

# The 42th Complement Symposium

August 2005, Nagoya



第42回

補体シンポジウム

平成17年8月

名古屋

補体研究会

The Japanese Association for Complement Research



# 第42回 補体シンポジウム 講演集

会 期：平成17年8月19日（金）・20日（土）

会 場：名古屋大学医学部 研究棟 B1F会議室

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

集会長：名古屋大学大学院医学系研究科

病態内科学講座免疫応答内科学

松尾 清一

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

Tel:052-744-2192 / Fax:052-744-2209

E-mail:hotai42@ccs-net.co.jp

## 第42回補体シンポジウム参加案内

講演会場 名古屋大学医学部 研究棟 B1F会議室

受付 第1日 8月19日(金) 午後12時30分より  
研究棟B1F会議室前にて

参加費	一般	5,000円		
	学生	2,000円		
懇親会費	一般	1,000円	学生・留学生	無料

発表方法 すべて口頭発表、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分を予定しています。  
PC発表は原則としてCD-R又はUSBメモリーによるデータの持込、もしくは各自のノートパソコンを持ち込んでの発表に限らせていただきます。CD-RW及びDVDによるデータの持込は不可とさせていただきます。  
また、ご発表はPower Pointに限らせていただきます。

### ・ CD-R又はUSBメモリーでのデータ持込によるご発表

1. 事務局として用意しますPCはOSがWindows XP、プレゼンテーションソフトはPower Pointです。
2. メディアを持込場合は、Windows版Power Point2000又は2003で作成されたデータのみといたします。
3. MacintoshのデータはWindows上での位置のずれや文字化けなどの不具合が生じることが多いため、そのままのデータの持込は不可とさせていただきます。各自、Windows上での動作確認と、Windows用にデータ変換を行った上でのご用意をお願いします。
4. 動画(movie file)がある場合には、各自のPCを持ち込んでの発表をお願いします。
5. Macintoshでのご発表をご希望の場合には、各自のPCを持ち込んでの発表をお願いします。
6. 液晶プロジェクターの出力解像度は、VGA(640×480)、SVGA(800×600)、XGA(1024×768)に対応しております。
7. 音声出力は使用出来ませんので、ご了承下さい。

### ・ PC持込によるご発表

1. 液晶プロジェクターとの接続は、PC本体にミニDsub15ピン外部出力コネクタが使えるものに限り、薄型PCでは

特殊なコネクタ形状になっているものもありますので、必ず付属の変換アダプターを予めご確認の上ご用意をお願いします。

2. 発表中又はその準備中にバッテリー切れになることがありますので、発表には付属のACアダプターをご用意下さい。(100V)
3. 発表中にスクリーンセーバーや省電力機能で電源が切れないように、設定のご確認をお願いします。
4. 音声出力は使用出来ませんので、ご了承下さい。

・ PC及びデータの受付並びにその他

1. 発表は事務局で用意しますキーボード、マウスを使用し、発表者ご自身で進めて下さい。
2. Power Pointにて作製したデータのファイル名は「演題番号氏名.ppt」で保存して下さい。
3. データ保存する前に必ずウイルスのチェックを行って下さい。
4. 各ご発表の30分前までにPC受付にて、演題受付及び動作確認をして下さい。  
(なるべく受付予定時間よりも早めをお願いします。)

運営委員会 第2日 8月20日(土) 8:00 - 8:45 (鶴友会館2F小会議室)

総 会 第2日 8月20日(土) 12:15 - 12:45 (講演会場)

懇 親 会 第1日 8月19日(金) 19:30 - 21:00  
名古屋ガーデンパレス (3F錦の間)

年 会 費 会員の方で年会費を未納の方、および新たに入会される方は、当日の年会費受付にてご納入下さい。

年会費 一般 5,000円、学生 3,000円

補体研究会事務局

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学大学院理学系研究科生物学専攻

進化多様性生物学大講座 野中 勝

Tel / Fax: 03-5800-3397

E-mail: hotai@biol.s.u-tokyo.ac.jp

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/meneki/hotai/>

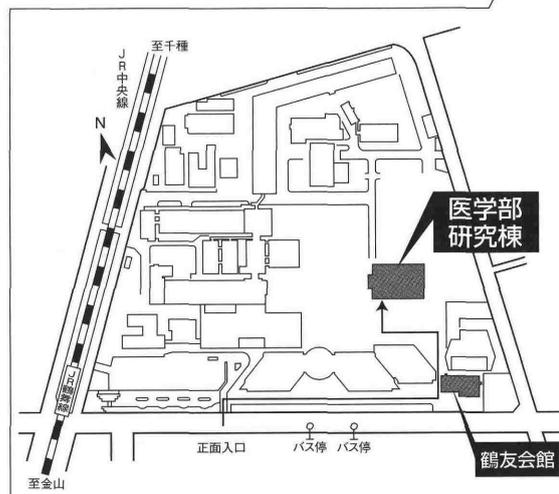
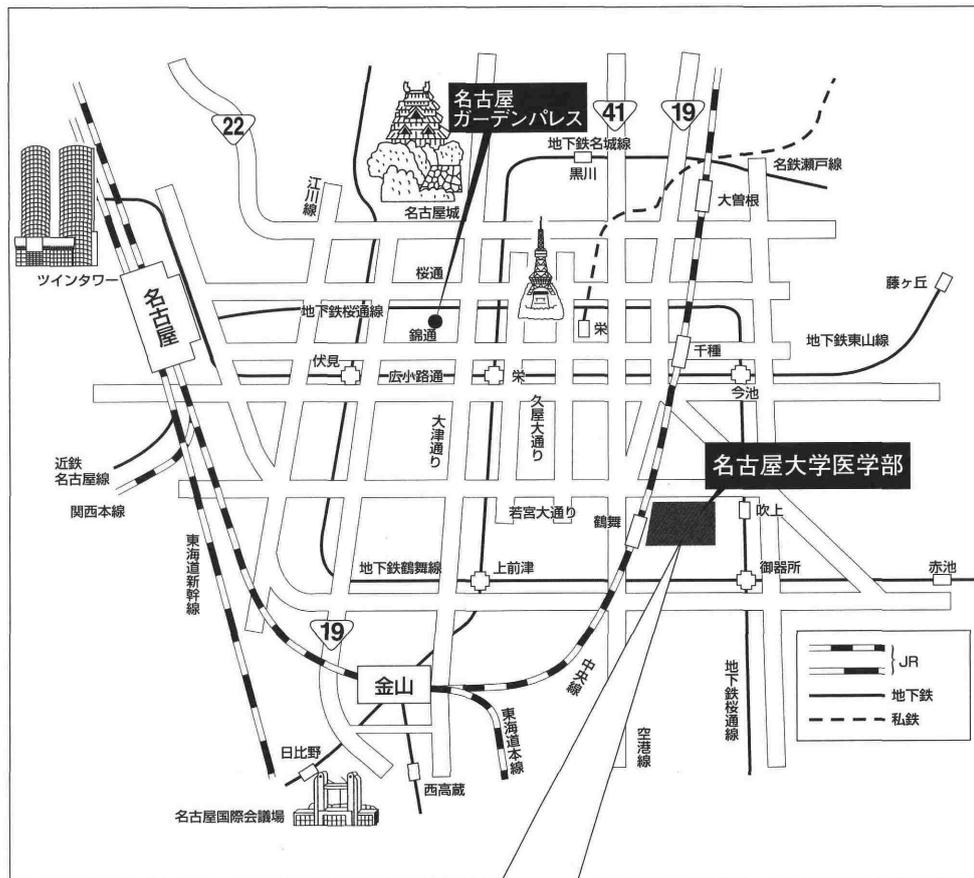
# 会場および交通案内

名古屋大学医学部ご案内

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 TEL 052-741-2111 (代表)

## ◎交通機関

- ①JR中央線・鶴舞駅(名大病院口側)下車徒歩3分
- ②地下鉄(鶴舞線)鶴舞駅下車徒歩8分
- ③市バス栄から栄⑱系統「妙見町」行きで「名大病院」下車



※駐車場は特にご用意しておりませんので公共交通機関をご利用下さい。

JR中央線 時刻表(名古屋発→鶴舞方面)

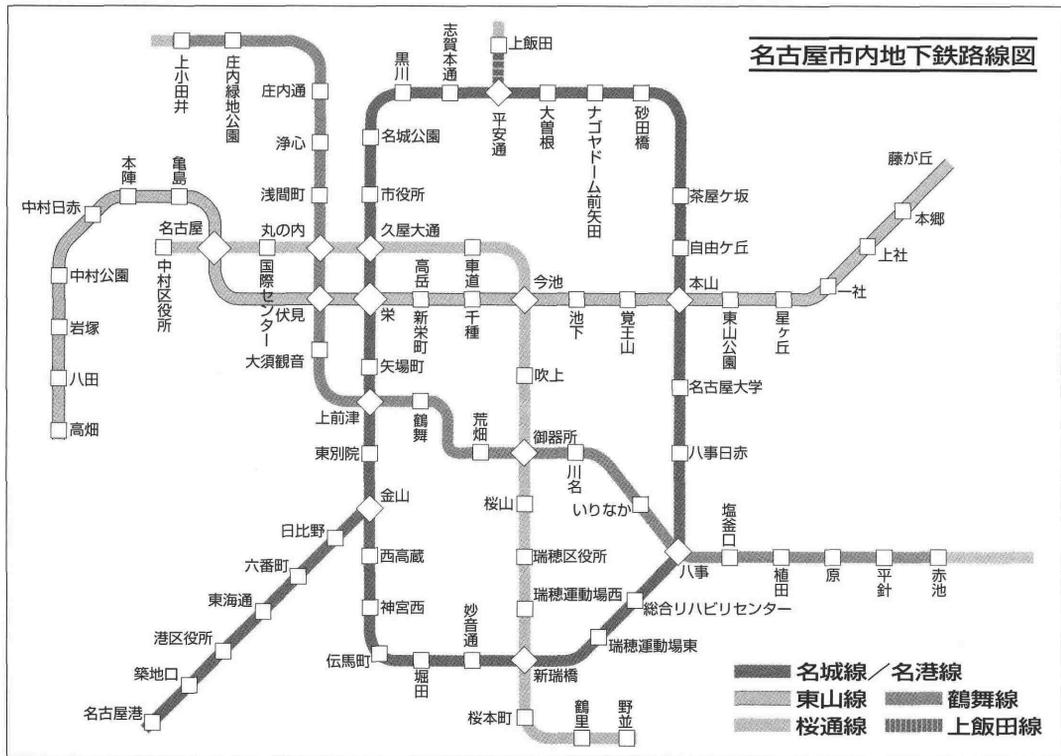
8	4	9	14	24	29	35	45	52
9	4	10	18	31	45	52		
10	6	12	18	32	46	52		
11	12	18	32	46	52			
12	12	18	32	46	52			

JR中央線 時刻表(鶴舞発→名古屋方面)

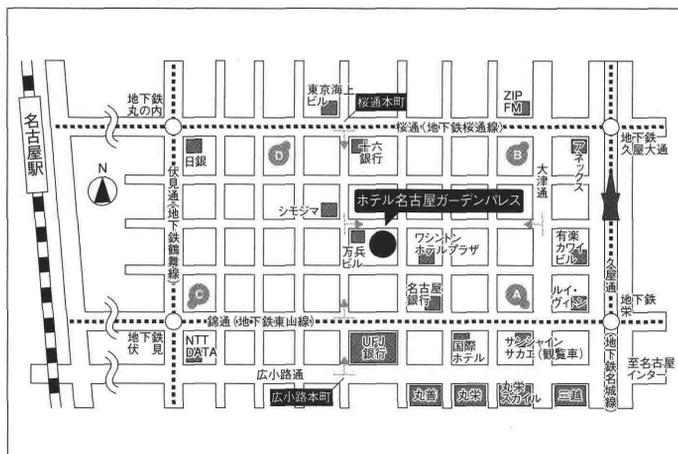
13	7	12	20	37	52			
14	7	12	18	37	51			
15	7	12	20	37	51			
16	7	13	20	31	37	51	59	
17	12	18	31	37	51	59		
18	12	19	32	38	53	58		

※ JR中央線・名古屋-鶴舞間の所要時間はおよそ6分です。

## 地下鉄路線図のご案内



## ホテルのご案内



## ホテル名古屋ガーデンパレス

名古屋市中区錦3丁目 11-13  
TEL 052-957-1022

- 地下鉄「栄」駅・1番出口より  
徒歩5分
- 地下鉄「久屋大通」駅・4番出口より  
徒歩5分
- 地下鉄「丸の内」駅・5番出口より  
徒歩5分

## 日 程 表

8月19日 (金)            12:30開場

13:25~13:30	開会の辞	松尾清一
13:30~14:30	セッションA: フィコリン・GPIアンカー	座長 木下タロウ、岡田秀親
14:30~15:30	セッションB: TLR、CD46他	座長 岡田則子、松本美佐子
15:30~16:30	セッションC: 臨床補体	座長 酒井好古、塚本 浩
16:30~16:40	休 憩	
16:40~17:20	特別講演 I	演者 水野正司 座長 赤津裕康
17:20~17:30	休 憩	
17:30~18:30	特別講演 II	演者 Richard J Quigg 座長 南学正臣
19:30~21:00	懇 親 会 (名古屋ガーデンパレス)	

8月20日 (土)            8:30開場

9:00~10:00	特別講演 III	演者 恵口 豊 座長 松尾清一
10:00~11:00	セッションD: 系統発生	座長 野中 勝、藤田禎三
11:00~12:15	セッションE: アナフェラトキシン・レクチン経路	座長 山本哲郎、松下 操
12:15~13:15	総会&昼食	
13:15~15:45	臨床補体シンポジウム教育企画 「若手医師・研究者のための臨床補体学の基礎」	座長 堀内孝彦、松尾清一
15:45~15:50	閉会の辞	松尾清一

## 第42回補体シンポジウム・学術プログラム

第1日 8月19日(金)

### セッションA：フィコリン・GPIアンカー

13:30～14:30

座長 木下タロウ、岡田秀親

#### A-1 M-ficolin is the third lectin of the ficolin family which can activate the complement pathway

Yu Liu<sup>1</sup>, Yuichi Endo<sup>1</sup>, Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Munehiro Nakata<sup>2</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>, Ikuo Wada<sup>3</sup>, Keiichi Inoue<sup>4</sup>, Mitsuru Munakata<sup>4</sup>, and Teizo Fujita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University and CREST, Japan Science and Technology Agency

<sup>2</sup>Institute of Glycotechnology and Department of Applied Biochemistry, Tokai University

<sup>3</sup>Department of Cell Science, Institute of Biomedical Sciences, and <sup>4</sup>Department of Pulmonary Medicine, Fukushima Medical University

#### A-2 フィコリンA欠損マウスの表現型：血清における補体レクチン経路の異常

遠藤雄一<sup>1</sup>、中澤なおみ<sup>1</sup>、菅野和子<sup>1</sup>、Liu Yu<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、高橋実<sup>1</sup>、松下操<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医大・医・免疫、CREST、<sup>2</sup>東海大・工・生命化学

#### A-3 GPIアンカー生合成の最初のステップに係わる7番目のコンポーネントPIG-Yの解析

村上良子<sup>1</sup>、前田裕輔<sup>1</sup>、洪 榮振<sup>1</sup>、木下タロウ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪大学微生物病研究所 免疫不全

#### A-4 GPIアンカー欠損細胞に染色体異常を伴う発作性夜間血色素尿症(PNH)新規症例の解析

井上徳光<sup>1</sup>、泉井朋久<sup>2</sup>、遠藤雄一<sup>3</sup>、村上良子<sup>2</sup>、西村純一<sup>4</sup>、Charles J. Parker<sup>5</sup>、

木下タロウ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪府立成人病センター研究所分子遺伝、<sup>2</sup>大阪大学微生物病研究所・免疫不全

<sup>3</sup>福島県立医科大学・免疫学、<sup>4</sup>Division of Hematology, Duke University Medical Center, U. S. A.

<sup>5</sup>Hematology/Oncology section, VA Medical Center, U. S. A.

### セッションB：TLR、CD46他

14:30～15:30

座長 岡田則子、松本美佐子

#### B-1 ラットCD46の解析

—抗ラットCD46の、新たなspermatid成熟過程のマーカーとしての有用性—

水野正司<sup>1,2</sup>、Claire L. Harris<sup>1</sup>、鈴木則彦<sup>2</sup>、松尾清一<sup>2</sup>、Peter M. Johnson<sup>3</sup>、B. Paul Morgan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学講座、

<sup>2</sup>名古屋大学大学院病態内科学講座免疫応答内科学、<sup>3</sup>リバプール大学免疫学講座

#### B-2 TTP/HUS患者におけるADAMTS13解析

松本雅則<sup>1</sup>、藤村吉博<sup>1</sup>、小亀浩市<sup>2</sup>、宮田敏行<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良県立医科大学 輸血部

<sup>2</sup>国立循環器病センター研究所

B-3 Lamprey Toll 様受容体 (TLR) TLRb の構造と機能 Structure and function of lamprey TLRb  
石井秋宏<sup>1</sup>、信田京子<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、瀬谷 司<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北大・医・感染制御

B-4 フグ Toll 様受容体 (TLR) TLR21, TLR22 の機能 Functional properties of fugu TLR21 and TLR22  
松尾 綾<sup>1</sup>、辻田忠志<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、瀬谷 司<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北大・医・感染制御

## セッションC：臨床補体

15:30~16:30

座長 酒井好古、塚本 浩

C-1 HLA 抗体による補体活性化について  
渡邊常太<sup>1,2</sup>、串畑史樹<sup>1</sup>、小林展章<sup>1</sup>、Juan Scornik<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>愛媛大学医学部第1外科  
<sup>2</sup>フロリダ大学医学部病理学

C-2 補体C3は転写因子KLF-5を介して腎メサンジウム細胞の形質を合成型に変換し増殖を刺激する  
万 建新<sup>1</sup>、福田 昇<sup>1</sup>、上野高浩<sup>1</sup>、遠藤守人<sup>2</sup>、松本絃一<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>日本大学医学部内科学講座腎臓内分泌内科、<sup>2</sup>八戸大学人間健康学部

C-3 IgA 腎症における血清および尿中補体成分の検討  
恩田紀更<sup>1</sup>、大井洋之<sup>1</sup>、眞野訓<sup>1</sup>、玉野まり子<sup>1</sup>、大澤勲<sup>1</sup>、藤田禎三<sup>2</sup>、富野康日己<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>順天堂大学腎臓内科学、<sup>2</sup>福島県立医科大学免疫学

C-4 抗TNF- $\alpha$  製剤 (infliximab および etanercept) の補体依存性および抗体依存性細胞障害効果の検討  
三苦弘喜<sup>1</sup>、堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本浩<sup>1</sup>、原田実根<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>九州大学大学院病態修復内科学分野 (第一内科)

特別講演 I 座長 赤津裕康 16:40~17:20

「当世イギリス補体留学事情」

水野正司<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学講座

特別講演 II 座長 南学正臣 17:30~18:30

「Complement regulation for treatment of kidney diseases A perspective」

Richard J Quigg<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Medicine, University of Chicago

第2日 8月20日(土)

特別講演Ⅲ

座長 松尾清一

9:00~10:00

「siRNA libraryの開発とその応用 - 細胞死メカニズムの解明に向けて」

恵口 豊<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科遺伝子学、SORST, JST

セッションD: 系統発生

10:00~11:00

座長 野中 勝、藤田禎三

D-1 コイ補体成分アイソタイプの産生部位

大蔵千恵<sup>1</sup>、加藤陽子<sup>1</sup>、柚本智軌<sup>1</sup>、中尾実樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院水族生化学研究室

D-2 ヤツメウナギ肝臓EST解析による補体系遺伝子の網羅的探索

木村鮎子<sup>1</sup>・野中 勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻

D-3 コイ補体成分B因子アイソタイプの遺伝子クローニング

岩谷健太郎<sup>1</sup>、加藤陽子<sup>1</sup>、柚本智軌<sup>1</sup>、中尾実樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院水族生化学研究室

D-4 C3を含むTEP (Thioester-Containing Protein) 遺伝子の進化

野中 勝<sup>1</sup>、杉本早苗<sup>1</sup>、藤戸尚子<sup>1</sup>、金 孝竜<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻

セッションE: アナフェラトキシン・レクチン経路

11:00~12:15

座長 山本哲郎、松下 操

E-1 変性免疫グロブリンのマンノース結合レクチン (MBL) との結合性ならびにレクチン経路活性化

寺井 格<sup>1</sup>、小林邦彦<sup>2</sup>、J-P Vaerman<sup>3</sup>、真船直樹<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学医療科学センター、<sup>2</sup>北海道大学小児科、

<sup>3</sup>Dept. Exp. Med. Univ. Louvain、<sup>4</sup>酪農学園大学酪農学部

E-2 S19 リボソーム蛋白二量体の好中球機能抑制及びアポトーシス促進作用

—好中球補体C5aリセプターの新たな役割—

西浦弘志<sup>1</sup>、李 穎<sup>1</sup>、山本哲郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>熊本大学・大学院・医学薬学研究部・分子病理分野

E-3 ヒト肺アレルギー性炎症でのアナフィラトキシンの作用

阿部正義<sup>1</sup>、濱 寛<sup>3</sup>、白日高歩<sup>2</sup>、岩崎明憲<sup>2</sup>、小野信文<sup>3</sup>、桂木猛<sup>1</sup>、岡田秀親<sup>4</sup>

<sup>1</sup>福岡大・医・薬理、<sup>2</sup>同第2外科、<sup>3</sup>薬・医薬品情報、<sup>4</sup>福祉村病院

E-4 MBL-associated serine protease (MASP)-1はC4非依存的にレクチン経路を活性化する  
高橋 実<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医科大学医学部免疫学講座

E-5 sMAP 遺伝子欠損マウスの Staphylococcus aureus 感染抵抗性の解析  
岩城大輔<sup>1</sup>、菅野和子<sup>1</sup>、高橋 実<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、Yu Liu<sup>1</sup>、松下 操<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医科大学・医・免疫、CREST、<sup>2</sup>東海大学・工・生命化学

## 臨床補体シンポジウム教育企画

13:15～15:45

「若手医師・研究者のための臨床補体学の基礎」

座長 堀内孝彦、松尾清一

- S-1 補体系の成り立ちと補体制御因子  
岡田則子<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>名古屋市立大学分子医学研究所生体高分子
- S-2 補体活性化経路  
藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医科大学第一生化学講座
- S-3 膠原病と補体  
堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本 浩<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>九州大学大学院病態修復内科学分野（第一内科）
- S-4 腎臓病と補体（Complement in Kidney Diseases）  
Richard J Quigg<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Medicine, University of Chicago
- S-5 補体と臓器移植  
小林孝彰<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>名古屋大学大学院医学系研究科病態制御外科



## 当世イギリス補体留学事情

水野正司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>カーディフ大学 (旧 ウェールズ大学)

以前私の中では、留学といえばU S A、周りの多くの方がU S A、という印象でした。縁あって補体を研究のテーマとし、現在U K (Wales) のCardiff University, Medical Biochemistry & Immunologyの professor B.P. Morganの所で勉強をさせていただいています。今も昔も、補体の中でも炎症と補体に興味があり、勉強を兼ねてその延長の研究をしていきたかったのですが、何をどう間違っただのか、現在のテーマは膜補体制御因子と生殖、と当初目的とはかなり異なってしまい、腎臓内科医師であった私が、全く異なる泌尿器科・産婦人科に近い分野の仕事をしています。

ここでは、私のつたない経験から、今後U Kへ留学を予定されている方のために留学事情と、Walesの観光案内、留学先の教室、そして、現在の私の仕事について紹介させていただきます。科学的な内容はほとんど無いのですが、気楽に、おもしろく聞いて頂ければ幸いです。



## 特別講演Ⅱ

### Complement regulation for treatment of kidney diseases A perspective

Richard J Quigg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, University of Chicago



## siRNA library の開発とその応用 - 細胞死メカニズムの解明に向けて

恵口豊<sup>1</sup><sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科遺伝子学、SORST, JST

## siRNA Libraries and their Applications

Yutaka Eguchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lab. Molecular Genetics, Dept. of Medical Genetics Osaka University Graduate School of Medicine and SORST of JST, Suita Osaka, JAPAN

複雑な生命現象の全体像を理解する上で、それに関与する因子の網羅的な解析は強力な手段の一つと考えられる。遺伝学的手法は関連因子を系統的に検索するには有用な方法であるが、哺乳類細胞では通常の変異体から原因遺伝子を同定するには膨大な作業を必要とするため、これを克服するためにこれまでも様々な手法が考案されてきた。近年、二本鎖RNAが細胞内で配列特異的なmRNA分解を誘導する事が発見され、これを応用して遺伝子発現を特異的に抑制する「RNA干渉法 (RNAi)」が様々な分野で利用されている。また、「RNA干渉法」を利用したライブラリーを作成し、それぞれの生命現象に関わる因子を網羅的に同定する試みが全世界で行われ始めている。現在我々は、これまで我々が解析を進めてきたアポトーシスシグナル伝達系の全体像を解明することを目的として、合成siRNAを用いたライブラリーと、ヒト・マウスの全遺伝子に対するshRNAを用いたレンチウイルス系ライブラリーの開発を、米国B-Bridge社及び国内の複数の研究者と共同で進めている。これまで、RNAi効果を効率良く発揮する配列の検出プログラムの作成、目的の遺伝子産物以外のmRNAに対するRNAi効果 (Off-target効果) の低減、複数のsiRNAの混合によるそれぞれのsiRNAの効果への影響など

を検討し、合成siRNAを用いたライブラリーの作成を目指してきた。今回はそのコンセプトと、アポトーシス時に見られる細胞のBlebbingに関わる因子の同定を例にとり、その応用例を紹介する。また、上記のRNAi配列検出プログラムを利用し、レンチウイルス系ベクターを基礎とした、ヒト及びマウスのゲノムワイドのshRNAライブラリーを米国B-Bridge社と米国SBI社の協力のもと、最近完成させた。このライブラリーは、ヒトの47,400遺伝子、あるいはマウスの39,000遺伝子を標的にデザインされている。その使用方法についても概説したい。



## 補体系の成り立ちと補体制御因子

岡田則子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科生体防御学

Complement regulatory molecules in the complement system

<sup>1</sup>Dept of Biodefense, Nagoya City Univ Grad Sch Med Sci, Nagoya

Noriko Okada<sup>1</sup>

正常細胞は自己補体反応の標的とならないように、細胞膜上補体制御膜因子群により護られている。従って、補体系は血清中で外来異物や異常細胞のみに対して活性化反応を押し進め、異物を破壊排除する最強のエフェクターとして機能する。補体反応系の前半は連続的酵素反応系であり、後半は複合体形成反応という特徴的なカスケードを形成しており、その要所要所に制御因子が配備されている。我々は1982年に細胞膜上のシアル酸が補体反応を特異的に抑制していることを立証したが、シアル酸をシアリダーゼで取り除いて補体反応を受けるとしても同種補体による攻撃は免れた。従って細胞膜上に種特異的に補体反応を制御する膜分子が存在することを示唆し膜傷害複合体形成阻止活性を示す20kDのhomologous restriction factor (HRF20,CD59)を同定した。また、C3活性化制御に関連する補体制御蛋白(complement control protein; CCP)として、Factor H、C4 binding protein (C4bp)、decay accelerating factor (DAF,CD55)、membrane cofactor protein (MCP,CD46)、complement receptor 1型(CD1, CD35)および2型(CR2, CD21)等が存在する。感染性微生物が補体制御膜因子様分子を発現している例も多く報告されており、生体防御における異物識別機構としての補体系の成り立ちを論じてみたい。

## 補体活性化経路

藤田禎三<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学第一生化学講座

## 膠原病と補体

堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本 浩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院 病態修復内科学分野（第一内科）

膠原病には全身性エリテマトーデス (Systemic lupus erythematosus: SLE)、関節リウマチをはじめ20以上の疾患の総称であり、自己抗体の出現を特徴とする全身の多臓器の慢性炎症が共通の病態である。この病態形成には補体が大きな役割を果たしている。すなわち細胞表面の抗原に対する自己抗体 (II型アレルギー) あるいは免疫複合体形成 (III型アレルギー) によって補体が過剰に活性化されて、その結果生じた膜障害複合体 (membrane attack complex; MAC) が直接に細胞を障害し、また補体分解産物が炎症担当細胞を介して間接的に炎症を進展させる。しかし一方では、先天性の補体欠損症ではSLEなどの自己免疫疾患を高い頻度で合併することも事実であり、補体がないことがSLEの要因となりうる場合もある。補体の動態が自己免疫疾患の病態形成に深く関与していることは明らかであるが、その機序は複雑と言える。

近年、補体ノックアウトマウスを用いた研究で、各補体成分の詳細な機能が明らかになってきた。また補体活性化の経路にレクチン経路という全く新しい経路が発見され、SLEをはじめとした様々な疾患との関連が明らかにされつつある。これら最近の補体の分野における進歩をふまえて、膠原病の診断、病態、そして治療における補体の役割について述べたい。

腎臓病と補体 (Complement in Kidney Diseases)

Richard J Quigg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, University of Chicago

## 補体と臓器移植

小林孝彰<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学大学院医学系研究科 病態制御外科

免疫反応における補体の役割は、古くから知られている。移植後グラフトに抗体が接着し、補体が活性化され引き起こされる拒絶反応は、液性拒絶反応と呼ばれ、cytotoxic T細胞が中心となり細胞傷害を起こす細胞性拒絶反応と比べて傷害の程度が大きく、グラフトを機能廃絶に陥れる予後不良の免疫反応とされた。

この20年の免疫抑制療法の進歩により、移植成績は急速に向上した。その理由として、拒絶反応の防止・治療のための効果的な免疫抑制剤の開発（CSA, TAC, OKT3, MMF, RAPA, IL-2R MoAb など治療法の進歩）と、既存抗体、補体の関与する液性拒絶反応を引き起こす危険性の高い移植を除外するための正確な移植前検査の確立（ELISA, Flow cytometryを用いた診断技術の進歩）がある。

最近では、臓器提供（ドナー）不足問題を解決するための試みとして、従来は禁忌であった抗ドナー抗体陽性移植すなわち、ABO血液型不適合移植、抗HLA抗体陽性移植が行われている。また、ブタを用いた異種臓器移植も研究がすすめられている。ともに、抗体関連型（液性）拒絶反応の克服が重要な鍵となる。移植医療では、あまり注目されてこなかった補体の重要性が再認識されており、液性拒絶反応診断における補体分解産物C4dのグラフト沈着、慢性拒絶反応における補体の関与、異種移植におけるグラフトへの補体制御因子遺伝子導入の意義など、補体に関する最近の話題を提供する。



## M-ficolin is the third lectin of the ficolin family which can activate the complement pathway

Yu Liu<sup>1</sup>, Yuichi Endo<sup>1</sup>, Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Munehiro Nakata<sup>2</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>, Ikuo Wada<sup>3</sup>, Keiichi Inoue<sup>4</sup>,  
Mitsuru Munakata<sup>4</sup>, and Teizo Fujita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University and CREST, Japan Science and Technology Agency

<sup>2</sup>Institute of Glycotechnology and Department of Applied Biochemistry, Tokai University

<sup>3</sup>Department of Cell Science, Institute of Biomedical Sciences,

and <sup>4</sup>Department of Pulmonary Medicine, Fukushima Medical University

### 〈Background〉

Three types of ficolins have been identified in human: L-ficolin, M-ficolin, and H-ficolin<sup>1)</sup>. Similar to mannose-binding lectin (MBL), L-ficolin and H-ficolin are both serum lectins, and can recognize specific carbohydrates on the surfaces of pathogens. They form complexes with MBL-associated serine proteases (MASPs) and participate in innate immunity through activating complement<sup>2)</sup>. Another human ficolin, M-ficolin, is a non-serum ficolin that is expressed in leukocytes and lung<sup>3)</sup>; however, little is known about its physiological roles. In this study, we report the characterization of M-ficolin in terms of its protein localization and lectin activity.

### 〈Methods〉

1) Recombinant M-ficolin was expressed by *Drosophila* expression system and purified by affinity chromatography with N-acetylgluco-samine (GlcNAc) agarose. 2) Anti-M-ficolin IgG was prepared from rabbits. 3) Immunohistochemistry was carried out to determine the cell types that express M-ficolin. 4) Immunoprecipitation was performed to check whether M-ficolin forms complexes with MASPs. 5) Complement activation by M-ficolin-MASP complexes was observed by C4

deposition on ELISA plates coated by GlcNAc. 6) The binding ability of M-ficolin to carbohydrates was checked. 7) The recognition of M-ficolin to bacteria was confirmed by flow cytometry.

### 〈Results〉

Recombinant M-ficolin was expressed by *Drosophila* S2 cells and its molecular mass was determined to be about 610 kDa. M-ficolin was localized in secretory granules in the cytoplasm of neutrophils, monocytes, and type II alveolar epithelial cells in lung. M-ficolin precipitated with MASP-1 and MASP-2 in a co-immunoprecipitation assay, indicating that M-ficolin forms complexes with MASP-1 and MASP-2. M-ficolin-MASP complexes activated complement on GlcNAc-coated microplates in a C4 deposition assay. M-ficolin bound to several neoglycoproteins bearing GlcNAc, N-acetyl-galactosamine, and sialyl-N-acetyllactosamine, suggesting that M-ficolin can recognize the common carbohydrate residues found in microbes. Indeed, M-ficolin bound to *Staphylococcus aureus* through GlcNAc.

### 〈Conclusion〉

M-ficolin is the third lectin that can activate the

lectin complement pathway. It is a secretory protein that may play a role in local immunity.

<Reference>

- 1) Fujita T., Nat. Rev. Immunol., 2:346(2002)
- 2) Matsushita, M., Y. Endo, and T. Fujita. Cutting edge: complement-activating complex of ficolin and mannose-binding lectin-associated serine protease. J. Immunol. 164:2281(2000)
- 3) Endo, Y., Y. Sato, M. Matsushita, and T. Fujita. Cloning and characterization of the human lectin P35 gene and its related gene. Genomics 36:515(1996).

## フィコリンA欠損マウスの表現型： 血清における補体レクチン経路の異常

遠藤雄一<sup>1</sup>、中澤なおみ<sup>1</sup>、菅野和子<sup>1</sup>、Liu Yu<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、高橋実<sup>1</sup>、松下操<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医大・医・免疫、CREST、<sup>2</sup>東海大・工・生命化学

Phenotype of ficolin A-deficient mice: abnormality in the lectin complement pathway  
 Yuichi Endo<sup>1</sup>, Naomi Nakazawa<sup>1</sup>, Kazuko Kanno<sup>1</sup>, Yu Liu<sup>1</sup>, Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Minoru Takahashi<sup>1</sup>,  
 Misao Matsushita<sup>2</sup>, Teizo Fujita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine and CREST, Japan Science and Technology Agency

<sup>2</sup>Dept. of Applied Biochemistry and Institute of Glycotechnology, Tokai University

### [はじめに]

補体レクチン経路においては、認識分子であるマンノース結合レクチン (MBL) やフィコリンが侵入微生物の糖鎖に結合し、その結果活性化されたセリンプロテアーゼMASPが補体系を活性化する。フィコリンはコラーゲン様ドメインとフィブリノーゲン様ドメインからなる蛋白でN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)を認識する。現在、ヒトではL、M、H 3種類のフィコリンが知られており、このうち、LとHフィコリンは血清レクチンとして存在し、自然免疫において補体レクチン経路の認識分子として作用することが報告されている1、2。マウスでは2種類のフィコリンが知られており、フィコリンAはヒトのLフィコリンに、フィコリンBはMフィコリンに相同であると考えられる3。

今回、我々はこれらフィコリンの働きを明らかにするために、フィコリンA欠損マウスを作成し、その表現型を調べた。

### [方法]

- 1) マウスフィコリンA遺伝子のジーンターゲットングは大阪大学遺伝情報実験センター岡部研究室との共同研究により行った。
- 2) レクチン経路の構成成分の解析は、血清中

のMBLとフィコリンをGlcNAcアガロースに結合させ、マンノースとGlcNAcで順次溶出して、各分画をウェスタンブロットで解析した。また、血清中のフィコリンA濃度はELISA法で測定した。

- 3) レクチン経路による補体活性化能は、GlcNAcをコートしたマイクロプレート上でのC4沈着をELISA法で測定した。
- 4) フィコリンA欠損マウス血清中のレクチン経路を再構成するために、組換えフィコリンAおよびフィコリンBをショウジョウバエS2細胞で作製した。
- 5) 組換えフィコリンAの*S. aureus*への結合はFACSにより測定した。また、*S. aureus*の増殖に及ぼすマウス血液の抑制効果を、LB培地でのコロニー数で測定した。この際、共存するMBLの効果を除くために、マウス血液をマンナンアガロースにかけMBLを除去した。

### [結果]

- 1) ヘテロ同士の交配から生まれた子マウス遺伝子型は約1:2:1の割合であった。ホモマウスは、野生型マウスと比較し外観や体重に差はなかった。組織学的には少なく

とも12週齢までは異常を認めていない。

- 2) フィコリンA欠損マウス（ホモマウス）の血清におけるレクチン経路の組成および補体活性化能を、ヘテロマウス、野生型マウスのそれと比較した結果、フィコリンA欠損マウスはMBL/MASP/sMAPを介するレクチン経路は正常であるが、フィコリンA/MASP/sMAPを介するレクチン経路を欠損していることがわかった。
- 3) フィコリンA欠損マウス血清に組換えフィコリンAを添加することにより、フィコリンA/MASP/sMAP複合体が構築され、C4沈着活性の回復がみられた。しかし、フィコリンBの添加では複合体は形成されず、C4沈着活性の回復もみられなかった。
- 4) 組換えフィコリンAは*S. aureus*に結合し、その結合はGlcNAcで部分的に阻害された。*S. aureus*の増殖に及ぼすフィコリンA欠損マウス血液の抑制効果を調べた結果、ヘテロマウス、野生型マウスと比較し有意差はないが抑制効果が小さいことがわかった。

#### [考察]

我々は昨年の本シンポジウムにおいて、フィコリンAが、ヒトのL-フィコリンと同様に、MASPおよびsMAPと複合体を形成しており、その複合体は補体活性化能をもつことを報告した。今回、フィコリンA欠損マウスの解析では、そのフィコリンAを認識分子とするレクチン経路が欠損していることが判明し、このためレクチン経路全体の活性も部分的に低下していることが示された。このことは、血清のC4沈着活性の有意な低下や*S. aureus*の増殖に及ぼす血液の抑制効果の差として観察された。これらの結果は、フィコリンAがレクチン経路の認識分子として重要な役割を担っていることを示している。

#### 参考文献

- 1) Matsushita, M. et al., *J. Immunol.*, 164:2281 (2000)
- 2) Matsushita, M. et al., *J. Immunol.*, 168:3502 (2002)
- 3) Endo Y., *Genomics* 84:737 (2004)

## GPI アンカー生合成の最初のステップに係わる 7番目のコンポーネント PIG-Y の解析

村上良子<sup>1</sup>、前田裕輔<sup>1</sup>、洪 榮振<sup>1</sup>、木下タロウ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪大学微生物病研究所 免疫不全

Initial enzyme for glycosylphosphatidylinositol biosynthesis requires PIG-Y,  
the seventh component of the enzyme complex.

<sup>1</sup>Department of Immunoregulation, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University  
Genomic Research Center for Enteropathogenic Bacteria and Department of Microbiology,  
Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

### [はじめに]

GPI アンカーの基本骨格は全ての生物において保存されている。GPI アンカーの合成は小胞体の細胞質側で始まり、最終的には内腔側で蛋白のC末端に転移される。発作性夜間血色素尿症患者の異常血液細胞ではフォスファチジルイノシトールにN-アセチルグルコサミンが転移される最初のステップに関与している PIG-A に突然変異が起こっている結果、アンカー部分が合成されず、細胞表面に補体制御因子をはじめとする GPI アンカー型蛋白が発現しないために自己補体による溶血発作をおこす。PIG-A は、この単糖転移酵素複合体の触媒サブユニットであるが、この複合体に現在まで6つの蛋白が含まれていることがわかってきた<sup>1)</sup>。今回われわれは、同じステップの異常を持ちながら、既知の6つの遺伝子では GPI アンカー型蛋白の欠損を相補できない、バーキットリンパ腫の細胞株である Daudi 細胞を見出したことにより、新規の7番目の蛋白の存在を想定した。昨年の本会で新規の蛋白 PIG-Y の同定と、この遺伝子が Daudi 細胞の異常の責任遺伝子であることを発表した。今回、さらにその発現機序と yeast のホモログ Eri1 で示されている Ras との関係<sup>2)</sup> について解析したので報告する。

### [結果]

ヒトの B 細胞株である JY25 に FLAG と GST の2つのタグをつけた PIG-A を発現させて、PIG-A 複合体に含まれる蛋白をアフィニティー精製し SDS-PAGE で展開して新規のバンドから N 末端アミノ酸配列を得た。その配列のデータベース検索により、アミノ酸71個からなる新規の蛋白 PIG-Y を同定した。PIG-Y が Daudi 細胞の GPI アンカー型蛋白の発現を回復したことから、Daudi 細胞の GPI アンカー型蛋白の欠損の責任遺伝子であることが明らかになった。PIG-Y の欠損した Daudi 細胞でも、残りの6つのコンポーネントを含む PIG-A 複合体は同様に形成されているがその活性はない。またタグを用いた共沈実験により PIG-Y は PIG-A と直接結合していることがわかった。これらのことよりこの酵素複合体の活性が PIG-Y の発現量による制御を受けうる可能性が示唆された。一方 PIG-Y の mRNA は PIG-Y の上流にもう一つの蛋白 (PreY と名付けた) をコードしており、PIG-Y はリボソームの leaky scanning により PreY のスタートコドンが無視された結果、翻訳されることがわかった。PreY は、HeLa 細胞にも通常に発現している蛋白であるが、バクテリアから哺乳類に至るまで広く保存されているが機能のわかって

いないdomainを有している。

出芽酵母のPIG-Yホモログと考えられるEri1pは、酵素複合体を介して活性型Ras2と結合しており、この結合が酵素複合体の活性とRas2の下流のシグナルを相互に制御していることが最近報告された2)。同様の実験をヒトの細胞であるDaudi細胞やJY細胞を用いて行ったが、同様の結果は得られなかった。上記の現象は細胞壁の構築にGPIアンカー型蛋白が必須である酵母に特有のものであると考えられた。

[考察]

PIG-Yは、GlcNAc 転移酵素の触媒サブユニットであるPIG-Aのcomplexに含まれ、その活性に必要な蛋白である。しかしながらPIG-Yの非存在下においてもPIG-Aは他のコンポーネントとコンプレックスを形成することができる。即ちPIG-Yはその結合により酵素活性を制御している可能性がある。またPIG-YのmRNAはPIG-Yの上流にもう一つの蛋白をコードするという哺乳類の細胞では、珍しい構造をとっている。PIG-Yの抗体を作ることにより様々な刺激によって発現量が制御されているか追求したいと考えている。

[文献]

- 1) Watanabe, R. et al., EMBO J. 19: 4402 (2000)
- 2) Sobering, A. K. et al., Cell 117: 637 (2004)

## GPI アンカー欠損細胞に染色体異常を伴う 発作性夜間血色素尿症 (PNH) 新規症例の解析

井上徳光<sup>1</sup>、泉井朋久<sup>2</sup>、遠藤雄一<sup>3</sup>、村上良子<sup>2</sup>、西村純一<sup>4</sup>、Charles J. Parker<sup>5</sup>、木下タロウ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪府立成人病センター研究所分子遺伝、<sup>2</sup>大阪大学微生物病研究所・免疫不全

<sup>3</sup>福島県立医科大学・免疫学

<sup>4</sup>Division of Hematology, Duke University Medical Center, U. S. A.

<sup>5</sup>Hematology/Oncology section, VA Medical Center, U. S. A.

Analyses of a new patient with PNH, who has GPI-deficient cells carrying a chromosomal abnormality

N. Inoue<sup>1</sup>, T. Izui<sup>2</sup>, Y. Endo<sup>3</sup>, Y. Murakami<sup>2</sup>, J. Nishimura<sup>4</sup>, C. J. Parker<sup>5</sup> and T. Kinoshita<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Genetics Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Disease

<sup>2</sup>Department of Immunoregulation, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

<sup>3</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University

<sup>4</sup>Division of Hematology, Duke University Medical Center, U. S. A.

<sup>5</sup>Hematology/Oncology section, VA Medical Center, U. S. A.

[はじめに]

発作性夜間血色素尿症 (PNH) は、GPI アンカー生合成に関わる PIG-A 遺伝子が後天的に異常となった造血幹細胞がクローナルに拡大する疾患である。PNH では、すべての系統の末梢血細胞に、GPI アンカー欠損異常細胞が出現する。PNH の主症状である溶血発作は、GPI アンカー型補体制御因子である DAF や CD59 が、赤血球において欠損するために、感染などで活性化された自己補体の攻撃を異常赤血球は防御できないことによって起こる。GPI アンカー欠損により DAF や CD59 の欠損が引き起こされ、それが溶血発作の原因となることは、PIG-A 遺伝子の異常のみによって説明できる。しかし、PIG-A 遺伝子に異常のある 1 造血幹細胞が、末梢血のほとんどを占めるほどに拡大するメカニズムには、さらなる異常が必要であることが示唆されている。我々は、昨年度までの本シンポジウムにおいて、GPI アンカー欠損細胞のみに 12 番染色体に異常がある症例を報告してきた。その症

例では、一方の 12 番染色体の q13-q15 領域が欠失し、それが他方の 12 番染色体の q15 領域に挿入されていた。そして、その挿入部位の q15 領域には、ヒトの脂肪腫や子宮筋腫などの良性腫瘍において高頻度に異常が起こることが知られている HMGA2 遺伝子 (1, 2) が存在していた。それ故、PNH におけるクローナルな拡大に、HMGA2 の異常が関与するのではないかと考え、解析を進めている。

今回、我々は、同じように 12 番染色体に異常を持つ PNH 症例を経験し、切断部位を決定したので報告する。

[方法]

### 1. 患者の異常染色体を持つ細胞株の樹立

患者単球を分離し、HPRT 欠損マウスミエローマ細胞株と融合し、HAT 選択し、患者 12 番染色体をもつ細胞株を樹立した。

### 2. FISH 解析

予想される切断部位の Bacterial artificial chromosome (BAC) をプローブとして使って、

FISH解析を行い、q13領域およびp12領域の切断点を含むBACを同定した。

### 3. 切断点の決定

染色体切断点の決定は、FISH解析の結果から予想される領域にサザンブロッティングプローブを設計し、切断点を絞り込み、Inverse PCRにより、すべての切断点を同定した。

### 4. HMGA2転写産物の解析

患者骨髓細胞からRNAを採取し、HMGA2遺伝子のどのような転写産物が発現しているかを3'RACEを行い解析した。また、リアルタイムPCRにより、HMGA2転写産物の発現量を解析した。

#### [結果]

#### 1. 染色体異常の解析

本患者は、末梢血多形核白血球の88%にGPIアンカー型蛋白の欠損を認め、骨髓細胞の染色体解析では、分裂期核20個のうちすべてに染色体異常46XX, ins(12)(p13q13q12)を認めた。骨髓細胞を用いたFISH解析を行い、q13領域の切断点は、HMGA2を含むRP11-366L20の中に、p12領域の切断点は、ETV6 (TEL) を含むRP11-434C1と96B19の間にあることを明らかにした。さらに、樹立したハイブリドーマを利用し、サザンブロッティング、Inverse PCRにより、q12の切断点は、BAC, RP11-474P2の中にあり、q12からq13の欠失は19Mbpであった。また、366L20内の切断点は、HMGA2遺伝子のexon 5の3' UTRに存在した。欠失した断片は、2つに分割され、q12側19Mbpの断片とq13側300kbpが逆位で結合し、p12のETV6遺伝子のintron 1に挿入されていた。

#### 2. HMGA2転写産物の解析

以前報告した症例と同じように、HMGA2遺伝子に染色体異常の切断点があったので、どのような転写産物が発現しているかを3'RACEにより解析した。その結果、やはり、exon 5を含ま

ないIntron 3や4に存在するcryptic exonを含む転写産物の発現が認められた。さらに、転写産物の量を解析したところ、正常に比し、優位に高い発現量を示した。

#### [考察]

今回、GPIアンカー欠損血液細胞にHMGA2遺伝子に異常がある染色体異常を持ち、exon 5を持たないHMGA2の異常転写産物を発現する2例目の症例の異常を明らかにした。PNHは、再生不良性貧血と高頻度に合併することから、今まで、GPIアンカー欠損細胞の免疫的な選択による拡大であると考えられてきた。しかし、正常者にもGPIアンカー欠損細胞が存在することや、PNH患者では、複数種類のGPIアンカー欠損細胞が存在することが知られているが、1つのクローンが拡大していても、他のクローンは、必ずしも拡大しているとは限らないことから、PIG-Aの異常、免疫的な選択に加え、最近、さらなる何らかの異常の関与が示唆されてきた3)。今回の結果は、脂肪種や子宮筋腫等の良性腫瘍の原因遺伝子であるHMGA2が、2例のPNHクローンにおいて異所性に発現し、良性腫瘍性を与えている事を強く示唆するものである。今後、一般のPNH症例における異常を解析していきたい。

#### [文献]

- 1) Schoenmakers EF. et al., Nat Genet., 10: 436 (1995)
- 2) Ashar H. R. et al., Cell, 82: 57 (1995)
- 3) Inoue N. et al., Int J Hematol. 77: 107 (2003)



## ラット CD46 の解析

### —抗ラット CD46 の、新たな spermatid 成熟過程のマーカーとしての有用性—

水野正司<sup>1,2</sup>、Claire L. Harris<sup>1</sup>、鈴木則彦<sup>2</sup>、松尾清一<sup>2</sup>、Peter M. Johnson<sup>3</sup>、B. Paul Morgan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学講座、<sup>2</sup>名古屋大学大学院病態内科学講座免疫応答内科学、  
<sup>3</sup>リバプール大学免疫学講座

#### Analysis of rat CD46

#### — Anti-rat CD46, MM1, may have possibility as a marker of spermiogenesis under IF analysis —

Masashi Mizuno<sup>1,2</sup>, Claire L. Harris<sup>1</sup>, Norihiko Suzuki<sup>2</sup>, Seiichi Matsuo<sup>2</sup>, Peter M. Johnson<sup>3</sup>,  
B. Paul Morgan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dep. of Medical Biochemistry & Immunology, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, UK;

<sup>2</sup>Dev. of Clinical Immunology, Dept. of Internal Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine,  
Nagoya, Japan; <sup>3</sup>Dept of Immunology, Liverpool University, Liverpool, UK.

#### はじめに

ヒト膜補体制御因子 (CReg) は、C3 レベルで働く CD46 と CD55、MAC レベルで働く CD59 が存在する。近年、CRegs の多面での役割が注目されて折り、CD46 においても、受精に関わる可能性が示されてきている。ラット・マウスの C3 レベル CReg は当初 Crry のみが注目されていたが、CD55・CD46 の存在も現在では明らかになっている。我々は、ラット CD46 に特異的な単クローン抗体を作成することにより、蛋白レベルでの存在を明らかにし、その分布を調べた。また、その特異的分布により、得られた抗体が spermiogenesis のマーカーとしての利用についての検討を加えた。

#### 方法

ラット CD46-Fc fusion protein を作成してこれを抗原として、特異的単クローン抗体を試みた。MM1 を用いてラット全身臓器、および幼児ラット精巣の CD46 の分布を調べた。また、MM1 による affinity column により、native rat CD46 を

得て、ラット CD46 も cofactor としての機能を確認した。精細管上皮の凍結連続切片と 2 重染色を組み合わせ、CD46 の分布を他のマーカー、そして HE 染色によるステージ評価・比較検討した。免疫電顕 (IEM) により発現初期、精子における CD46 の局在を調べた。

#### 結果

得られた抗 CD46、MM1 は、ラット CD46 に特異的に反応をした。詳細に全身臓器での分布を検討したが、精巣および精子に分布は限局していた。また、未成熟な精巣での発現は認められなかった。native rat CD46 は、ヒト同様に cofactor としての効果を示した。さらに精巣上皮での分布を詳細に検討したところ、CD46 は中期 spermatid より発現が認められ始め、spermatid の成熟につれ、その分布は acrosome position に集まっていく像が観察された。精子では、未固定の精子が acrosome reaction により、CD46 が染色されたことから、ヒト・マウス同様、ラット CD46 も acrosome に存在すると考え

られた。IEM所見はこれらを支持するものであった。この特徴的分布から、他のマーカー・HE染色像と比較することにより、パターン化することが可能であった。

#### 考案

Rat CD46のこの限局した分布は、CD46が spermatogenesis または fertilization に何らかの役割を果たしていることを示唆し、今後のラットでの解析もヒトでのCD46の役割をより明確化することに役立つのかもしれないと思われる。Spermatogenesisの形態学は複雑であり、良いマーカーの数も多くなく、とりわけラットのマーカーは少ない。MM1は、こういった面での利用価値もあるのではないかと思われた。

#### 参考文献

- 1) Mizuno M. et al., Biol Reprod 72:908 (2005)
- 2) Mizuno M. et al., Biol Reprod 71:1374 (2004)

## TTP/HUS患者におけるADAMTS13解析

松本雅則<sup>1</sup>、藤村吉博<sup>1</sup>、小亀浩市<sup>2</sup>、宮田敏行<sup>2</sup>

<sup>1</sup>奈良県立医科大学 輸血部

<sup>2</sup>国立循環器病センター研究所

Analysis of plasma ADAMTS13 activity in patients with TTP/HUS

Masanori Matsumoto<sup>1</sup>, Yoshihiro Fujimura<sup>1</sup>, Koichi Kokame<sup>2</sup>, Toshiyuki Miyata<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University, Kashihara, Japan

<sup>2</sup>National Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Japan

### [はじめに]

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)と溶血性尿毒症症候群(HUS)は、臨床像が酷似しており、精神神経症状が優位なものはTTP、腎症状が優位なものはHUSと分類されてきた。しかし、両者は鑑別不可能な症例がしばしばあり、包括的診断名としてTTP/HUSあるいは血栓性微小血管障害症(TMA)という診断名が用いられてきた。この背景にはTTPとHUSを鑑別する決定的な検査指標が無かったことがあげられる。1996年以降、止血因子である von Willebrand 因子を切断する酵素(別名ADAMTS13)の存在が明らかにされ、同酵素活性測定法が確立されてから、TTPとHUSの病態解析は急速に進歩した<sup>1</sup>。

### [方法]

奈良医大輸血部では、過去7年間にわたり、全国の医療機関から同部のホームページ(<http://www.naramed-u.ac.jp/~trans/>)を介してADAMTS13活性依頼を受け付けてきた。平成17年3月末の集計で、TTP/HUS症例は564例となり、同症例においてADAMTS13活性および同インヒビターの解析を行った。なお、TTPとHUSの診断は依頼病院の主治医の診断に従った。

### [結果]

先天性と考えられる症例は計41例で、うち22家系27症例は同活性著減のUpshaw-Schulman症候群(USS)で、残り16例は原因不詳であった。USS 12家系13症例についてはADAMTS13遺伝子解析を終了し、その異常部位を同定した。後天性は521例で、うちTTPは434例(特発性182例、膠原病131例、悪性腫瘍41例、造血幹細胞移植33例、妊娠12例、薬物14例、その他21例)、またHUSは87例(特発性62例、O157感染19例、マイトマイシン6例)であった。TTPの中で、特発性の107例(59%)ではADAMTS13インヒビターが陽性で、同活性著減が確認された。膠原病では23例(18%)が同活性著減、また造血幹細胞移植では同活性著減例はなかった。一方、HUSではADAMTS13活性著減例は認められなかった。

### 【考察】

TTP/HUS 564例のうち、ADAMTS13活性著減例は181例で全体の1/3にすぎず、残りの2/3については原因が不明である。その候補として、HUSとの関連が海外で報告されているFactor H 2とmembrane cofactor protein (MCP; CD46)3がある。本邦では、TTP/HUS患者において、こ

これらの補体調節因子についての報告は極めて少ない。

本研究のADAMTS13活性測定方法は、VWFマルチマー解析を用いた方法で、熟練と結果を得るまでに長時間を要するため広く普及しなかった。最近、我々はFRETs-VWF73やモノクローナル抗体を用いたELISA法を開発し、短時間で簡便にADAMTS13活性を測定できるようになった。今後、TTP/HUS患者において迅速にADAMTS13活性の測定を行うとともに、Factor H、MCPの検討を行い、包括的な診断を行う予定である。

[文献]

1. 藤村吉博. 日本内科学会雑誌 93: 451(2004)
2. Landau D. et al., J Pediatr 138: 412(2001)
3. Noris M., et al. Lancet 362:1542(2003)

過去7年間に奈良医大輸血部で集積した本邦TTP/HUS患者 564 例：  
ADAMTS13とそのインヒビター活性 (平成17年3月末)

	先天性 TTP/HUS (n=43)		後天性 TTP (n=434)							後天性 HUS (n=87)		
	Upshaw-Schulman 症候群 (n=27)		特発性 (n=182)	膠原病 (n=131)	悪性腫瘍 (n=41)	造血幹細胞移植 (n=33)	妊娠 (n=12)	薬物 (n=14)	その他 (n=21)	特発性 (n=62)	0157 (n=19)	Mitomycin (n=6)
<b>ADAMTS13 活性(%)</b>	-----											
< 3	27	0	107	23	4	0	5	13	2	0	0	0
3-<25	0	5	69	51	13	16	4	1	10	10	2	2
25-<50	0	7	6	31	16	10	2	0	3	30	9	2
≥50	0	4	0	26	8	7	1	0	6	22	8	2
<b>インヒビター (Bethesda U/ml)</b>	-----											
	(n=27*)	(n=15*)	(n=163*)	(n=72*)	(n=19*)	(n=10*)	(n=7)	(n=14*)	(n=7*)	(n=36*)	(n=10*)	(n=4*)
< 0.5	27	15	20	35	11	8	2	0	2	36	10	4
0.5-<2	0	0	80	31	5	2	3	9	5	0	0	0
≥2	0	0	63	6	3	0	2	5	0	0	0	0

\* TTP/HUS患者564名中、インヒビター活性の測定が終了しているのは384名である。  
\* ADAMTS13活性著減例は全体の約1/3 : 181/564 (32%)

## Lamprey Toll 様受容体 (TLR) TLRb の構造と機能 Structure and function of lamprey TLRb

石井秋宏<sup>1</sup>、信田京子<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、瀬谷 司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大・医・感染制御

目的：Toll-like receptor (TLR)は細胞外の leucine-rich repeats と細胞内の Toll-IL-1 homology domain (TIR)から成るI型膜蛋白質である。フグゲノムプロジェクトなどからサカナとヒトが類似のTLR系をもつことが判明した。申請者らは脊椎動物円口類ヤツメウナギ (lamprey) にヒト TLR2 ファミリー (TLR1, 2, 6, 10 ファミリー?) に属する TLR レパトワ, TLRa/TLRb が存在することを報告してきた。同時に、1) lamprey は GPI-anchored leucine-rich proteins (VLR) を体細胞染色体組み換えにより細胞特異的な variation で発現する、2) lamprey の TLRb はヒト細胞での強制発現系において NF-kB を活性化するが細胞表面の発現が低い、3) ヒト型 TLR 系を lamprey が持つかどうか不明である、等の点でヒト/サカナと lamprey の TLR システムについて基本的な相違点も見いだされてきている (1, 2)。本研究では項目 2) の lamprey TLRb に対する抗体を作成し、局在検討と機能解析を試みたので報告する。

材料と方法：Lamprey の各臓器から mRNA を抽出し、TLRa, TLRb を cDNA cloning した。Human CD4-TLRa または CD4-TLRb キメラ分子は CD4 の細胞外ドメインおよび各 TLR の細胞内 TIR ドメインを繋いで作成した。抗 CD4 抗体は市販のものから dimerize 活性を持つものを選択して購入した。TLRa, TLRb 発現細胞は HEK293 で作成した。抗体作成は既報に拠った。Lacrep 抗体を macrophage 系細胞のマーカーとして用いて免疫組織染色を行った。Luciferase reporter assay も IFN-beta, NF-kB について活性

を見た。

結果：HEK293 発現系で CD4-TLRb キメラは CD4 の cross-link で NF-kB を活性化したが、CD4-TLRa キメラは NF-kB を活性化しなかった。TLRb の whole molecule を強制発現した HEK293 細胞に意外なことに TLRb の細胞表面での発現は検知できなかった。Western blot では大量の TLRb が検知できた。細胞内器官発現の可能性を含めてリガンドスクリーニングを施行中である。

一方、組織染色では TLRb はえらなどに多く分布する特定の形態を持つ細胞に発現することが示唆された。また、上皮にも TLRb を発現する細胞があり、生体防御の一次応答細胞が TLRb を発現していることが予想された。TLRa は強制発現でも発現量が低く、解析できなかった。

VLR を RT-PCR で同定して TLRb と個別に配列を比較したが、VLR が多様であったのに対し、TLRb はいずれの個体からも同一の配列を持つ cDNA が得られた。従って、lamprey は leucine-rich repeat を持つ TLR と VLR を別個に持って生体防御応答を誘起していることが推測された。Lamprey は RCA cluster を欠くが、SCR 構造の補体制御因子 (Lacrep) は保持する (3)。マクロファージ系 TLR と Lacrep の共局在を検討中である。

考察：表在化の機構と細胞応答を含めて TLRb の認識成分を同定中である。Lamprey が VLR を gene conversion で多様化し、T cell receptor や抗体のように使って個体識別するこ

とが報じられた。これは弱いが lamprey に個体間識別能がある、という移植実験の結果と符合する。しかし、VLRの機能はGPI-anchor であることもあり、シグナル機能などはそれのみで説明できないとする反論もあった。本研究は lamprey は TLR を VLR と独立して保持すること、TLRa, TLRb とともに TLR2 に高い homology を有することから、TLR系はサカナと lamprey の共通祖先ですでに（少なくとも1部は）確立していたことを強く示唆する。ホヤに TLR が 3 個、線虫に TLR が 1 個しかなく、必ずしも生体防御応答のみに従事してはいないことを考えると、lamprey やサカナに至って獲得免疫、RCA cluster (CR1/CR2 など抗原提示細胞の機能サポート因子を含めて) とともに TLR系も分化してきたと仮説できるかも知れない。

#### 文献

1. Oshiumi, H., T. Tsujita, K. Shida, M. Matsumoto, K. Ikeo, and T. Seya. 2003. Prediction of the prototype of the human Toll-like receptor gene family from the Pufferfish *Fugu. rubripes* genome. *Immunogenetics* 54: 791-800.
2. Tsujita, T., H. Tsukada, M. Nakao, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2004. Sensing Bacterial Flagellin by Membrane and Soluble Orthologs of Toll-like Receptor 5 in Rainbow Trout (*Onchorhynchus mikiss*). *J. Biol. Chem.* 279: 487588-48597.
3. Kimura, Y., N. Inoue, A. Fukui, H. Oshiumi, M. Matsumoto, M. Nonaka, S. Kuratani, T. Fujita, M. Nonaka, and T. Seya. 2004. A short consensus repeat-containing complement regulatory protein of Lamprey that participates in cleavage of lamprey Complement 3. *J. Immunol.* 173: 1118-28.

## フグ Toll 様受容体 (TLR) TLR21, TLR22 の機能 Functional properties of fugu TLR21 and TLR22

松尾 綾<sup>1</sup>、辻田忠志<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、瀬谷 司<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北大・医・感染制御

目的：サカナにヒトと相同の TLR レパトワが存在することがフグゲノムプロジェクトのドラフトから推定された。同時にヒトとサカナの TLR システムについて基本的な相違点も確認された。要約すると、1. フグは TLR4 を欠く、2. フグには可溶型 TLR5 (TLR5S) が存在する、3. フグにはヒトにない TLR21, TLR22 の新規 TLR が存在する、であった (1, 2)。本研究では項目3のサカナ特有の TLR に対するリガンドの同定を試みたので報告する。

材料と方法：トラフグの各臓器から mRNA を抽出し、TLR21, TLR22 を cDNA cloning した。Human CD4-TLR21 または CD4-TLR22 キメラ分子は細胞内の TLR と細胞外の CD4 を繋いで作成した。抗 CD4 抗体は市販のものから dimerize 活性を持つものを選択して購入した。TLR21, TLR22 発現細胞は HEK293 で作成した。各種 TLR agonists は既報 (2) に従って調整した。Luciferase reporter assay も IFN-beta, NF-kB について活性を見た。

結果：HEK293 発現系で CD4-TLR22 キメラは CD4 の cross-link で IFN-beta promoter を活性化したが、NF-kB は活性化しなかった。CD4-TLR21 は逆に NF-kappaB のみを活性化した。故にこれらをマーカーに TLR21, TLR22 の whole molecules を HEK293 cell に発現し、リガンドスクリーニングを行った。いくつかの細菌候補のうち TLR21 は大腸菌成分に、TLR22 は polyI:C に応答してそれぞれ NF-kappaB、IFN-beta promoter の reporter 活性を特異的に上げる事が判明した。

TLR21 の認識成分をさらに精製パターン分子で同定したところ、LPS に弱く応答して NF-kB を誘導することが判明した。LPS はヒトでは TLR4 の agonist である。フグには TLR4 がないが、TLR21 は TLR4 の機能を弱い NF-kB 活性化能によって一部代償するかもしれない。LBP, CD14, MD-2 などとの相互反応も含めて各種 LPS 誘導体を用い、この点を確認中である。一方、TLR22 はヒト TLR3 と類似のリガンド認識 profile をもつことが判明した。両者ともに PolyI:C に応答する。ヒト TLR3 は樹状細胞と上皮細胞に発現し、細胞内、細胞外と異なった局在で TICAM-1 (TRIF) 経路を活性化する。フグ TLR3 を cDNA cloning して TLR22 と認識の相違があるか、TLR22 の局在が TLR3 と異なるかを抗体作成して明らかにする予定である。

考察：サカナは LPS に抵抗性だが細菌鞭毛蛋白 flagellin に高感受性である。これはサカナが可溶型 TLR5 を acute-phase protein として産生し、flagellin 増幅応答に使う経路を持つこと (3)、TLR4 を欠くが代わりに IFN 誘導能を持たない TLR21 で LPS 応答を行うこと、と符合する。この事象はヒトとサカナの自然免疫 TLR 系が環境に応じて適応進化を遂げたことを物語る。サカナにおいて PolyI:C 認識がなぜ TLR3、TLR22 の 2 種の非構造類似体 TLR によって分担されるかは興味ある問題である。報告者らは、本来異なる機能の TLRs によって分担された機能がヒトで 1 つの TLR3 に集約されたと考えている。

文献

1. Oshiumi, H., T. Tsujita, K. Shida, M. Matsumoto, K. Ikeo, and T. Seya. 2003. Prediction of the prototype of the human Toll-like receptor gene family from the Pufferfish *Fugu. rubripes* genome. *Immunogenetics* 54: 791-800.
2. Tsujita, T., H. Tsukada, M. Nakao, H. Oshiumi, M. Matsumoto, and T. Seya. 2004. Sensing Bacterial Flagellin by Membrane and Soluble Orthologs of Toll-like Receptor 5 in Rainbow Trout (*Onchorhynchus mikiss*). *J. Biol. Chem.* 279: 487588-48597.
3. Tsukada, H., A. Fukui, T. Tsujita, M. Matsumoto, T. Iida, and T. Seya. 2005. Fish soluble Toll-like receptor 5 (TLR5S) is an acute-phase protein with integral flagellin-recognition activity. *Int. J. Mol. Med.* 15: 519-525.



## HLA抗体による補体活性化について

渡邊常太<sup>1,2</sup>、串畑史樹<sup>1</sup>、小林展章<sup>1</sup>、Juan Scornik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学医学部第1外科

<sup>2</sup>フロリダ大学医学部病理学

Assessing complement binding by HLA antibodies in organ transplant candidates

Jota Watanabe<sup>1,2</sup>, Fumiki Kushihata<sup>1</sup>, Nobuaki Kobayashi<sup>1</sup>, Juan Scornik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>First Department of Surgery, Ehime University School of Medicine, Ehime, Japan

<sup>2</sup>Department of Pathology, University of Florida College of Medicine, Gainesville, Florida, USA

### [はじめに]

超急性拒絶反応は移植片に対して反応する既存抗体があるときに起こると考えられており、補体と結合した抗体が内皮細胞を傷害し、これによって溶血や溶菌が起こる。近年、移植医療においてHLA抗体による免疫感作患者を選別する多数のプロトコールが開発され、移植成績は向上している。しかし以前に比べ高感度にHLA抗体を検出することが可能となり、超急性拒絶反応を起こさない許容範囲内のHLA抗体感作患者に対する移植適応上の問題が生じている<sup>1)</sup>。また様々な補体成分の活性化と、HLA抗体の関連は明らかでない。

### [方法]

HLA抗体感作患者血清を用い、移植ドナー患者のリンパ球に対する反応をflow cytometry、及びcomplement-dependent cytotoxicity (CDC) testにて計測した。また補体活性化反応におけるflow cytometryとCDC testとの比較を行った。さらに結合IgG量、IgGサブクラスと補体成分(C3b, C4d, C5b, C1q, C3d, iC3b, C5b-9)の比較検討も施行した。

### [結果]

ドナー患者のTリンパ球に対し、flow cytometryによる結合IgG量とCDC test間に有意な相関関係はみられなかった。またC3b活性は

結合IgG量、IgGサブクラスにて決定されるのではなく、レシピエント血清/ドナーTリンパ球の組み合わせにて決定された。すべての患者において優位なIgGサブクラスはIgG1であった。HLA抗体感作患者血清に対しC3bはほぼすべての患者で陽性であり、最も感度の高い補体成分と考えられた。またC4d、C5bも有用なパラメータであった。

### [考察]

通常の仮説に反し、CDC test、結合IgG量、IgGサブクラスは補体活性化の予測因子としては感度が低いことが示された。HLA抗体の補体活性化を示す最も適したパラメータはC3bであることが示唆された。ヒト補体成分を測定することは、ドナー・レシピエント適合性の評価を向上させる可能性があると思われる<sup>2)</sup>。

### [文献]

- 1) Kushihata F. et al., Transplantation 78:995 (2004)
- 2) Watanabe J. et. al., American Journal of Transplantation (In press)

## 補体C3は転写因子KLF-5を介して腎メサンジウム細胞の形質を合成型に変換し増殖を刺激する

万 建新<sup>1</sup>、福田 昇<sup>1</sup>、上野高浩<sup>1</sup>、遠藤守人<sup>2</sup>、松本紘一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>日本大学医学部内科学講座腎臓内分泌内科、<sup>2</sup>八戸大学人間健康学部

Complement 3 induces the synthetic phenotype and stimulates growth of mesangial cells by activation of KLF-5

Wan Jianxin<sup>1</sup>, Noboru Fukuda<sup>1</sup>, Takahiro Ueno<sup>1</sup>, Morito Endo<sup>2</sup>, Koichi Matsumoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, Division of Nephrology and Endocrinology, Nihon University School of Medicine, Tokyo 173-8610, Japan,

<sup>2</sup>Faculty of Human Health Science, Hachinohe University, Hachinohe-shi 031-8588, Japan

### 【目的】

補体経路の活性化が腎炎における組織障害に関与すると考えられてきた。我々は合成型形質を示し、アンジオテンシンIIを産生し、過剰増殖を示す高血圧自然発症ラット由来血管平滑筋細胞は補体C3を発現、産生している事を見出した。そこで今回、ヒト腎メサンジウム細胞(HMCs)でのC3の形質発現、増殖への作用、さらに合成型形質を誘導する転写因子KLF-5の関与を検討した。

### 【方法】

HMCsを継代培養し、C3 mRNA及びC3蛋白をRT-PCR法及びウエスタンブロットで測定した。C3a受容体(C3a-R)の発現はRT-PCR法で評価した。HMCsの増殖DNA生合成はBrdUの取り込み、血清に対する細胞数の増加で評価した。HMCsの形質の評価は収縮型マーカーの $\alpha$ -SMA、合成型マーカーのosteopontin、matrix Gla、collagen type、で評価し、これらに対するC3a、TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ の作用を検討した。C3抑制目的でC3に対するsiRNAを作成し、形質発現マーカー、増殖に対する作用を検討した。

### 【結果】

HMCsはC3 mRNA、蛋白を発現し、TNF $\alpha$ およびIFN $\gamma$ で刺激された。外因性C3aはHMCsのDNA生合成を刺激した。C3a-RはHMCsで

発現し、外因性C3a、TNF $\alpha$ およびIFN $\gamma$ によりup regulateされた。C3a、TNF $\alpha$ およびIFN $\gamma$ は $\alpha$ -SMA mRNA発現を抑制し、osteopontin、matrix Gla、collagen type、mRNA発現を刺激した。C3 siRNAはC3 mRNAを著明に抑制し、TNF $\alpha$ およびIFN $\gamma$ によるHMCsの形質の変化を抑制した。C3 siRNAはHMCsのDNA生合成、血清による細胞数の増加を有意に抑制した。

### 【考察】

HMCsはC3および受容体C3a-Rを発現していた。C3は腎炎において補体活性化反応の一因子として組織傷害に関与すると考えられていたが、今回の成績からC3は独立したペプチドとしてHMCsに発現し、HMCsの形質を合成型に変換し、HMCsの増殖に関与していると考えられた。

### 【結論】

C3のメサンジウム増殖性腎炎、高血圧性腎硬化症の腎病態への新たな関与が見出された。

### 【文献】

1) Lin Z-H, Fukuda N, Jin X-Q, Yao E-H, Ueno T, Endo M, Saito S, Matsumoto K, Mugishima H. Complement 3 is involved in the synthetic phenotype and exaggerated growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. Hypertension 44: 1-6, (2004)

## IgA 腎症における血清および尿中補体成分の検討

恩田紀更<sup>1</sup>、大井洋之<sup>1</sup>、眞野訓<sup>1</sup>、玉野まり子<sup>1</sup>、大澤勲<sup>1</sup>、藤田禎三<sup>2</sup>、富野康日己<sup>1</sup><sup>1</sup>順天堂大学腎臓内科学、<sup>2</sup>福島県立医科大学免疫学

## Serum and urinary complement in IgA nephropathy

Kisara Onda<sup>1</sup>, Hiroyuki Ohi<sup>1</sup>, Satoshi Mano<sup>1</sup>, Mariko Tamano<sup>1</sup>, Isao Ohsawa<sup>1</sup>,Teizo Fujita<sup>2</sup> and Yasuhiko Tomino<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Juntendo University School of Medicine,<sup>2</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine

[はじめに]

IgA 腎症は、糸球体に補体成分 C3 や Mannose-binding-lectin (MBL)、Properdin (P) などの沈着が認められるが<sup>1</sup>、血清中の補体成分については低補体をきたさない腎炎として知られている。しかし、健常者との比較で差異を見い出せる可能性があると思われる。そこで糸球体に沈着する P を含めた血清補体成分を測定し、血清補体成分の全体像をみて比較検討することとした。また、ネフローゼ症候群をほとんどきたすことのない IgA 腎症では、補体の尿への排泄量は病態への関与を反映していると考えられ、P および P と相反する作用をもつ H・complement receptor type1(CR1)、および補体活性の指標となる Membrane Attack Complex(MAC)の尿中排泄量を測定した。

[方法]

IgA 腎症患者 50 名 (男性:女性 25 名:25 名 平均年齢 36.6 ± 12.8 才) と健常者 50 名 (男性:女性 30 名:20 名 平均年齢 30.2 ± 5.7 才) の血清補体成分 C1q・C4・C3・C5・CH50・MBL・factor B(B)・P・C1 inhibitor(C1INH)・factor I(I)・C4 binding protein(C4bp)・factor H(H)を測定した。また、IgA 腎症患者 75 名 (男性:女性 40 名:35 名 平均年齢 37.8 ± 12.8 才) と健常者 72 名 (男

性:女性 58 名:14 名 平均年齢 29.1 ± 5.9 才) の尿中補体成分 P・H・MAC・CR1 を測定し、比較検討した。測定方法は血清 C1q はネフェロメトリー、血清 C3 と C4 はラテックス凝集免疫法、血清 CH50 は Mayer 法、血清 C5・B・C1INH・I・C4bp・H は SRID 法、血清 MBL・P・尿中 P・H・CR1・MAC は ELISA 法を使用した。尿中補体の測定値は、尿中クレアチニン濃度を用いて換算した。IgA 腎症患者と健常者の補体成分量を比較検討し、さらに IgA 腎症患者の補体成分量と臨床データおよび組織障害度の比較検討を行った。IgA 腎症の組織障害度は、厚生省の IgA 腎症診療指針より 4 群 (予後良好群・予後比較的良好群・予後比較的不良群・予後不良群) に分けた。CR1 の標品は筑波大学応用生物化学王碧昭教授より供与された。

[結果]

IgA 腎症患者の血清 C4・CH50・B・P・I・H は、健常者と比較し有意に高値であった。血清 C3 と C5、H と C4bp、H と C1INH は健常者と比較して強い相関を認めた。IgA 腎症患者の血清 C4bp は、予後不良群で他群と比較し有意な増加を認めた。また、IgA 腎症患者の尿中 P・H・MAC は、健常者と比較し有意に高値で、尿中 CR1 は有意に低値であった。尿中 P と

H、PとMAC、HとMACは有意な相関が認められた。IgA腎症患者で、尿中P・H・MACと尿蛋白、および尿中Hと腎機能（BUN・血清クレアチニン）で優位な相関を認めた。IgA腎症患者の尿中Hは、腎組織障害が高度なほど増加を認め、予後不良群の尿中MACは、予後良好群と比較して有意な増加を認めた。

[考察・結論]

IgA腎症患者は、健常者と比較して血清補体成分が高値となり、さらに各補体成分間で強い

相関が認められたことから、血清補体からみて補体系が本症の病態に関与していると考えられた。また、尿中補体成分においても健常者と比較して排泄量の増減が認められたことから、腎の病態は尿中補体排泄量に反映していると考えられた。

[文献]

1 Endo M, Nephrol Dial Transplant. Aug;13(8);1984-1990 (1998)

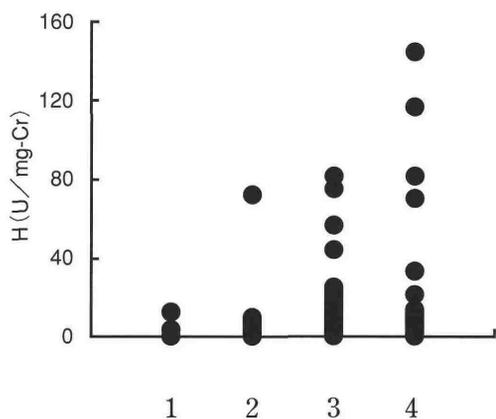
表1 IgA腎症患者と健常者の尿中補体成分

	P(ng/mg・Cr)	H(U/mg・Cr)	MAC (ng/mg・Cr)	CR1 (ng/mg・Cr)
IgA腎症患者	2.5 ± 5.6	17.8 ± 28.3	14.0 ± 28.4	0.9 ± 1.2
	]**		]**	]**
健常者	0.2 ± 0.5	2.7 ± 2.0	3.4 ± 6.1	2.4 ± 1.5

\* p < 0.05, \*\* p < 0.001

IgA腎症患者の尿中P・H・MACは健常者と比較して、有意に高値であり、CR1は有意に低値であった。

図1 IgA腎症患者の尿中Hと腎組織障害の比較



- 1 予後良好群
- 2 予後比較的良好群
- 3 予後比較的不良群
- 4 予後不良群

腎組織障害の程度が高度なほど、尿中Hは増加していた (p < 0.05)。

## 抗TNF- $\alpha$ 製剤 (infliximab および etanercept) の補体依存性および 抗体依存性細胞障害効果の検討

三苦弘喜<sup>1</sup>、堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本浩<sup>1</sup>、原田実根<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院病態修復内科学分野 (第一内科)

Cytotoxic activity of anti-TNF agents, infliximab and etanercept; complement-dependent cytotoxicity (CDC)  
and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC)

Hiroki Mitoma<sup>1</sup>, Takahiko Horiuchi<sup>1</sup>, Hiroshi Tsukamoto<sup>1</sup>, Mine Harada<sup>1</sup>

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

### [はじめに]

TNF- $\alpha$  (TNF)は、様々な炎症や免疫反応の場で重要な役割を担うサイトカインであり、関節リウマチをはじめとした慢性炎症性疾患の病態形成に深く関与している。そのため可溶性TNFの作用を抑制することを目的として、infliximab (抗TNFキメラ抗体) と etanercept (TNF2型受容体とIgGの融合蛋白)の二つの抗TNF製剤が開発され、関節リウマチをはじめとした様々な慢性炎症性疾患に画期的な効果をあげている。しかしながら、両者はCrohn病においては臨床効果に大きな違いがあること、副作用である結核の発症率に差があること、などが明らかとなり、作用機序のさらなる解明が望まれている。当研究室ではこれまで、可溶性TNFの前駆体である膜型TNFの生物学的作用に着目し、そのリガンドとしての機能に加え、膜型TNFを発現した細胞自身へ抗体単独で内向きのシグナル(reverse signal)を伝達することを明らかにしてきた(T細胞におけるIL-2産生の亢進1, E-selectinの発現2, アポトーシス、細胞周期の停止3など)。今回、抗TNF製剤が膜型TNFを介してどのような細胞効果を発揮するかを、CDC, ADCCに焦点を絞って2製剤を比較しながら検討した。

### [方法]

1) ヒトT細胞株であるJurkat細胞に膜型TNF遺伝子を導入した。2) 膜型TNF導入細胞を用いて、抗TNF製剤の膜型TNFへの結合能を検討した。3) 補体またはNK細胞存在下に、抗TNF製剤を膜型TNF導入細胞に作用させ(37℃、6時間)、細胞死の誘導を検討した。

### [結果]

両製剤とも膜型TNFに対する結合能を有していた。infliximabは補体およびNK細胞存在下に膜型TNF発現細胞の細胞死を誘導した。一方、etanerceptは補体存在下で細胞死は誘導しなかった。

### [考察]

上記の結果からIfxがTNF発現細胞への直接的障害活性を有し、より強い抗炎症効果を発揮することが証明された。このことは、両製剤のCrohn病における臨床効果の相違や、結核発症率の差を生み出す機序の一つと考えられる。

### [文献]

- 1) Higuchi M. et al., Clin Immunol Immunopathol 82: 133(1997)
- 2) Harashima S. et al., J Immunol 166: 130(2001)
- 3) Mitoma H. et al., Gastroenterology 128(2): 376(2005)
- 4) Mitoma H. et al., Gastroenterology 126(3): 934(2004)



## コイ補体成分アイソタイプの産生部位

大蔵千恵<sup>1</sup>、加藤陽子<sup>1</sup>、柚本智軌<sup>1</sup>、中尾実樹<sup>1</sup><sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院水族生化学研究室Expression sites of isotypes of the complement component in carp (*Cyprinus carpio*)Chie Okura<sup>1</sup>, Yoko Kato<sup>1</sup>, Tomonori Somamoto<sup>1</sup>, Miki Nakao<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Marine Biochemistry, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

[はじめに]

硬骨魚類の補体系は、哺乳類のものに匹敵するほど高度に発達している一方で、その成分の多くの遺伝子が多重化しているという特徴を持つ<sup>1)</sup>。しかし、補体成分遺伝子の多重化が硬骨魚類の生体防御に果たす役割は未だ不明である。そこで本研究では、多重化した補体成分の機能分化に関する解析として、コイ補体成分(C3-H1, C3-H2, C3-Q1, C3-Q2, C3-S, C5-1, C5-2, C4-1, C4-2, B/C2-A1, B/C2-A2, B/C2-A3, B/C2-B, If-A, If-B, C1r/s-A, C1r/s-B, MASP-2, MASP-3)について、発現臓器の違いを検討した。

[方法]

雌雄各3尾のコイ成魚の臓器(肝臓、頭腎、体腎、脾臓、生殖腺、腸、鰓、心臓、皮膚)からISOGENを用いてRNAを抽出した後、RT-PCRによって各アイソタイプのcDNA断片を増幅した。得られたcDNA増幅断片をアガロースゲル電気泳動にかけ、エチジウムブロマイド染色されたDNAを定量した。40SリボソームS11サブユニットの発現量を基に標準化した値を用い、アイソタイプ間で発現臓器を比較した。

ニジマスのC6、C7、C8 $\beta$ のアミノ酸配列でコイESTデータベースを検索し、得られたESTの塩基配列を基にプライマーを作成した。

[結果]

(1) C3全アイソタイプの発現はほぼ肝臓に限

定されていたが、C3-H2, C3-Q1を全く発現しない個体が見られた。(2) C5の両アイソタイプの発現はほぼ肝臓に限定されていた。(3) C4両アイソタイプは主に肝臓で多く発現しており、C3やC5よりも幅広い組織分布を示した。(4) B/C2-A1, B/C2-A2の発現はほぼ肝臓に限定されていたのに対し、B/C2-A3, B/C2-Bはより幅広い組織分布を示した。(5) Ifの両アイソタイプは肝臓を中心に幅広い組織分布を示したが、If-Aのみ卵巣での有意な発現が認められた。(6) C1r/s-A, C1r/s-BおよびMASP-2は主に肝臓で多く発現しているのに対し、MASP-3は肝臓、腸、心臓で同レベルの発現が見られた。

[考察]

今回の結果から、コイ補体成分にはアイソタイプ間で発現臓器が異なるものがあることが分かった。最近、トラフグ皮膚でC6とC7が発現していることが報告され、魚類における補体後半成分の局所的発現の役割にも興味を持たれる<sup>2)</sup>。現在、コイのC6, C7, C8 $\beta$ , C9のcDNAをクローニングし、これらの発現部位を解析中である。

[文献]

- 1) Nakao et al., *Dev. Comp. Immunol.* 27: 749 (2003)
- 2) 菅又ら, 日本水産学会春期大会要旨集, 359 (2005)

# ヤツメウナギ肝臓EST解析による補体系遺伝子の網羅的探索

木村 鮎子<sup>1</sup>・野中 勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻

Comprehensive identification of lamprey complement genes by liver EST analysis

Ayuko Kimura<sup>1</sup> and Masaru Nonaka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, the University of Tokyo

## 〈目的〉

近年の研究により、補体系の起源が旧口・新口動物の分岐以前にさかのぼることはほぼ明確となったが、今のところ新口動物以外の動物からはC3・Factor B以外の補体系遺伝子は単離されておらず、その補体系の構成については不明な点が多い。それに対して、新口動物である哺乳類・硬骨魚類・尾索動物ホヤでは多くの補体系成分の存在が確認されており、哺乳類補体系遺伝子の原型は尾索動物、脊椎動物の分岐以前に出来上がっていたこと、しかしながら脊椎動物の系列で生じた遺伝子重複が補体系の発展に重要な役割を果たしたと考えられることが判明している。

ヤツメウナギの所属する円口類は、現存するものとしては最も古く分岐したとされる脊椎動物であり、他の脊椎動物と異なり獲得免疫系を持たないと考えられているため、その補体系の構成には興味を持たれる。ヤツメウナギからはこれまでに、C3・Factor B・C1q-like・MBL・MASP・C4bp-like・Factor H等の補体系遺伝子の存在が知られているが、細胞溶解経路に関わる膜障害分子など、存在が予想されながら未だ単離されていない補体系遺伝子も多い。ここでは、ヤツメウナギの肝臓EST解析を行うことにより、補体系遺伝子の網羅的単離を試みた。

## 〈方法〉

1. ヤツメウナギ肝臓cDNAライブラリ (non-normalized)

ヤツメウナギ (*Lethenteron japonicum*) の肝臓から、塩化セシウム密度勾配遠心法によりRNAを抽出し、さらにOligo (dT) カラムにかけてmRNAを精製した。これをもとに、STRATAGENEのcDNA Library Construction Kitを用いて両端に異なる制限酵素認識配列を付加したcDNAを合成し、方向性をつけてpBluescript II XRベクターに挿入して大腸菌に形質転換し、約2,600の組換え体を得た。5'側塩基配列を解読し、DDBJデータベースによるBlastX解析を行った。

2. ヤツメウナギ肝臓normalized cDNAライブラリ

ヤツメウナギ肝臓mRNAから、SMARTのcDNA Construction Kitのプロトコルを参考にして逆転写およびPCRによってcDNAを合成した。さらに、重複した転写産物のcDNAを除いて各転写産物の出現頻度を平均化 (normalize) するために、TRIMMERのcDNA Normalization Kit 1)を用いて、cDNAを変性後再会合させ、過剰転写産物により生成された二本鎖cDNAを二本鎖DNA特異的ヌクレアーゼにより取り除いた。NormalizeされたcDNAを再度PCRで増幅したのち、TOPO TA Cloning Kitを用いてpCR2.1 TOPO-TA Vectorに挿入し、大腸菌に形

質転換した。得られたクローンのベクターの一端からの塩基配列を解読し、DDBJデータベースによるBlastX解析を行った。現在880クローンまで解析が進んでいる。

〈結果〉

### 1. ヤツメウナギ肝臓cDNAライブラリ

Non-normalized cDNAライブラリでは、転写産物の19%をリボソームタンパク質をコードする遺伝子が占め、次いで脂質輸送に関わるアポリポタンパク遺伝子が9%、鉄分貯蔵に関わるフェリチン遺伝子が7.7%と高頻度で出現し、補体成分遺伝子が占める割合は0.6%であった(図1)。全体として血清蛋白質や肝臓に特異的に発現する遺伝子が30.5%、House keeping 遺伝子が55%で、他動物の機能既知タンパク質のアミノ酸配列が全くヒットしなかったものが残りの14.5%を占めていた。その中で補体系遺伝子の頻度は0.6%と低く、最も頻度の高いのがC3と制御因子C4bp-likeで0.2%であった。補体系遺伝子を網羅的に探索するためには、出現頻度が高く、著しく重複する転写産物を除いたものをEST解析に用いる方がより効率的であると考え、次にライブラリのnormalizationを行った。

### 2. ヤツメウナギ肝臓normalized cDNAライブラリ

Normalized cDNAライブラリではnon-normalized cDNAライブラリにおいて著しく重複していた殆どの転写産物が減少し、non-normalized cDNAライブラリに比べてESTから得られる遺伝子の種類が増え、転写産物間の重複も一部を除いて殆ど見られなくなった(図1)。補体系遺伝子は全体の2%を占めており、これまでに5種が見つかった。

〈考察〉

BlastX解析によって補体系遺伝子のアミノ酸配

列とヒットしたものには、既にヤツメウナギから単離されたものと高い類似性を示すC3、スプライシングの違いによるものとも考えられる複数のC4bp-like、既知のものとのamino acid identityが低いもののドメイン構造が類似しているC1q(43%)とfactor B(45%)、今回サメより原始的な動物では初めて見つかったFactor I-likeとがあった。C3とC4bp-like以外は、normalize後のライブラリからのみ見つかったものであり、転写頻度が低いものと思われる。今後normalizeしたライブラリを用いてさらにEST解析を進めていくことにより、まだ見つからない他の補体系遺伝子の有無が明らかになり、ヤツメウナギ補体系の全貌が明らかになっていくものと期待される。

	non normalized	normalized
ribosomal protein	19 %	0.1 %
apolipoprotein (1,2,C-III)	9	0.7
ferritin (H chain)	7.7	6.9
kininogen	3.9	0.1
betaine-homocysteine methyltransferase	2.5	0
$\alpha$ microglobulin/bukunin	2.3	0
fibrinogen ( $\alpha, \beta, \gamma$ )	1.9	1.7
coagulation factor	0.7	0.7
complement	0.6	2
serum albumin	0.2	2.7
other liver specific genes	1.7	3.7
other housekeeping genes	36	58.2
no hits	14.5	23.2

図1. Normalize前後での転写産物頻度の推移

〈参考文献〉

1) Pavel A. Shulidov et al., Nucleic Acids Research, 32:3, 2004,

## コイ補体成分B因子アイソタイプの遺伝子クローニング

岩谷健太郎<sup>1</sup>、加藤陽子<sup>1</sup>、柚本智軌<sup>1</sup>、中尾実樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>九州大学大学院農学研究院水族生化学研究室

### Genomic cloning of the complement factor B isotypes in carp

Kentarou Iwatani<sup>1</sup>, Yoko Kato<sup>1</sup>, Tomonori Somamoto<sup>1</sup>, Miki Nakao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Marine Biochemistry, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

#### [はじめに]

コイ補体系は、多くの補体成分に複数のアイソタイプが存在するという際立った特徴を有する。中でもコイB因子のアイソタイプ(B/C2-A1, B/C2-A2, 及びB/C2-A3)は、発現の部位と挙動において大きく異なる。すなわち、B/C2-A1とB/C2-A2は肝臓において構成的に発現するのに対し、B/C2-A3は腎臓・脾臓で急性期応答因子として誘導的に発現する<sup>1</sup>。しかしながら、これらの発現がどのように制御されているかは不明であり、この点を解明するためには各遺伝子の転写調節機構を明らかにする必要がある。本研究ではコイゲノムDNAライブラリーを作製してB/C2-A1とB/C2-A3をクローニングし、両遺伝子間の転写調節配列を比較することを目的とした。

#### [方法]

コイの赤血球からゲノムDNAを抽出し、制限酵素Sau3AIで10～20 kbpの断片に部分切断後、 $\lambda$  FIX「ベクターに組み込むことによってゲノムDNAライブラリーを作製した。次に、コイB/C2-A1およびB/C2-A3のSCR2ドメイン内の配列をコードするDIG標識cDNAプローブを作製し、プラークハイブリダイゼーションによってライブラリーをスクリーニングした。陽性クローンからインサートを制限酵素NotIで切り出し、pBluescript SK(-)ベクターにサブク

ローニング後、塩基配列を解析した。

#### [結果と考察]

タイター $5 \times 10^5$  pfuのコイゲノムDNAライブラリーを構築することに成功した。このライブラリーからスクリーニングによってB/C2-A1(約15 kbp)とB/C2-A3(約10 kbp)のゲノムDNAクローンを単離した。これまでに、コイB/C2-A1遺伝子のSCR2をコードするエキソンから1.3 kbp上流までの塩基配列を解読した。その結果、STRE、cap、TATA、GATA、STAT、HNF-1、C/EBP $\alpha$ などの転写調節配列が認められた。HNF-1とC/EBP $\alpha$ の存在は、B/C2-A1がmRNAレベルで肝臓において構成的に発現されることを裏付けると考えられる。現在、B/C2-A3遺伝子上流領域の配列を決定している。

#### [文献]

1) Nakao M. et al., *Dep. Comp. Immunol.* 26: 533 (2002)

## C3を含むTEP (Thioester-Containing Protein) 遺伝子の進化

野中 勝<sup>1</sup>、杉本早苗<sup>1</sup>、藤戸尚子<sup>1</sup>、金 孝竜<sup>1</sup><sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻

## Evolution of the C3/TEP Gene Family

Masaru Nonaka<sup>1</sup>, Sanae Sugimoto<sup>1</sup>, Naoko Fujito<sup>1</sup>, Koryu Kin<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, the University of Tokyo

## 〈目的〉

補体系は、有顎脊椎動物に固有とされる獲得免疫の出現以前から存在し、自然免疫の主要構成員として多種の動物の生体防御に働いてきた。これまでに調べられた全ての後口動物で存在が確認されており、尾索動物のホヤには今日哺乳類に見られる補体成分の基本構造がほとんど全て揃っており、補体系は後口動物の初期段階で主要な発展を完了していたことが示唆されている<sup>1</sup>。それに対して前口動物では、早々にゲノム解析の完了したショウジョウバエ、線虫等のゲノム中に補体遺伝子が存在しなかったことから、最近まで補体系は存在しないと考えられてきた。ところが近年、カブトガニ<sup>2</sup>、サンゴでのC3の発見が報告され、補体系の起源は後口動物／前口動物の分岐以前にまで遡ることが明らかになった。我々はC3を含むチオエステル含有タンパク(TEP)遺伝子の系統発生的研究により、全てのTEP遺伝子族はC3亜族と $\alpha$ 2M ( $\alpha$ 2マクログロブリン) 亜族に区分できること、軟体動物ナミギセル、刺胞動物ヒドラには $\alpha$ 2M亜族の遺伝子のみが、刺胞動物タテジマイソギンチャクには両亜族の遺伝子が存在すること、及び海綿動物のダイダイイソカイメン、オカダケツボカイメンからは両亜族の遺伝子共みつからない事を報告した。これらの結果は、TEP遺伝子族の出現、および両亜族への分化は

後生動物の出現初期に完成し、その後多くの系統でC3 亜族遺伝子の喪失が何度も生じた事を示唆している。しかしながら前口動物でC3 亜族遺伝子を持つものがあまりにも少ないことから、C3 亜族遺伝子の水平伝播が行われた可能性も否定できない。そこで、新たに3種類の動物で、TEP 遺伝子の単離、解析を試みるとともに、刺胞動物のTEP 遺伝子の機能についての手がかりを得るために、ヒドラ、タテジマイソギンチャクのTEP 遺伝子について *in situ hybridization* で mRNA の局在を明らかにした。

## 〈方法〉

## 1. 各種動物 TEP 遺伝子のクローニング

材料とした動物は東京大学理学系研究科附属臨海実験所（神奈川県三浦市）で採集した。RNAは全身からグアニジンチオシアネート／セシウム超遠心法で抽出した。RT-PCRは、これまでに配列決定された全てのTEP 遺伝子（C5を除く）に保存されているチオエステル領域と、その約100残基下流のアミノ酸配列に基づくプライマーで行い、増幅したバンドをプラスミドベクターに入れてクローン化し、各々の種につき、20–40クローンの塩基配列を決定した。さらに、得られた塩基配列に関して、対応するアミノ酸配列に基づいたデータベースサーチとClustalXを用いた分子系統学的解析とを

行った。

## 2. 刺胞動物 TEP 遺伝子の in situ hybridization

ヒドラの in situ hybridization は、ヒドラ  $\alpha$  2M の 3'非翻訳領域を digoxigenin で標識したプローブでおこなった。ヒドラのポリプを 2%ウレタンで麻醉し、4% paraformaldehyde で固定した。エタノール、proteinase K で処理後、再度 paraformaldehyde で固定し、プローブとハイブリダイズし、alkaline phosphatase を付加した、抗 digoxigenin 抗体を用いて発色させた。

タテジマイソギンチャクは凍結切片を用いた他は、基本的にヒドラと同様の方法により 3 種の TEP 遺伝子について in situ hybridization を行った。

## <結果と考察>

### 1. 各種動物 TEP 遺伝子のクローニング

採集した動物のうち扁形動物ツノヒラムシ *Planocera multitentaculata*、環形動物オトヒメゴカイ *Hesione reticulata*、星口動物スジホシムシモドキ *Siphonosoma cumanense* に関して、RT-PCR による特異的バンドの増幅が見られ、それぞれの動物につき 20 – 40 クローンの塩基配列を決定することが出来た。決定された約 230bps の塩基配列を ClustalX によりアラインメントしたところ、各種動物においていくつかの異なる種類の TEP 遺伝子が存在することが判明した。各 TEP 遺伝子の増幅部位の塩基配列に関して、対応するアミノ酸配列に変換したうえで、swisprot データベース上で BLAST サーチを行ったところ、得られた全ての種類の配列で、 $\alpha$  2M 亜族に属する遺伝子が上位にヒットした。さらに、C3 亜族と  $\alpha$  2M 亜族との両方の TEP 遺伝子を含めて ClustalX を用いた近隣結合法による分子系統樹を描くと、得られた全ての種類の配列が  $\alpha$  2M 亜族に含まれた。

これらの結果から、今回解析を行った各種動物

には  $\alpha$  2M 亜族遺伝子のみが存在し、C3 亜族遺伝子は存在しないと考えられる。しかし、今回の解析においては、得られた cDNA の全長を決定しておらず、解析したクローン数も比較的少ない。上記の各種動物に C3 亜族遺伝子が存在しないことを確定するには、今後の解析による、より詳細なデータが必要である。

## 2. 刺胞動物 TEP 遺伝子の in situ hybridization

ヒドラ  $\alpha$  2M の mRNA は、上皮性腺細胞からなり、岩等への付着を助ける粘着性の物質を分泌する基底盤部分で検出された。ヒドラ  $\alpha$  2M は粘液中に分泌され、外来性プロテアーゼを抑制することにより生体防御に働いていると思われる。一方タテジマイソギンチャクでは、C3 の強い発現が触手の内胚葉で、 $\alpha$  2M の顆粒状の強い発現が隔壁の内胚葉で観察された。CD109 は刺胞細胞からなる触手の外胚葉と隔壁の内胚葉で発現していた。3 種の TEP 遺伝子が部位を異にして発現していることは機能分化を示唆しているが、各々の機能については今後解明すべき課題である。

以上の結果は、1) TEP 遺伝子族は後口動物/前口動物の分岐以前に出現し、C3 亜族と  $\alpha$  2M 亜族に機能分化した、2) その後  $\alpha$  2M 亜族の遺伝子は全ての動物に保持されたが、C3 亜族の遺伝子は後口動物とごく一部の前口動物にのみ保持され、ほとんどの前口動物で失われたことを示している。

## <参考文献>

1. Azumi et al. *Immunogenetics* 55:570-581
2. Zhu et al. *EMBO J* 24:382-394



## 変性免疫グロブリンのマンノース結合レクチン (MBL) との結合性ならびにレクチン経路活性化

寺井 格<sup>1</sup>、小林邦彦<sup>2</sup>、J-P Vaerman<sup>3</sup>、真船直樹<sup>4</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学医療科学センター、<sup>2</sup>北海道大学小児科、

<sup>3</sup>Dept. Exp. Med. Univ. Louvain, <sup>4</sup>酪農学園大学酪農学部

Binding ability of Mannose binding lectin (MBL) with denatured immunoglobulins

Itaru Terai<sup>1</sup>, Kunihiko Kobayashi<sup>2</sup>, J-P Vaerman<sup>3</sup>, Naoki Mafune<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Insti. Med. Sci., Health Sciences Univ. Hokkaido, <sup>2</sup>Dept. Pediat., Hokkaido Univ. School of Medicine,

<sup>3</sup>Dept. Exp. Med. Univ. Louvain, <sup>4</sup>Laboratory of Medical Dietetics,

Department of Food Science, Faculty of Dairy Science, Rakunougakuen Univ.

### 【はじめに】

MBLが血清IgAと結合しレクチン経路を活性化することが、最近、報告された。この報告に基づき我々は、種々のミエローマIgAならびに各種免疫グロブリンとMBLとの結合性を検討し、MBLは、ある特殊なIgAとのみ強く結合し、他の免疫グロブリンとは殆ど結合しなかったことより、一般的にMBLは正常免疫グロブリンとは結合しがたいことを第40回の本シンポジウムで報告した。結合性がない、あるいは弱い免疫グロブリンも、酵素処理によりシアル酸とガラクトースを除去したり、あるいは酸処理により立体構造を変化させるとMBLとの結合性が増すことより、それはマンノースやNアセチルグルコサミンなどの糖鎖が露出することによるものと考えられた。ごく最近、血清中のIgDやIgEは、変性しない限りはMBLと結合出来ないことが報告されたことより、「血清IgAには果たしてMBLとの結合性が本当の有るのか」を、我々は血清IgAを調製し、検討することにした。

### 【方法】

血清IgAは正常ヒト血清から調整した。血清IgAあるいは精製MBLをマイクロプレートに

固相化し、牛血清アルブミンでブロックした。血清IgAとMBLの結合は、ビオチン化した精製MBLを段階希釈して固相化血清IgAの各ウェルに添加するか、あるいは血清IgAを段階希釈して固相化精製MBLの各ウェルに添加し、更にペルオキシダーゼを結合した抗IgA抗体を添加することで検出した。レクチン経路活性化の検出は血清を段階希釈して固相化血清IgAの各ウェルに添加し、更に抗C4抗体を添加することで検出した。免疫グロブリンからのガラクトースの除去は固相上でノイラミニダーゼとβ-Dガラクトシダーゼを37度で作用させることにより行った。免疫グロブリンへの酸処理(pH2, 37度, 1時間)も固相上で行い、MBLへの結合性の変化を検討した。

### 【結果】

血清IgAは、その分子量の大きさ(monomeric or polymeric form)に関わらずMBLとは全く結合しなかったが、それらは酵素処理、さらに引き続き酸処理により結合性が増強した。同様に血清中C4の固相化血清IgAへの沈着も、無処理では全く見られなかったが、酵素処理、さらに引き続き酸処理により沈着が増強した。

### 【考察】

これらの結果より、(1) 血清IgAは他の正常免疫グロブリンと同様にMBLとは結合しないこと、(2) その結合も、酵素処理によるシアル酸とガラクトースの除去や酸処理による立体構造の変化と共に増強し、それに伴ってレクチン経路も活性化するようになることが考えられた。

### 【結論】

MBLは血清中の自己成分である正常免疫グロブリンとは結合しないが、変性免疫グロブリンとは結合し、レクチン経路を介してそれらの排除に働いている可能性が示唆された。

## S19 リボソーム蛋白二量体の好中球機能抑制及びアポトーシス促進作用 —好中球補体C5aリセプターの新たな役割—

西浦弘志<sup>1</sup>、李 穎<sup>1</sup>、山本哲郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>熊本大学・大学院・医学薬学研究部・分子病理分野

Function-suppressing and apoptosis-enhancing effects of ribosomal protein S19 dimer on neutrophils

Hiroshi Nishiura<sup>1</sup>, Ei Li<sup>1</sup>, Tetsuro Yamamoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Molecular Pathology, Faculty of Medical and Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University.

「はじめに」

我々は、アポトーシス細胞から遊離されるS19リボソーム蛋白(RP S19)架橋化二量体が、単球のC5aリセプター(C5aR)にアゴニストとして作用してその走化や浸潤を引き起こす一方、多核球のC5aRにはアンタゴニストとして作用してC5aによる炎症性刺激を抑制することを明らかにしてきた。1,2ところが最近、RP S19二量体がC5aRを介して線維芽細胞のアポトーシスを増幅する事を見出した3ことから、RP S19二量体は、好中球に対しても、積極的にアポトーシスの亢進や機能の抑制を引き起こすのではないかと想定し、RP S19二量体と同様の作用を持つリコンビナントC5a/RP S19キメラを用いて一連の実験を行った。また、その機能抑制の細胞内分子メカニズムを明らかにするために、regulator of G-protein signaling (RGS)分子の状態を解析した。

「方法」大腸菌の発現系を用いて、C5aおよび、C5aのC末端にRP S19C末端の12個のアミノ酸を付加したC5a/RP S19を調製した。

「結果」

- (1) C5a/RP S19は、C5a刺激好中球走化に対してアンタゴニスト作用を示した。
- (2) C5a/RP S19は、培養好中球24時間目の自然発生性アポトーシスをC5aリセプター(C5aR)依存性に促進した。その際、貪食シグナルであるフォスファチジルセリンが膜表面に提示された。
- (3) C5aおよびfMLP前処理好中球は、C5aおよびfMLPの細胞走化刺激に対してリセプター特

異的な不応答性を示したが、C5a/RP S19前処理好中球は、C5aあるいはfMLPの、走化およびスーパーオキシド産生刺激に対して、リセプター非選択性的不応答性を示した。

(4) C5a/RP S19とfMLPの前処理は、好中球のC5aR発現量を、同程度、中等度に減少させた。

(5) C5a/RP S19処理好中球では、4時間目のRGS3 mRNAおよび蛋白が、顕著に上昇していた。一方、C5aおよびfMLP処理では、逆に減少していた。

(6) 新鮮好中球において、RGS3は細胞膜に分布していた。C5a/RP S19処理では、分布の変化は認められなかったが、C5aおよびfMLP処理では、細胞質への移動が観察された。

(7) 好中球のC5a/RP S19刺激において、Ca<sup>++</sup> influxの、程度は低いが明らかな上昇が観察された。

「考察」

RP S19二量体は、好中球C5aRを介して、C5aRアンタゴニスト作用、G蛋白介在型受容体関連機能抑制作用およびアポトーシス促進作用を発揮することが明らかとなった。少なくともこの機能抑制作用にはRGS3産生亢進が関与すると考えられた。これらは、RP S19二量体が、機能抑制、アポトーシス促進、そして貪食処理誘導の各作用により、好中球が主体の急性炎症反応を終焉させる役割を持つ事を示唆した。

「文献」

- 1) Horino K, et al. Lab Invest 78: 603 (1998)
- 2) Shrestha A, et al. Am J Pathol 162: 1381 (2003)
- 3) Nishiura H, et al. J Cellular Biochem (2005)

## ヒト肺アレルギー性炎症でのアナフィラトキシンの作用

阿部正義<sup>1</sup>、濱寛<sup>3</sup>、白日高歩<sup>2</sup>、岩崎明憲<sup>2</sup>、小野信文<sup>3</sup>、桂木猛<sup>1</sup>、岡田秀親<sup>4</sup><sup>1</sup>福岡大・医・薬理, <sup>2</sup>同第2外科, <sup>3</sup>薬・医薬品情報, <sup>4</sup>福祉村病院

A role of anaphylatoxins in allergic inflammation in human lungs

Masayoshi Abe<sup>1</sup>, Hiroshi Hama<sup>3</sup>, Takayuki Shirakusa<sup>2</sup>, Akinori Iwasaki<sup>2</sup>, Nobufumi Ono<sup>3</sup>,Takeshi Katsuragi<sup>1</sup>, Hidechika Okada<sup>4</sup>

Department of Pharmacology and Second Department of Surgery, School of Medicine, Department of Drug Information, School of Pharmaceutical Science, Fukuoka University, Fukuoka 814-0180, Japan

[はじめに]

病原菌や異物などの非自己が生体内に侵入すると補体系が活性化され防御機転として機能するとともに、生じた補体活性化産物により炎症反応が起こると考えられる。一方、補体系を構成する蛋白分子の一次構造は種差が大きいことが知られている<sup>1,2</sup>。従って、ヒト疾患での補体の役割を解明するためには、ヒト組織を用いた実験モデルの開発が望まれ、これを用いて抗補体薬の開発が促進されるものと期待される。我々は、手術で摘出されたヒト肺組織の不要な部分を用いて、いくつかの炎症モデルの作成を試みている。今回はアレルギー性肺炎モデルを用い、アレルギー病態でのアナフィラトキシンの役割とその抑制薬の効果について検討した。

気管支喘息の病態形成には、肥満細胞や好塩基球の膜上にあるIgE受容体に結合したIgE抗体を侵入した抗原が架橋することで遊離される種々のケミカルメディエーター、なかでもCysteinyl-leukotrienes (CysLTs)が重要な役割を演じていると考えられるので、この産生量を炎症の指標として検討した<sup>3</sup>。最近、気管支喘息の病態に気道局所での補体活性化の関与が注目されているが、本病態ではアナフィラトキシンC3aが気道過敏性に重要であるという説<sup>4</sup>とC5aが気道炎症並びに気道過敏性の形成に重要

であるという説<sup>5,6</sup>とがあり結論が出ていない。従って、本炎症モデルを用いてC3aとC5aのCysLTs産生量に対する効果を比較検討した。

[方法]

手術で摘出された肺癌患者の肺組織から正常と思われる部分を切り出し(術前に許可を得た症例のみ)、よく洗浄し細切にした後ヒトIgEで受け身感作を行った。その後、抗IgE抗体で刺激し産生されるCysLTsをミニカラムと逆相シリカゲルカラムによるHPLCで精製後、酵素抗体法(EIA)で定量しアレルギー炎症の指標とした。遺伝子組み換えヒトC5aはシグマ社から購入、ヒトC3aはT.E. Hugli教授(Torrey Pines Institute for Molecular Studies)から供与<sup>7</sup>。新規のC5a抑制薬としてアセチル化ペプチドA (acPep-A)を用いた<sup>8</sup>。

[結果]

2例の肺癌患者から摘出されたヒト肺組織の一部から総RNAを抽出しRT-PCR法でC5aR-、C3aR-、C5L2-、GAPDH-mRNAの発現を調べると、両症例とも全てのmRNAsを発現していた。感作肺切片を抗IgE抗体で刺激するとコントロール群(抗IgE抗体を添加しない)に比し、有意にCysLTs産生が増加した。低濃度(0.1 - 10 ng/ml)のC5aを添加して抗IgE抗体で刺激すると1 ng/mlで有意かつ最高値に達し、釣り鐘状

にCysLTs産生が増加した。一方C3a存在下では最高1000 ng/mlまで加えてもアナフィラキシー刺激によるCysLTs産生は増加傾向を示したが、有意には増えなかった。また、血清を添加した場合も同様に増加した。血清とC5aを同時に添加しても更なる増加は認められなかった。従って、ヒト肺アナフィラキシー反応で微量のアナフィラトキシンが、炎症を増強していることが示唆されたので、C5a (1 ng/ml)存在下でアナフィラキシー反応を惹起するアレルギー炎症モデルを用い、C5a抑制薬と報告されているacPep-Aの効果を検討した。添加されたacPep-Aは濃度依存的にCysLTs産生を抑制した。一方、100 ng/mlのC3a存在下でアナフィラキシー反応によるCysLTs産生はacPep-A添加により抑制されなかった。

[結語]

摘出肺組織の残存部分を用いてヒト肺アレルギー性炎症モデルを作成した。C5aはC3aに比しアナフィラキシー反応によるCysLTs産生を増加させた。C5a抑制薬のacPep-AはC5a選択的にCysLTs産生を抑制した。

[文献]

- 1) Ember JA., Hugli TE., Immunopharmacology 38: 3 (1997)
- 2) Fukuoka Y. et al., Inter Immunol 10: 275 (1998)
- 3) Smith LJ. Arch Intern Med 156: 2181 (1996)
- 4) Humbles AA., et al., Nature 406: 998 (2000)
- 5) Abe M., et al., J Immunol 167: 4651 (2001)
- 6) Peng T., et al., J Clin Invest 115: 1590 (2005)
- 7) Hugli TE., et al., Mol Cell Biochem 41: 59 (1981)
- 8) Fujita E., et al., J Immunol 172: 6382 (2004)

## MBL-associated serine protease (MASP)-1はC4非依存的に レクチン経路を活性化する

高橋 実<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医科大学医学部免疫学講座

MBL-associated serine protease (MASP)-1 can initiate the lectin complement pathway without C4.

Minoru Takahashi<sup>1</sup>, Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Yuichi Endo<sup>1</sup>, Teizo Fujita<sup>1</sup>

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

[はじめに]

補体活性化レクチン経路は自然免疫において重要な役割を担っている。また最近、虚血再還流における腸や腎臓における組織障害にレクチン経路による補体活性化が関与しているという報告がなされ、その重要性が再認識されている。レクチン経路においてC1複合体におけるC1r/sと相同性のあるMASP-2がC4及びC2を活性化し、その後の補体活性化を引き起こすことは報告されている。しかしMASP-2と同様にMBL複合体を構成するMASP-1やMASP-3の働きは未知である。以前に本シンポジウムにおいて、我々はMASP-1とMASP-3を欠損したマウス(MASP1/3KO)を作製し、その血清でマンナンにおけるC4沈着量が低いことを報告した。今回、更に検討を行った結果、MASP-1もレクチン経路の活性化に関与していることが確かめられたので、報告する。

[方法]

マウス

マウスはMASP1/3KO、C4欠損マウス(C4KO)、sMAP(Map19)とMASP-2を欠損するMASP2KOおよびMASP1/3KOとC4KOとの交配で得られたMASP-1/3とC4を欠損するMASP1/C4KOを用いた。

ELISAを用いたマンナンに対するC3活性化の測定

マンナンをコートしたELISA用マイクロタイ

タープレートに各々のマウス血清をバルビタール緩衝液(Ca、Mgを含む)で希釈して37度で反応させた。プレート上に沈着したC3はHRP結合抗ヒトC3c抗体(DAKO)とTMB基質にてOD450で検出した。

リコンビナントMASP-1の発現と精製

リコンビナントMASP-1は6XHisタグを付加し、バキュロウイルスの発現系を用いて、感染させたSf21細胞の培養上清からニッケルカラムやイオン交換カラムを用いて精製した。

[結果]

マウス血清でのmannanに対する補体C3沈着量はMASP-1/3KOで対照マウスよりも有意に低値を示した。さらにマウスMASP-1の組み換え体(rMasp-1)を作製し、MASP-1/3KOマウス血清に加えるとそのC3沈着量は増加した。この結果はMASP-1が補体活性化に関与することを示唆する。またC4欠損マウスにおいてもmannanに対するC3沈着は起こるが、C4とMASP-1を同時に欠損したマウス血清ではC3活性化はほとんど起こらなかった。以上の結果より、MASP-1はC4非依存的にレクチン経路を活性化することが明らかとなった。

[考察]

MASP-2が活性化するレクチン経路(MASP-2 route)とは別にC3を直接活性化するMASP-1 routeの存在が確認された。

sMAP 遺伝子欠損マウスの *Staphylococcus aureus* 感染抵抗性の解析岩城大輔<sup>1</sup>、菅野和子<sup>1</sup>、高橋 実<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、Yu Liu<sup>1</sup>、松下 操<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup><sup>1</sup>福島県立医科大学・医・免疫、CREST、<sup>2</sup>東海大学・工・生命化学The susceptibility of sMap<sup>-/-</sup> mice to *Staphylococcus aureus* infection.Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Kazuko Kanno<sup>1</sup>, Minoru Takahashi<sup>1</sup>, Yuichi Endo<sup>1</sup>, Yu Liu<sup>1</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>,Teizo Fujita<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University and CREST, Japan Science and Technology Agency, and <sup>2</sup>Institute of Glycotechnology and Department of Applied Biochemistry, Tokai University

[はじめに]

sMAPは alternative splicing により生じる MASP-2の短縮型タンパク質であり、N末端側のCUB、EGF様ドメインを含むMASP-2共通領域とC末端のsMAP特異的な4残基アミノ酸配列からなる<sup>1) 2)</sup>。sMAPとMASP-2は、MBL-MASP複合体の構成成分であり、MBL糖鎖認識によるMBL-MASP複合体活性化の際にMASP-2はC4およびC2を活性化する。sMAPおよびMASP-2の生体内における役割を明らかにする目的で、sMAPのC端4残基をコードするsMAP特異的エクソンを欠失させたsMAP<sup>-/-</sup>マウスを作製した。sMAP<sup>-/-</sup>マウスのMASP-2発現量は低下しており、Real-time PCRによる解析の結果、MASP-2発現量は野性型マウスの1/50程度だった。sMAP<sup>-/-</sup>マウス血清中のMBL-MASP複合体によるC4活性化能も低下しており、固相化マンナンへのC4沈着量は野性型マウスの約20%であった。リコンビナントMASP-2の血清への添加によりC4沈着量は回復したが、リコンビナントsMAPの添加ではC4沈着量の減少作用がみられ、sMAPがレクチン経路活性化において制御因子として作用する可能性が示唆された(本シンポジウム昨年発表)。本研究では、sMAP<sup>-/-</sup>マウスの*Staphylococcus aureus*感染に対する抵抗性について解析をおこない、sMAPおよびMASP-2の

感染防御機構における役割について検討した。

[方法]

- 1) sMap<sup>-/-</sup>および野性型マウス各10匹に対して*S. aureus* (8 x 10<sup>7</sup> CFU)を腹腔内投与し、生存率を観察した。
- 2) *S. aureus*をグルタルアルデヒドを用いてウェルに固相化し、sMAP<sup>-/-</sup>マウス血清とインキュベーション後、C3沈着量をELISA法により測定し、野性型と比較した。

[結果]

- 1) *S. aureus*感染3日後の生存率は、野性型マウス50%、sMAP<sup>-/-</sup>マウス20%だった。
- 2) sMAP<sup>-/-</sup>マウス血清による固相化*S. aureus*へのC3沈着量は野性型より低く、有意な差がみられた。

[考察]

sMAP<sup>-/-</sup>マウス血清において*S. aureus*へのC3沈着量の減少がみられたことから、オプソニン活性の低下が生存率低下の原因の一つであると推定される。現在、sMAP<sup>-/-</sup>マウスの生体内における細菌増殖抑制能についてさらに解析をおこなっている。

[文献]

- 1) Takahashi, M. et al., *Int. Immunol.* 11: 859 (1999)
- 2) Stover, C. M. et al., *J. Immunol.* 162: 3481 (1999)

# 協賛一覧

アステラス製薬株式会社

エーザイ株式会社

住友製薬株式会社

第一製薬株式会社

武田薬品工業株式会社

中外製薬株式会社

日機装株式会社

日本シェーリング株式会社

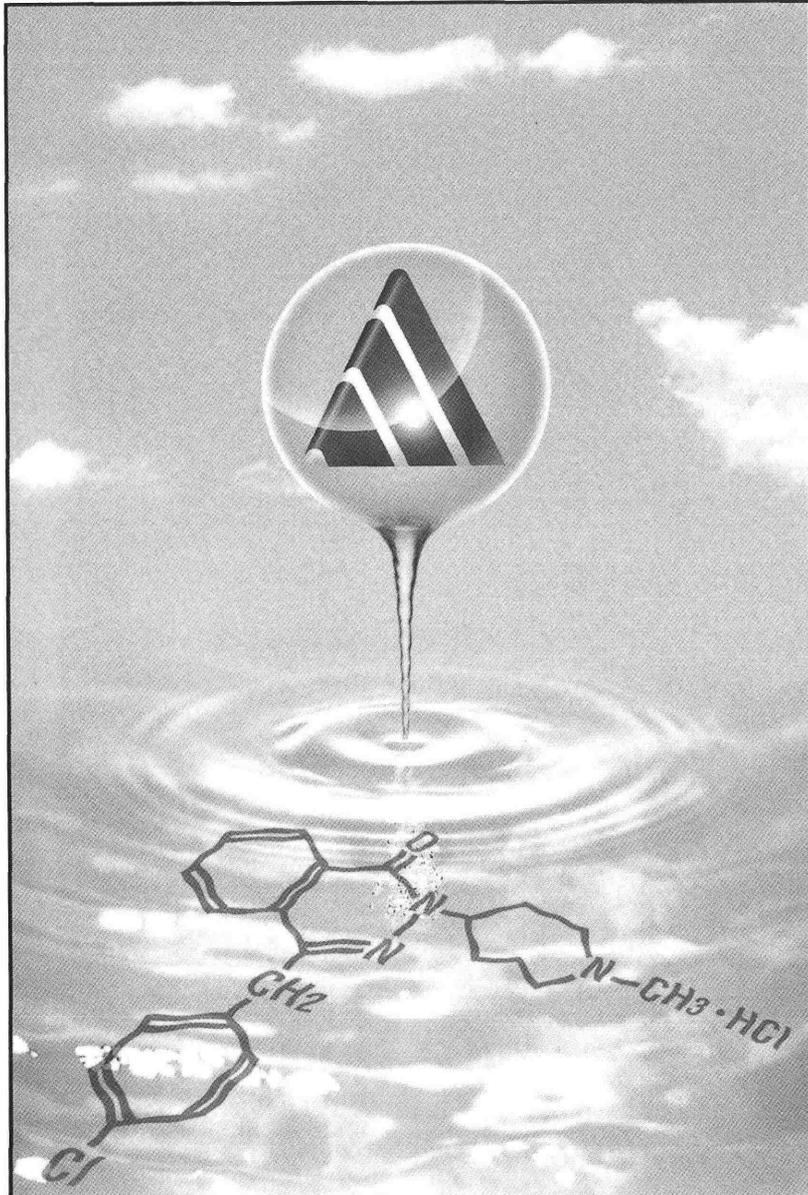
ノバルティス ファーマ株式会社

バイエル薬品株式会社

万有製薬株式会社

持田製薬株式会社

平成17年6月30日現在  
(五十音順)



# 炎症細胞の 遊走・浸潤を抑制する 抗アレルギー剤。

指定医薬品  
アレルギー性疾患治療剤

薬価基準収載

# アゼブチン<sup>®</sup>

錠0.5mg・錠1mg/顆粒0.2%

〈塩酸アゼラスチン製剤〉

製造販売元

**エーザイ株式会社**

〒112-8088 東京都文京区小石川4-6-10  
http://www.eisai.co.jp

*hvc*  
ヒューマン・ヘルスケア企業



## アゼブチンの特性

- ①ロイコトリエン、ヒスタミンなどに対し、優れた遊離抑制作用と直接拮抗作用を有する。(in vitro、モルモット他)
- ②気管支喘息発作の軽減、咳・痰の切れなど随伴症状の改善に有効である。
- ③アレルギー性鼻炎のくしゃみ・鼻汁を早期に改善し、鼻閉の寛解にも優れた効果を発揮する。
- ④アレルギー性皮膚疾患の痒疹を早期に改善し、紅斑、膨疹、丘疹などの皮膚病変を改善する。
- ⑤副作用は3.06%(439/14,365例)に認められ、主な副作用は眠気、倦怠感、口渇等であった(再審査終了時)。

### 【効能・効果】

気管支喘息

アレルギー性鼻炎

蕁麻疹、湿疹・皮膚炎、アトピー性皮膚炎、皮膚痒痒症、痒疹

### 【用法・用量】

(1)気管支喘息

通常、塩酸アゼラスチンとして1回2mgを、朝食後及び就寝前の1日2回経口投与する。  
なお、年齢、症状により適宜増減する。

(2)アレルギー性鼻炎及び蕁麻疹、湿疹・皮膚炎、アトピー性皮膚炎、皮膚痒痒症、痒疹

通常、塩酸アゼラスチンとして1回1mgを、朝食後及び就寝前の1日2回経口投与する。  
なお、年齢、症状により適宜増減する。

### 【使用上の注意】

(1)重要な基本的注意

- 1)眠気を催すことがあるので、本剤投与中の患者には、自動車の運転等の危険を伴う機械の操作には従事させないように十分注意すること。
- 2)長期ステロイド療法を受けている患者で、本剤投与によりステロイド減量をはかる場合は十分な管理下で徐々に行うこと。
- 3)気管支喘息に用いる場合、本剤はすでに起こっている発作を速やかに軽減する薬剤ではないので、このことを患者に十分説明しておく必要がある。
- 4)本剤を季節性の患者に投与する場合は、好発季節を考慮して、その直前から投与を開始し、好発季節終了時まで続けることが望ましい。

(2)副作用

総症例14,365例中、439例(3.06%)の副作用が報告されている。(再審査終了時)

	0.1~5%未満	0.1%未満	頻度不明
精神神経系	眠気、倦怠感	めまい、頭痛、手足のしびれ	
消化器	口渇、悪心・嘔吐	口内及び口周囲のあれ、食欲不振、胸やけ、胃部不快感、腹痛、便秘、下痢	
循環器		顔面のほてり、動悸	
呼吸器		鼻乾燥、息苦しさ	
肝臓		AST(GOT)、ALT(GPT)の上昇等	Al-Pの上昇
過敏症 <sup>注)</sup>		発疹	
血液			白血球増多
泌尿器		頻尿	排尿困難、血尿
その他		浮腫	月経異常

注)このような症状があらわれた場合には投与を中止すること。

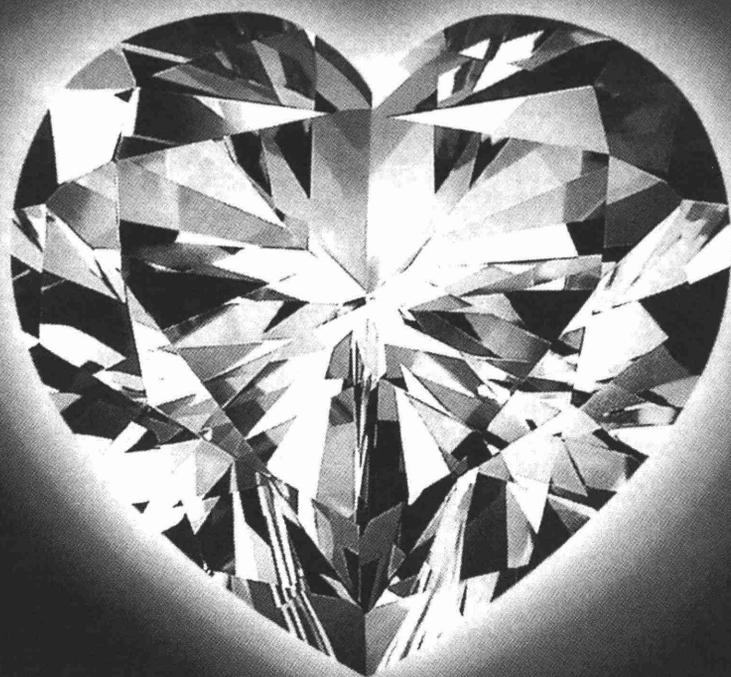
●その他の使用上の注意等については添付文書をご参照ください。

商品情報お問い合わせ先:

エーザイ株式会社 お客様ホットライン室

☎0120-419-497 9~18時(土、日、祝日 9~17時)

AT0504-1 2005年4月作成



# BLOPRESS<sup>®</sup>

持続性アンジオテンシンⅡ受容体拮抗剤

指定医薬品 処方せん医薬品<sup>注</sup>

薬価基準収載



## ブロプレス錠<sup>®</sup> 2.4 8.12

(一般名:カンデサルタン シレキセチル錠) 注)注意—医師等の処方せんにより使用すること。

本剤の効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意等は添付文書をご参照ください。

〔資料請求先〕

 **武田薬品工業株式会社**

〒540-8645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号  
<http://www.takeda.co.jp/>

YAGAMI

歴史を学び、「いのち」を感じる  
システムを提案します。



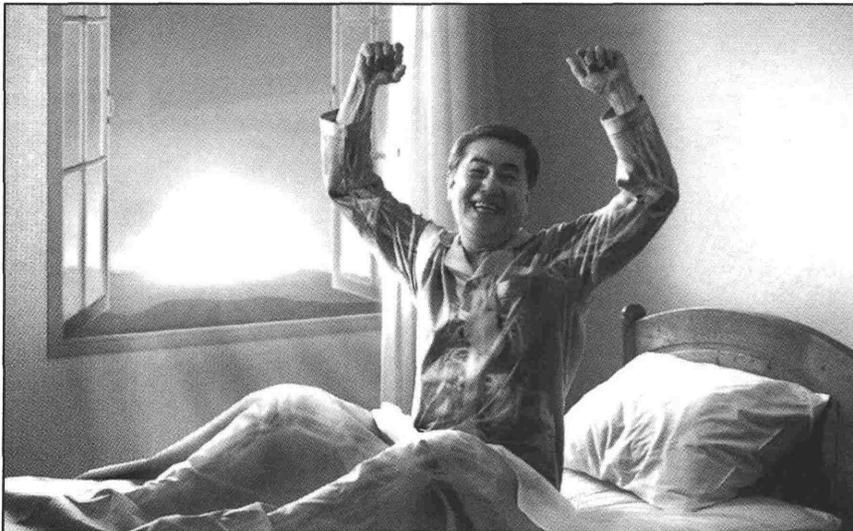
八神製作所は130余年間にわたり、医療の発展とともに歩んできました。  
その間、医療のあり方が、治療、予防や介護も含めた人間の健康づくり全  
体へと広がるにつれて業容を拡大。「健康開発・予防」「治療」「介護」を事  
業の3本柱として確立し、「いのち」を感じるシステムを提案しています。

ウェルビーイングを開発する

株式会社 **八神製作所**

本社／名古屋市中区千代田2-16-30 TEL:052(251)6671(代) 〒460-8318

URL <http://www.yagami.co.jp/>



Boehringer  
Ingelheim

astellas

**MICARDIS**  
TELMISARTAN

胆汁排泄型持続性AT<sub>1</sub>受容体ブロッカー（テルミサルタン製剤）

**ミカルディス<sup>®</sup>** 錠 20mg  
40mg

指定医薬品、処方せん医薬品（注意—医師等の処方せんにより使用すること）

薬価基準収載

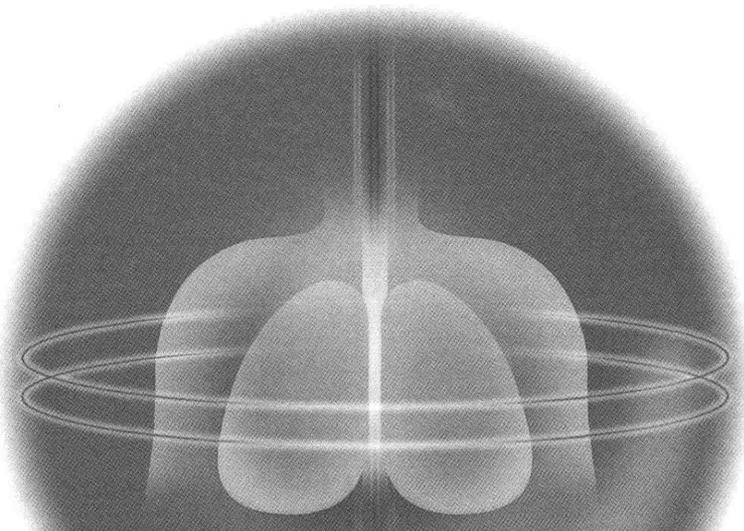
● 禁忌・効能・効果、用法・用量、使用上の注意等については、製品添付文書をご参照ください。

発売 **アステラス製薬株式会社**  
東京都板橋区連根3-17-1  
[資料請求先] 本社/東京都中央区日本橋本町2-3-11

製造販売 **日本ベリンガーインゲルハイム株式会社**  
東京都千代田区猿樂町2丁目8番8号  
資料請求先: メディカルアフェアーズ部Dセンターグループ

05/5作成 A41/2.B.01

2005年4月1日、山之内製薬と藤沢薬品は、アステラス製薬になりました。



好中球エラストアーゼ阻害剤

指定医薬品  
要指示医薬品<sup>注)</sup>

注射用 **エラスポール<sup>®</sup> 100**

シベレスタットナトリウム水和物

ELASPOL<sup>®</sup>

注) 注意—医師等の処方せん・指示により使用すること。

薬価基準収載

● 効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意等、  
詳細は製品添付文書をご参照ください。



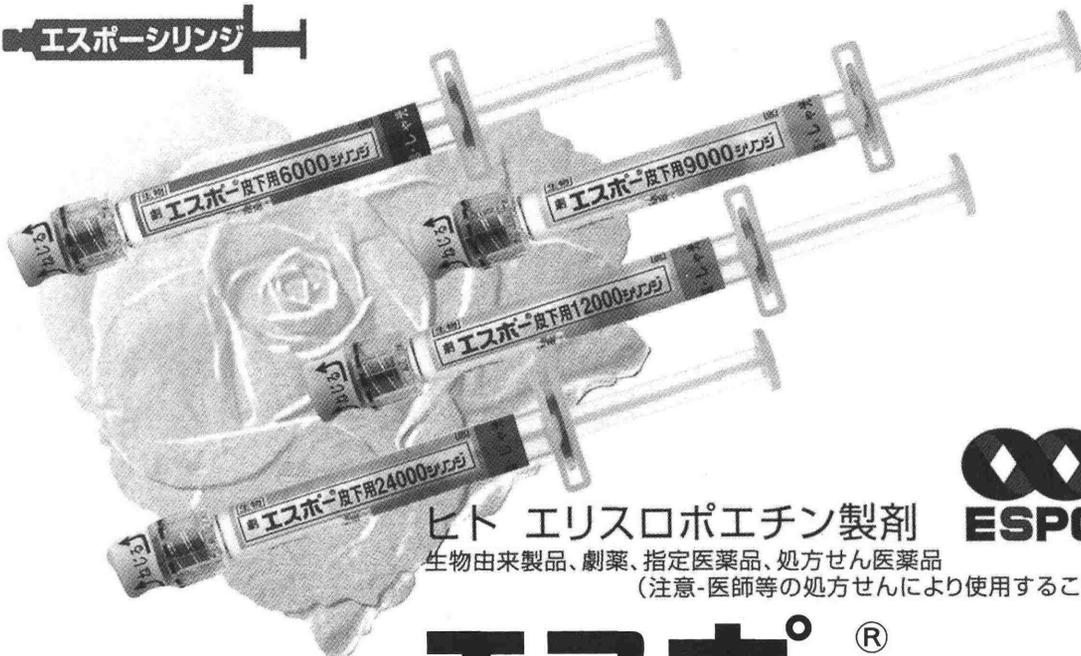
資料請求先

**小野薬品工業株式会社**

〒541-8564 大阪市中央区久太郎町1丁目8番2号

030901

エスポーシリンジ



ヒト エリスロポエチン製剤

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



# エスポー®皮下用 6000・9000・12000・24000 シリンジ

薬価基準収載 一般名: エポエチンアルファ (遺伝子組換え)

<http://www.KirinSmile.com/>

効能・効果、用法・用量・禁忌を含む  
使用上の注意等につきましては添付  
文書をご参照ください。

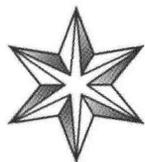
製造販売元資料請求先  
麒麟麦酒株式会社  
〒五〇八〇二 東京都渋谷区神宮前六・六六一

2005年4月作成



高親和性AT<sub>1</sub>レセプターブロッカー

薬価基準収載



## オルメテック®錠 20mg 10mg

指定医薬品 ※処方せん医薬品・注意—医師等の処方せんにより使用すること  
一般名: オルメサルタン メドキシミル

●効能・効果、用法・用量および禁忌を含む使用上の注意等については製品添付文書をご参照ください。



製造販売元(資料請求先)

三共株式会社

SANKYO 〒103-8426 東京都中央区日本橋本町3-5-1

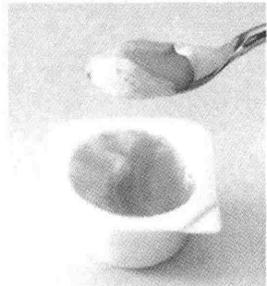


プロモーション提携

株式会社 三和化学研究所

SKK 〒461-8631 名古屋市中区東外堀町35番地

高カリウム血症改善剤 薬価基準収載  
**aj** **ア-ガメイトゼリー**  
**ARGAMATE**® (ポリスチレンスルホン酸カルシウムゼリー)



※効能・効果、用法・用量、禁忌、  
 使用上の注意等につきましては  
 添付文書をご覧ください。

製造販売元  
**株式会社 三和化学研究所**  
**SKK** 本社/名古屋市東区東外堀町35番地 〒461-8631  
 ●ホームページ <http://www.skk-net.com/>

資料請求先・問い合わせ先

コンタクトセンター

**☎0120-19-8130**

受付時間:月-金 9:00-17:00(祝日は除く)

2004年3月作成

# Amlodin

さらに、一緒に、歩みたい…

高血圧症・狭心症治療薬/持続性Ca拮抗薬 —薬価基準収載

劇薬・指定医薬品・要指示医薬品(注意—医師等の処方せん、指示により使用すること)

**アムロジン錠<sup>2.5</sup>**  
**Amlodin**® ベシル酸アムロジピン

**住友製薬**

製造発売元(資料請求先)  
**住友製薬株式会社**  
 〒541-8510 大阪市中央区道修町2丁目2番8号

〈製品に関するお問い合わせ先〉  
 くすり情報センター

**☎0120-03-4389**

受付時間/月-金 9:00~17:30(祝・祭日を除く)  
<http://e-medicine.sumitomopharm.co.jp>

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

Creating Value for Life



注) 注意—医師等の処方せんにより使用すること

※ 効能・効果、用法・用量、禁忌を含む使用上の注意、用法・用量に関連する使用上の注意等は製品添付文書をご参照ください。

ホームページで中外製薬の企業・製品情報をご覧ください。http://www.chugai-pharm.co.jp

中外製薬の主要製品

遺伝子組換えヒトエリスロポエチン製剤

生物由来製品、劇薬、指定医薬品、処方せん医薬品<sup>2)</sup>

薬価基準収載

**エポジン<sup>®</sup>注** シリンジ 750 6000  
1500 9000  
アンプル 3000 12000  
EPOGIN<sup>®</sup> エポエチンベータ(遺伝子組換え)製剤

二次性副甲状腺機能亢進症治療剤

劇薬、指定医薬品、処方せん医薬品<sup>2)</sup>

薬価基準収載

**オキサロール<sup>®</sup>注** 2.5 μg  
5 μg  
10 μg  
OXAROL<sup>®</sup> マキサカルシトール製剤

高リン血症治療剤(リン結合性ポリマー)

指定医薬品、処方せん医薬品<sup>2)</sup>

薬価基準収載

**レナジェル<sup>®</sup>錠** 250mg  
RENAGEL<sup>®</sup> 塩酸セベラマー錠

静注用鉄剤

生物由来製品、処方せん医薬品<sup>2)</sup>

薬価基準収載

**ブルタル<sup>®</sup>**  
BLUTAL<sup>®</sup>  
コンドロイチン硫酸・鉄コロイド注射液



CHUGAI

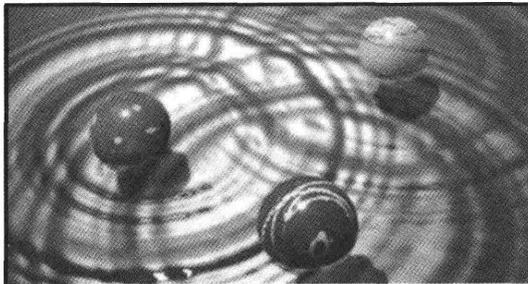
中外製薬

〔資料請求先〕

〒104-8301 東京都中央区京橋2-1-9

Roche ロシュグループ

2005年4月作成



# 浮腫、急性胃腸炎に

吐き気、食欲不振、のどのかわき、排尿が少ないなどの場合

サイレイトウ  
**ツムラ柴苓湯**  
エキス顆粒(医療用)

薬価基準収載

● 各種の浮腫を改善します。<sup>1)~6)</sup>

● 以下の薬理作用が考えられます。

① 緩徐な利尿作用: 水分代謝調節作用(ラット、マウス)<sup>7)8)</sup> ② 内因性ステロイド分泌促進作用、抗炎症作用(ラット)<sup>9)</sup> ③ 線維化抑制作用(ラット)<sup>10)</sup>

● 副作用は間質性肺炎、偽アルドステロン症、ミオパシー、肝機能障害、黄疸などです。

効能又は効果

吐き気、食欲不振、のどのかわき、排尿が少ないなどの次の諸症:  
水瀉性下痢、急性胃腸炎、嘔気あたり、むくみ

用法及び用量

通常、成人1日9.0gを2~3回に分けて、食前又は食間に経口投与する。なお、年齢、体重、症状により適宜増減する。

使用上の注意(抜粋)

1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること) 著しく体力の衰えている患者[副作用があらわれやすくなり、その症状が増強されるおそれがある。] 2. 重要な基本的注意 (1) 本剤の使用にあたっては、患者の証(体質・症状)を考慮して投与すること。なお、経過を十分に観察し、症状・所見の改善が認められない場合は、継続投与を避けること。(2) 本剤にはカンゾウが含まれているので、血清カリウム値や血圧値等に十分留意し、異常が認められた場合には投与を中止すること。(3) 他の漢方製剤等を併用する場合は、含有生薬の重複に注意すること。 3. 相互作用 併用注意(併用に注意すること)

薬剤名等	臨床症状・措置方法	機序・危険因子
(1) カンゾウ含有製剤 (2) グリチルリチン酸及びその塩類を含有する製剤	偽アルドステロン症があらわれやすくなる。また、低カリウム血症の結果として、ミオパシーがあらわれやすくなる。〔「重大な副作用」の項参照〕	グリチルリチン酸は尿細管でのカリウム排泄促進作用があるため、血清カリウム値の低下が促進されることが考えられる。

4. 副作用 本剤は使用成績調査等の副作用発現頻度が明確となる調査を実施していないため、発現頻度は不明である。(1) 間質性肺炎: 発熱、咳嗽、呼吸困難、肺音の異常(捻髪音)等があらわれた場合には、本剤の投与を中止し、速やかに胸部X線等の検査を実施するとともに副腎皮質ホルモン剤の投与等の適切な処置を行うこと。また、発熱、咳嗽、呼吸困難等があらわれた場合には、本剤の服用を中止し、ただちに連絡するよう患者に対し注意を行うこと。(2) 偽アルドステロン症: 低カリウム血症、血圧上昇、ナトリウム・体液の貯留、浮腫、体重増加等の偽アルドステロン症があらわれることがあるので、観察(血清カリウム値の測定等)を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、カリウム剤の投与等の適切な処置を行うこと。(3) ミオパシー: 低カリウム血症の結果としてミオパシーがあらわれることがあるので、観察を十分に行い、脱力感、四肢痙攣・麻痺等の異常が認められた場合には投与を中止し、カリウム剤の投与等の適切な処置を行うこと。(4) 肝機能障害、黄疸: AST(GOT)、ALT(GPT)、Al-P、γ-GTPの著しい上昇等を伴う肝機能障害、黄疸があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。(2003年4月改訂)  
\*その他の使用上の注意、組成・性状等は製品添付文書をご覧ください。

〔文献〕 1) 天野 完: 産婦人科漢方研究のあゆみ, No.6, 31(1989) 2) 水沢 優: 産婦人科漢方研究のあゆみ, No.7, 51(1990) 3) 中村隆一: 産婦人科漢方研究のあゆみ, No.5, 69(1988) 4) 若狭一夫: 腎と透析, 26, 別, 70(1989) 5) 長江裕康・他: 漢方医学, 16(9)314(1992) 6) 五十嵐一郎: 整形外科, 44(1)127(1993) 7) 原中環璃子・他: Proc. Symp. WAKAN-YAKU, 15, 105(1981) 8) 大西彦明・他: 和漢医薬学雑誌, 17(3)131(2000) 9) 須田俊宏: 第4回京大漢方治療セミナー-PROCEEDINGS, 38(1995) 10) T. ONO et al.: Clinical and Experimental Nephrology in press(2004)

一漢方関連研究会のストーリーミングムービーや漢方処方選択トレーニングなどコンテンツ満載—

医療関係者向け会員サイト

**TSUMURA KAMPO SQUARE**

**ツムラ漢方スクエア**

● ツムラホームページhttp://www.tsumura.co.jp/内の医療関係者向けサイトよりアクセスいただけます。同サイトから登録頂くが弊社MR(医薬情報担当者)までご依頼下さい。

株式会社 **ツムラ**

資料請求 弊社MR(医薬情報担当者), または下記住所宛ご請求下さい。

● 本社: 〒102-8422 東京都千代田区二番町12番地7 http://www.tsumura.co.jp/

(2005年4月制作)

■ 使用上の注意等の改訂には十分ご留意下さい。

DR-1141 ㊞

**TERUMO**  
人にやさしい医療へ

日本のCAPDとともに



腹膜透析液

**ミッドペリック® L** 135 250 400

薬価基準収載

指定医薬品 処方せん医薬品<sup>(注1)</sup>

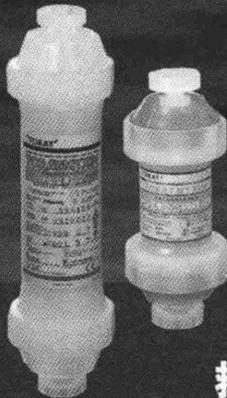
●効能・効果、用法・用量、禁忌、使用上の注意につきましては、製品添付文書を参照ください。

注1) 注意 医師等の処方せんにより使用すること

製造販売元 **テルモ株式会社** 〒151-0072 東京都渋谷区幡ヶ谷2-44-1 <http://www.terumo.co.jp/>  
資料請求先 **テルモ株式会社 学術情報部** 〒151-0072 東京都渋谷区幡ヶ谷2-44-1

Ⓣ、TERUMO、ミッドペリックは、テルモ株式会社の登録商標です。  
©テルモ株式会社 2005年4月

**TORAY**



吸着式血液浄化用浄化器  
**TORAYMYXIN**  
トロミキシム  
PMX-20R/PMX-05R

敗血症(感染によるSIRS)にもなる病態改善の  
第一選択として...

医療用具承認番号20500BZZ0092000  
製造元: 東レ株式会社

**東レの急性血液浄化システムは  
救急・集中治療をバックアップします。**



持続緩徐式血液濾過器  
**HEMOFEEL® CH**  
ヘモフィール® CH

PMMA膜により高い生体適合性を保ちます。  
医療用具承認番号20300BZZ00624000  
製造元: 東レ株式会社

販売元

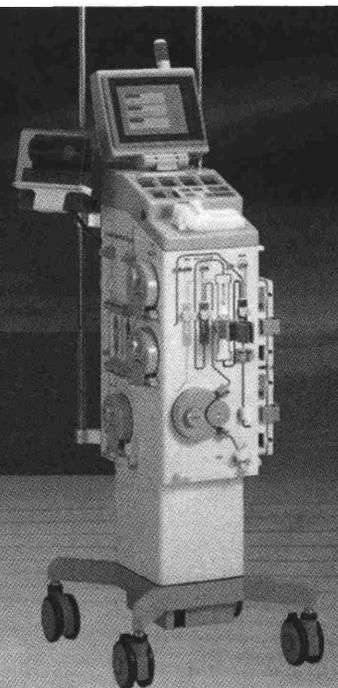
**東レ・メディカル株式会社**

東京都墨田区錦糸一丁目2番1号 アルカセントラル21F 〒130-0013  
TEL(03)5610-6523 / FAX(03)5610-6543  
<http://www.toray.co.jp/tmc/>



持続緩徐式血液濾過器  
**HEMOFEEL® SH**  
ヘモフィール® SH

ポリスルホン中空糸膜により安定した血液濾過  
性能が得られます。  
医療用具承認番号21200BZZ00274000  
製造元: 東レ株式会社



血液浄化用装置  
**TR-525**

医療用具承認番号  
21200BZZ00483000  
製造元: カーテック株式会社

安全対策の充実で使いやすく更にグレード  
アップしました。ポンプ流用範囲を拡大し、  
低流用から高流用まで幅広く対応します。



## 現場の声を 製品に。

私たち日機装は、人工臓器  
フィールドのパイオニアと  
して医療機器の開発・生産  
のみならず、安全を守る  
メンテナンスサービスに  
いたるまで、医療の現場を  
トータルでサポートしています。

# NIKKISO

<http://www.nikkiso.co.jp>

日機装株式会社 医療機器カンパニー

本 社 〒150-8677 東京都渋谷区恵比寿3-43-2 日機装ビル TEL.03-3443-3751 FAX.03-3473-4965

 **Boehringer  
Ingelheim**

睡眠導入剤（プロチソラム口腔内崩壊錠）

**レンドルミン® D 錠 0.25mg**

Lendormin® D Tablets 0.25mg

（プロチソラム製剤）

注1) 注意—習慣性あり、注2) 注意—医師等の処方せんにより使用すること

薬価基準収載

※効能・効果、用法・用量、および禁忌を  
含む使用上の注意等は製品添付文書  
をご参照ください。

製造販売元

日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社

〒101-0064 東京都千代田区猿楽町2丁目8番8号

資料請求先：メディカルアフェアーズ部 Dセンターグループ

〒101-0064 東京都千代田区猿楽町2丁目8番8号 住友不動産猿楽町ビル

☎0120-189-779（受付時間：9:00～18:00土・日・祝日・弊社休業日を除く）

2005年4月作成 



NOVARTIS

# THE ARB DIOVAN

選択的AT<sub>1</sub>受容体ブロッカー

**ディオバン錠** 160mg  
80mg  
40mg

薬価基準収載

指定医薬品 処方せん医薬品

注意—医師等の処方せんにより使用すること

**DIOVAN** パレサルタン錠

●禁忌、効能・効果、用法・用量、  
使用上の注意については、製品  
添付文書をご覧ください。

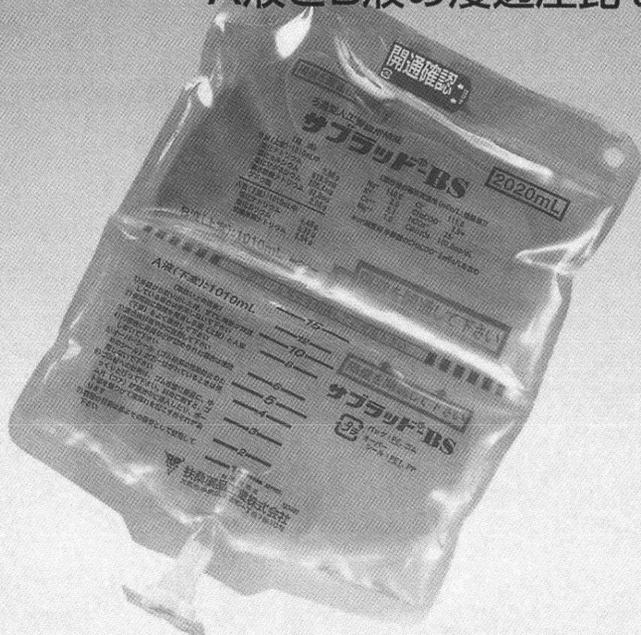


製造販売 (資料請求先)  
**バルティス ファーマ 株式会社**  
東京都港区西麻布4-17-30 〒106-8618

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

## より安全に…。 配慮と工夫のサブラッド

— A液とB液の浸透圧比を等張に近づけました。 —



ろ過型人工腎臓用補液 **キット製品**

**サブラッド®-BS**  
Sublood-BS



◇効能・効果、用法・用量及び使用上の注意については  
添付文書をご参照下さい。

資料請求先: 扶桑薬品工業株式会社研究開発センター  
〒536-8523 大阪市城東区森之宮2丁目3番30号 TEL 06-6969-3131

**扶桑薬品工業株式会社**

2005年3月作成



## 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) 本会は補体研究会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	若干名
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) 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。
- (14) 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。
- (15) 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。

- (16) 運営委員会の構成員は運営委員、補体シンポジウム集会長（当期および次期）および会長とする。
- (17) 運営委員会は、構成員の過半数の出席を要する。
- (18) 運営委員会は、会務の審議、本会の運営に当たる。
- (19) 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。
- (20) 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。
- (21) 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

- (22) 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。
- (23) 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。
- (24) 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

- (25) 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。
- (26) 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。
- (27) 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。
- (28) 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。
- (29) 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

- (30) 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

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

### III 事務局

- (9) 本会の事務局は会長の指名する事務局長のもとに置く。

### IV 名誉会員

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

### 付則

細則（1）は昭和62年度より、賛助会員については平成5年度より施行する。

平成2年8月7日 一部改訂

平成4年7月23日 一部改訂

平成5年7月21日 一部改訂

## 補体研究会賛助会員

(50音順)

医学生物学研究所 (株)

トーアエイヨー (株)

明治製菓 (株)

和光純薬工業 (株)

## 補体研究会

会長 瀬谷 司

会長補佐 木下タロウ

運営委員 岡田 秀親

酒井 好古

野中 勝

堀内 孝彦

松尾 清一

松下 操

松本美佐子

山本 哲郎

監事 岡田 則子

藤田 禎三

事務局長 野中 勝

集会長 松尾 清一

次期集会長 堀内 孝彦



