し、もう一方のアレルの変異が、PNH 血球だけに存在した。すなわち、前者は生殖細胞に存在した変異であり、後者が造血幹細胞に起こった体細胞変異であると考えられる。

ヒト化抗 C5 モノクローナル抗体であるエクリズマブが、補体による溶血の防止に大きな効果を現し、多くの患者さんの QOL の向上につながっている。エクリズマブの使用によって、3 主徴の一つである血栓も有意に抑制されることが示され、血栓形成にも C5 の活性化が関与していることがわかった。

もう一つの主要症状である骨髄不全は、PNH の発症メカニズムに関係していると思われる。一つの異常造血幹細胞由来であるクローン性の PNH 血球は、正常細胞を凌駕して拡大しており、このクローン性の拡大は、PNH 発症に至るキーステップである。造血幹細胞に対する自己免疫によって骨髄不全となる特発性再生不良性貧血と PNH が合併することが多いことから、PNH で見られる骨髄不全も自己免疫によるものであると考えられる。GPI アンカー型タンパク質欠損細胞は、種々の細胞障害性リンパ球に対して正常細胞より抵抗性であることが示されている。自己反応性の細胞障害性リンパ球によって正常幹細胞が障害されるとき、PNH 型幹細胞が生き残ることにより、相対的に拡大するメカニズムである。

PNH では、好中球や単球のほぼすべてが PNH 細胞で占められていることも少なくない。このような大きな拡大は、自己免疫による選択だけでは説明しにくい。PNH 細胞だけに 12 番染色体異常を持つ 2 症例の解析から、異所性発現すると良性腫瘍を起こす HMGA2 が、骨髄で異所性発現していることがわかり、良性腫瘍性を獲得した PNH 型サブクローンが大きく拡大していることがわかった。

こうした結果に基づいて、1) 体細胞変異、2) 自己免疫、3) 良性腫瘍性獲得の 3 段階発症モデルを提唱している。

わが国の遺伝性血管性浮腫（Hereditary angioedema; HAE）の 実態解明に向けた NPO 法人血管性浮腫情報センターの活動

堀内孝彦

九州大学別府病院内科

Investigation of the actual situation of HAE in Japan by the Center for Research, Education,
and Treatment of AngioEdema (CREATE)

Takahiko Horiuchi

Kyushu University Beppu Hospital, Department of Internal Medicine

The Center for Research, Education, and Treatment of AngioEdema (CREATE), a specified
Non-profit Corporation

<はじめに>

遺伝性血管性浮腫(HAE)は、わが国では1969年に最初の学会報告がなされて以来、多くの症例報告はあるが、実態はほとんどわかっていない。我々は、最初の報告がなされた1969年から2010年までに報告された英文論文、和文論文、学会口頭発表をできる限りすべて収集したところ132例のHAE報告があった。性別、家族歴、臨床症状、誘発因子、合併症、治療法について表にまとめると(表1)¹⁾、発端者は女性が多く(69%)、HAE 1型が87.5%であった。症状で最も多いのは浮腫であり91%に認めたが、腹痛や喉頭浮腫も約半数に認めた。発作のきっかけは外傷や歯科処置、精神的ストレスが多かった。併存疾患では全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群や慢性糸球体腎炎など免疫疾患が散見された。家族歴は78%に認めたが、残りの22%は孤発例であった。

この解析によって、はじめてわが国HAEの実態が明らかになったのであり、補体研究会の「遺伝性血管性浮腫ガイドライン2010」²⁾³⁾作成にも大きく貢献したことは事実である。しかしながら、その一方で私どもの解析にはいくつかの弱点がある。まず症例報告であることから、重症の症例や珍しい症例な

どが報告されやすいバイアスがかかっている可能性がある。また今から20年以上前の症例も多く含んでおり、当時と今とでは治療実態も大きく異なっている。HAEの特効薬といえるC1インヒビター製剤(商品名ベリナート)のわが国での販売開始は1990年である。また遺伝子解析まで施行された症例がきわめて少ないため遺伝疾患であるHAEにもかかわらず遺伝子異常の実態が不明である。

わが国HAEの実態を明らかにすることが、HAEの適正な診断と治療を進めていくための基盤になると思われる。そしてひいてはアジアでのHAE実態解明にも展開できると考える。

<方法>

NPO 法人血管性浮腫情報センター (The Center for Research, Education, and Treatment of AngioEdema: CREATE)を2011年1月に設立した。その機能は大きく分けて、1)患者の登録(レジストレーション)システムの運営、管理、2)原因となる遺伝子異常の解析、3)HAE患者会「くみーむ」の運営、からなっている。

<結果ならびに考察>

遺伝子解析の依頼は、全国の医療機関からいただいている。いくつかの解析方法でもれなくHAE遺

伝子異常を同定できるシステムを構築している。すべての C1 インヒビター遺伝子のエクソンならびにその近傍のイントロンの異常を PCR-SSCP、Direct sequence で解析する。これによって 1 塩基置換をはじめとした小さい遺伝子異常を同定することができる。さらに MLPA 法を用いてエクソン欠失、挿入から遺伝子全体の欠失までにいたる大きな遺伝子異常を同定することができる。凝固第 12 因子の遺伝子異常の解析も行っている。

遺伝子解析を行った症例については、web 上から患者情報の登録をお願いしている。各施設の ID ならびにパスワードがあり、専門会社によって情報の保護、秘密保持、管理が行われている。

患者からの相談にも対応している。旅行先の HAE 専門医療機関の所在についての問い合わせや、自身の治療や診断方法についての問い合わせ、自分自身で HAE を疑い診断可能な専門の医療機関の紹介依頼など、内容は多岐にわたる。特に最近痛感するのは、HAE 患者のみならず原因不明の血管性浮腫患者からの問い合わせが多くなっていることである。原因不明の血管性浮腫は、血管性浮腫の半分以上を占めると言われているが、実際これら患者の治療機関がなく相談相手もない状況が深刻であることを疑わせる。行き場のない患者がやっと NPO 法人 CREATE にたどり着いたという表現も誇張ではないと思う。私どもへの遺伝子解析依頼も HAE3 型す

なわち C1 インヒビター異常はない家族性の血管性浮腫の患者の依頼も散見されるようになっている。ただし今までのところ凝固第 12 因子の遺伝子異常は私どもの施設では見つかっていない。

わが国 HAE の実態を解明する目的で NPO 法人を立ち上げて 3 年あまり経過した。まだまだ道半ばであるが、さらに活動を展開し、わが国初の、そしてアジア初の、nation-wide な患者レジストレーションシステムを完成し、わが国の実態に沿った HAE の診断と治療法の構築に貢献していきたい。補体研究会の皆様のみならずのご助力ならびにご指導を切に願う次第である。

<文献>

- 1) Yamamoto T, Horiuchi T, Miyahara H, et al. Hereditary angioedema in Japan: Genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am J Med Sci* 343: 210-214, 2012
- 2) Horiuchi T, Ohi H, Ohsawa I, et al. Guideline for Hereditary Angioedema (HAE) 2010 by the Japanese Association for Complement Research – secondary publication. *Allergol Int* 61: 559-562, 2012
- 3) 堀内孝彦：遺伝性血管性浮腫（HAE）ガイドライン 2010 ー迅速に診断し的確に治療するためのポイントー. *アレルギー* 63 : 749-753, 2014

表1 わが国HAE患者の臨床症状
(1969~2010の132報告の解析)

Phenotype and gender

<u>Phenotype</u>		
Type 1	70 (87.5%)	
Type 2	10 (12.5%)	
<u>Gender</u>		
Male	41 (31%)	
Female	91 (69%)	

Symptoms

<u>Involved site</u>	<u>Patients NO and %</u>
Subcutaneous	109 (91%)
Abdominal	54 (45%)
Respiratory	55 (47%)
Tracheostomy or tracheal intubation	18 (32% of respiratory symptoms)

Triggering factors

<u>Factor</u>	<u>Patients NO</u>
Minor trauma	11
Dental procedure	9
Emotional stress	6
Fatigue	4
Upper respiratory infection	3
Pregnancy	2
ACE inhibitor	1

Associated diseases

<u>Diseases</u>	<u>Patients NO</u>
SLE like-symptoms	8
Chronic glomerulonephritis	7
Sjogren's syndrome	3
Thromboembolic disease	3
DIC	3
macular degeneration	1

Family history

<u>Family history of HAE</u>	<u>Patients NO and %</u>
Present	85 (78%)
Absent	24 (22%)

Treatment for HAE attack

<u>Drug</u>	<u>Patients NO</u>
C1inhibitor concentrate	26
Tranexamic acid	10
Nafamostat mesilate	3

凝固系と遺伝性血管性浮腫

森桶 聡、岩本和真、柳瀬雄輝、秀 道広

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・統合健康科学部門・皮膚科学

Blood coagulation system and hereditary angioedema

Satoshi Morioke, Kazumasa Iwamoto, Yuhki Yanase, Michihiro Hide

Department of Dermatology, Integrated Health Sciences, Institute of Biomedical & Health Sciences,

Hiroshima University,

Hiroshima, Japan

[はじめに]

遺伝性血管性浮腫は、C1 インヒビターの機能不全または欠如を基盤として、外傷、抜歯、過労などの外的刺激を誘因に重篤な浮腫の発作が出現する疾患であり、その頻度は1~15万人に1人とされる。本症ではC1 インヒビターの欠損または機能低下により補体系の活性化が起こるとともに、カリクレイン・キニン系が活性化され浮腫を促進させるブラジキニンの産生が亢進する。近年、慢性蕁麻疹や遺伝性血管性浮腫の病態や病勢に血液凝固異常が関与しており、蕁麻疹の膨疹部に浸潤した好酸球に凝固外因系のトリガーである Tissue Factor (TF) の発現が亢進していることが報告されている¹⁾。しかし、血管内での凝固反応開始の機序の詳細、および浮腫形成をもたらすメカニズムはいまだ不明な点が多い。我々はこれまでに、健常人の末梢血単核球(PBMC)を用いて予備的検討を行い、抗 IgE 抗体あるいは抗原刺激によって単球における TF の発現が誘導されることを見出した。病勢と並行して血液凝固系マーカーのひとつである D-dimer が変動する遺伝性血管性浮腫の症例があり、患者の協力を得て単球における TF の発現について検討を行ったので報告する。

[方法]

病歴、臨床所見、遺伝子解析から遺伝性血管性浮腫と確定診断した37歳女性患者から、血管性浮腫の発作出現前後に採血を行い、末梢血より CD14 陽性の単球を分離し、フローサイトメトリーで TF の発現を測定した。

[結果]

明らかな誘因がなく血管性浮腫の発作が出現した際に単球における TF の発現が亢進し、浮腫の程度や D-dimer の数値と並行して低下がみられた。

[考察]

本症例では、単球表面上に TF が発現することで血液凝固外因系が駆動され、浮腫の発作が起こる可能性が考えられた。また、その発現は病勢に並行して変動することが示唆された。

[結論]

遺伝性血管性浮腫では、その病勢と凝固系が密接に関連して変動する症例があり、発作時には単球上に TF が発現し、浮腫を誘発するトリガーとなる可能性がある。

[文献]

1) Asero R. et al. *Autoimmun Rev* 7:71-76 (2007)

遺伝性血管性浮腫における自己免疫異常

本田大介、大澤 勲、佐藤信之、久田温子、島本真美子、井下博之、恩田紀更、堀越 哲、富野康日己
順天堂大学・腎臓内科

Serological and experimental findings of autoimmune disorders in patients with hereditary angioedema

Daisuke Honda, Isao Ohsawa, Nobuyuki Sato, Atsuko Hisada, Mamiko Shimamoto,

Hiroyuki Inoshita, Kisara Onda, Satoshi Horikoshi and Yasuhiko Tomino

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

[はじめに]

Hereditary angioedema (HAE)は、発作の出現により局所に浮腫を生じ、腸管浮腫に対して試験的開腹術を施行される症例や、咽喉頭浮腫による窒息により死亡する重症例もみられる。しかし、発作時にはC-1 inhibitor (C1-INH)製剤の投与により極めて有効な治療が可能のため、確定診断がなされていれば、発作時には患者を救命でき、非発作時にも患者の精神的・身体的 QOL の向上につながる。ところが、HAE 患者のなかには血清学的自己免疫異常を示唆する症例が多く存在し、自己免疫疾患との鑑別が困難であり、診断の際に大きな障壁となる。このことが、発症から確定診断まで非常に長時間を要する一つの要因となっている 1)。

HAE では、C4・C2 の低下を認め、さらに C1q の低下を示す症例もあり、オプソニン化能や免疫複合体可溶化能の低下を来し、免疫学的な検査値の異常を出現させていると推測される。これまでに、HAE 患者の自己免疫異常や自己免疫疾患合併例について報告されており 2)、当院通院中の HAE 患者にも自己免疫異常を示唆する所見を認める症例が存在する。

そこで今回、HAE 患者における血清学的自己免疫異常所見を評価し、患者血清を用いてオプソニン化能を測定することにより、HAE と自己免疫異常の関連の一端を明らかにすることを目的とした。

[方法]

1. 当院に通院する I 型あるいは II 型 HAE の確定診断を得た患者のうち、臨床研究への参加の同意を得た 18 名の初診時 (非発作時)の血清を採取し、鑑別に必要な免疫異常を血清学的に評価し、比較検討した。

2. THP-1 cell line (derived from mononuclear leukemia) に Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)を添加し、マクロファージ様に分化させた細胞と、Jurkat cell line (derived from T cell leukemia)に紫外線を照射し、Annexin V と Propidium iodide によりアポトーシス誘導を確認した細胞に、採取した HAE 血清を添加し細胞の貪食像あるいは捕捉像を観察した。100 個のマクロファージ様細胞のうち、アポトーシス細胞を貪食あるいは捕捉しているマクロファージ様細胞の個数の割合をオプソニン化能の指標とした 3)。また、アポトーシス細胞のオプソニン化に関与する補体因子を同

定するため、Jurkat cell に紫外線を照射させたアポトーシス細胞に血清を添加反応させ、抗補体因子抗体(抗 C1q 抗体、抗 C4d 抗体、抗 iC3b 抗体)を用いて、フローサイトメトリーで測定した。

[結果]

1. 血液検査

HAE 患者(18 名)の全員に、基準値に比べて C1-INH 活性の 50%未満の低下(患者 min:<25%, 患者 max:47%)がみられた。C1-INH 蛋白量の低下(患者 min:<3mg/dl, 患者 max:15mg/dl)は 17 名(94.4%)、C4 の低下(患者 min:<2mg/dl, 患者 max:29mg/dl)は 16 名(88.9%)みられた。そして、自己免疫異常を示唆する検査項目として、C1q の低下(患者 min:2.5mg/dl, 患者 max:12.5mg/dl)は 11 名(61.1%)、IC-C1q の上昇(患者 min:<1.5µg/ml, 患者 max:44µg/ml)は 4 名(22.2%)、クリオグロブリンの偽陽性は 5 名(27.8%)みられた。

2. 血清のオプソニン化能

HAE 患者血清によるオプソニン化能は、低下していた(患者平均 19.4% : 健常者 64.3%)。さらに、この HAE 患者血清に健常者血清を追加すると、オプソニン化能の回復が認められた(平均 53.8%)。また、アポトーシス細胞には、補体因子(C1q, C4d, iC3b) が結合していた。

[考察]

オプソニン化に必要とされる補体因子の欠乏を認める HAE 患者では、自己免疫異常を示唆する複数の血清学的所見を認めた。疾患認知度の低い HAE 患者では、浮腫と低補体血症を認め、さらに血清 C1q の低下、血清 IC-C1q の上昇、クリオグロブリン偽陽性などの検査データが得られた場合には、自己免疫疾患との鑑別が困難になると考えられる。これに対し、我々の基礎的研究では、患者血清のオプソニ

ン化能の低下を認め、自己免疫異常出現の原因となっている可能性が示唆された。

今後は、アポトーシス細胞を貪食あるいは捕捉するマクロファージ様細胞の補体受容体を確認するために、PMA 刺激後(マクロファージ様細胞)に抗補体受容体抗体を添加したのちに、同様にオプソニン化能の減弱について検討する予定である。

また、補体因子が重要な働きを担う免疫複合体可溶性の測定も進め、HAE における血清学的異常と自己免疫異常との関連性を解明したいと考えている。

[結論]

HAE 患者では、血清学的自己免疫異常を示唆する所見とオプソニン化能の低下を認め、HAE と自己免疫異常との関連性が示唆された。

[文献]

- 1) Yamashita T. et al. Am J Med Sci. 343: 210-214 (2012)
- 2) Farkas H. et al. Clin Immunol. 141: 58-66 (2011)
- 3) Marc Bijl. et al. Arthritis & Rheumatism. 48: 248-254 (2003)
- 4) Gabrielli A. et al. Clin Immunol Immunopathol. 36: 266-274 (1985)

羊水塞栓症における C1 インヒビター活性の検討

田村直顕¹⁾、池田智明²⁾、金山尚裕¹⁾¹⁾浜松医科大学産婦人科、²⁾三重大学産婦人科

C1 esterase inhibitor activity in amniotic fluid embolism

Naoaki Tamura¹⁾, Tomoaki Ikeda²⁾, Naohiri Kanayama¹⁾¹⁾Department of Obstetrics & Gynaecology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu²⁾Department of Obstetrics & Gynaecology, Mie University School, Tsu, Japan

[はじめに]

羊水塞栓症 (AFE) は、羊水・胎児成分の母体循環内への流入が引き金となり、突如として低酸素血症、低血圧症、播種性血管内凝固(DIC)を発症する一つの症候群である(表1)¹⁾。AFEの死亡率は24%と見積もられ²⁾、母体死亡の原因の5~15%を占めることから³⁾、重篤な産科疾患の一つと位置付けられている。AFEでは母体血中補体値が有意に低下していることから⁴⁾、その病態として血液凝固系と補体系の異常が関与していることが示唆されている。また、AFEの子宮は弛緩状態を呈することが知られているが、我々はAFEの子宮の組織学的検討により、子宮筋層の浮腫により子宮弛緩が生じていることを見いだしている。C1 インヒビター (C1INH) は補体系のみならず、第XII因子、カリクレインを抑制する作用を持ち、その欠損は遺伝性血管性浮腫 (HAE)の原因として知られている。我々はC1INHが、補体系、凝固線溶系、キニン-カリクレイン系を制御する因子であることに着目し、AFEにおけるC1INH活性について検討した。

[方法]

2010年から2011年の2年間にAFE登録事業(日本産婦人科医会委託事業・浜松医科大学産婦人科)

に登録された症例の中で、本邦の羊水塞栓症の診断基準(表1)を満たした106例(年齢 33.8 ± 5.8 歳、初産婦49%、妊娠期間 268 ± 19 日、帝王切開率51.0%、経膈分娩出血量 4864 ± 3039 ml、帝王切開出血量 4270 ± 2988 ml)を抽出し、発症時の血漿を用いた。コントロール88例(年齢 31.0 ± 4.8 歳、初産婦31.8%、妊娠期間 273 ± 12 日、帝王切開率31.8%、経膈分娩出血量 395 ± 170 ml、帝王切開出血量 840 ± 279 ml)は当科にて分娩した妊婦の分娩時血漿を用いた。検体は測定まで -30°C にて凍結保存した。C1INH活性を発色性合成基質法に測定した。コントロール群とAFE群、AFE生存群(85例)とAFE死亡群(21例)をそれぞれMann-Whitney検定を用いて比較検討した。本研究は浜松医科大学の倫理委員会の承認を受けて行った。

[結果]

C1INH活性(非妊婦基準範囲70~130%)は、コントロール群 $62.0 \pm 2.0\%$ 、AFE群 $30.0 \pm 1.8\%$ であり、AFE群で有意に低値を示した($P < 0.0001$)。また、AFE生存群 $32.0 \pm 2.1\%$ 、AFE死亡群 $22.5 \pm 3.4\%$ であり、死亡群で有意に低値を示した($P = 0.0121$)(図1)。

AFE発症前からC1INH活性を追跡できた3症例

のうち、生存例 2 例の C1INH 活性はそれぞれ 29% →14% →回復（発症前 →発症時 →補充療法中）と 45% →25% →回復（発症前 →発症時 →補充療法中）であった。死亡例の C1INH 活性は 12% →32% →回復せず（発症前 →発症時 →補充療法中）であり、死亡例は剖検にて AFE と菌血症と診断された。

[結果]

我々は、AFE において C1INH 活性が有意に低下していること、また、AFE 死亡例（重症例）ではその低下が顕著であることを明らかとした。また、発症前から追跡できた全症例で、発症前の C1INH 活性が妊娠後期の平均値（74.3%）より顕著に低値であった。母体循環内への羊水の流入はどの妊産婦にも起こりうる現象であるが、必ずしも羊水塞栓症を発症するわけではないため、羊水成分に対するアナフィラクトイド反応の発現レベルに個体差があるのではないかと考えられる。この点、補体系の主要な抑制因子である C1INH 活性の低下は、AFE 発症と重症化に関わっている可能性が高い。

AFE 生存例では、新鮮凍結血漿(FFP)を含む補充療法にて C1INH 活性が回復し救命されている。全血 200ml 由来の FFP 中には C1INH が 100 単位含まれている。FFP 投与によって C1INH が十分に補充されたことにより、C1INH 活性が回復したと考えられる。この点、AFE に対する C1INH 濃縮製剤の有効性も示唆され、検討が必要である。

[文献]

1) Oi H, et al. *Gynecol Obstet Invest.* 70: 138-144 (2010)
 2) Kanayama N, et al. *J Obstet Gynaecol Res.* 37: 58-63 (2011)
 3) Conde-Agudelo A, Romero R. *Am J Obstet*

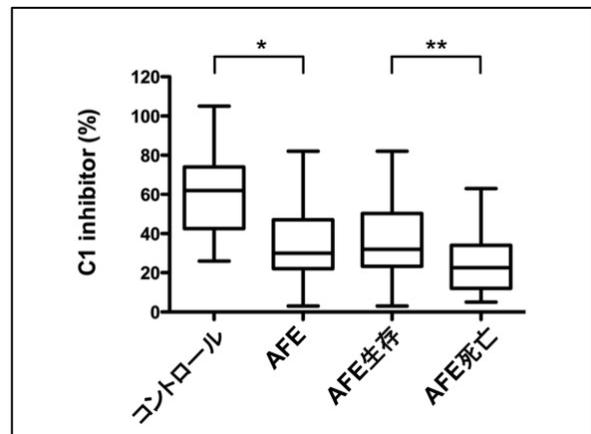
Gynecol. 201; 445: 1-13 (2009)

4) Benson MD, et al. *Obstet Gynecol.* 97: 510-514 (2001)

表 1. 臨床的羊水塞栓症の診断基準

以下の3つを満たすものを臨床的羊水塞栓症と診断する。
① 妊娠中または分娩後12時間以内に発症
② 下記に示した症状・疾患(1つまたはそれ以上でも可)に対して集学的な医学治療が行われた場合
A) 心停止
B) 分娩後2時間以内の原因不明の大量出血(1500ml以上)
C) 播種性血管内凝固症候群(DIC)
D) 呼吸不全
③ 観察された所見や症状が他の疾患で説明できない
<small>(Benson MD: Arch Fam Med:1993より改変)</small>

図 1. C1INH 活性値の比較



補体測定 of 歴史と今後

北村 肇

神戸常盤大学 保健科学部医療検査学科 客員教授

補体測定法 (表 1)

補体の測定は、タンパク測定と活性測定に分けられる。前者は、特異抗体を用いて、個々のタンパクの濃度を、その抗原性を指標として測定するものであり、後者は、活性化経路を動かして、MAC の形成を指標として測定する。歴史的には、タンパク測定は、初期の頃 **single radial immunodiffusion (SRID)** やロケット法など、ゲル内沈降反応が用いられていたが、現在は **ELISA** 法が用いられている。特徴は、元のタンパクだけではなく、活性化フラグメント (分解産物) も検出されることである。一方、活性測定は、検体中のタンパクだけでいずれかの経路を活性化させて **MAC** 形成を検出する一括測定が頻繁に使われている。一括測定なので、低値でも問題の部分を特定できないが、スクリーニングとしては、便利である。以前は **EA** やウサギ赤血球などを使う溶血法が用いられていたが、リポゾームが使われるようになり、現在では、**ELISA** 法で各経路が測定できる。**EA** を使って古典経路による溶血を検出する方法は、以前は (血清) 補体価と呼ばれていたが、現在では **CH50** と呼ばれ、今でも頻用されている。また、溶血法による個々の補体成分活性測定や、特殊な中間生成体や **reagent** を必要としないで、低補体の解析に便利な **C42 generation assay** がある。これら、活性法の特徴は、活性化フラグメント (分解産物) は検出されず、**native** な成分だけが検出されることである。

測定から見た、補体関連疾患 (表 2)

臨床補体学初期の頃は、**SLE**、腎炎や **Cold Activation** を代表とする、血清の **CH50** 値が大きく低下する疾患が注目された、これらは **in vivo** であるいは血清中で激しい活性化が起こる疾患であり、活性化型と言える。次に各補体成分の欠損症 (欠損

型) が報告されたが、この型では、活性化は起こらないため、補体不全の症状を持つことが多い。一方、最近はいくつもの疾患形成参加型も報告されている。その特徴は、補体は生体防御に働くという観点では説明できないこと、及び **in vivo** で補体活性化が起こるにもかかわらず、**CH50** は大きく低下しないことが多いことであり、従って、通常の **CH50** や **C3 & C4** のタンパク濃度測定は、診断などに役立たないことが多い。以上の 3 型とは別に、補体関連疾患に、大腸がんの便中 **DAF**、慢性腎疾患の血清 **D** 因子の著増など、補体系としてではなく、成分単独タンパクと疾患の関連を示すものも入れることができる。

補体相談・補体測定受諾

当研究室では、全国の医師からのベッドサイドでの症例の補体相談や測定依頼を受けている。補体測定の観点からいえば、**aHUS** を含む、疾患形成参加型症例の依頼も多くなっている。これらに対応するためには、制御タンパクなど、種々の補体関連タンパクを測定可能にする必要がある。但し、ベッドサイドで問題となる症例の数からいえば、**Cold Activation** を含む **CP** や **AP** 活性化症例や欠損症疑い症例も多いので、活性測定も必要であろう。

以上より、補体測定の今後については、1) 広範囲な補体関連タンパク (**LP** 成分や制御タンパク) の測定、2) 新しい活性測定法の開発 (これまでの溶血法では、余りにも煩雑 (**reagents**、時間と手間、手技、計算) である)、3) 鋭敏且つ再現性の高い、活性化フラグメントの測定 (局所での補体活性化を定量) を目指すべきであろう。

表1 補体測定法

測定対象	方法 (呼称)	測定原理	使用試薬など
蛋白濃度	個々の成分	SRID、ロケット法、 ネフェロメトリー、比濁法、 ELISA	ゲル内沈降反応、EIA などの免疫化学的測定 特異抗体
	分解産物	C3a, C5a, Bb などの活性化フラグメント測定	RIA, EIA などの免疫化学的測定 モノクローナル抗体
活性	一括	補体価 (CH50)	古典経路を介する免疫溶血反応 感作ヒツジ赤血球 (EA)
		リポゾーム法	古典経路を介するMAC形成
	ACH50	第2経路を介する溶血反応 ウサギ赤血球 (Er)	
	Wielisa (商品名)	3つの異なる経路を介するMAC形成をELISA法で検出	
	個々の成分	溶血活性法	免疫溶血反応 中間生成体、精製補体成分
C1~C2 & C3~C9	C42 generation assay (C42 Tmax 法)	2段階免疫溶血反応	EA & NHS

表2 補体関連疾患

	疾患	補体系の参加	血清中の補体	CH50, C3 & C4 測定
活性化型	SLE、腎炎、肝疾患 HAE (Cold Activation)	(全身性の) 激しい活性化	消費による減少	診断・重症度・予後判定に役立つ
欠損型	補体成分欠損症	補体機能不全	産生不能	診断に役立つ
疾患形成参加型	PNH、MPGN、動脈硬化、アルツハイマー、aHUS、SIRS(ショック)、HUVS、血栓形成性腎炎、加齢黄斑変性、移植片拒絶	局所で、活性化が疾患形成に参加	消費は軽度	殆ど役立たないことが多い
単独タンパク異常型	大腸がん (DAF)、慢性腎疾患 (D 因子)、Buerger's disease			

Deficiency of the lectin complement pathway is associated with an impaired stress signal upon infection

Kazuo Takahashi, Elizabeth Van Cott, Lakshmi Gowda, Abdala ElKhal, Lei Shi

Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Massachusetts General Hospital and Department of Radiology,
Harvard Medical School

Mannose binding lectin (MBL) and complement 3 (C3) are complement molecules of the lectin pathway. Deficiency in either molecule, tested using MBL and C3 knockout (KO) mice, increases susceptibility to certain infections. During infection, these mice show symptoms of illness, including piloerect fur (unkept and rough) and reduced activity. These symptoms are decreased in mice deficient of both MBL and C3 (MC3KO); however their survival is significantly shorter compared to mice lacking either MBL or C3. Concordant with these symptom phenotypes, inflammatory cytokines TNF- α and IL6 levels in plasma of MC3 KO mice are lower than those in

MBL or C3 KO mice. Blood bacterial titers were proportional to the inflammatory cytokine levels: low in the MC3 KO compared with MBL or C3 KO mice. Investigation of mRNA transcripts in the liver, the primary site of TNF- α and IL6 synthesis, revealed that MC3 KO mice have significantly elevated transcription factors associated with anti-inflammatory response. These results demonstrate that regulation of the appropriate inflammatory response, including a balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors, is a critical element of host response to infection that is mediated in part by the complement system, and specifically MBL and C3.

腹膜炎-敗血症モデルにおける補体因子 MASP-1/3 の役割

戸塚直也、高橋実、町田豪、石田由美、関根英治
福島県立医科大学・医学部・医学科・免疫学講座

The role of MASP-1/3 in septic peritonitis model

Naoya Totsuka, Minoru Takahashi, Takeshi Machida, Yumi Ishida, Hideharu Sekine

Department of Immunology, Fukushima Medical University, Fukushima, Japan

[はじめに]

敗血症は、細菌による感染を発端として、細菌が血液を通して全身に広がり、過剰な炎症応答、多臓器不全、ショック等を引き起こす重篤な全身性炎症反応症候群である。腹膜炎、肺炎、術後感染等からの敗血症の発症数は世界的に増え、死亡率が 30%と高く、年間死亡者数が 100 万人を超えている。敗血症に関して、これまで多くの知見が報告されているが、未だ明確な病態機序が確立されていない。

敗血症の病態と補体との関係は以前から報告されているが、補体因子によっては、敗血症の病態の改善に関与したり、あるいは逆に増悪に関与したりと、未だ不明な点が多い¹⁻⁴⁾。

当研究グループでは、補体因子 Mannose-binding lectin-associated serine proteases-1/3 (MASP-1/3) が、補体レクチン経路の活性化に寄与しているだけでなく、補体第二経路の活性化に必須であることを報告している⁵⁻⁶⁾。そのため、MASP-1/3 においても、敗血症の病態への関与が予想される。

そこで、本研究では、敗血症における MASP-1/3 の役割を明らかにすることを目的として、MASP-1/3 欠損マウスにおいて、敗血症の実験モデルとして広く用いられている盲腸結紮穿孔法 (Cecal ligation and puncture : CLP) による腹膜炎

モデルで解析した。

[方法]

C57BL/6J バックグラウンドの野生型、MASP-1/3 ヘテロ欠損、および MASP-1/3 欠損マウスにおいて、CLP 実施後の生存率を解析した。また、CLP 実施後 16 時間における血液中の細菌数およびサイトカイン産生、さらに腹腔内に動員される細胞数の解析を行った。疾患対照モデルとして、同マウスを用いて、Lipopolysaccharide (LPS) 投与後の生存率を解析した。

[結果]

CLP を実施したところ、MASP-1/3 欠損マウスは、野生型および MASP-1/3 ヘテロ欠損マウスに比べ、生存率が有意に低下していた (図 1)。また、MASP-1/3 欠損マウスは、CLP 実施後 16 時間の血液中の細菌数 (Colony forming unit : CFU) や炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-6 等) の濃度も、MASP-1/3 ヘテロ欠損マウスに比べ、有意に高値を示していた。さらに、MASP-1/3 欠損マウスは、CLP 実施後 16 時間の腹腔浸出細胞の数が低下していた。

一方、LPS 投与による敗血症モデルでは、野生型、MASP-1/3 ヘテロ欠損、および MASP-1/3 欠損マウスにおける生存率に有意差は認められなかった。

[考察]

これらの結果から、MASP-1/3 欠損マウスは、CLP における病態に対し、感受性が高いことが明らかとなった。その理由として、CLP 実施後の腹腔浸出細胞の数が低下していたことに起因していると考えられた。通常、CLP 実施後の腹腔浸出細胞には、好中球やマクロファージといった貪食細胞が占めているため、MASP-1/3 欠損マウスでは、殺菌能が低下し、血液中の細菌数が高値を示していることが推測された。

一方、LPS 投与による敗血症モデルでは、野生型、MASP-1/3 ヘテロ欠損、および MASP-1/3 欠損マウスにおける生存率に有意差は認められなかったことから、MASP-1/3 は、Toll-like receptor 4 (TLR4) リガンドである LPS 以外の Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)、あるいは生きている細菌によって誘導される敗血症に対する防御機構として機能していることが示唆された。

これまでの知見で、アナフィラトキシン C5a を標的とした抗体投与群のマウスや、レクチン経路の活性化に関与する MBL-A の欠損マウスは、CLP の病態が改善していた^{3,4)}。一方で、古典経路の活性化に関与する C1q の欠損マウスや、第二経路の活性化に関与する Factor D の欠損マウス、さらに C3 欠損マウスは、CLP に対し感受性が高いと報告されていた^{1,2)}。MASP-1/3 は、レクチン経路および第二経路の活性化に必要であるが、MBL-A 欠損マウスにおける CLP の病態改善の結果から、MASP-1/3 欠損マウスで得られた、CLP に対し感受性が高いという結果は、レクチン経路というよりはむしろ、第二経路が遮断されたことによることが推測された。

[総括]

MASP-1/3 は、CLP による腹膜炎-敗血症における防御機構として、重要な役割を果たしていること

が明らかとなった。

[文献]

- 1) Flierl MA et al. *FASEB J.* 22: 3483 (2008)
- 2) Dahlke K et al. *J Immunol.* 186: 3066 (2011)
- 3) Czermak BJ et al. *Nat Med.* 5: 788 (1999)
- 4) Takahashi K et al. *Microbes Infect.* 4: 773 (2002)
- 5) Takahashi M et al. *J Immunol.* 180: 6132 (2008)
- 6) Takahashi M et al. *J Exp Med.* 207(1): 29 (2010)

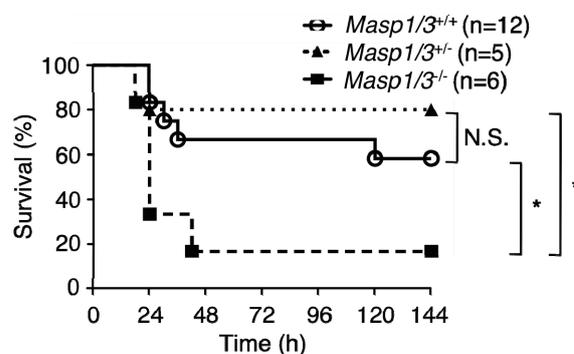


図1. 野生型、MASP-1/3 ヘテロ欠損、および MASP-1/3 欠損マウスにおける CLP 実施後の生存率。(* $P < 0.05$ 、N.S. 有意差無し。)

コレクチン CL-K1 の生体防御機能に関する検討

黄仁秀、森健一郎、松田泰幸、ロイニタイ、大谷克城、若宮伸隆

旭川医大・医・微生物

Host defense function of collectin CL-K1

Insu Hwang, Kenichiro Mori, Yasuyuki Matsuda, Nitai Roy, Katsuki Ohtani, Nobutaka Wakamiya

Department of Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University,

Asahikawa, Japan

[はじめに]

コレクチンは、構造内にコラーゲン様領域とカルシウム要求性の糖認識領域を有するタンパク質であり、体内に侵入した異物を認識・排除する自然免疫分子として知られている。コレクチン MBL は肝臓で合成され、細菌等の表層に存在する糖鎖パターンを認識、MASP を介して補体系を活性化することで、細菌等の除去に関与している。我々のグループが同定した collectin kidney-1 (CL-K1) は、MBL 同様システイン領域、コラーゲン様領域、ネック領域、糖認識領域を持つコレクチンである。これまでの *in vitro* における研究から、CL-K1 は微生物の表層成分であるリポポリサッカライドやマンナンに結合する事が明らかにされている¹⁾。また、遺伝子レベル、タンパクレベルの解析で、CL-K1 が肺、気管上皮を含めた全身の様々な組織に広く分布している事が明らかになっている²⁾。近年、Hansen らのグループから、CL-K1 が MBL と同様に補体系の活性化に関わっている事が報告された³⁾。また、Rooryck らのグループは、頭蓋骨融合不全、口蓋裂、眼瞼下垂、学習障害を含む、多臓器の異常の症状を示す、稀な常染色体劣性遺伝子疾患である 3MC 症候群の原因として、CL-K1、MASP-1/3 の変異を報告した⁴⁾。

今回我々は、CL-K1 を介した生体防御機構を明らかにするため、微生物との結合検討と結合メカニズムの解明、貪食機能の検討、ノックアウトマウスを利用した肺炎球菌感染実験等の検討を行った。

[方法]

1) リコンビナントヒト CL-K1 を用いて大腸菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、真菌(Zymosan A)との結合検討と、各種阻害剤を利用した結合メカニズムの解明を行った。

2) 貪食細胞を用いて大腸菌、肺炎球菌の phagocytosis assay を行い、CL-K1 のオプソニン機能についての解析を行った。

3) CL-K1 ノックアウトマウスと野生型マウスに肺炎球菌を経鼻感染させ、両者の生存率を比較し、CL-K1 の *in vivo* における感染防御に対する役割を検討した。

[結果と結論]

1) CL-K1 は、大腸菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、真菌(Zymosan A)と結合する事が明らかになった。

2) CL-K1 は、EDTA とマンノースによる結合阻害が確認されたことから、カルシウム依存的に微生物表面の糖鎖に結合する事が明らかになった。また、肺炎球菌では陽性荷電阻害剤 Poly (A) で結合阻害が

確認されたことから、CL-K1 構造内に陽性荷電領域が存在し、結合に関与している事が示唆された。

3) 大腸菌では CL-K1 オプソニン化による貪食が確認されたが、肺炎球菌では貪食は確認されなかった。

4) 肺炎球菌を経鼻感染させた CL-K1 ノックアウトマウスは野生型マウスに比べ、生存率が有意に低下した。

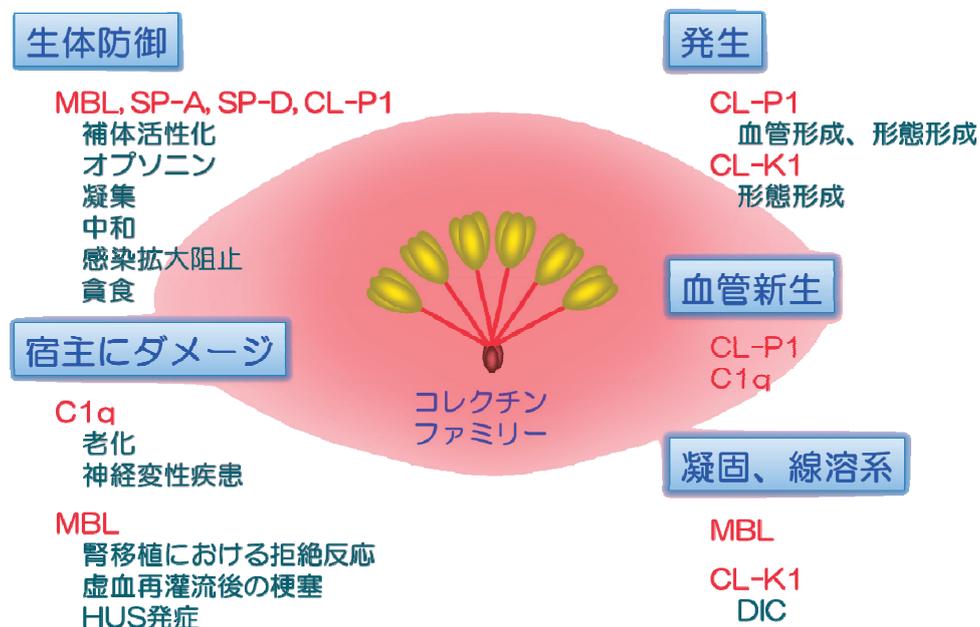
これらの結果から、肺胞上皮で発現している CL-K1 は肺炎球菌に結合し、レクチン経路を活性化することで、生体での肺炎球菌の増殖を抑制し、生存率に関与していると考えられた。

今後、さらに詳細な検討を行い、CL-K1 の生体防御機構を明らかにしていきたい。

[文献]

- 1) Keshi, H. et al. *Microbiol. Immunol.* 50:1001 (2006)
- 2) Motomura, W. et al. *J. Histochem. Cytochem.* 56:243 (2008)
- 3) Hansen, S. et al. *J. Immunol.* 185:6096 (2010)
- 4) Rooryck, C. et al. *Nat. genet.* 43:197 (2011)

多様な機能を有するコレクチンファミリー



好中球エラスターゼによるプロカルボキシペプチダーゼR 活性化機構の解析

河村剛至¹⁾²⁾、大澤真以¹⁾、今井由美¹⁾、松田佳和¹⁾、太田里永子²⁾、今井優樹²⁾、
羽二生久夫³⁾、岡田則子⁴⁾、岡田秀親⁴⁾

¹⁾日薬大・薬・臨床薬学教育センター、²⁾名市大・医・免疫、
³⁾信州大・医・バイオメディカル、⁴⁾(株)蛋白科学研究所

procarboxypeptidase R activation by neutrophil elastase

Takeshi Kawamura¹⁾²⁾, Mai Ohsawa¹⁾, Yumi Imai¹⁾, Yoshikazu matsuda¹⁾, Rieko ohta²⁾, Masaki Imai²⁾
Hisao Haniu³⁾, Noriko Okada⁴⁾ and Hidechika Okada⁴⁾

¹⁾Clinical Pharmacology Educational Center, Nihon Pharmaceutical University ²⁾Department of
Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

³⁾Institute for Biomedical Sciences, Shinshu University

⁴⁾Research Institute for Protein Science Co.Ltd

[はじめに]

プロカルボキシペプチダーゼR (ProCPR) は別名で TAFI (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor)として知られている。血液中に存在するProCPRはトロンビン・トロンボモジュリン複合体(T/TM)により切断され、活性型であるカルボキシペプチダーゼR (CPR)が生じる。CPRは生体内で2つの役割が示唆されており、一つはアナフィラトキシン等の炎症性ペプチドのC末端アルギニンを除去して不活性化を行い、炎症反応を制御することである¹⁾²⁾。もうひとつはフィブリンのPlasminogen結合部位であるC末端リジンを切断してtPA (Tissue plasminogen activator)によるPlasminへの活性化を阻害し、Plasminによる線溶反応を起こさなくすることである。

以前、我々は好中球から放出されたエラスターゼがproCPRを活性化することを見い出した³⁾。炎症部位でアナフィラトキシンC5aを不活性化し炎症を抑制すると考えられる。そこで今回、エラスターゼが直接的にProCPRを切断することを示すため、エラ

スターゼによるProCPR切断部位の同定を試みた。また、好中球エラスターゼの基質特異性がT/TMとは異なることから、T/TMにより切断されたCPRとは異なるCPRが生成されていると考えられる。エラスターゼで生じたCPRの安定性について解析を行った。

[方法]

好中球エラスターゼによる proCPR 活性化測定は、proCPR 精製品および、血漿より生成した proCPR に好中球エラスターゼを加え、室温で proCPR 活性化反応を行った。エラスターゼ阻害剤と CPR の基質 (ヒプリルアルギニン) を加えて 1 時間反応を行い、基質分解により生成した馬尿酸量を塩化シアヌルを加えて、405 nm の吸光度で測定した。

proCPR の 92 番目のアルギニンをグリシンに換えて作製したリコンビナント proCPR は T/TM で活性化されず、エラスターゼで活性化されるかどうかを調べた。

エラスターゼによる proCPR の切断された断片を SDS-PAGE で確認後、アミノ酸シーケンサーで配列を調べた。その結果により予想される切断部位の

アミノ酸残基を変えて proCPR 変異体を作製し、エラスターゼによって活性化されるかを調べた。

CPR の安定性は、proCPR 活性化反応を行った後、37°C で定期的に時間間隔をおいてヒプリルアルギニンを加え、活性測定を行った。

[結果]

proCPR の 92 番目のアルギニンをグリシンに換えた変異体は T/TM で活性化されず、エラスターゼによって活性化された。エラスターゼによる proCPR の切断された断片は、SDS-PAGE で T/TM で切断された断片パターンが異なっていた。proCPR の 92 番目のアルギニンをグリシンに換えた変異体は、T/TM で活性化されず、エラスターゼによって活性化された。エラスターゼで活性化された CPR の安定性は、T/TM で活性化された CPR に比較して増加していた。

[考察]

T/TM で活性化されない proCPR の 92 番目のアルギニンをグリシンに換えた変異体は、エラスターゼ

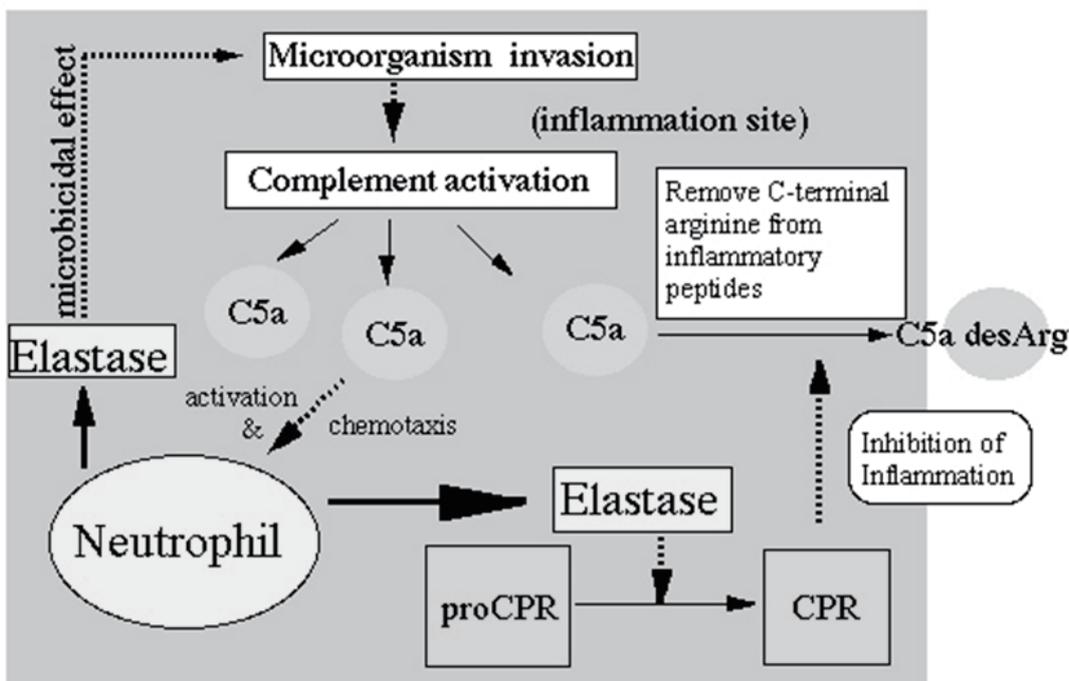
によって活性化されたことから、エラスターゼにより生成した CPR は、T/TM で生成された CPR とは異なることが明らかとなった。その安定性は T/TM で生成された CPR に比較して高いことから、エラスターゼにより生成した CPR は炎症抑制効果としての生理的役割が示唆される。

[結論]

proCPR は好中球エラスターゼによって、T/TM と異なる、より安定性が高い新規 CPR が生成されることが分かった。

[文献]

- 1) W. Campbell et al., Microbiol. Immunol, 46, 131 (2002)
- 2) R. Park et al., Korean J Hematol, 45(4), 264 (2010)
- 3) T. Kawamura et al., Microbiol Immunol., 46(3), 225-30, (2002)



Neutrophil Elastase Suppress Excessive Inflammation

がん微小環境における高乳酸が免疫応答にもたらす影響

井上徳光、赤澤 隆

大阪府立成人病センター研究所・腫瘍免疫学部門（旧分子遺伝学部門）

Effect of high level of lactic acid in tumor microenvironment on immune responses

Norimitsu Inoue, Takashi Akazawa

Department of Tumor Immunology, Osaka Medical Center for Cancer and cardiovascular Diseases,
Osaka, Japan

[はじめに]

腫瘍組織は血管の発達が未熟で、しばしば低酸素にある領域が存在するだけでなく、有酸素にある腫瘍細胞でさえ、ミトコンドリアでのエネルギー産生を抑制し、解糖系を亢進している事が知られている。その結果、腫瘍は多量の乳酸イオンと共にプロトンを分泌する。それ故、正常組織の pH は、7.4 近傍に厳密にコントロールされているが、腫瘍組織では、pH6.5 以下に低下することもある事が報告されている。以前から、補体はこのような酸性環境下で、alternative pathway またはその類似経路を介して活性化し、C3a や C5a の産生上昇、*in vitro* における溶血活性の上昇を引き起こす事が知られている。また、このメカニズムを利用して Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH) の診断にも、長く Ham Test として利用されてきた。それ故、これら高乳酸環境が、がん組織における炎症誘導や抗がん免疫の変調に関与している可能性が示唆される。私たちは、これまで、がんによる高乳酸環境が免疫応答に及ぼす影響を調べてきた。そして、マクロファージによる炎症誘導に関わる IL-23/IL-17 経路の活性化、抗がん免疫抑制に関わる Arginase1 (ARG1)の発現上昇に、乳酸が関わる事を示してきた。

今回、IL-23 の特異的サブユニット遺伝子 *IL23a* と *ARG1* のプロモーター領域の解析および乳酸によるヒストン修飾への影響を解析したので報告する。

[方法]

IL23a プロモーター領域 2.7kbp およびその変異体を連結した Luciferase 遺伝子をマウスマクロファージ J774 細胞株に PiggyBac システムを用いて導入し、乳酸に応答する領域を決定した。同様に、*ARG1* 遺伝子上流 3.29kb とイントロン 1 を含むプロモーター領域を Raw264.7 細胞で解析した。さらに、乳酸は、ピルビン酸から合成され、アセチル基の基質である Acetyl-CoA の産生に影響を与える事が予想される為、Histone のアセチル化に乳酸やプロトンが与える影響を解析した。

[結果]

IL23a プロモーター領域 2.7kbp に乳酸イオンに応答する 2 カ所の DNA エlement を同定した。また、*ARG1* 遺伝子上流 3.29kb とイントロン 1 を含む領域にプロトンに応答する領域が存在した。さらに、乳酸とともにプロトンは、Histone H3, lysine 27 のアセチル化を特異的に誘導した。*ARG1* の発現は、cAMP/PKA 阻害剤 H-89 によって抑制されたが、H3K27 のアセチル化は障害されなかった事より、

共にプロトンに応答するが、異なるシグナル経路が関わっている可能性が示唆された。

を同定していきたい。

[文献]

[結果]

1) Ohashi T. et al. *Int. J. Cancer* 133: 1107

今後、*IL23a* および *ARG1* のプロモーター領域に関連する転写因子や乳酸イオンやプロトンセンサー

(2013)

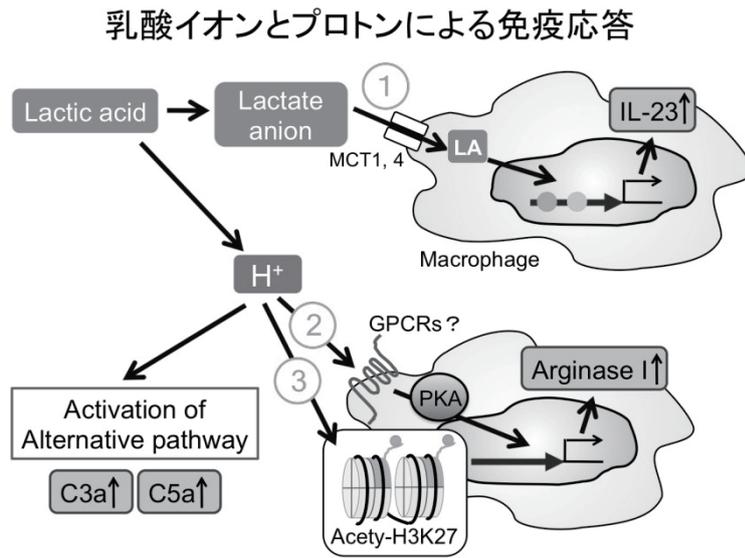


図 乳酸と、乳酸ともがんに放出されるプロトンの免疫応答に及ぼす影響。

プロトンによる酸性化は、古くから Alternative pathway を活性化する事が報告されている。

麻疹ウイルスの樹状細胞ハイジャックの仕組み

瀬谷 司、高木宏美

北海道大学大学院医学研究科・免疫学分野

Mechanisms of dendritic cell-hijacking by measles virus

Tsukasa Seya, Hiromi Takaki

Department of Microbiology and Immunology

Hokkaido University Graduate School of Medicine

[はじめに]

麻疹ウイルス(MV)を含むモノネガウイルスはマイナス鎖ゲノムRNAからプラス鎖を転写複製し、プラス鎖がmRNAとして蛋白に翻訳される。つまり麻疹感染はRNAからRNAを作るというヒトに無いステップを必要とする。このためウイルスはRNA polymerase を宿主細胞に持ち込む。宿主(ヒト)はDNAのproof reading 機構が精緻のため滅多に誤読せずヒトであり続ける(あるいはがんになりにくい)のだが、RNAは使い捨てのためかそれを点検する機構を持たない。さらにウイルスのRNA polymerase は~100 塩基を越えると必ず誤読するという代物である。ウイルスRNAがヒト細胞内で変異(ウイルス的には進化)し続けるのはそれらの必然といえる。

MV は特定の樹状細胞サブセットを標的として感染し、他細胞に運ばれる。野外株はこのルートを抑えると感染できない。なぜならCD150というエントリーレセプターが樹状細胞とB細胞に選択発現しており、細胞トロピズムが規定されるからであると説明される。しかし、なぜ特定の樹状細胞サブセットのみがウイルス標的になるのか、その機構も含めて判っていない。

今回、我々はマウスモデルを用いて麻疹の初期感染の標的となる樹状細胞サブセットを同定した。その後すぐに2つのグループから麻疹感染の細胞トロピズムを規定するメカニズムが報告された。これらを併せてヒトが麻疹ウイルスを許容する仕組みについて解説した(1)。本報告でそれらを展望する。

[方法]

麻疹感染マウスモデルはヒトCD150 をTgして作製した(2)。さらに感染を効率化するため種々

のIFN誘導系因子をKOしたマウスと交配して感染をテストした。ウイルスは野外株(IC)由来のM323株(GFP or luciferase 組込み)をi.p.して各臓器、細胞の感染性を解析した(2,3)。DCはCD11c をマーカーにビーズ法で脾臓から分離し、各サブセットをFACSariaでソートした。感染はFACSのGFPのシフトまたはluciferase 活性で査定した。In vitro の感染もluciferaseで確認した。Bone marrow-derived DC (BMDC)はマウス骨髄から常法により調整した。Type I IFNはmRNAかELISAで計測した。

[結果]

BMDCはIFNAR-/-またはMAVS-/-マウス由来でMV感染性を獲得した。IFNAR とともにMAVS経路が初期感染のバリアーとして重要なことが示唆された(4)。一方、KOマウスへのMVのin vivo i.p. 投与ではsplenic CD11c+ DCはMAVS-/-でもMV感染が起きずIFN誘導がMAVS経路以外の経路で保持されていると判明した。最終的にMAVS, TICAM-1 いずれのアダプターでもなく、MyD88がIFN誘導にcritical であると判明した(3,4)。IFN誘導経路は複数あるが、RIG-I/MDA5のMAVS依存性のセンサーが感染細胞のRNA認識に重要との従来の予想に反して、MVではMyD88がIFN誘導の鍵になるということがin vivoマウス感染系で判明した。即ち、TLR7がssRNAを認識してMyD88経由でtype I IFNを誘導する経路がMV 感染防御に必須である。このTLR7/MyD88経路はpDCとCD4+ DC に保持されていたが、double-negative, CD8+ DC には無く、従ってMV感染はpDCとCD4+ DC によって監視されていた。なお、抗原提示樹状細胞(CD8+DC)はTLR3を高発現し、記憶免疫の形成に深く関与するが、本条件では初期感染のIFN誘導には関与しな

った。B細胞もCD150を発現するがMV感受性ではなかった。KOマウスによるMV感染の結果はpDCとCD4⁺ DCがMVの標的としてMyD88依存性のIFN誘導を行っており、それによって全身の感染防御が起動することを示唆した(4)。

[考察]

麻疹は2度無し現象の典型例で抗体産生と記憶T細胞を起動するが、一過性の免疫抑制を特徴的に誘起する。発展途上国の症例ではこの間にマラリアや結核など2次感染を惹起し、乳幼児の致死率を高める。最近、樹状細胞がMVの標的となり、免疫系のかく乱が起きうるといふ一面の理解が進んでいる。

感染初期のtype I IFN誘導と感染阻害にMyD88のIFN誘導経路が関与するという事実は、この経路を持つDCがMV RNAを認識してtype I IFN誘導を行うことを示唆している。野外株のMV感染はCD46を使わずCD150, Nectin4をentry receptorに使う。CD150は骨髄系とB細胞に、Nectin4は上皮系に発現している。しかし、初期感染の標的はなぜか上皮系やB細胞でなくMyD88⁺のDCである。理由は判らない。

MVはMAVS経路を阻害する系を持つがTLR7/MyD88のRNA認識系を阻害する機構を持たない。MV RNAはdsRNAの形を取るよりssRNAで食食されるのかも知れない。あるいはautophagyなどの機構だろうか？MV産物のリン酸化V蛋白はMV RNAによるMAVS経路の活性化を阻害する。もし、細胞内センサーがウイルスRNAを認識すればtype I IFNが誘導されて感染は防御されるが、MVがRIG-I/MDA5を回避する仕組みを持っているなら感染が成立する。BMDCではV蛋白がMAVSのIFN誘導を抑えるため感受性になる(5)。MVは同様の機構で他の細胞種で増えてssRNAを遊離し、pDC, CD4⁺ DCを刺激するのもかもしれない。

ではなぜCD150を発現するにも拘わらずpDC, CD4⁺ DCは感染を免れるのか？ヒト細胞でMDA5はリン酸化修飾を受けてむやみにRNAと結合しない形(不活性型)で細胞質に存在する。リン酸化MDA5は脱リン酸化されてRNAを認識できるように変換する。最近、リン酸化V蛋白の活性化MDA5阻害機構について興味ある仮説が提示された(1)。それは脱リン酸化酵素PP1がリン酸化MDA5の脱リン酸化を促進して初めてMDA5はRNAを認識できるように変化するという。そのため、リン酸化V蛋白

は競合基質としてPP1を奪うためにMDA5は活性化しないのだという。他のマウス細胞種、樹状細胞ではMDA5がV蛋白に互換性がないか阻害基質として働かないためにMDA5は活性化し、IFN誘導が起きる。DC以外にB細胞もCD150を発現するがおそらくIFN誘導がおきれば感染は成立しない。KO実験はネックを語るが機構は語らない。細胞トロピズムが誘導される機構は更に検討が必要である。

しかし、CD8⁺ DCが感染に巻き込まれないのになぜ免疫抑制が起きてくるのかは不明である。これらはマウス系がヒトウイルス解析に限界があることを含むが、ヒトMV感染の解析へ示唆を与えるものである。

[文献]

1. Seya, T. 2014. Measles virus takes a two-pronged attack on PP1. *Cell Host Microbe*. 16: 1-2, 2014.
2. Shingai M, Inoue N, Okuno T, Okabe M, Akazawa T, Miyamoto Y, Ayata M, Honda K, Kurita-Taniguchi M, Matsumoto M, Ogura H, Taniguchi T, Seya T. 2005. Wild-type measles virus infection in human CD46/CD150-Tg mice: CD11c-positive dendritic cells establish systemic viral infection. *J Immunol*. 175: 3252-61.
3. Takaki H, M. Takeda M, Tahara, M. Shingai, H. Oshiumi, M. Matsumoto, T. Seya. 2013. The MyD88 pathway in plasmacytoid and CD4⁺ dendritic cells primarily triggers type I IFN production against measles virus in a mouse infection model. *J Immunol*. 191: 4740-7.
4. Takaki, H., H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2014. Pattern recognition receptors for type I IFN induction in dendritic cell subsets in mouse models for measles virus infection. *Int J Biochem Cell Biol*. 53C: 329-333, 2014.
5. Takaki H, Honda K, Atarashi K, Kobayashi F, Ebihara T, Oshiumi H, Matsumoto M, Shingai M, Seya T. 2014. MAVS-dependent IRF3/7 bypass of interferon β -induction restricts the response to measles infection in CD150Tg mouse bone marrow-derived dendritic cells. *Mol Immunol*. 57: 100-10

OPTIMA 試験：高精度フローサイトメトリー法による GPI アンカー膜蛋白欠損血球の測定法の臨床的意義 — 中間報告 —

林 悟¹⁾、西村純一¹⁾、細川晃平²⁾、杉盛千春²⁾、米村雄士³⁾、小原直⁴⁾、中村嘉彦⁵⁾、野地秀義⁶⁾、
七島勉⁶⁾、安藤潔⁵⁾、二宮治彦⁴⁾、千葉滋⁴⁾、川口辰哉³⁾、金倉謙¹⁾、中尾眞二²⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、²⁾金沢大学、³⁾熊本大学、

⁴⁾筑波大学、⁵⁾東海大学、⁶⁾福島県立医科大学

OPTIMA: Identification of GPI-anchored protein deficient cells by high resolution flow cytometry.

Satoru Hayashi¹⁾, Jun-ichi Nishimura¹⁾, Kohei Hosokawa²⁾, Chiharu Sugimori³⁾, Yuji Yonemura³⁾

Naoshi Obara⁴⁾, Yoshihiko Nakamura⁵⁾, Hideyoshi Noji⁶⁾, Tsutomu Shichishima⁶⁾,

Kiyoshi Ando⁵⁾, Haruhiko Ninomiya⁴⁾, Shigeru Chiba⁴⁾, Tatsuya Kawaguchi³⁾,

Yuzuru Kanakura¹⁾, and Shinji Nakao²⁾

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

²⁾ Kanazawa University, ³⁾ Kumamoto University, ⁴⁾ Tsukuba University,

⁵⁾ Tokai University, and ⁶⁾ Fukushima Medical University

[はじめに]

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH)は、造血幹細胞の glycosylphosphatidylinositol(GPI)アンカー膜蛋白の合成障害を来す疾患である。CD55 や CD59 などの補体制御因子もこの GPI アンカー膜蛋白であるため、これらの膜蛋白が欠損する PNH 型血球は補体活性化に伴い血管内容血を起こす。

高精度フローサイトメトリー法を用いて再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)、骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)の低リスク病型では0.01%前後の微小 PNH 型血球が検出可能である。これらの群は PNH 型血球が存在しない群と比較して免疫抑制療法に対する反応性が良好であると報告されている¹⁾。このことにより日本 PNH 研究会が主体となり、事前登録された症例は高精度フロ

ーサイトメトリー法を用いて PNH 型血球を測定し、臨床所見との関連性を前向きに観察する「OPTIMA 試験」を開始したことを昨年の本シンポジウムで紹介をした。

今回は更に症例数を追加した成績を報告する。

[方法]

2011年7月より PNH、AA、MDS および診断未確定な骨髄不全症候群(未確定例)など対象に OPTIMA 試験に登録をした。国内を6ブロックに分け、それぞれの拠点大学の6施設で測定をした。PNH 細胞の測定は金沢大学が開発した高精度フローサイトメトリー法を用いた¹⁾。精度管理として、陰性検体と約0.01%の PNH 型血球を含む陽性検体を各施設に定期的に送付し、ブラインド試験を行った。

顆粒球には FLAER(0.003%以上を陽性)を、赤血

球には抗 CD55 抗体と抗 CD59 抗体を用いたカクテル法(0.005%以上を陽性)を用いて測定した。

[対象]

2014 年 5 月までの中間分析として 1,685 例の症例が登録された。男性 822 例、女性 863 例。年齢は 16 歳から 96 歳で平均年齢は 61.0 歳。疾患の内訳は AA が 523 例、MDS 459 例、PNH 65 例、638 例は診断未確定の骨髄不全例(未確定例)であった。

[成績] 定期的なブラインドでの精度管理は、施設間における PNH 型血球の割合は常に 0.02%以内と良好な成績であった。

全症例のスクリーニングでは 602 例(35.7%)が PNH 型血球は陽性で、154 例(9.1%)において 1.0%以上の PNH 型血球が検出され、1.0%未満の陽性例は 448(26.6%)例であった。

顆粒球の PNH 型血球の成績は AA では 281 例(53.7%)が PNH 型血球は陽性、1.0%以上の PNH 型血球の陽性例は 108 例(26.7%)であった。同様に MDS では 83 例(18.1%)陽性、1%以上は 26 例(5.7%)。PNH では 65 例 100%陽性で、1%以上は 64 例(98.4%)。未確定例では 159 例(24.9%)陽性、1%以上は 34 例(5.3%)であった。

赤血球での PNH 型血球の成績は AA では 268 例(51.2%)が PNH 型血球陽性、1.0%以上の PNH 型血球は 61 例(11.7%)であった。同様に MDS では 81 例(17.6%)陽性、1%以上は 19 例(4.1%)。PNH では 65 例(100%)陽性、1%以上は 63 例(81.5%)。未確定例では 145 例(22.7%)陽性、1%以上は 18 例(2.8%)であった。

1%以上の PNH 型血球が検出された半数の例で LDH が施設基準値の 1.5 倍以上であった。

[まとめ]

高精度フローサイトメトリー法で 1%以下の微小

の PNH 型血球の測定が 6 施設で運用可能であり、また同一のプロトコールを用いることで多くの骨髄不全患者が同じ精度で検査が受けられる体制を確立された。我々の中間報告では PNH 型血球、特に良性の骨髄不全症例で検出されるという以前の報告を確認した。今後は PNH 型血球、特に免疫抑制療法での感受性など臨床的意義を検証するために更に登録数を増やし、また継続的な観察が必要と思われる。

[文献]

1) Sugimori C. et al. Blood 107:1308-1314 (2006)

先天性 PIGA 欠損症について

村上良子¹⁾、井上徳光²⁾、加藤 光広³⁾、木下タロウ¹⁾

¹⁾大阪大学微生物病研究所 ²⁾大阪府成人病センター ³⁾山形大学小児科

Inherited PIGA deficiency

Yoshiko Murakami¹⁾, Norimitsu Inoue²⁾, Mitsuhiro Kato³⁾, Taroh Kinoshita¹⁾

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

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

³⁾Department of Pediatrics, Yamagata University Faculty of Medicine

[はじめに]

GPI 欠損症といえば、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) がよく知られているが、PNH は後天的に 1 個ないし数個の造血幹細胞の PIGA 遺伝子に突然変異が起こって発症する血液疾患で、溶血性貧血・深部静脈血栓・骨髄不全を 3 主徴とする。一方最近先天性 GPI 欠損症がてんかん・精神発達遅滞を起す新たな疾患として明らかにされつつある。GPI (glycosylphosphatidylinositol) はタンパク質を細胞膜にアンカーする糖脂質で哺乳細胞ではアルカリフォスファターゼ等 150 種以上のタンパク質がこの翻訳後修飾を受けて細胞表面に発現する。GPI が欠損するとすべての GPI アンカー型タンパク質が細胞表面に発現できないので完全欠損では胎生致死になる。27 個の遺伝子が、GPI アンカー型蛋白質の生合成や修飾に必要であることが明らかになっている。我々は 2006 年に英国のグループと共同で世界に先駆けて、てんかん・門脈血栓症を主症状とする先天性 GPI 欠損症として PIGM 欠損症を報告した¹⁾が、2010 年以降次世代シーケンサーの普及で現在までに 12 種類の遺伝子の異常による GPI 欠損症が見つかっており²⁻¹⁵⁾、共通症状として精神発達遅滞・てんかん・顔貌異常・種々の奇形を呈し、時に高アルカリフォスファターゼ血症を来す。

[方法]

早期乳児てんかん性脳症の患者 172 名のエクソーム解析により、4 家系 5 人の先天性 PIGA 欠損症が見つかった¹¹⁾。患者の末梢血のフローサイトメトリー (FACS) により、GPI アンカー型タンパク質の発現を確認した。PIGA 欠損の B 細胞株 (JY5) に患者の変異を入れた PIGA 発現プラスミドを導入し、GPI アンカー型タンパク質の発現の回復を正常 PIGA 発現プラスミドを導入した細胞と比べることにより機能解析を行った。

[結果および考察]

PIGA は X 染色体上の遺伝子なので、患者は何れも男児で、母親から変異を受け継いでいた。重度精神運動発達遅滞、難治性てんかんを呈し、West 症候群や大田原症候群と診断されている症例も含まれていた。好中球における GPI アンカー型タンパク質 CD16 の発現がいずれの患者も正常の 5%~15% と著明に低下していたが、PNH と異なり赤血球上の CD59 等の GPI アンカー型タンパク質の低下がないため溶血発作などの症状は認められなかった。機能解析による活性低下の程度が、患者の重症度によく相関することがわかった。母親は一方のアレルに変異があるが、X 染色体は発生の初期にランダムに 1 方のアレルが不活化するので、理論的には異常細胞と正常細胞のモザイクになるはずである。2 家系について母親の好中球の FACS 解析を行ったが、1 人

の母親は、モザイクの状態を反映し正常な細胞と発現の低下した細胞の2つの population がみられたが、もう一人はまったく正常であった。いずれも無症状なので、神経細胞等では正常細胞が多くを占めていると考えられた。脳MRIで、重症児では共通して拡散強調画像で中脳や淡蒼球の輝度の増加が見られた¹¹。他のグループからの報告例を含めて考察したい^{5,14,15}。

[会員外共同研究者]

才津 浩智、 松本 直通 横浜市立大学遺伝学
 菊池 健二郎 埼玉県立小児医療センター神経科
 渡邊 周永 宮城県立こども病院神経科
 宮 一志 富山大学医学部小児科
 井合 瑞江 神奈川県立こども医療センター
 小坂 仁 自治医科大学小児科学講座

[文献]

- 1) Almeida AM, et al. Nat Med. 12:846 (2006)
- 2) Krawitz PM, et al. Nat Genet. 42:827(2010)
- 3) Maydan G, et al. J Med Genet.:48:383 (2011)
- 4) Krawitz PM, et al. Am J Hum Genet. 91:146(2012).
- 5) Johnston JJ, et al. Am J Hum Genet. 90:295 (2012)
- 6) Ng BG, et al. Am J Hum Genet. 90:685 (2012)
- 7) Krawitz PM, et al. Am J Hum Genet. 92:584 (2013)
- 8) Kvarnung M, et al. J Med Genet. 0:1 (2013)
- 9) Howard MF, et al. Am J Hum Genet. 94:278 (2014)
- 10) Martin HC, et al. Hum. Mol. Genet. 23:3200 (2014)
- 11) Kato, M, et al. Neurology 82:1587 (2014)
- 12) Murakami Y, et al. *PLoS Genet.* 10:e1004320 (2014)
- 13) Chiyonobu T, et al. J Med Genet 51:203 (2014)
- 14) Crabben SN et al. Am J Med Genet A 140A:1965 (2014)
- 15) Swoboda KJ et al. Am J Med Genet A. 164A:17 (2014)

PNH における溶血と酸化ストレス

大里 真幸子¹⁾、西村純一¹⁾、本木 由香里²⁾、林 悟¹⁾、野島 順三²⁾、金倉 謙¹⁾

¹⁾大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、²⁾山口大学大学院医学系研究科・生体情報検査学

Hemolysis and oxidative stress in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

Makiko Osato¹⁾, Jun-ichi Nishimura¹⁾, Yukari Motoki²⁾, Satoru Hayashi¹⁾, Junzo Nojima²⁾, and Yuzuru Kanakura¹⁾

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

²⁾ Department of Laboratory Science, Faculty of Health Science, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, Yamaguchi,

[はじめに]

発作性夜間へモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH) は、*phosphatidylinositol glycan class (PIGA)* 遺伝子に後天的変異をもった造血幹細胞がクローン性に拡大した結果、GPI アンカー型蛋白の合成障害を来し、CD55 や CD59 といった補体制御蛋白を欠損した PNH 型赤血球が補体介在性の血管内容血を起こす疾患である。PNH 溶血に対する治療薬としてヒト化抗 C5 モノクローナル抗体であるエクリズマブが開発され、顕著な溶血抑制効果が示されるとともに、PNH 患者の QOL は劇的に改善した。

また、PNH 患者の赤血球、特に CD55 を欠損した PNH タイプ血球は、正常血球よりも高い活性酸素 (reactive oxygen species: ROS) レベルを示すことが報告されている¹⁾。Fermented papaya preparation (FPP) は、抗酸化作用の調整を行い、DNA 損傷修復作用の働きをもつなど多彩な効果が報告されている自然食品である²⁾。そこで、それぞれに対して抑制作用を持つ FPP とエクリズマブを用いて、酸化ストレスと溶血の PNH 病態への影響を検証した。

[方法]

大阪大学の IRB (倫理委員会) の承認に基づいて同意取得後、健常人と PNH 患者から血液 (血清と赤血球) を採取した。溶血の指標として、乳酸脱水素酵素 (LDH) を測定した。酸化ストレスの指標として、赤血球に 2'-7'-dichlorofluorescein diacetate を用いて ROS をフローサイトメトリーで測定し定量化した。さらに、血清の活性酸素代謝産物濃度を d-ROMs テストにて、生物学的抗酸化能力を BAP テストにて測定した上で、d-ROMs 値 ÷ BAP 値 × 補正計数にて相対的酸化ストレス度 (Oxidation Stress Index: OSI) を定量化した。また、疲労を評価するために、QOL 評価指標である FACIT-Fatigue スケール (version 4A) と EORTC-QLQ-C30 (version 3) を用いた。

[結果]

PNH 患者 (エクリズマブ未投与) 8 人は、健常人 8 人と比べ ROS レベルが有意に高かった ([mean±SD] 1.13±0.18 vs. 0.84±0.10, $p < 0.05$)。PNH 患者 6 人の CD59 欠損赤血球は、患者自身の正常血球に比べ ROS レベルが有意に高いことが示された ([mean±SD] 1.23±0.26 vs. 1.13±0.27,

$p<0.05$)。血清における OSI でも同様に、未投与の PNH 患者 9 人では、健常人 9 人と比べ有意に高い値が得られた ([mean±SD] 1.32 ± 0.37 vs. 0.97 ± 0.10 , $p<0.05$)。また、健常人 9 人とエクリズマブ投与されている PNH 患者 8 人で血清 OSI を比較したところ有意差はなかった ([mean±SD] 0.84 ± 0.10 vs. 1.07 ± 0.45 , $p>0.05$)。

新たにエクリズマブを投与された PNH 患者 2 人では、LDH の速やかな改善と共に、ROS レベルの低下を認めた (LDH: $6082\rightarrow 906, 618\rightarrow 211$; ROS: $1.57\rightarrow 1.06$, $1.50\rightarrow 1.40$)。一方、FPP を 1 日 18 g 3 か月間摂取した PNH 患者 2 人では、LDH の有意な改善がないものの ROS レベルの低下を認めた (ROS: $1.72\rightarrow 1.47$, $1.16\rightarrow 1.04$)。その後、FPP 摂取を中止すると ROS レベルの再上昇を示した (ROS: $1.47\rightarrow 2.04$, $1.04\rightarrow 1.19$)。この患者群においては、エクリズマブ患者群と同様に FACIT-Fatigue スケールと EORTC-QLQ-C30 で有意な改善を認めた。

[結論]

これまでの報告と同様に、PNH 患者は健常人と比べ高い酸化ストレスにさらされていることを確認した。エクリズマブを投与することで、溶血と酸化ストレスの改善を認めた。一方 FPP は、溶血の改善に効果はないが酸化ストレスの低下を示した。PNH 患者において、血管内容血を抑制することにより酸化ストレスが改善されたことから、酸化ストレスの蓄積は血管内容血によって引き起こされていることが示唆された。また、FPP 投与によって QOL が改善したことから、PNH に対する支持療法の一つとして利用できるかもしれない。

[文献]

1) Amer J. et al. *Experimental Hematology*. 36:

369-377 (2008)

2) Aruoma OI. et al. *Toxicology*. 278:6-16 (2010)

CD46 様コイ補体制御因子 (Tecrem) の上皮細胞における表面発現動態

元部詩織、辻倉正和、中村亮太、柚本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

Surface expression of carp Tecrem, a CD46-like molecule, on epithelial cells

Shiori Motobe, Masakazu Tsujikura, Ryota Nakamura, Tomonori Somamoto, Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University,

Fukuoka, Japan

[はじめに]

Tecrem (Teleost Complement Regulatory Membrane protein) は、本研究室で同定された魚類の膜結合型補体制御因子である。Tecrem は哺乳類の膜結合型補体制御因子の一種である CD46 と類似したドメイン構造をもち、ヒト CD46 と同様に mRNA レベルで広範な組織に発現し、C3 の沈着を阻害することによって、補体による細胞傷害反応を抑制する。近年、哺乳類の CD46 は獲得免疫応答の制御や創傷治癒に関与するという報告があり^{1,2)}、補体活性化の制御以外に、多様な生体防御関連機能を果たすことが報告されている。本研究では、魚類の Tecrem が細胞の接着・増殖に関与するかを明らかにするため、上皮細胞上における Tecrem の発現動態を解析した。

[方法]

(1) フローサイトメトリー：トリプシン処理、EDTA 処理、あるいはスクレーパーによる掻き取りで培養器から回収した KF-1 細胞 (コイ鱭由来上皮細胞株) を、一次抗体 (抗コイ Tecrem モノクローナル抗体) と FITC 標識二次抗体で処理し解析した。
(2) 免疫蛍光染色：プレートに KF-1 細胞を接着させ、上記一次抗体、FITC 標識二次抗体を順次反

応させた。(3) ELISA: 96 ウェルプレートで培養・接着させた KF-1 細胞を 1%ホルマリンで固定後、0.5%BSA-PBS でブロッキングし、上記一次抗体、ペルオキシダーゼ標識二次抗体を順次反応させ、ABTS を含む基質液で発色させた。

[結果]

(1) プレートに接着した KF-1 上の Tecrem の発現は ELISA で検出されたが、培養用のフラスコから剥がした細胞のフローサイトメトリーでは、表面発現 Tecrem は全く検出されなかった。一方、赤血球上に発現した Tecrem はトリプシンまたは EDTA で処理しても保持された。また、KF-1 上の Tecrem は細胞をスクレーパーで物理的な脱離させることによっても消失した。(2) KF-1 上の Tecrem は、培養プレートに接着した状態だけでなく、プレートから剥がれても細胞同士がまた結合しあっている時には、蛍光抗体法で細胞表面に検出された。(3) 基材から離脱後に単一細胞に分散・懸濁させて、Tecrem の発現を完全に失った KF-1 を再び、培養プレートに播種したところ、KF-1 がプレートに接着し細胞間の接触が復活するにしたがって、KF-1 上の Tecrem の発現量も上昇した。

[考察]

コイ上皮細胞株 KF-1 における Tecrem タンパク質の表面発現は、細胞の培養基材への接着、細胞間の接着と深く関連していることが判明した。魚類において Tecrem は、上皮細胞の接着制御などを通して、創傷治癒・組織修復に重要な役割を果たしている可能性がある。

[文献]

- 1) C. Kemper et al. *Nature*. 421: 388-392 (2003)
- 2) J.Cardone et al. *Frontiers Immunol.*
2:Article28.1-9 (2011)

節足動物における補体系の進化

関口玲生、野中勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Evolution of the complement system in arthropods.

Reo Sekiguchi, Masaru Nonaka

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

[はじめに]

哺乳類の補体系は 30 種以上のタンパク質で構成された反応系である。イソギンチャクから補体系分子の中で C3、fB、MASP 遺伝子が同定されていることから、補体系の起源は刺胞動物と左右相称動物の共通祖先まで遡ることが知られている。また、補体系の中心成分である C3 は分子内チオエステル結合を有し、その構造を共有する非補体成分の $\alpha 2$ -マクログロブリン (A2M) 等とともに TEP (thioester-containing protein) ファミリーを形成している。節足動物では、カブトガニに C3、fB、A2M 遺伝子が存在する^[1]。一方で、ゲノム解析が完了しているショウジョウバエやハマダラカにはこれらの遺伝子が存在せず代わりにオプソニン活性を持つ insect TEP (iTTEP) が確認されている^{[2],[3],[4]}。このように、補体系遺伝子と TEP ファミリー遺伝子は節足動物内で複雑な進化を遂げていることが示唆されている。本研究では、節足動物に属する 4 種について補体系遺伝子の網羅的解析を行い節足動物における補体系および TEP 遺伝子の進化過程を明らかにすることを目指した。

[方法]

缺角類のアダンソンハエトリ (*Hasarius adansonii*)、多足類のマクラギヤスデ (*Niponia*

nodulosa) とアオズムカデ (*Scolopendra subspinipes*)、甲殻類のウオジラミ (*Caligus sp.*) の補体系遺伝子と TEP 遺伝子の網羅的解析を行うために次世代シーケンサーによる RNA-seq 解析を行った。補体系遺伝子の進化を明らかにするために、得られた各遺伝子のアミノ酸配列を用いて分子系統樹の作製を行った。

[結果・考察]

RNA-seq 解析によって、アダンソンハエトリとアオズムカデから C3 遺伝子と fB 遺伝子を同定することができた。一方、マクラギヤスデからは補体系遺伝子は同定できなかった。ウオジラミからは約 500bp の C3 遺伝子の部分配列を得られたが、魚類 C3 と約 80% の相同性を持つ配列であった。また、アダンソンハエトリ、マクラギヤスデ、アオズムカデ、ウオジラミの全てから A2M、iTTEP 遺伝子を同定した。この結果は、A2M、iTTEP は節足動物を通してよく保存されていたこと、及び C3 と fB は少なくとも 2 回、多足類が分岐した後の甲殻類と六脚類の共通祖先と、ムカデ綱が分岐した後の多足類で、同時に失われたことを示唆している。

[参考文献]

1. Zhu Y, Thangamani S, Ho B, Ding JL (2005) *Embo J*, 24, 382-394

2. Adams MD et al. (2000) *Science*, 24, 2185-2195.
3. Holt RA et al. (2002) *Science*, 298, 129-149..
4. Levashina EA, Moita LF, Blandin S, Vriend G, Lagueux M, Kafatos FC (2001) *Cell*, 104, 709-718.

ブタ敗血症モデルにおける、nafamostat mesilate 投与効果の検討

今長谷尚史¹⁾、阪本雄一郎¹⁾、宮庄拓²⁾、山下和人³⁾、田村純³⁾、石塚友人³⁾、河村芳朗³⁾、
佐野忠士²⁾、井上聡¹⁾

¹⁾佐賀大学医学部附属病院救命救急センター、²⁾酪農学園大学獣医看護学類、³⁾酪農学園大学獣医学類

The study on the effect of nafamostat mesilate administration to the sepsis pig model

Hisashi Imahase¹⁾, Yuichiro Sakamoto¹⁾, Taku Miyasho²⁾, Kazuto Yamashita³⁾, Jun Tamura³⁾,

Tomohito Ishizuka³⁾, Yoshio Kawamura³⁾, Tadashi Sano²⁾, Satoshi Inoue¹⁾

¹⁾Emergency and Critical Care Center, Saga University Hospital

²⁾Department of Veterinary Science, Rakuno Gakuen University

³⁾Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

[はじめに]

多臓器不全を合併する重症敗血症や敗血症性ショックに対する治療により、予後を改善することは、救急・集中治療医学で非常に重要なテーマの一つである。敗血症は、感染を合併した SIRS（全身性炎症症候群）により、臓器障害を起こしてくる病態である。感染に対する治療は進んできたが、SIRS や臓器障害に対する治療で有効なものはいまだなく、様々な薬剤や血液浄化など治療方法が検討されている。nafamostat mesilate（フサン®）は、抗凝固薬や DIC に対する治療薬として使用される他に、カリクレイン-キニン系と補体系 C1r, C1s, B, D に対する強力な阻害作用を有していることが、*in vitro* で示されている (1,2)。nafamostat mesilate の投与によって、循環動態を安定させ、臓器障害を改善する効果を有するかどうか、検討した。

我々は、ブタ敗血症モデルに nafamostat mesilate を投与した効果について、検討を行った。

[方法]

約 10kg のブタに、LPS（大腸菌 O55 B5）40µg/kg

を 30 分かけて投与すると同時に、治療群：nafamostat mesilate を持続投与（低用量 1mg/kg/hr n=2, 高用量 10mg/kg/hr n=2）、コントロール群：生理食塩水（n=3）を 30 分かけて投与する 2 群に分けた。ブタ敗血症モデルに対する nafamostat mesilate の効果について、LPS 投与開始から 270min までの各群の転帰、心拍数や血圧など生理的指標、胸水量・腹水量について、検討した。

[結果と結論]

LPS 投与開始から 270min までの転帰は、治療群 2/4（低用量 1/2, 高用量 1/2）、コントロール群 2/3 であった。この敗血症モデルは、血圧が低下し心拍数が上昇していった、心停止にいたるモデルであるが、LPS 投与開始から 210min でのコントロール群の心拍数 205.3±47.6 に対して、治療群は 2 頭が死亡して、1 頭が心停止にいたらない程度の徐脈、1 頭が 220 という頻脈であり、2 頭とも血圧は、平均動脈圧の測定困難であるほど、低下していた。

実験終了後の病理解剖結果（治療群 n=4, コントロール群 n=3）腹水(ml) 治療群 131.5±47.9, コントロー

ル群 210.0 ± 60.8 胸水(ml) 治療群 9.20 ± 6.24 , コントロール群 9.87 ± 4.33 であった。

nafamostat mesilate は、ブタ敗血症モデルに対して、投与効果を示せなかった。

[文献]

- 1) Takuo Aoyama et al. Japan. J. Pharmacol. 35: 203-227. (1984)
- 2) 上原総一郎. 炎症. 3(4): 590-592. (1983)

自己免疫性神経疾患に対する新規治療法の開発

結城伸泰¹、須藤 誠²、高橋 良²

¹シンガポール国立大学・医学部・内科学、生理学

²シンガポール国立大学・医学部・内科学

Novel treatments for complement-dependent autoimmune diseases

Nobuhiro Yuki¹, Makoto Sudo², Ryo Takahashi²

¹ Departments of Medicine, Department of Physiology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore

² Departments of Medicine, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore
Singapore

[はじめに]

ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群、多巣性運動性ニューロパチーなどの疾患は、自己免疫異常が発症に関与していると考えられる免疫性神経疾患である¹⁾²⁾。これらの疾患では自己細胞成分であるガングリオシドに対する自己抗体が認められる一群が存在する。ガングリオシドは神経系細胞に多く発現しており、抗ガングリオシド抗体が結合して免疫複合体を形成すると、引き続いて補体依存性細胞傷害がおこり、疾患発症に関与することが知られている。これらの免疫性神経疾患に対する治療法としては、大量ガンマグロブリン静注療法や血漿交換療法が行われているものの、その詳細な作用機序は明らかではない。さらに治療の侵襲性や費用が高かったり、必ずしも有効ではなかったりすることから、発症機序に基づいた新規治療法の開発が望まれている。

今回われわれは、既存役の中からはメシル酸ナファモスタット(フサン[®])、C1インヒビター:C1INH(ベリナート[®])を、現在開発中である IdeS (IgG

degrading enzyme of *Streptococcus pyogenes*³⁾を用い、自己抗体による免疫複合体形成後の補体沈着の抑制効果を評価した。

[方法]

ELISAによる補体活性化評価法を確立し⁴⁾、この評価系を用いて各種薬剤での補体沈着抑制効果を比較した。ELISAではプレートにガングリオシドを固相化し、患者血清(抗ガングリオシド抗体を含む)、補体とともに合わせて薬剤投与をおこない、2次抗体としてHRP標識抗補体成分(C3)抗体を使用した。

[結果]

ナファモスタット、C1INH、IdeS いずれにおいても、抗原抗体反応後の補体沈着抑制が認められた。

[考察]

本研究では、ギラン・バレー症候群、フィッシャー症候群などの患者血清中に含まれる自己抗体に起因する補体活性化を、ナファモスタット、C1INH、IdeS いずれの薬剤を用いても抑制することが示された。引き続き、補体依存性細胞傷害の評価系と、ウサギでのガングリオシド感作によるギラン・バレー

一症候群発症モデルを用いた各種薬剤の評価を予定している。発症機序に焦点をあてることで、既存の薬剤および新薬の早期の臨床応用を可能とするだけでなく、免疫性神経疾患以外の、全身性ループスエリテマトーデスなどの補体依存性の自己免疫疾患への応用も期待される。

[文献]

- 1) Yuki N. et al. *N Engl J Med.* 366: 2294 (2012)
- 2) Vlam L. et al. *Nat Rev Neurol.* 8: 48 (2011)
- 3) von Pawel-Rammingen U. et al. *J Innate Immunity.* 4: 132 (2012)
- 4) Yuki N. et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 82: 87 (2011)

抗 CD20 抗体リツキシマブ投与をした難治性自己免疫疾患患者における末梢 血 B 細胞の量的、質的な抑制 —残存 B 細胞表面の CD21 発現量は低下する—

堀内孝彦、¹⁾民本泰浩、²⁾塚本浩

九州大学別府病院内科、¹⁾山口赤十字病院内科、²⁾九州大学免疫・膠原病・感染症内科

Quantitative and qualitative suppression in the peripheral B cells was induced
by anti-CD20 antibody, Rituximab

-Reduced expression of CD21 on the residual B cells-

Takahiko Horiuchi, Yasuhiro Tamimoto, Hiroshi Tsukamoto

Kyushu University Beppu Hospital, Department of Internal Medicine,¹⁾Yamaguchi Red Cross Hospital,

Department of Internal Medicine, ²⁾Kyushu University Hospital,

Department of Clinical Immunology, Rheumatology and Infectious Diseases

<はじめに>

リツキシマブ(Rituximab 商品名リツキサン)はヒト・マウスキメラ抗 CD20 モノクローナル抗体であり、CD20 陽性の B 細胞を標的として破壊する。CD20 陽性 B 細胞性悪性リンパ腫に高い効果を示し、現在ではリツキサンは悪性リンパ腫の標準的治療法(CHOP療法)に組み込まれるまでになった。リツキサンを加えた R-CHOP 療法は従来の CHOP 療法よりも治療成績が改善した。

自己免疫疾患は自己寛容の破綻によって B 細胞の異常な活性化が生じ多彩な抗体が出現することが病態に大きく関わっている。ステロイドやシクロフォスファミド、アザチオプリンなどの免疫抑制薬によって疾患の制御はかなりの部分まで可能になったが、その一方で治療標的が非特異的であるために多彩な副作用が生じる。原疾患による死亡は免れても、易感染性や骨粗しょう症、動脈硬化などによって日常生活が大きく損なわれることが問題となってきた。

そこで私たちは、九州大学倫理委員会の承認を得て、難治性自己免疫疾患の治療に対するリツキサンの可能性について、その安全性と効果を検討

することとした。治療対象とした 9 名の患者のうち 8 名は全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus; SLE)であった。

SLE は多彩な自己抗体の出現と全身の諸臓器の慢性炎症を特徴とする代表的な自己免疫疾患である。関節症状、皮疹(蝶形紅斑、円板状紅斑)、中枢神経病変、腎障害、心病変、胸膜炎、溶血性貧血、血小板減少という血液異常など多彩な臨床症状を呈する厚労省指定の難病の一つである。残りの 1 例は、長年にわたる治療抵抗性の自己免疫性溶血性貧血、血小板減少を呈した Evans 症候群の患者であった。

<方法>

「難治性自己免疫疾患に対する抗 CD20 モノクローナル抗体療法の安全性と有効性を検討する臨床第 I/II 相試験」を行った。臨床試験の概要は以下のとおりである。

【対象】 従来の治療に抵抗性の難治性自己免疫疾患(全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、強皮症、多発性筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)、血管炎症候群、ベーチェット病等)と診断され、重篤な病態を有し従来確立されている治療に抵抗性を

示す場合)

【年齢】 16 歳以上

【投与計画】 Dose escalation study であり以下の投与量を設定。各ステップで安全性が確認されれば次のレベルに進む。

レベル 1 : 100mg/m²、1 週間毎、計 4 コース (総投与量 400mg/m²) 3 例

レベル 2 : 250mg/m²、1 週間毎、計 4 コース (総投与量 1000mg/m²) 3 例

レベル 3 : 375mg/m²、1 週間毎、計 4 コース (総投与量 1500mg/m²) 3 例

レベル 4 至適投与量 : 上記 3 方法のうち、治療効果と副作用を総合的に判断して至適投与量を決する。

【前投薬】 抗ヒスタミン薬および NSAIDs の経口投与

【併用薬】 試験登録時の用量以下での副腎皮質ステロイド薬、免疫抑制薬併用は可能だが新規免疫抑制薬の使用は不可とした。

【観察・検査項目】 有害事象の有無、治療効果判定のための検査を定期的に行う。

【中止基準】 NCI-CTC Version 2.0 の副作用グレード分類 grade 3 以上のアレルギー症状、その他の重篤な有害事象が発現した場合など。

【観察期間】 最低 6 ヶ月間。奏功例では、臨床的に再燃が認められ治療の強化が必要となる時点まで観察する。

【評価項目】

一次エンドポイント : リツキシマブの安全性

二次エンドポイント : リツキシマブの有効性

<結果ならびに考察>

リツキシマブはこれら 9 名の患者において大きな副作用なく投与可能であり安全であった。

8 名の SLE 患者のうち 7 名、Evans 症候群の 1 名は、リツキシマブ投与によって完全にあるいは部分的に効果を認めた。4 名は長期の寛解を達成

することができた (18~30 か月)。9 名の患者において末梢血 B 細胞数は著明に減少し、6 か月以上その効果は持続した。残存した B 細胞上の CD19, CD21, CD4, BR3 の発現量は低下した。また B 細胞の低下に遅れて CD4+CD69+T 細胞の比率が低下した。CD4+細胞はリツキシマブ投与後徐々に Th1/Th2 比が増加し、3 か月以降では有意に Th1 の比率が増加した。サイトカインの検討では投与後 2 日で血中の TNF- α 濃度が低下した。

CD21(CR2:補体受容体 2)は CD19、CD81 分子、Leu-13 と会合し、B 細胞抗原受容体の補助受容体として B 細胞の活性化に参与している。補体 C3b の分解産物 C3d、C3dg の受容体であり、EB ウィルスの受容体としても作用している。CD21、CD19 の発現が残存 B 細胞上で低下していることは、リツキシマブ投与によって残存 B 細胞の機能が低下することを示唆する。リツキシマブは B 細胞の数を減らすだけでなく、B 細胞の質的变化を起こして異常な免疫を抑制していると考えられる。

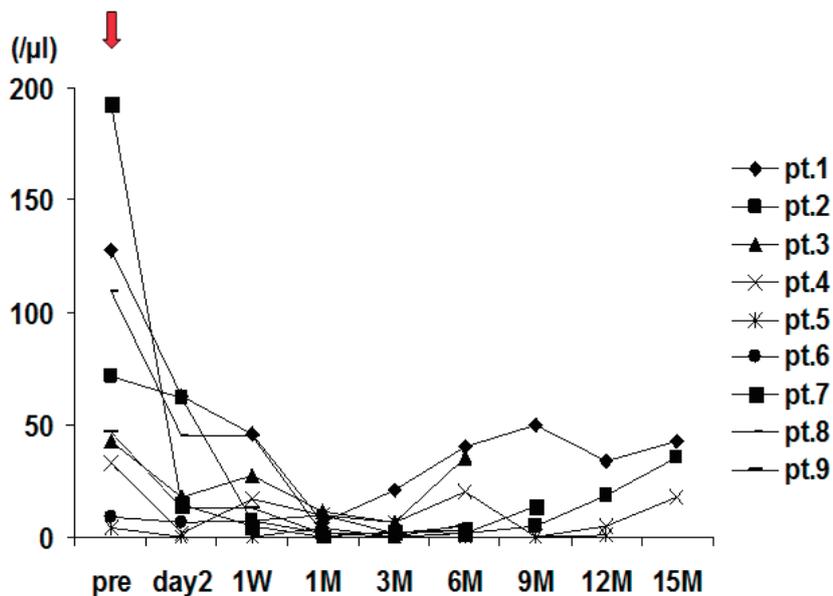
また、リツキシマブは B 細胞を標的とした抗体であるが、T 細胞の活性化を抑制し、さらには CD4+細胞の分画にも影響を与えることがわかった。T 細胞-B 細胞間のインタラクションをリツキシマブが B 細胞抑制と介して間接的に遮断していることが考えられた。リツキシマブは難治性の自己免疫疾患に対する安全で有用な薬剤になりうると考える。

<文献>

Tamimoto Y et al. *Rheumatology (Oxford)* 47:821-827, 2008

リツキサン投与後の末梢血CD19+細胞の数

リツキシマブ (抗CD20抗体)



リツキサン投与後のB細胞表面分子の発現量の変化

MFI	Baseline	day2	1wk	1mo	3mo	6mo
CD19	452 \pm 198	91 \pm 24**	97 \pm 26**	151 \pm 84**	176 \pm 115**	207 \pm 104*
CD21	186 \pm 94	47 \pm 23*	44 \pm 22**	45 \pm 44*	58 \pm 81**	71 \pm 52**
CD40	34.7 \pm 15.7	31.6 \pm 15.6	21.6 \pm 9.7	22.1 \pm 12.3	17.5 \pm 9.3**	19.1 \pm 9.7*
BR3	48.7 \pm 33.3	21.5 \pm 10.7*	19.6 \pm 3.7*	13.4 \pm 5.7*	9.3 \pm 4.0*	13.1 \pm 9.2*
CD69	5.8 \pm 4.0	5.2 \pm 2.6	5.1 \pm 1.7	4.7 \pm 0.9	5.7 \pm 2.5	6.3 \pm 5.2
HLA-DR	318 \pm 150	217 \pm 123*	203 \pm 65	194 \pm 168*	219 \pm 143	224 \pm 54
CD80	7.3 \pm 2.3	7.5 \pm 3.5	7.9 \pm 3.9	9.3 \pm 6.4	8.4 \pm 1.6	16.1 \pm 12.5
CD86	10.7 \pm 7.9	19.5 \pm 13.1	23.4 \pm 19.1	19.1 \pm 10.3	36.1 \pm 6.8*	25.9 \pm 8.2*

*p<0.05

**p<0.01

by Wilcoxon signed rank test

C1qB 遺伝子の新規スプライシング異常を認めた *C1q* 欠損症の一家系

^{1,2}樋口洋介、²清水順也、²久保俊英、³浅越健治、⁴石村匡崇、⁴高田英俊、⁴原寿郎、⁵小原 收、
⁶北野悦子、⁶畑中道代、⁶北村 肇

¹岡山大学病院 小児科 ²独立行政法人国立病院機構岡山医療センター 小児科

³独立行政法人国立病院機構岡山医療センター 皮膚科 ⁴九州大学 小児科

⁵かずさ DNA 研究所 ゲノム医学研究室 ⁶神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科

The identification of a novel splicing mutation in *C1qB* in a Japanese family with *C1q* deficiency

Yousuke Higuchi, Junya Shimizu, Toshihide Kubo, Kenji Asagoe, Masataka Ishimura, Hidetoshi Takada,
Toshiro Hara, Osamu Ohara, Etsuko Kitano, Michiyo Hatanaka, Hajime Kitamura

¹Dept. of Pediatrics, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

² Dept. of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center, Okayama, Japan

³ Dept. of Dermatology, National Hospital Organization Okayama Medical Center, Okayama, Japan

⁴ Dept. of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan

⁵ Dept. of Human Genome Technology, Kazusa DNA Research Institute, Chiba, Japan

⁶ Dept. of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University, Kobe, Japan

[はじめに] *C1q* 欠損症は稀な補体欠損症であり、これまでに世界で約 70 例が報告されている。ほとんどの症例で SLE または SLE 様症候群を呈し、小児期に発症することが多いとされている。治療としては SLE の治療に応じてステロイド剤や免疫抑制剤を使用することが多いが、根本的な治療ではない。以前に我々は *C1qB* 遺伝子の新規遺伝子変異を同定し得た日本人の一家系について報告しているが¹⁾、その後の経過や治療を含めてここに改めて報告する。

[症例 1] 8 歳女児。3 歳半頃から顔面に紅斑が出現し、徐々に発熱・関節痛・口腔内潰瘍を認めるようになった。当科紹介受診時にも微熱、顔面の紅斑、口腔内潰瘍、手足の発疹を認めた。血液検査では炎症反応の上昇、抗核抗体は陽性、抗 ds-DNA 抗体は陰性、CH50 は感度以下、C3・C4 は正常範囲内だ

った。SLE として PSL での治療を再開したところ臨床症状は改善したが、CH50、C3・C4 は不変であった。補体成分を精査したところ、*C1q* 欠損症が疑われた(表 1・表 2)。更に *C1q* の遺伝子解析を行ったところ、*C1qB*, c.187+1 G>T の新規スプライシング異常を同定した。家族の遺伝子解析を行ったところ両親と弟の一人が heterozygous、本人ともう一人の弟が homozygous であることが判明した。

6 歳頃より発熱を繰り返すようになり、免疫抑制剤を増量するも効果は無かった。*C1q* の補充目的で FFP を投与したところ、症状は抑えられた。その後も間歇的に FFP を投与しつつ PSL の減量を試みるも感染や寒冷・日光刺激を機に症状が増悪するため、PSL の投与量を減らしばらく状態が続いた。現在は PSL・MMF で治療を行っているが低身長と骨密度

低下が問題となっている。

[症例 2] 症例 1 の homozygous の弟で、生後半の時に症例 1 とともに診断された。1 歳頃より発熱と皮疹が出現し、C1q 欠損症に伴う症状と考え PSL で治療開始した。1 歳半の時に階段から転落し硬膜下血腫を生じ、2 歳の時に左視神経萎縮と網脈絡膜変性を指摘されている。2 歳 10 ヶ月時に無菌性髄膜炎を発症し、その際に FFP を投与した。現在は PSL 投与量が徐々に増え、症例 1 と同様に低身長などの副作用が顕在化しつつある。

[考察] C1q 欠損症はヨーロッパまたは中東からの報告が多く、アジアでは日本人の 4 例のみである。遺伝子変異はこれまでに 16 種類報告されているが、スプライシング異常は本家系のみである。

治療についてはこれまでは SLE としてのステロイドや免疫抑制剤の使用、C1q の補充目的での FFP の投与が行われており我々も同様の治療を行っているが、ステロイドの長期使用による低身長や骨密度低下といった副作用が問題となってきている。また症例 2 は症例 1 と比較してより早期に症状が顕在化しており、治療法の選択に苦慮している。

骨髄移植は根治療法となる可能性が示されていた²⁾。最近兄弟からの造血幹細胞移植により C1q 産生能が回復し治癒した初めての例が報告されており³⁾、今後の有力な治療法となることが期待される。

[文献]

- 1) Higuchi Y et al. *Pediatr Rheumatol Online J*. 11:41 (2013)
- 2) Cortes-Hernandez J et al. *Eur J Immunol*. 11: 3713–3722(2004)
- 3) Arkwright PD et al. *J Allergy Clin Immunol*. 133: 265-7(2014)

表 1 症例 1 の補体プロファイル

Hemolytic activity	NHS	Patient serum	Reference value
CH50 (U/ml)	125	0	90–160
(NHS %)	100%	0%	
ACH50 (U/ml)	18.5	18.9	70–130%
(NHS %)	100%	102%	
C1 activity (U/ml)	1450	100	70–130%
(NHS %)	100%	7%	
C2 activity (U/ml)	400	360	70–130%
(NHS %)	100%	90%	
C4 activity (U/ml)	2000	1600	70–130%
(NHS %)	100%	80%	

NHS: Normal human serum

ACH50: Alternative complement pathway activity

表 2 症例 1 の補体回復実験結果

Hemolytic activity	NHS
CH50 (U/ml)	125
(NHS %)	100%
Patient serum + C1q (U/ml)	140
(NHS %)	112%
Patient serum + C1r (U/ml)	0
(NHS %)	0%
Patient serum + C1s (U/ml)	0
(NHS %)	0%
Patient serum + activated C1s (U/ml)	0
(NHS %)	0%

感染を繰り返した先天性補体 C3 欠損症の遺伝子解析

塚本 浩¹⁾、藤健太郎¹⁾、三苫弘喜¹⁾、新納宏昭²⁾、有信洋二郎¹⁾、赤星光輝¹⁾、赤司浩一¹⁾、
北野悦子³⁾、畑中道代³⁾、北村 肇³⁾、堀内孝彦⁴⁾
九州大学病院¹⁾免疫・膠原病・感染症内科、²⁾臨床教育研修センター、
³⁾神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科、⁴⁾九州大学病院 別府病院 内科

Hiroshi Tsukamoto¹⁾, Kentaro To¹⁾, Hiroki Mitoma¹⁾, Hiroaki Niino²⁾, Yojiro Arinobu¹⁾,
Mitsuteru Akahoshi¹⁾, Koichi Akashi¹⁾, Etsuko Kitano³⁾, Michiyo Hatanaka³⁾, Hajime Kitamura³⁾,
Takahiko Horiuchi⁴⁾

¹⁾Department of Clinical Immunology, Rheumatology and Infectious Diseases,

²⁾Clinical Education Center, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan

³⁾Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University,
Kobe, Japan

⁴⁾Kyushu University Beppu Hospital, Department of Internal Medicine, Beppu, Japan

[はじめに]

先天性補体 C3 欠損症(C3D)は、補体成分 C3 の欠損により感染症に罹患しやすくなる稀な遺伝性疾患であり、これまで国内外で約 20 家系が報告されている¹⁾。今回、新たな C3D について、その遺伝子変異を同定したので報告する。

[症例]

症例は 18 歳、女性。幼少期より細菌性肺炎、膿胸、急性中耳炎、化膿性膝関節炎などの感染症を繰り返しており、4 歳時に血清補体検査から C3D と診断された。15 歳頃より入院を要する感染症には罹患していないが、年に 1-2 回の発熱があり抗菌剤投与を受けている。今回、転居に伴い当院を紹介受診した。

[方法]

患者および健常人末梢血単核球より RNA およびゲノム DNA を調製した。ヒト C3 mRNA を 6 フラグメントに分かれるようプライマーを設定し、RT-PCR 法にて増幅した産物をアガロースゲルで比較した。PCR 産物の塩基配列の決定は DNA シークエンサーを用いて行った。

[結果]

患者の C3 蛋白濃度、C3 活性、CH50 はそれぞれ

健常人平均の 0、1、7%であった。

患者 C3cDNA では、フラグメント 1-3、5、6 のサイズには、異常を認めなかったが、フラグメント 4 は健常人に比し 150-160 塩基小さかった。フラグメント 4 の塩基配列を決定したところ C3D 患者ではホモのエクソン 22、23 欠失(154 塩基)が認められた。その結果フレームシフトによりエクソン 24 内に終止コドンが出現した。エクソン 21、24 間のゲノム DNA を PCR にて増幅後、塩基配列を決定したところ、エクソン 22、23 を含む 834 塩基の欠失を認めた。

[考察]

イントロン 21、23 内に Alu 配列を認め、この C3 ゲノム内の Alu 配列間の遺伝子組み換えにより、エクソン 22、23 の欠失が生じたと考えられた²⁾。

[文献]

- 1) 西坂浩明 他、補体欠損と感染・自己免疫疾患、補体への招待：130-138,(2011)
- 2) Botto M, et al: Proc Natl Acad Sci U S A 89:4957-4961, (1992)

日本人の非典型溶血性尿毒症症候群患者 41 人の遺伝子解析

宮田敏行¹⁾、内田裕美子¹⁾、吉田瑤子²⁾、池島裕子¹⁾、Fan Xinping¹⁾、芦田明³⁾、和田英夫⁴⁾、大塚泰史⁵⁾、
中村健治⁶⁾、石川智朗⁷⁾、八田和大⁸⁾、服部元史⁹⁾、久野正貴¹⁰⁾、才田謙¹¹⁾、西尾健治¹²⁾、瀧本智仁¹³⁾、
幡谷浩史¹⁴⁾、大原敦子¹⁵⁾、川村尚久¹⁶⁾、波多江健¹⁷⁾、松本雅則²⁾、加藤秀樹¹⁸⁾、南学正臣¹⁸⁾、藤村吉博²⁾

¹⁾国立循環器病研究センター・分子病態部, ²⁾奈良県立医大・輸血部, ³⁾大阪医科大学・小児科, ⁴⁾三重大学・臨床検査医学, ⁵⁾佐賀大学・小児科, ⁶⁾大津赤十字病院・小児科, ⁷⁾奈良県立医大・小児科, ⁸⁾天理よろづ相談所病院・総合内科, ⁹⁾東京女子医大・腎臓小児科, ¹⁰⁾千葉県こども病院・腎臓科, ¹¹⁾国立成育医療研究センター・腎臓科, ¹²⁾奈良県立医大・総合診療科, ¹³⁾九州大学・小児科, ¹⁴⁾東京都立小児総合医療センター・腎臓内科, ¹⁵⁾公立八女総合病院・腎臓内科, ¹⁶⁾大阪労災病院・小児科, ¹⁷⁾福岡赤十字病院・小児科, ¹⁸⁾東京大学・腎臓内分泌内科

Genetic analysis of 41 Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome

Toshiyuki Miyata¹⁾, Yumiko Uchida¹⁾, Hiroko Ikejima¹⁾, Yoko Yoshida²⁾, Fan Xinping¹⁾, Akira Ashida³⁾,
Hideo Wada⁴⁾, Yasufumi Otsuka⁵⁾, Kenji Nakamura⁶⁾, Tomoaki Ishikawa⁷⁾, Kazuhiro Hatta⁸⁾,
Motoshi Hattori⁹⁾, Masataka Hisano¹⁰⁾, Ken Saida¹¹⁾, Kenji Nishio¹²⁾, Tomohito Takimoto¹³⁾,
Hiroshi Hataya¹⁴⁾, Atsuko Ohara¹⁵⁾, Naohisa Kawamura¹⁶⁾, Ken Hatae¹⁷⁾, Masanori Matsumoto²⁾,
Hideki Kato¹⁸⁾, Masaomi Nangaku¹⁸⁾, Yoshihiro Fujimura²⁾

¹⁾National Cerebral and Cardiovascular Center, ²⁾Nara Medical University, ³⁾Osaka Medical College,
⁴⁾Mie University, ⁵⁾Saga University, ⁶⁾Otsu Red Cross Hospital, ⁷⁾Nara Medical University,
⁸⁾Tenri Hospital, ⁹⁾Tokyo Women's Medical University, ¹⁰⁾Chiba Children's Hospital, ¹¹⁾National Center
for Child Health and Development, ¹²⁾Nara Medical University, ¹³⁾Kyushu University, ¹⁴⁾Tokyo
Metropolitan Children's Medical Center, ¹⁵⁾Yame General Hospital, ¹⁶⁾Osaka Rosai Hospital, ¹⁷⁾Japanese
Red Cross Fukuoka Hospital, ¹⁸⁾The University of Tokyo School of Medicine

[はじめに]

非典型 HUS (atypical HUS, aHUS) は、H 因子などの補体制御因子により補体の攻撃から守られている内皮細胞が、補体制御因子などの遺伝子変異により保護機能が低下し、補体の攻撃を受け、内皮細胞障害が生じる病態である。aHUS の発症は、補体調節因子である CFH, MCP, CFI, THBD 遺伝子の機能消失型変異、もしくは補体因子である C3 と CFB 遺伝子の機能亢進型変異が原因となる。私たち

はこれまでに 9 家系 10 人の aHUS 患者の遺伝子解析を報告した¹⁾。

本研究は、日本人 aHUS 患者 41 名 (36 家系) の補体制御遺伝子および補体遺伝子の塩基配列解析を行い、26 人に変異を同定したので報告する。

[方法]

本コホート研究での aHUS 診断は日本 aHUS 診断基準に従って古典的 3 徴候 (溶血性貧血、血小板減少、腎障害) を示し、かつ ADAMTS13 活性著減の

TTPと志賀毒素関連のSTEC-HUSを除外したものであるが、最近発表された英国aHUS診断基準も参考にし、感染や移植に伴う二次性TMAは除外した。本診断基準に基づき奈良県立医科大学輸血部でaHUSと診断された36家系41人患者のCFH, MCP, CFI, THBD, C3, CFBのタンパク質をコードする領域の塩基再配列解析を行った。また、CFHに対する自己抗体の有無を調べた。

[結果と考察]

同定されたミスセンス変異のうち、1) すでに欧米のaHUS患者に同定されている変異、2) 稀な頻度の変異を、aHUS発症にかかわる変異(predisposing mutation)とした。その結果、全体の63%にあたる26人(C3: 19人、CFH: 5人、MCP: 4人、THBD: 6人、CFI: 0人、CFB: 1人、CFR1/3欠損: 1人)にpredisposing mutationを同定し、変異非保有者は15人(37%)であった。また、CFHに対する自己抗体保有者は4人であり、そのうちの1人はCFHR1/3ホモ欠損であった。次に、それぞれの遺伝子に同定された特徴を示す。

C3: 19人がC3にpredisposing mutationを持っていた。そのうち17人にI1157T変異が同定された。このうち、10人は他の遺伝子変異(2人MCP: T98I変異、4人CFH: Y1058H, V1060L変異、1人MCP: P195S変異、2人THBD: D486Y変異、1人THBD: R403K変異)を保有しており、I1157T変異だけを持つのは7人だった。

CFH: 5人がCFHにpredisposing mutationを持っていた。そのうち4人はCFHの2つの変異(Y1058H, V1060L)を持ち、かつC3: I1157T変異を持っていた。

MCP: 4人がMCPにpredisposing mutationを持っていた。そのうち3人はC3: I1157T変異を保有

していた。

THBD: 6人がTHBDにpredisposing mutationを持っていた。そのうち3人がC3: I1157T変異を保有し、3人がTHBD変異だけを持っていた。THBD: D486YはNEJM誌によると、aHUSのpredisposing mutationである²⁾。吹田研究の結果では、THBD: D486Yの野生型は2196人、ヘテロ体は49人であり、約2%の日本人はこの変異のヘテロ接合体である³⁾。aHUS患者では41人中4人が本変異のヘテロ接合体であり、本変異保有者はaHUSのリスクが高いことが明らかとなった(p=0.014, 95% CI, 1.21-14.25, オッズ比4.83)。

predisposing mutationを2つ以上もつ患者は10人(全体の24%)であり、全員がC3: I1157T変異保有者であった。predisposing mutationを1つしか持たないaHUS患者は下記の16人(全体の39%)であった。

predisposing mutationを1つもつaHUS患者数:
C3: I1157T, 7人、C3: K1105Q, 1人、C3: E1160K, 1人、MCP: A311V, 1人、THBD: D486Y, 2人、THBD: V231I, 1人、CFB: N331D, 1人、CFH: R1215G, 1人、CFR1/3ホモ欠損, 1人

6遺伝子の塩基再配列を行うと幾つかのミスセンス変異が同定される。したがって、本研究で同定された新規ミスセンス変異の意義は、慎重に検討する必要があると考える。

[文献]

- 1) Fan et al. *Mol Immunol* 54: 238-246 (2013)
- 2) Delvaeye et al. *N Eng J Med* 361:345-357 (2009)
- 3) Sugiyama et al. *Thromb Res* 119:35-43 (2007)
- 4) Fremieux-Bacchi, V. et al. *J Am Soc Nephrol* 17: 2017 (2006)

ラット腎移植急性 T 細胞関連性拒絶反応モデルにおける補体系因子の解析

山中和明¹⁾、加藤大悟¹⁾、角田洋一¹⁾、阿部豊文¹⁾、今村亮一¹⁾、前田晃²⁾、宮川周士²⁾、野々村祝夫¹⁾

¹⁾大阪大学大学院 医学系研究科 器官制御外科学（泌尿器科）

²⁾大阪大学大学院 医学系研究科 小児成育外科・移植臓器学

Analysis of the complement system in a rat renal transplantation model of acute cellular rejection

Kazuaki Yamanaka¹⁾, Taigo Kato¹⁾, Yoichi Kakuta¹⁾, Toyofumi Abe¹⁾, Ryoichi Imamura¹⁾, Akira Maeda²⁾, Shuji Miyagawa²⁾, Norio Nonomura¹⁾

¹⁾ Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

²⁾ Division of Organ Transplantation, Department of Surgery, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan

[はじめに]

腎移植領域の補体の関連について、抗体関連型拒絶反応（AMR）においては、抗体抗原反応が生じ、古典経路を介して補体が活性化されることが知られている。その結果、尿細管毛細血管や糸球体の係蹄壁に C4d が沈着するため、AMR の診断基準として使用されている。また、腎虚血再灌流モデルでは、第 2 経路やレクチン経路が活性化するなど、補体の関連の報告が数多くされている。近年、T 細胞関連性拒絶反応（TMR）でも、第 2 経路やレクチン経路を介した補体の活性化が生じ、グラフト障害の重要な因子の一つであることが報告されつつあるが、不明な点も多く十分に解明されたとは言えない。そのため今回、我々は、ラット腎移植 TMR モデルを用いて、補体因子の関与について検討した。

[方法]

Dark Agouti ラットから LEWIS ラットへ腎移植を施行し（allograft 腎移植モデル）、移植後 day1、day3、day5 に移植腎・肝臓を採取し、RT-PCR にて C1q、C3、C3aR、C4、C4b、C5、C5aR、C9、

MASP1、MASP2、CD55、CD59、Crry の発現について検討した（それぞれ n=6）。LEWIS ラットでの syngenic 腎移植モデルと LEWIS ラットの Naïve モデルからも組織を回収し、同様に RT-PCR を施行した（それぞれ n=3）。

[結果]

Allograft 腎移植モデルの生存期間（生着期間）：7.3 日（n=7）。RT-PCR の結果、C1q、C3、C5aR は syngenic モデルと比較し allograft モデルの移植腎（day5）で有意な上昇を認めた。また、CD55、CD59、Crry の補体制御因子は syngenic モデルと allograft モデルの移植腎を比較し、発現に差はなかったが、allograft モデルで継時的な低下を認めた。MASP1 は allograft モデルの肝臓での発現は低かったが、移植腎での著明な発現上昇がみられた。その反面 MASP2 では、allograft モデルの移植腎での発現が低かった。C9 の発現については、syngenic では、ほとんど変化は認めないものの、allograft モデルの移植腎で継時的に上昇を認め、肝臓では低下が認められた。

[考察]

腎移植後 TMR の補体因子発現の検討においては、手術侵襲と虚血再灌流障害の影響を考慮しなければならぬため、拒絶反応早期の補体系の関与は一元的には理解しにくい面もあるが、拒絶反応後期になると、一部の補体系因子は反応に伴い上昇し、逆に補体制御因子の発現は低下することが示唆された。また、拒絶反応で C9 の発現が著明に上昇することからこの系の Graft 障害に membrane attack complex 形成が関与する事が考えられた。

肝移植周術期における補体活性測定の意義

田中 宏和¹⁾²⁾、秦 浩一郎¹⁾、稲本 道¹⁾、久保田 豊成¹⁾、
岡村 裕輔¹⁾、平尾 浩史¹⁾、和田 道彦³⁾、上本 伸二¹⁾

¹⁾京都大学大学院医学研究科・肝胆膵移植外科、²⁾丹後中央病院・外科、³⁾アレクシオンファーマ

Complement system activation during adult living donor liver transplantation

Hirokazu Tanaka¹⁾²⁾, Koichiro Hata¹⁾, Osamu Inamoto¹⁾, Toyonari Kubota¹⁾,
Yusuke Okamura¹⁾, Hirofumi Hirao¹⁾, Michihiko Wada³⁾, and Shinji Uemoto¹⁾

¹⁾Division of Hepato-pancreato-biliary Surgery and Transplantation, Kyoto University Hospital,

²⁾Department of Surgery, Tango Central Hospital, Kyoto, Japan, and ³⁾Alexion Pharmaceuticals, Inc.

[はじめに]

臓器を他者（ドナー）より摘出し患者（レシピエント）に植える、というプロセスを必ず経る実質臓器移植において、移植片（グラフト）は、程度の差こそあれ、以下の2つの傷害を避ける事が出来ない。すなわち、(1) 臓器摘出後のグラフト冷保存中に生じる冷虚血およびグラフト脈管吻合時の温虚血-再灌流に伴って生じる傷害（冷虚血温再灌流障害）と、(2) 脈管吻合後、グラフト中にレシピエントの血液が灌流された際にレシピエントの生体防御機構がグラフトを他者と認識し、それを排斥しようとする免疫反応（拒絶反応）、である。本邦の肝移植においては、圧倒的な脳死ドナー不足から生体ドナーに頼った部分肝グラフトを用いる事が多いという状況もあり、特に移植直後はグラフトに余力がないため上述の臓器障害が顕在化しやすい。本学では以前より、この臓器障害の本態は血管および類洞内皮障害による微小循環不全すなわち TMA (thrombotic microangiopathy) であると考え、研究を進めてきた。

[方法]

2006年4月から2013年3月にかけて当院で施行した成人生体肝移植症例290例を対象とし、術後60

日以内に、移植後 TMA の診断基準である 1) 血小板数低下、2) 溶血性貧血、3) LDH 上昇、4) 破碎赤血球の出現、の各項目を満たす頻度を TMA-like syndrome (TMALS) score として計算し、予後との相関を検討した。更に回収し得た血液検体を用いて、肝移植周術期における補体系 (C3、C4、C5、CH50、C3a、C4a、C5a) の動態について解析した。

[結果]

全症例の実に95% (276例) が TMALS score 2点以上であり、点数が増すにつれ予後は増悪した。4点の症例も39% (112例) 存在し、その予後は全体に較べ明らかに不良であった (1年生存率: 60% vs. 79%, $p < 0.001$)。補体価は術前より低値 (CH50: 23 ± 1.8 U/mL) であったが、術直後は更に低下し (13 ± 2.3 U/mL) その後緩徐に回復、術後1ヶ月後にはむしろ正常値上限 (47 ± 2.5 U/mL) まで上昇した。肝移植周術期には術前の低肝機能による補体産生低下と炎症に伴う補体系の消費のみならず、急速な肝再生による補体産生亢進が相まって、補体系がダイナミックに変動している事が予想された。この詳細なメカニズムを解析する事は容易ではないが、現在、当科では cytometric bead array (CBA) を用

いた網羅的な補体系の評価法を構築中であり、今後、補体測定により移植肝の状態を評価するのみならず、補体活性をコントロールする事で移植後の内皮障害を劇的に改善し、primary nonfunction (PNF) や delayed graft function (DGF) を抑制し得るものと期待している。

敗血症患者における血中 C1-inhibitor の経時的変化-preliminary report-

廣瀬 智也¹, 小倉 裕司¹, 姜 晋求¹, 中村 洋平¹, 嶋津 岳士¹, 北野 悦子², 畑中 道代²

大阪大学医学部附属病院 高度救命救急センター¹, 神戸常盤大学保健科学部医療検査学科²

Serial changes of C1 inhibitor in patients with sepsis -preliminary report-

Tomoya Hirose¹, Hiroshi Ogura¹, Kang Jinkoo¹, Youhei Nakamura¹,

Takeshi Shimazu¹, Etsuko Kitano², Michiyo Hatanaka²

¹Department of Traumatology and Acute Critical Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan, ²Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University, Kobe, Japan

[はじめに] C1-inhibitor(以下、C1INH)とは、肝臓で生産されるセリンプロテアーゼインヒビター(serpin)である。この分子は、補体系(古典経路とレクチン経路)、カリクレイン・キニン系、線溶・凝固系の多くの部分を抑制的に制御する。近年 C1INHの量的欠損あるいは機能的な減弱による全身の浮腫を生じる病態として遺伝性血管性浮腫(hereditary angioedema; HAE)が注目されている。HAEは血管透過性の亢進により身体各所に生ずる浮腫を起こす疾患で、その治療としてヒト C1 インアクチベーター製剤(バリナート®)が投与されると劇的に浮腫を改善させる。敗血症患者では、血管透過性亢進により組織間隙などのいわゆる 3rd スペースに体液が移行しやすく、時に血圧を保つために大量輸液やカテコラミン、ステロイド投与を要する。しかし、敗血症病態における血中 C1INH の動態とその役割は明らかでない。今回我々は、敗血症患者における C1INH の経時的推移と血管透過性の関連性を明らかにすることを目的とした。

[方法] 2012年12月から翌年2月に当センターに入院した敗血症患者5例を対象に経時的に C1INH 活

性測定、定量を行い、臨床データとの関係性を評価した。

[結果] 平均年齢 68±11 歳、男性 3 例、女性 2 例。生存例 4 例、死亡例 1 例であった。死亡例では入院時 C1INH 活性は 97.2%(正常値 70~130%)と正常値、定量値は 133.1 μg/ml (正常値 160~330 μg/ml)と低値であった。循環維持に大量輸液かつカテコラミン投与かつステロイド投与を要した難治性ショック症例は入院時 C1INH 活性 94.4%と正常値、定量値 126.7 μg/ml は低値であったが、全身状態の改善に伴い第 6 病日には活性は 133.9%と亢進し定量値は 250.1 μg/ml と正常値となった。循環維持にステロイド投与を要さなかった 3 例は入院時より活性は 136.0±8.7%と亢進し、定量値は 215.3±26.5 μg/ml と正常値であった。

[結論]循環動態の維持に大量輸液かつカテコラミン投与かつステロイド投与を要した症例や死亡例では C1INH 活性の亢進は見られず、C1INH 定量値はいずれも低値であった。今後敗血症性ショック症例に対する C1INH 補充療法の有効性などを検討する余地がある。

腹膜透析排液中の補体活性化産物測定により、 腹膜炎の予後を予想できるか？

水野正司^{1,2)}、伊藤恭彦^{1,2)}、東出慶子²⁾、清祐実²⁾、井口大旗²⁾、坂田史子^{1,2)}、
鈴木康弘^{1,2)}、堀江正宣³⁾、B. Paul Morgan³⁾、松尾清一²⁾
名古屋大学医学部腎不全治療システム学講座¹⁾、同 腎臓内科²⁾、
大雄会第一病院³⁾、カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学講座⁴⁾

Can we predict prognosis of peritonitis from levels of complement
related-products in peritoneal dialysis patients ?

Masashi Mizuno^{1,2)}, Yasuhiko Ito^{1,2)}, Keiko Higashide²⁾, Yumi Sei²⁾, Daiki Iguchi²⁾, Fumiko Sakata^{1,2)},
Yasuhiro Suzuki^{1,2)}, Masanobu Horie³⁾, B. Paul Morgan⁴⁾, Seiichi Matsuo²⁾

Renal Replacement Therapy¹⁾ & Dept. of Nephrology²⁾, Internal Medicine, Nagoya University Graduate
School of Medicine, Nagoya, Japan, Daiyukai Diichi Hospital, Ichinomiya, Japan³⁾, Medical Biochemistry
& Immunology, School of Medicine Cardiff University, Cardiff, UK⁴⁾.

[はじめに]

腹膜透析(PD)の予後を決める重大な合併症に腹膜炎がある、腹膜炎の合併は、世界的にPD継続を妨げる原因の一つと考えられている。日本でも、我々の報告した東海地区13施設で行ったレジストリの結果でも腹膜炎が長期PD施行を妨げるもっとも大きい要因であることを示した¹⁾。このPD関連腹膜炎発症は、単に感染症にとどまらず、その後の腹膜障害につながる可能性があり、一部では致死的な合併症であり被嚢性腹膜硬化症(EPS)につながる可能性のあることも知られているところである。PD患者において腹膜炎が発生したときにはカテーテルの温存にとらわれすぎず、国際腹膜透析学会(ISPD)ガイドラインでも5日間で改善の見込みが無い場合には、積極的に留置カテーテルを抜去することを推奨している。しかし、一方で、カテーテル抜去はすなわち血液透析移行を意味しており、患者・主治医等、判断に悩むことが多く、これはかなりのストレスとなる。

一方で、これまで我々は動物実験やヒト中皮細胞を用いた *in vitro* の実験によりPD療法が補体系に

影響を与えている可能性について報告してきた¹⁻⁴⁾。

今回我々は、PD関連腹膜炎における補体活性化産物の測定を行った。腹膜炎既存のPD排液中の白血球数や炎症反応といった、これまでの指標に加えて、腹膜炎の予後判定に寄与する新たなmarkerとなりえるかどうかについて検討した。

[方法]

1. 名古屋大学附属病院と関連病院に通院中のPD患者で、2008年5月から2013年12月に発生した104例の腹膜炎について、PD患者の腹膜透析腹腔内貯留排液から採取した検体を、retrospectiveに補体関連蛋白(C3, C4, sC5b-9)の測定をELISA法でおこなった。

2. PD患者に発生した腹膜炎を、完治してPDを継続できている群(Group 1)と、最終的に腹膜炎のコントロールが医学的に困難なためにPDカテーテル抜去を行った群(Group 2)に分けて検討を行った。

3. 上記の各測定値は、透析排液中の蛋白濃度で補正

を行い、各臨床データと腹膜炎原因菌と、比較検討を行った。

[結果]

1. PD を継続できている群 (Group 1) と、最終的に腹膜炎のコントロールが医学的に困難なために PD カテーテル抜去を行った群 (Group 2) の 2 群間では、男女差、DM の有無、年齢に有意さは無かった。
2. Group 1 と Group 2 の間で、排液中の補正 sC5b-9 値は、腹膜炎発症 1 日目、2 日目では有意差は無かった。しかし、5 日目で $p < 0.0001$ で Group 1 が高かった。排液中の C3, C4 についても同様の傾向が認められた。
3. 菌種については、グラム陽性球菌かグラム陰性桿菌、真菌まで様々であった。PD 関連腹膜炎で特に予後が悪いとされる真菌、緑膿菌については全例カテーテル抜去となり、Group 2 に含まれていた。
4. 培養陰性腹膜炎に注目して、排液中の補正 sC5b-9、C3、C4 濃度の変化率を調べると、sC5b-9 が最も有意な変化があった。

[考案]

末期腎不全の患者の PD 療法において、腹膜炎は重要な合併症の一つであるが、感染症治療が奏効しなかった場合にどの時点で PD カテーテルの抜去に踏み切るのかという判断は医療現場では迷うことが少なくない。これは、抜去や、血液透析の準備・移行に伴う患者への物理的・精神的負担が多く、また患者の了解を得られるまでの時間が必要で、これまでの判定資料に加え、より多くの指標で判断できることが望まれる。また、微生物の種類によって、予後が異なり、その部分についても予想できる可能性が示唆された。

[結語]

補体活性化産物の測定が、腹膜炎の予後の予測因

子のひとつとして役立つ可能性を示した。

[文献]

- 1) Mizuno M. et al., Clin. Exp. Nephrol. 15:717 (2011)
- 2) Li PK. et al., Perit. Dial. Int. 30:393 (2010)
- 3) Mizuno M. et al., J. Immunol. 183:1403 (2009)
- 4) Mizuno M et al., Am. J. Physiol. Renal Physiol. 305:F1603 (2013)
- 5) 清祐実 他. 第 50 回補体シンポジウム 抄録 (2013)

神戸常盤大学で測定依頼を受けた各種補体異常についてーその 3

畑中道代¹⁾、北野悦子¹⁾、内堀恵美²⁾、北村 肇¹⁾¹⁾神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科、²⁾天理医療大学・医療学部・臨床検査学科

Clinical cases with complement system disorder defined in Kobe Tokiwa University

¹⁾Etsuko Kitano, ²⁾Emi Uchibori, ¹⁾Michiyo Hatanaka, ¹⁾Hajime Kitamura¹⁾Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University,
Kobe, Japan²⁾Department of Clinical Laboratory Science, Faculty of Health Care, Tenri Health Care University,
Nara, Japan

[はじめに]

臨床現場では、易感染性や全身性エリテマトーデスなどの免疫複合体病が疑われる症例、補体その病態に関与する腎臓疾患で、補体検査がオーダーされることが多い。CH50 と C3, C4 の蛋白濃度が測定されることがほとんどであるが CH50 の低下が C3, C4 蛋白濃度のデータで説明出来ない場合も多く、その場合補体系の精査が必要となる。しかし、我が国では上記項目以外の補体精査が可能な施設はなく、多くの臨床医を悩ませている。

平成 19 年 10 月から神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科では補体チームとして臨床症例における補体の相談や解析の依頼を受けている。補体各成分の活性を測定できる施設は我が国では他にはないためか、依頼数は予想以上に多く、すでに 351 件の依頼（相談を含む）を受けた。本学会で平成 21 年および 24 年に経緯を紹介しているが、今回、平成 24 年 4 月以降の依頼症例を中心に紹介する。

[方法]

臨床医から相談を受け、精査が必要であると判断される場合、患者血清（多くの場合血漿も）を送付

してもらい、まず CH50、ACH50 を測定する。その結果をもとに、必要とされる各種の補体成分の溶血活性や蛋白濃度を測定し解析する^{1, 2)}。臨床医にはデータとともに病態に関するコメントを送り返している。

[結果]

平成 24 年 4 月から平成 26 年 6 月までに相談や依頼を受けた 160 件のうち、小児科からのものが 68 件と最も多く、その中で腎臓疾患に関わるものが 20 件あった。腎臓内科（29 件）を含めると腎臓疾患に関わる症例での相談や依頼が増加している。アレルギー・膠原病内科（22 件）がそれについて多い。相談のみの場合もあり、補体精査に至ったものは 76 件であった。補体成分欠損症では日本人で頻度の高い C9 欠損症 12 例が判明したが、まれな他の欠損症は認めなかった。遺伝性血管性浮腫（HAE）を疑う症例については 24 件の相談があり、10 例で C1-INH 蛋白量を測定した。

本学での測定開始以来 7 年あまりにおける依頼を経年で見ると、2010 年より相談件数が増加しており、特に腎臓関連、HAE での相談が増加している。腎

臓疾患、特に a-HUS では in vivo において腎臓局所でしか補体の活性化が起こらないことから、血清の補体活性は大きく低下しないことが多い。従って、本学で実施している補体測定は診断の役立たないことも多い。今後臨床で必要とされる補体検査について、診断に繋がる検査方法の確立が望まれる。本学における補体活性測定の現状と問題点についても言及したい。

[文献]

- 1) 北村 肇 補体学入門 基礎から臨床・測定法まで 学際企画 (2010)
- 2) 畑中 道代 他、補体異常の評価法、補体への招待 : 119-129 (2011)

EDTA 血漿中の補体への温度の影響

北野 悦子¹⁾、内堀 恵美²⁾、畑中 道代¹⁾、北村 肇¹⁾

¹⁾ 神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科

²⁾ 天理医療大学・医療学部・臨床検査学科

Study on CH50 value in EDTA-plasma

Etsuko Kitano¹⁾, Emi Uchibori²⁾, Michiyo Hatanaka¹⁾, and Hajime Kitamura¹⁾

¹⁾Department of Medical Technology, Faculty of Health Sciences, Kobe Tokiwa University,

²⁾Department of Clinical Laboratory Science, Faculty of Health Care, Tenri Health Care University,

[はじめに]

臨床の症例で血清補体価 (CH50 値) が低値の場合、しばしば cold activation 現象を疑う^{1, 2)}。このような場合、血清と血漿の CH50 値を測定し解析を行う。このとき血漿は、クエン酸血漿やヘパリン血漿ではなく、EDTA 血漿を用いるべきであることを以前報告した^{3, 4)}。その理由は、通常の採血管に使用されている濃度では、クエン酸血漿やヘパリン血漿では補体活性化を完全に抑えることは困難であり、EDTA 血漿なら完全に抑えるからである。一方、cold activation 現象を示さない健康人の場合は、血清と EDTA 血漿の CH50 値を比較すると、数値に大きな差は認められないが、統計学的には血清の方が高いことが知られている²⁾。おそらく、EDTA によって、macromolecule の C1 が一度はずれてバラバラになり、測定時に Ca や Mg を入れても、十分戻らないからだと推察できる。

今回 EDTA 血漿の CH50 値が温度によっては、大きく低下することを見出したので報告する。

[方法]

ボランティア健康人 6 名の血清及び EDTA 血漿

と正常ヒトプール血清 (NHS) を測定対象として、異なる温度 (4℃、室温、37℃) 及び異なる時間 (0 分、30 分、180 分) で保存した後、CH50 値、C1、C4、C2 活性値をマイクロタイター法で測定¹⁾、C42 generation assay^{1, 5)} で解析した。

[結果および考察]

採血、分離後の保存温度と保存時間については、EDTA 非存在下 (血清) では保存温度、保存の時間の影響は受けず、CH50 値の低下を認めなかった。EDTA 存在下でも 4℃の保存条件では、時間経過に関係なく CH50 値の低下を認めなかったが、保存温度の上昇と共に時間経過に伴い、CH50 値は、(室温 30分保存後：元の CH50 値の 57%に、180分保存後：元の 47%に、) (37℃ 30分保存後：元の CH50 値の 46%に、180分保存後：元の 33%に) 低下した。なお、室温や 37℃で保存後、Ca²⁺ や Mg²⁺ を十分加えても、CH50 値は回復しなかった。このことから不可逆的な補体の失活が起こっていると考えられた。次にどの補体成分が失活しているのかを C42 generation assay により解析した。この方法では古典経路の C1、C4、C2 までの初期反応 (1st step) と、

それ以降のC3～C9の反応 (2nd step) を、それぞれ分離して一括測定する。EDTA 非存在下では何れの温度でも、1st step、2nd step ともNHS と同様のパターンを示した (図1)。一方、EDTA 存在下で37°C180分保存したものでは、2nd step は全く低下しなかったが、1st step は低下してピークが全く認められなくなった (図2)。すなわち、C3 以降の補体成分は失活していないが、前半のC1、C4、C2 のうちのいずれかの成分の失活が示された。これらの成分の活性を測定した結果、C4 及び C2 活性は低下していないが、C1 活性はあきらかに低下していた。このことからEDTA 存在下、室温や37°Cに保存することにより、C1 は活性を失うことが判明した。

EDTA 存在下では、macromolecule の C1 がバラバラになることが知られているので、原因は C1 にあるであろうことは予想されていたが、今回の結果から、EDTA 存在下室温や37 °C保存した場合にCH50 値が低下するのは、古典経路の活性化ではな

く、C1 が活性を失うためであることが明らかとなった。

これまで、検査現場では検査までの検体血清の放置時間について、血清ではゆっくりではあるが補体の活性化がおこるため、注意が払われてきた。しかし EDTA 血漿では、補体活性化がおこらないと考えられ注意が払われてこなかったが、今回の検討より4°Cに保つことが望ましいことが判明した。

【文献】

- 1) H. Kitamura et al. *Clin. Exp. Immunol.* 27: 34-37 (1977)
- 2) 北村 肇、補体学入門 基礎から臨床・測定法まで 学際企画(2010)
- 3) 小林恵美 他、臨床病理、47: 160-164 (1999)
- 4) 小林恵美 他、臨床病理、48: 60-66 (2000)
- 5) E. Kobayashi. et al. *Int Arch Allergy Immunol.* 120: 71-77 (1999)

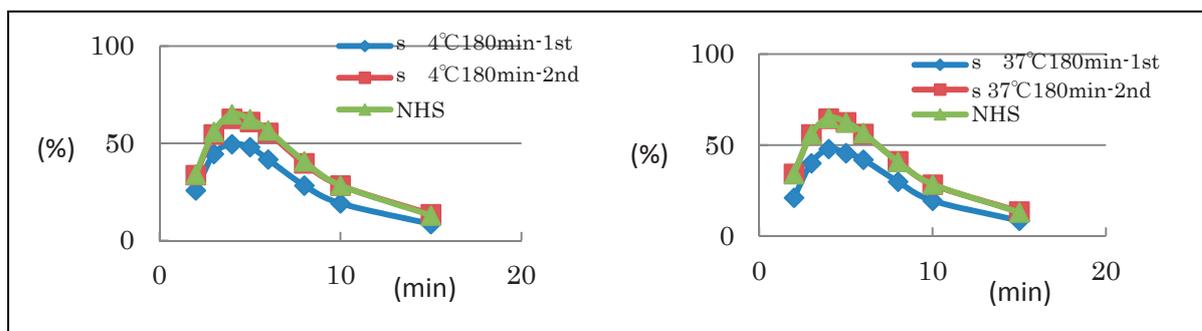


図1 血清における4°C及び37°C180分保存後のC42 generation assay の結果

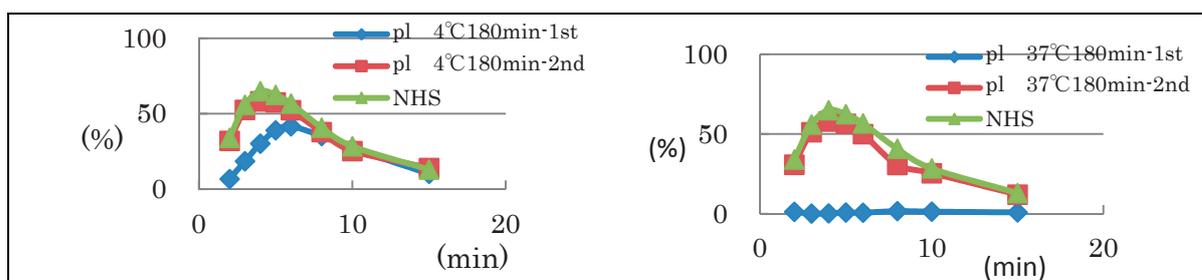


図2 EDTA 血漿における4°C及び37°C180分保存後のC42 generation assay の結果

補体研究会（補体シンポジウム）会則

I 総則

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

II 会員

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

III 役員

- (11) 本会に次の役員をおく。

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

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

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

IV 学術集会・総会

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

V 会計

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

VI 会則変更

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

付則

この会則は昭和60年3月1日より施行する。

- 平成2年8月7日 一部改訂
- 平成4年7月23日 一部改訂
- 平成5年7月21日 一部改訂
- 平成16年8月21日 一部改訂
- 平成22年9月11日 一部改訂

細 則

I 会費

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

II 選挙規定

運営委員の選出は当分の間次の規定に従って行う。

- (2) 運営委員の定数は10名を原則とする。
- (3) 選挙事務は事務局において行う。
- (4) 運営委員の選挙にあたり、運営委員候補者名簿を作成する。
- (5) 運営委員候補者として、任期満了の運営委員は3名、運営委員経験者は1名を推薦することが出来る。
- (6) 事務局は、運営委員候補者名簿および投票用紙を、一般会員、学生会員、名誉会員に総会開催2ヶ月前までに郵送し、会員はそれにもとづき、所定の日時までに3名連記で投票を行う。ただし、候補者以外のものに投票しても差し支えない。
- (7) 開票には、少なくとも監事1名の立会いを必要とする。監事は、開票結果にもとづいて、得票数の上位5名の運営委員と次点1名を定め、運営委員会および総会に報告する。
- (8) 次点者は運営委員に欠員が生じた場合に、その任に当たる。

III 事務局

- (9) 本会の事務局は会長の指名する事務局長のもとに置く。

IV 名誉会員

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

付則

細則（1）は昭和62年度より、賛助会員については平成5年度より施行する。

平成2年8月7日 一部改訂

平成4年7月23日 一部改訂

平成5年7月21日 一部改訂

平成22年9月11日 一部改訂

平成25年7月5日 一部改訂

補体研究会賛助会員

(五十音順)

旭化成ファーマ株式会社
アレクシオンファーマ株式会社
CSL ベーリング株式会社
田辺三菱製薬株式会社
Meiji Seika ファルマ株式会社

補体研究会

会 長 若宮 伸隆

会長補佐 堀内 孝彦

運営委員 大井 洋之

大澤 勲

岡田 秀親

塚本 浩

中尾 実樹

木下 タロウ

高橋 実

野中 勝

松下 操

山本 哲郎

監 事 藤田 禎三

瀬谷 司

事務局長 井上 徳光

集会長 畑中 道代

次期集会長 水野 正司

・・・編集後記・・・

補体研究会は、平成 26 年度内に学術研究団体に認定されることを視野にいれ、今回の第 51 回補体シンポジウム講演集から学会誌「補体」へ変更となりました。栄えある号の編集に携われたことを光栄に思っています。

講演集に加え、多くの内容が盛り込まれましたが、特に目を引くのは表紙ではないでしょうか。北村 肇 先生のデザインによるもので、中央のピンクの帯は古典経路、オレンジの帯は第 2 経路、紫の帯はレクチン経路と、補体の 3 つの活性化経路を表わしています。今回の第 51 回補体シンポジウムのポスターに使用されたものですが、学会誌「補体」に相応しいデザインと考え、本書の表紙にも使用させていただきました。

また、「補体」の書字は、会長の若宮伸隆 先生の筆によるものです。伸びやかな字体には、補体への熱い思いを感じます。

シンポジウムは 1 日半という限られた日程ですが、今回は外国の研究室からの 2 題を含む 23 題もの一般演題の登録がありました。このうちの 10 題が新たな会員によるもので、当会の今後の発展を予感するものでありました。今回はシンポジウムの開催にあたった当方が暫定的に編集しましたため、不備な点も多いかと思いますがご容赦ください。

次年度以降は本格的な学会誌「補体」として出発することになります。

(畑中道代・北野悦子)

補体 第 51 巻 第 1 号 (2014)

平成 26 年 8 月 22 日 発行

編集長 畑中道代

発行者 若宮伸隆

発行所 補体研究会

〒537-8511 大阪市東成区中道 1-3-3

大阪府立成人病センター研究所 腫瘍免疫学部門内 補体研究会事務局

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

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

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

印刷所 日本印刷出版株式会社

〒553-0006 大阪市福島区吉野 1-2-7

TEL: 06-6441-6594 Fax: 06-6443-5815

賛助・広告掲載会社一覧

第51回補体シンポジウムへのご支援を賜りました。

厚く御礼申し上げます。

第51回補体シンポジウム

集会長 畑中 道代

【共催セミナー】

CSL ベーリング株式会社

【広告】

アレクシオン ファーマ株式会社

大日本住友製薬株式会社

中外製薬株式会社

白井松器械株式会社

