

The 46th Complement Symposium
August 2009, Fukuoka

Proceeding of the Complement Symposium
Vol. 46 (2009)



第46回
補体シンポジウム
講演集

平成 21 年 8 月
福岡

補体研究会

The Japanese Association for Complement Research

後援：九州大学大学院 農学研究院・生物機能環境科学府

Proceeding of the Complement Symposium

Vol. 46 (2009)



第46回
補体シンポジウム
講演集

会期：2009年8月21日（金）・22日（土）

会場：九州大学西新プラザ

（福岡市早良区西新 2-16-23）

集会長：九州大学大学院農学研究院

中尾 実樹

〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

Tel: 092-642-2894

E-mail: mikimnakao@kyudai.jp

後援：九州大学大学院農学研究院

九州大学大学院生物機能環境科学府

「世界戦略的のフードサイエンス教育プログラム」

第 46 回補体シンポジウム参加案内

- 講演会場 九州大学西新プラザ 2F・大会議室
- 受付 第 1 日 8 月 21 日 (金) 12 時より
九州大学西新プラザ 2F・交流ラウンジ前にて
参加費 一般 5,000 円
学生 2,000 円
懇親会費 3,000 円
*いずれも会場受付にてお支払い下さい。
- 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。一般演題は討論を含めて 15 分間を予定しています。
PC は集会事務局で用意しますので、PowerPoint で作成したプレゼンテーションファイル (ファイル名は演題番号+氏名) を CD-R または USB メモリーにてお持ち下さい。(CD-RW および DVD によるデータの持ち込みはご遠慮下さい。)
・事務局で用意する PC と互換ソフトウェアは下記の通りです。
PC (WinXP) : PowerPoint 2007/2003/97
Mac (OS10.5) : PowerPoint 2008/2004/98
動画を含むなどファイルの互換性に問題が予想される場合は、例外的に演者自身のパソコンを接続することも可能ですが、必ず事前に事務局までご相談下さい。ファイルの受付は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。講演会場である大会議室入口横にプレゼンテーションファイル受付カウンターがあります。
- 運営委員会 第 2 日 8 月 22 日 (土) 8:00~9:00 (Cafe レストラン ガスト西新店)
- 総会および
優秀賞表彰式 第 2 日 8 月 22 日 (土) 13:15~13:45 (西新プラザ 2F 大会議室)
- 懇親会 第 1 日 8 月 21 日 (金) 19:30~21:00 「カフェ・ボーベルジェ」
(博多リバレイン・イニミニマニモ 5F : 地下鉄「中洲川端駅」にほぼ直結)
<http://www.em3.jp/floorguide/5f/beauverger/index.html>

優秀賞 一般演題の中から最優秀発表を、シンポジウム参加の補体研究会運営委員によって構成される選考委員会によって選考し、第 46 回補体シンポジウム優秀賞として表彰いたします。優秀賞の発表・表彰式は、8 月 22 日 (土) 13:15 ~13:45 に開催される補体研究会総会において執り行いますので、是非総会にご出席下さい。

年会費 会員で年会費を未納の方、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いたしますので、そちらでご納入下さい。

年会費 一般 5,000 円、学生 3,000 円 (学生証などの身分証明をご用意下さい。)

【補体研究会事務局】

〒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

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

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

ホームページ : <http://square.umin.ac.jp/compl/>

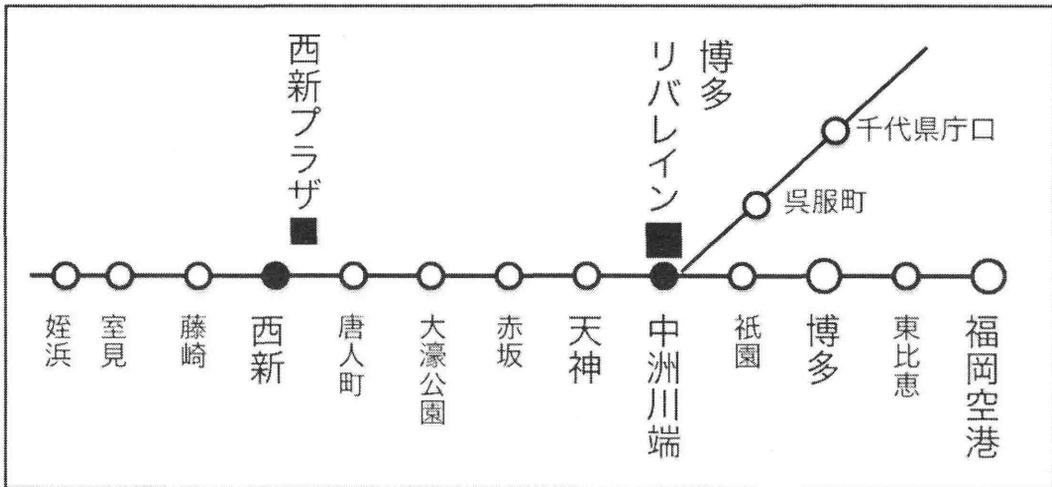
九州大学西新プラザへのアクセス

福岡市営地下鉄空港線「西新駅」(7番出口)から大通り沿いに、西新パレス前から東に約250m歩き、新今川橋を渡る手前のファミレス「ガスト」から左折して、樋井川(ひいかわ)沿いを250mほど進むと西新プラザがあります。(徒歩約10分)

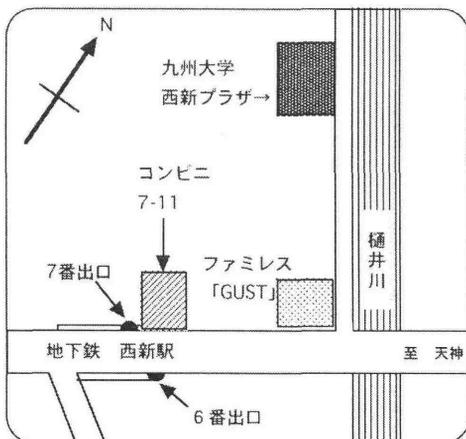
【福岡空港より】市営地下鉄「福岡空港駅」から(何処行きでも可)西新まで直行
(約20分、290円)

【JR博多駅より】市営地下鉄「博多駅」(姪浜・筑前前原・西唐津方面)から西新まで直行
(約13分、250円)

【西鉄福岡駅・福岡天神バスセンターより】市営地下鉄「天神」駅(姪浜・筑前前原・西唐津方面)から西新まで直行(約7分、250円)

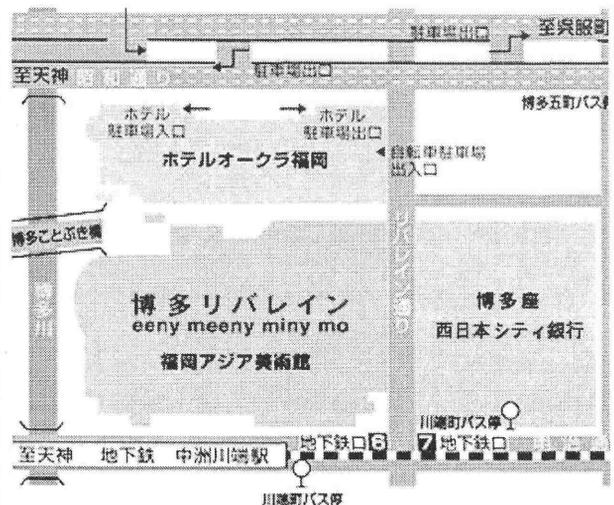


地下鉄西新駅から西新プラザへ



地下鉄西新駅7番出口を出て樋井川方面へ。新今川橋の手前、ファミレス「GUST」の角を左折し、樋井川沿いに下る。(約10分)

懇親会場「博多リバレイン」周辺図



日 程 表

8月21日(金) 12:00 開場

12:55~13:00	開会の辞 中尾実樹
13:00~14:30	セッションA：第二経路、制御因子、アナフィラトキシン 座長 岡田秀親・井上徳光
14:30~14:45	休 憩
14:45~16:00	セッションB：レクチン、自然免疫 座長 若宮伸隆・岡田則子
16:00~17:00	セッションC：進化・系統発生 座長 山本哲郎・遠藤雄一
17:00~17:15	休 憩
17:15~18:15	特別講演1：Complement: coming full circle 演者 Claudia Kemper 座長 瀬谷 司
19:30~21:00	懇親会 「カフェ ボーベルジェ」 博多リバレイン eeny meeny miny mo 5F

8月22日(土) 9:00 開場

9:30~10:30	セッションD：臨床補体学 座長 堀内孝彦・西浦弘志
10:30~11:15	セッションE：HAE（遺伝性血管浮腫） 座長 大井洋之
11:15~11:30	休 憩
11:30~12:30	特別講演2：ショウジョウバエ自然免疫における病原細菌の認識と排除 演者 倉田祥一郎 座長 川畑俊一郎
12:30~13:15	ランチョンセミナー：CI-インヒビター製剤の可能性* 演者 板橋 妙
13:15~13:45	総会および優秀賞表彰式
13:45~14:00	休 憩
14:00~16:30	補体系の進化・多様性シンポジウム 座長 野中 勝・中尾実樹
16:30	閉会の辞 中尾実樹

* ランチョンセミナーの講演要旨・資料は当日配布の予定です。

第46回補体シンポジウム・学術プログラム

第1日 8月21日(金)

セッションA：第二経路、制御因子、アナフィラトキシン

13:00~14:30

座長 岡田秀親・井上徳光

A-1 補体D因子前駆体を認識する抗体の作製とそれを用いた解析

高橋 実、岩城大輔、遠藤雄一、藤田禎三

福島県立医大・免疫

A-2 補体第2経路を阻害するCR2-fHは、MRL/lprマウスの自己免疫を調節し、腎炎を改善する

関根英治^{1,2}, Ting Ting Hsieh Kinser², Philip Ruiz³, Gary Gilkeson²,
Stephen Tomlinson²

¹福島県立医科大学免疫学講座, ²サウスカロライナ医大, ³マイアミ大

A-3 腫瘍細胞上の補体制御因子によるT細胞応答の制御

今井優樹^{1,2}, Varela JC², Atkinson C², 太田里永子^{1,2}, 岡田則子¹,
Rapisardo M², Tomlinson S²

名市大院・医¹ サウスカロライナ医科大²

A-4 Zymosanによる増殖性腹膜炎ラットモデルの作成と補体治療の可能性

水野正司^{1,2}、伊藤恭彦^{1,2}、Natalie Hepburn³、湯澤由紀夫²、Claire L. Harris³、
B. Paul Morgan³、松尾清一²

名古屋大学医・腎不全治療システム学¹、同 腎臓内科²、
カーディフ大医・医学生化学&免疫学³

A-5 補体C5aレセプター下流Find-Meシグナル伝達経路

西浦 弘志、山本 哲郎

熊本大学大学院医学薬学研究部分子病理分野

A-6 血漿のS19リボソームタンパク質様分子の二量体化と単球C5aレセプターの凝血塊吸収における役割

太田宜彦、千場梅子、諺 俊、西浦弘志、山本哲郎

熊本大学大学院医学薬学研究部分子病理学分野

座長 若宮伸隆・岡田則子

B-1 ドメイン欠損 CL-P1 のリガンド結合解析

森 健一郎¹、大谷 克城¹、張 成宰¹、金 然旭²、本村 亘¹、孫 啓輝¹、
吉田 逸朗¹、鈴木 定彦³、若宮 伸隆¹

¹旭川医科大学・医・微生物学、²鮮文大学・医生命科学、

³北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンター

B-2 乳酸は Th1/Th17 バランスを Th17 細胞側に傾ける

藪政彦¹、志馬寛明^{1,2}、赤澤隆¹、井上徳光¹

¹大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学、²北大院・医・感染症制御学

B-3 樹状細胞 TLR3 の誘導する NK 細胞活性化の分子機構

海老原敬、松本美佐子、瀬谷 司

北海道大学大学院医学研究科免疫学分野

B-4 抗体および補体によるネクローシス細胞に対する免疫応答の調節

若狭健太郎、志馬寛明、松本美佐子、瀬谷 司

北海道大学大学院医学研究科免疫学分野

B-5 カプトガニ体液凝固因子 Factor G の β -1,3-D-グルカン認識モジュールと
土壌細菌 *Cellvibrio mixtus* の糖鎖認識モジュールとの構造類似性

植田 祐生¹、大和田 修平¹、阿部 義人²、柴田 俊生¹、飯島 学¹、

吉光 由希子¹、中田 宗宏³、植田 正²、小柴 琢己^{1,4}、川畑 俊一郎^{1,4}

¹九大院・システム生命、²九大院・薬、³東海大・応用生化学、⁴九大院・理

座長 山本哲郎・遠藤雄一

C-1 チオエステル含有タンパク質の進化と起源

藤戸尚子、杉本早苗、野中勝

東京大学大学院理学系研究科生物学専攻

C-2 魚類 C3 アイソタイプの生体防御における機能分化

一木智子、鶴木 (加藤) 陽子、杣本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

C-3 コイ初期発生における C3 アイソタイプの発現パターン

Vo Kha Tam、大蔵千恵、杣本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

C-4 コイ C1 複合体の亜成分組成

市居 敬¹、辻倉正和¹、杣本智軌¹、鶴木陽子¹、加藤慎一²、
吉国通庸²、中尾実樹¹

九大院農学研究院 ¹生物機能科学部門・²動物資源科学部門

特別講演 1 座長 瀬谷 司

17:15~18:15

Complement: coming full circle

Claudia Kemper

MRC Centre for Transplantation, King's College London

第2日 8月22日(土)

セッションD：臨床補体学

9:30~10:30

座長 堀内孝彦・西浦弘志

D-1 本邦PNH症例における補体阻害剤(Eculizumab)の安全性と有効性：AEGIS第2相臨床試験

西村純一¹、金倉譲¹、大屋敷一馬²、七島勉³、岡本真一郎⁴、安藤潔⁵、
二宮治彦⁶、川口辰哉⁷、中尾眞二⁸、中熊秀喜⁹、木下タロウ¹⁰、Camille Bedrosian¹¹、
Marye Ellen Valentine¹¹、小澤敬也¹²、小峰光博¹³

¹大阪大学血液・腫瘍内科、²東京医科大学第一内科、³福島医科大学第一内科、⁴慶應大学内科血液、⁵東海大学血液内科、⁶筑波大学血液病態制御医学、⁷熊本大学感染免疫診療部、⁸金沢大学細胞移植学、⁹和歌山医科大学輸血・血液疾患治療部、¹⁰大阪大学微生物病研究所、¹¹Alexion Pharm、¹²自治医科大学内科学血液学部門、¹³昭和大学

D-2 C5aを標的とした補体阻害ペプチドAcPepA導入による移植後早期瘵島障害の抑制
戸子台和哲¹、後藤昌史^{1,2}、稲垣明子²、中西渉¹、岡田則子³、岡田秀親^{3,4}、
里見進¹

¹東北大・先進外科、²東北大・国際高等研究教育機構、
³名市大医・免疫学、⁴医療法人福祉村病院長寿医学研究所

D-3 アナフィラトキシン阻害ペプチドについての臨床研究と臨床治験
岡田秀親

医療法人福祉村病院長寿医学研究所

D-4 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
畑中道代¹、北野悦子¹、北村 肇²

¹神戸常盤大・保健科学部医療検査、
²関西福祉科学大・福祉栄養学部福祉栄養学科

セッションE：遺伝性血管性浮腫（HAE）

10:30～11:15

座長 大井洋之

E-1 遺伝性血管性浮腫（hereditary angioedema: HAE）の疾患認知度

大澤 勲、大井洋之、富野康日己
順天堂大学医学部 腎臓内科

E-2 SLE・シェーグレン様症状を呈した遺伝性血管浮腫（HAE）の一例

有信 洋二郎¹、三苫 弘喜¹、井上 靖¹、新納 宏昭¹、塚本 浩¹、吉澤 滋²、
堀内 孝彦¹、赤司 浩一¹
¹九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、
²国立病院機構 福岡病院 リウマチ科

E-3 遺伝性血管性浮腫の問題点と今後の課題

香坂隆夫、大橋裕子、二瓶健次、阿部正義
東京西徳洲会病院 小児難病センター

特別講演2 座長 川畑俊一郎

11:30～12:30

ショウジョウバエ自然免疫における病原細菌の認識と排除
倉田祥一郎
東北大学大学院薬学研究科

ランチョンセミナー

12:30～13:15

C1-インヒビター製剤の可能性

板橋 妙
CSL ベーリング（株）マーケティング・市場開発本部

座長 野中 勝・中尾実樹

S-1 補体系因子固有のドメイン構造の起源と進化：刺胞動物から脊椎動物まで

野中 勝

東京大学大学院理学系研究科

S-2 リポ多糖で誘導されるカプトガニの自然免疫ネットワークと補体活性化

川畑俊一郎

九州大学大学院・理学研究院・生物科学部門

S-3 硬骨魚類補体成分の高度な多様化と機能分化

中尾実樹

九州大学大学院・農学研究院・生物機能科学部門

S-4 補体レクチン経路の分子基盤と系統発生

遠藤雄一¹、岩城大輔¹、高橋実¹、松下操²、藤田禎三¹

¹福島県立医大・医・免疫、²東海大・工・生命化学

S-5 脊椎動物の補体制御遺伝子座が形成された過程を追う

押海裕之 松本美佐子 瀬谷司

北海道大学大学院医学研究科

COMPLEMENT: COMING FULL CIRCLE

Gaëlle Le Friec¹, Dennis Hourcade² and Claudia Kemper¹

¹MRC Centre for Transplantation, King's College London, UK,

² Washington University in Saint Louis, Division of Rheumatology, Saint Louis, MO, USA

The recognition of pathogens by the innate immune system is mediated by germline-encoded receptors recognizing patterns common to many pathogens. Activation of this system leads to the direct destruction of the pathogen but does not confer immunological memory. The adaptive immune system on the other hand is slower but more specific and leads to the generation of antigen-specific highly reactive memory B and T lymphocyte populations with somatically recombined receptors providing tailored and long-lasting immunity against re-infection. The complement system is a highly complex system consisting of over 30 plasma and membrane-bound proteins. For many years, it has been seen as a vital part of innate immunity but with no role in the adaptive responses. The last 40 years have shown how simplistic this view has been and that complement is heavily involved in the instruction and regulation of B and T cell immunity. A recent surge in complement research focusing on its role in immune responses, diseases and therapeutics attests that there is still much of importance to be discovered about the roles of this ancient system in immune processes.

Two areas in complement research have recently received specific attention: Firstly, the discovery that properdin (which was only known as a positive regulator/stabilizer of C3 convertases) functions as a novel pathogen/danger-associated molecular pattern recognition molecule (PAMP/DAMP): Properdin can bind directly to a number of pathogenic microbes as well as altered self tissue/cells (including apoptotic, necrotic, injured and malignant human cells) and induce the phagocytic clearance of these dangerous

targets, implying that complement's target recognition range is broader and more sophisticated than previously thought.

The second area of interest centers on a novel role of complement in the regulation of T cell responses: The concurrent activation of the complement regulator CD46 during antigen presentation and in the presence of exogenous IL-2 leads to the activation/induction of IL-10-secreting and granzyme B-expressing adaptive regulatory T cells (cTreg). These cTregs suppress the activation of effector T cells via the immunosuppressive function of IL-10, direct killing of the effector T cell and successful competition for growth factors (IL-2). Because complement is the quintessential danger-sensing sentinel, its involvement in immunosuppression seemed initially counterintuitive. However, it is now clear that the timely resolution of an immune response towards a pathogen is vital in the prevention of tissue damage and autoimmunity and it is feasible that complement-induced Tregs downmodulate successful effector T cell responses to prevent such unwanted immunopathologies. In addition, a second important role for adaptive IL-10-secreting Tregs (and thus cTregs) has been proposed: This Treg subpopulation is thought to control the resident effector CD4⁺ T cell responses against enteric commensals in mucosal tissues and prevent chronic inflammation at the host/environment interface by maintaining immunologic tolerance.

Thus, complement not only detects an impressive (and growing) repertoire of distinct self and non-self danger signals, and is instrumental in the induction and instruction of adaptive immunity, but does indeed

come full circle and also provides essential dampeners to inflammatory immune responses and maintains immune homeostasis. These realizations together with the growing list of diseases attributed to erroneous, de-regulated or insufficient complement activation is now leading to a resurgence and refocus in research on complement. Although the heavy involvement of complement in disease states such as chronic infections, autoimmunity and organ rejection is widely accepted, in almost all cases their exact underlying molecular, cellular, and clinical mechanisms are not understood. Thus, the better understanding of the (danger) signals leading to complement activation and its subsequent multi-functional impact on the adaptive immune response is vital in the successful development of complement-targeted therapeutics.

ショウジョウバエ自然免疫における病原細菌の認識と排除

倉田祥一郎

東北大学大学院薬学研究科

Recognition and elimination of pathogenic bacteria in *Drosophila* innate immunity

Shoichiro Kurata

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, Japan

動物種を越えて、そして植物までが示す免疫応答に、抗菌ペプチドの産生誘導が挙げられる。ショウジョウバエでは、感染に応じた抗菌ペプチドの発現誘導は、主に Toll 経路と imd 経路と呼ばれる二つの細胞内シグナル伝達系で制御されている。Toll 経路を制御する Toll 受容体のヒトの相同因子、Toll 様受容体 (TLR) が同定され、哺乳動物の TLR が病原体を認識するパターン認識受容体であることが明らかになった。その一方で、ショウジョウバエの Toll 受容体はパターン認識受容体としては機能しない。

我々は、ショウジョウバエでのゲノムワイド遺伝子探索系を確立し、パターン認識受容体として、ペプチドグリカン認識タンパク質 (PGRP)・LE を同定した。PGRP-LE は、imd 経路を選択的に活性化すると共に、メラニン化を誘導する。一方、他の研究グループにより PGRP-SA が Toll 経路の活性化に必要であり、PGRP-LC が imd 経路の活性化に必要であることが示された。我々は、PGRP-LE がグラム陰性菌と一部のグラム陽性菌が有するジアミノピメリン酸 (DAP) 型ペプチドグリカンの特異的に認識し、多くのグラム陽性菌が有するリシン型ペプチドグリカンを認識しないことを明らかにした。その後、他の研究グループにより PGRP-LC も DAP 型ペプチドグリカンを認識し、PGRP-SA がリシン型ペプチドグリカンの認識に関わることが示された。

これらにより、ショウジョウバエでは、PGRP ファミリーの因子が、感染する病原細菌の有するペプチドグリカンの構造の違いを識別し、それぞれ対応する免疫応答を誘導することが明らかとなった。

さらに PGRP-LE は、細胞外での機能に加えて、細胞内でも細胞内寄生細菌の認識と排除に関わる事が示唆された。実際、PGRP-LE は細胞内寄生細菌で DAP 型ペプチドグリカンを有するリステリア菌に対する感染防御に重要であった。その際、PGRP-LE は感染したリステリア菌を細胞質中で DAP 型ペプチドグリカンを介して認識し、オートファジーを誘導して排除する事が明らかとなった。これらの結果は、細胞内寄生細菌に対する感染抵抗性におけるオートファジーの重要性を初めて示すと共に、細胞内寄生細菌を認識してオートファジーを誘導する因子を初めて明らかにしたものである。

【発表論文】

1. Takehana et al. (2002) PNAS, 99: 13705-13710
2. Yajima et al. (2003) Biochem. J., 371: 205-210
3. Takehana et al. (2004) EMBO J., 23: 4690-4700
4. Lim et al. (2006) JBC, 281: 8286-8295
5. Kaneko et al. (2006) Nature Immunol., 7: 715-723
6. Yano et al. (2008) Nature Immunol., 9: 908-916

Memo

補体系因子固有のドメイン構造の起源と進化: 刺胞動物から脊椎動物まで

野中 勝

東京大学大学院理学系研究科

Origin and evolution of the domain structures uniquely found in complement components:

from Cnidaria to Vertebrata

Masaru Nonaka

Department of Biological Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

30以上存在するヒト補体成分の約半数は、補体成分に固有のドメイン構造を有する5つファミリー(C3, Bf, MASP, C6, Ifファミリー)の何れかに属している。これらのドメイン構造はヒトゲノム中の他の遺伝子には見られないことから、補体系の起源、進化を追求する際に有用な指標となっている。ここでは近年の様々な動物でのゲノム解析データに基づく補体ドメイン探索が明らかにした、補体系の進化の歴史について概説したい。

真の多細胞動物である現生の後生動物は、二胚葉性の刺胞動物と三胚葉性の左右相称動物に大別され、両者間の分岐は6-7億年前とされる。左右相称動物はその後、昆虫等を含む前口動物とウニ等を含む後口動物とに分かれ、後者からは約5億年前に脊椎動物が誕生したと考えられている。我々はゲノム情報を用いて刺胞動物のイソギンチャク、*Nematostella vectensis* から2つのC3、2つのBf、1つのMASP遺伝子を同定し、その全コード領域の塩基配列を決定した¹⁾。また、mRNAの分布を調べたところ、いずれも触手や腸間膜の内胚葉に発現していた。この結果は少なくともC3, Bf, MASPの3成分からなる補体系が刺胞動物と左右相称動物の分岐以前から存在し、胃体腔における防御反応に関わっていたことを示唆した。この基本3点セットは殆どの後口動物に存在し、無顎脊椎動物の段階でIfが追加されることがヤツメウナギの肝臓EST解析及びゲノム解析から明らかになった²⁾。一方、C6はこれらの解析でも確認さ

れず、有顎脊椎動物の段階になって始めてC6遺伝子が創出され、遺伝子重複を経て補体系に溶解経路が加わったことが示唆された。ヤツメウナギの解析結果は、C3/C4, Bf/C2, MASP/C1r, s間の遺伝子重複とそれによる古典経路の獲得も、有顎脊椎動物の共通祖先で生じたことを示した。MHC、リンパ球を主体とする獲得免疫系の成立も有顎脊椎動物の出現初期と考えられており、この時期には脊椎動物の免疫系全体に重大な変化が生じたことになる。一方前口動物では、ショウジョウバエ、センチュウ等のゲノムからは補体遺伝子は完全に失われている。しかしながら近年、イカ、ホタテガイからC3遺伝子が、カブトガニからはC3, Bf遺伝子が確認され、前口動物の少なくとも一部の種には独自の進化を遂げた補体系が存在することが明らかになりつつある。

<参考文献>

- 1) Kimura, A. et al., Immunobiology 214:165 (2009)
- 2) Kimura, A. et al., Dev Comp Immunol 33:77 (2009)

リポ多糖で誘導されるカブトガニの自然免疫ネットワークと補体活性化

川畑俊一郎

九州大学大学院・理学研究院・生物科学部門

The LPS-activated innate immune response network and the complement activation in horseshoe crabs

Shun-ichiro Kawabata

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu Univ., Fukuoka, Japan

グラム陰性菌によりカブトガニ体液が凝固するという現象は、1964年 Levin & Bang により発見され、その反応は、リポ多糖 (LPS) の高感度な検出に用いられてきた。その後、LPS は、凝固反応だけでなく、カブトガニの感染微生物に対する広範囲な自然免疫ネットワークを活性化していることが判明してきた。

カブトガニ血球のほとんどを占める顆粒細胞は、選択的にリポ多糖に反応して、三量体Gタンパク質依存的に多様な生体防御因子を分泌する。これまで、凝固タンパク質、セリンプロテアーゼ前駆体、プロテアーゼ阻害剤セルピン、レクチン、抗菌ペプチド、トランスグルタミナーゼ (TGase) 基質などが同定されている。LPS で誘導される分泌には、顆粒細胞膜上の LPS センサーであるファクターC (凝固カスケードの開始因子でもある) のプロテアーゼ活性が不可欠である。また、開口分泌は、抗菌ペプチドのタキプレシンによる正のフィードバック機構により増強される。リポ多糖や β -1,3-グルカンで惹起される凝固カスケードは、凝固タンパク質の線維化を導くとともに、TGase 基質のプロキシン・スタビリンが凝固タンパク質に架橋され、繊維を安定化する。創傷部位では、外皮下の内皮細胞から分泌された TGase 基質のカラキシンが TGase 依存的にメッシュを形成する。さらに、凝固因子や抗菌ペプチドによりヘモシアニンがフェノール酸化酵素へ変換される。また、侵入した感染微生物は、レクチンに

より認識される。

最近になって、補体活性化の初期過程にも、ファクターCが重要な役割を果たすことが判明した。日本産カブトガニから、C3 のホモログ TtC3 を同定するとともに、血漿中から TtC3 を精製した。血漿と各種細菌を混合すると補体系の活性化に伴い、TtC3b がチオエステル依存的に菌体の表面に結合することがフローサイトメトリーにより判明した。また、補体系の活性化は、微生物の細胞壁成分のうち LPS により最も顕著に誘導された。一方、血漿中には LPS により活性化するセリンプロテアーゼ前駆体である factor C の存在がウエスタンブロットにより確認された。これまで、factor C は LPS を認識し、カブトガニ体液凝固反応の開始因子として機能することが知られていたが、factor C に対する抗体は、LPS による補体系の活性化を阻害した。また、活性化した factor C が直接 TtC3 を切断し、グラム陰性菌表面への TtC3 の結合を促進した。さらに、血漿中では TtC3 と factor C が複合体を形成しており、菌体表面での補体活性化を促進し、効率の良いグラム陰性菌表面への TtC3b の結合を引き起こしていると考えられる。

<参考文献>

- 1) Kawabata, S. et al., *Invertebrate Survival* J 6:59 (2009)
- 2) Ariki, S. et al., *J Immunol* 181: 7994 (2008)

硬骨魚類補体成分の高度な多様化と機能分化

中尾実樹

九州大学大学院・農学研究院・生物機能科学部門

Structural diversity and functional differentiation of the complement components in bony fish

Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu Univ., Fukuoka, Japan

硬骨魚類の補体は、哺乳類と同様に古典経路・第二経路・レクチン経路・溶解経路を備えているが、多くの補体成分が複数のアイソタイプとして存在するという特長をもつ。このように補体成分が高度に多様化した進化的な道筋は必ずしも明らかでないが、(1)真骨魚類の祖先で起こった全ゲノム重複、(2)各魚種で独立してあるいは近縁種の祖先で起こった四倍体化、および(3)それら以外の遺伝子特異的な重複が寄与していると考えられる。

本講演では、染色体の倍数性や分類群に関係なく、幅広い魚種で多重化が認められる補体成分のうち、C4, C7, MBLについて、その構造的な多様性と機能分化に関する研究の現状を紹介する。

C4 アイソタイプ: 我々は、偽四倍体性魚であるコイから2種のC4アイソタイプ (C4-1, C4-2) をクローニングした。ポリペプチド構造、チオエステル部位の存在、および系統発生的データからいずれもC4と同定されたが、アミノ酸レベルで約35%の同一性しか示さない。また、ヒトC4Bと同様に、C4-2はチオエステルの開裂と結合反応を触媒するHis残基を保持するが、これがC4-1ではヒトC4AのようにAspに置換されており、C4-1とC4-2は互いに標的への結合特異性が異なると考えられる。

コイ補体をCa²⁺/Mg²⁺の存在下でzymosanによって活性化すると、C4-1とC4-2の両者からC4a断片が生じたことから、両アイソタイプが古典またはレクチン経路の活性化に関与することが示唆された。一方、両アイソタイプのNTRドメインの組換えタンパクに対する抗体を作成し、感作血球

に対する溶血反応の阻害実験を行ったところ、抗C4-2のみが有為に阻害した。

C7 アイソタイプ: ニジマス、ゼブラフィッシュ、コイなどで2種のアイソタイプ (C7-1, C7-2) がクローニングされている。C5bのNTRドメインとの相互作用部位であるFIMACドメインは、C7-1とC7-2間で約40%のアミノ酸配列同一性しか示さない。したがって両者の溶解経路における機能の違いが示唆されるが、タンパク質レベルでは未検討である。コイにおけるmRNAレベルでの解析によれば、C7-1とC7-2は発現部位に違いが認められる。

MBL ホモログ: 哺乳類のレクチン経路におけるパターン認識分子はMBLとficolin (FCN)であるが、コイやゼブラフィッシュではFCNが見つからず、代わりにMBLとそのホモログであるGalBLが存在する。コイMBLは、そのC-typeレクチンドメインの一次構造から予測されたようにマンノース、N-アセチルグルコサミン、グルコースに特異的であるが、GalBLは単糖レベルでガラクトースに特異的なレクチンとして血清から精製された。コイMBLとGalBLの各種微生物に対する結合特異性を検討したところ、MBLはグラム陰性・陽性細菌、zymosanおよび分裂酵母に結合したが、GalBLは分裂酵母にのみ結合性を示した。

まとめ: 補体成分の多重化の機能的な意義としては、異物認識やエフェクター機能への多様性の賦与が考えられるが、単に必要性の低い付加的なアイソタイプも一部には存在するかもしれない。

補体レクチン経路の分子基盤と系統発生

遠藤雄一、岩城大輔、高橋実、松下操¹⁾、藤田禎三
福島県立医大・医・免疫、¹⁾ 東海大・工・生命化学

Molecular basis and phylogeny of the lectin complement pathway

Yuichi Endo, Daisuke Iwaki, Minoru Takahashi, Misao Matsushita¹⁾, Teizo Fujita

Dept. of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine,

¹⁾ Dept. of Applied Biochemistry, Tokai University

マンノース結合レクチン MBL に結合するセリンプロテアーゼ MASP (MBL-associated serine protease) の発見¹⁾により、第三の補体活性化経路であるレクチン経路の存在が明らかになった。レクチン経路では、認識分子である MBL や Ficolin が侵入微生物などの糖鎖に結合し、その結果、複合体を形成するセリンプロテアーゼ MASP が活性型に転換し、補体系を活性化する²⁾。

[レクチン経路の分子基盤]

レクチン経路で働く MBL (または Ficolin)-MASP 複合体の分子構成と働きは、古典的経路の C1 複合体に類似している。しかし、以下の点で異なり、より多様で複雑である。

- ① 認識分子は MBL と Ficolin の 2 種類が存在し、MASP には MASP-1, -2, -3 の 3 種類が存在する。さらに、ヒトの Ficolin には、L-, M-, H-ficolin の 3 種類が存在する。
- ② 制御因子と考えられる sMAP (MASP-2 の短縮型タンパク) が存在する。
- ③ MASP-2 は C1s と同様に C4, C2 の活性化に働くが、MASP-1 には弱いながら C3 を直接活性化する作用がある。さらに、MASP-1/3 は第二経路の活性化に深く関与し、MASP-1 には D 因子を活性型に転換する活性が見出されている³⁾。

[レクチン経路の系統発生]

哺乳類から原索動物マボヤに至る動物種において、レクチン経路の構成分子の相同分子

を解析した結果、レクチン経路が原索動物以

前に遡る古い系統発生的起源をもつこと、レクチン経路から古典的経路に進化したこと等が明らかになった。

- ① MASP の一次構造・遺伝子構造の解析結果⁴⁾から、MASP/C1r/C1s ファミリーの原型は、マボヤ MASP に遡り、その後の遺伝子重複によって、MASP-1/MASP-3 が生じ、さらに MASP-2 と C1r/C1s が生じた。
- ② MBL および Ficolin の起源は少なくとも、マボヤにまで遡ることができる。C1q はレクチンとして発生し、その起源は円口類ヤツメウナギに遡る⁵⁾。
- ③ MASP-1 が活性化する D 因子の起源は、少なくとも、両生類にまで遡ることができる。さらに、類似の配列は硬骨魚類や節足動物にも報告されているが、真に D 因子かどうか検討が必要である。
- ④ C3 や C4 など基質となる補体の起源は、MASP/C1r/C1s の起源と同調しているようにみえる⁶⁾。

[参考文献]

- 1) Matsushita M, Fujita T *J Exp Med* 176: 1497-1502 (1992).
- 2) Fujita T *Nat Rev Immunol* 2:346-353 (2002).
- 3) Takahashi M et al. 投稿中
- 4) Endo Y et al. *J Immunol* 161:4924-4930 (1998), *J Immunol* 170:4701-4707 (2003).
- 5) Matsushita M et al. *Proc Nat Acad Sci USA* 101:10127-10131 (2004).
- 6) Endo Y et al. *Immunobiology* 211:283-293 (2006).

脊椎動物の補体制御遺伝子座が形成された過程を追う

押海裕之 松本美佐子 瀬谷司

北海道大学大学院医学研究科

Evolution of Regulator of Complement Activation Locus in Vertebrate

Hiroyuki Oshiumi, Misako Matsumoto, Tsukasa Seya

Graduate School of Medicine, Hokkaido University, Hokkaido, Japan

侵入細菌は血液中で速やかに溶菌し、あるいは血球に粘着し脾臓等で除去される。これらの現象は血漿中の C3 を中心とした補体成分による。しかし、補体系は宿主の細胞は攻撃せず、これは、宿主細胞膜上に存在する Membrane Cofactor Protein (MCP) や Decay Accelerating Factor (DAF) によって守られている為である。ヒト第一番染色体の 1q32 に MCP と DAF 遺伝子は存在し、興味深いことに、この染色体領域には他に、補体のレセプターや制御因子として働く C4bp, CR1, CR2 遺伝子が存在しクラスターを形成する。これらの分子は全て SCR ドメインを繰り返し持つという共通構造を持ち、またタンデムに遺伝子が約 1 Mbp の領域に密集して存在することから、共通祖先の補体制御因子が遺伝子重複を繰り返すことで複数の補体制御因子が形成され、1q32 の領域に補体制御遺伝子座 (Regulator of Complement Activation locus) が形成したと考えられている。マウスではこの RCA 遺伝子座が転座を起こし第一番染色体上に二カ所に分裂して存在するが基本構造はヒトと類似している。

我々はヒトの補体制御機構がいつ頃どのように形成され現在の形に至ったのかを知るために、この RCA 遺伝子座の形成過程を調べた。まず、我々は非哺乳類の脊椎動物として初めてニワトリから補体制御因子として Chicken C Regulatory Membrane Protein (Cremp) を単離同定した。驚くことに Cremp はヒトの DAF と MCP のハイブリッドの遺伝子構造を持っていた。そこで、Cremp 周辺の遺伝子を調べたところ、興味深いことに、Cremp の上流には C Regulatory Secretory protein (CRES), C Regulatory GPI-anchor Protein (CREG) 遺伝子が存在しニワトリのマイクロ染色体上に RCA 遺伝子座を形成していた。ヒ

トとニワトリの RCA 遺伝子座の比較から、RCA 遺伝子座は単に遺伝子重複を繰り返すだけでなく、遺伝子間でのドメインシャッフリングを行い複雑に進化していることが明示された。

さらに我々は両生類の RCA 遺伝子座の探索を試みた。我々の研究では、ヒトとニワトリの RCA 遺伝子座は PFKFB2 遺伝子に隣接していたことから、これを指標に調べたところ、アフリカツメガエル (*X. tropilalis*) ゲノム上に Amphibian RCA Protein (ARC) 1, 2, 3 と名付けた三つの補体制御因子を発見した。ARC1-3 の三つの遺伝子はヒトの DAF を起源とした系統を持ち、基本となる 4 つの SCR ドメインの繰り返し構造を持っていた。その進化過程を *in silico* により解明したところ、ヒトやニワトリの RCA とは独自に進化をとげアフリカツメガエル独自の補体制御系を構築していた。つまり、ヒトの補体制御系はその祖先動物が陸に上がったのと前後するように構築されたものと推測される。

魚類のゲノム情報中には補体制御因子が存在するが、一つあるいは二つのみ存在し、ヒトやニワトリのような発達した RCA 遺伝子座は存在しない。我々は無顎魚類のヤツメウナギ (*Lamprey japonica*) から、Lamprey C Regulatory protein (Lacrep) を単離し、もともと下等な脊椎動物にも補体制御因子が存在することを明らかにした。しかし、RCA 遺伝子座が存在する明確な証拠は存在せず、補体制御機構は脊椎動物発生時にまで遡るが、複雑な制御を行う RCA 遺伝子座は両生類以降にのみ存在する。補体制御機構が複雑に進化した理由は明らかでは無いが、おそらく、獲得免疫機構と協調した補体系の古典経路との共進化、あるいは、ウイルス感染による自然淘汰の結果であるものと推測される。

Memo

補体 D 因子前駆体を認識する抗体の作製とそれを用いた解析

高橋 実、岩城大輔、遠藤雄一、藤田禎三
 公立大学法人福島県立医科大学・免疫学講座

Analysis of complement factor D by a polyclonal antibody that recognizes its zymogen-form

Minoru Takahashi, Daisuke Iwaki, Yuichi Endo, Teizo Fujita

Department of Immunology, Fukushima Medical Univ., Fukushima, Japan

<はじめに>

昨年の本シンポジウムで、①補体レクチン経路に関与するプロテアーゼ、MASPs (MBL-associated serine proteases) のうち、MASP-1/3 を欠損したマウス (*Masp1/3^{-/-}*) において補体第二経路にも異常を認められたこと、②*Masp1/3^{-/-}* マウスにおいて血清中の補体 D 因子が前駆体で存在していること、③MASP-1 組み換え体が D 因子の活性化を直接起こすことを報告した。マウス D 因子は野生型マウスにおいて活性型で存在し、N 末端に存在するアクティブペプチド (QPRGR) が切断されている。今回、D 因子前駆体を特異的に認識するポリクローナル抗体を作製し、それを用いて解析を行ったので報告する。

<方法>

アクティブペプチドを含む 15 アミノ酸からなるペプチド QPRGRILGGQEAAAC をウサギに免疫した。得られた抗体を免疫したペプチドのカラムで精製を行った。アクティブペプチド QPRGR を特異的に認識する抗体 (抗 AP/Df) は、さらに ILGGQEAAA ペプチドカラムにかけ、吸着しない素通り分画として精製した。

抗 AP/Df が D 因子前駆体を特異的に認識していることをウエスタンブロット及び ELISA にて確認した。

抗 AP/Df 抗体を用いて、血清中の D 因子の検出と脂肪組織の免疫染色をおこなった。

<結果と考察>

1. 抗 AP/Df は *Masp1/3^{-/-}* マウス血清中の D 因子を認識するが、正常マウスの D 因子はほとんど認識しなかった。
2. 抗 AP/Df はマウス脂肪組織を強く染色した。さらに *Masp1/3^{-/-}* マウスでは毛細血管内も染色されたが、正常マウスでは染色されなかった。
3. 正常マウス脂肪細胞の初代培養液中に抗 AP/Df によって認識される D 因子は、前駆体として経時的に分泌されることがわかった。

抗 AP/Df による解析によって、MASP-1/3 欠損マウスにおいて D 因子前駆体が血中に存在することが、再確認できた。さらに脂肪組織において活性型ではなく、前駆体として分泌されることも明らかとした。抗 AP/Df はヒト D 因子前駆体とも交差し、検出することができることも確認しており、ヒトにおける MASP-1/3 欠損症のスクリーニングなどにも有効であると考えられる。

<参考文献>

- 1) Takahashi et al., J. Immunol. 180: 6132 (2008)

補体第2経路を阻害する CR2-fH は、MRL/*lpr* マウスの自己免疫を調節し、腎炎を改善する

関根英治¹⁾²⁾, Ting Ting Hsieh Kinser²⁾, Philip Ruiz³⁾, Gary Gilkeson²⁾, Stephen Tomlinson²⁾

¹⁾福島県立医科大学免疫学講座, ²⁾米国サウスカロライナ医科大学, ³⁾米国マイアミ大

A targeted inhibitor of the alternative complement pathway, CR2-fH, modulates autoimmunity and ameliorates progression of renal disease in MRL/*lpr* mice

Hideharu Sekine¹⁾²⁾, Ting Ting Hsieh Kinser²⁾, Philip Ruiz³⁾, Gary Gilkeson²⁾, Stephen Tomlinson²⁾

¹⁾Department of Immunology, Fukushima Medical University, Fukushima, Japan, ²⁾Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA, ³⁾University of Miami School of Medicine, Miami, FL, USA

<はじめに>

全身性エリテマトーデス(SLE)の病態において、補体系は炎症を惹起する一方、免疫複合体やアポトーシス細胞のクリアランスを行うなどの二面性を有する。SLEにおいて、古典経路の補体成分の欠損症やMBL欠損症との関連が指摘される一方、第二経路の補体成分 Bf や Df ノックアウトの SLE モデルマウス(MRL/*lpr*)では腎炎が抑制される。そこで、古典経路とレクチン経路を温存し、C3が活性化された部位を標的に第二経路の活性化の阻害を目的とする補体受容体 CR2 と H 因子(fH)との融合蛋白質 CR2-fH と、全補体経路の阻害を目的とする CR2-Crry を作成し、MRL/*lpr* マウスに投与して腎炎の治療効果を検討した。

<方法>

CR2-fH(0.4mg)、CR2-Crry(0.25mg)、CR2 単独(0.18mg、CR2-fH と等モル数)、生理食塩水を蛋白尿が出現する15週齢より週2回、計8週間腹腔内投与し、投与前と開始後2週間毎に血清中抗dsDNA抗体、免疫複合体、尿中アルブミン排泄量をELISAにて測定した。24週齢で屠殺し、腎の蛍光免疫染色と病理学的検討を行った。

<結果と考察>

対照群(生理食塩水)と比較し、1)CR2-fHとCR2-Crry投与群において血清中免疫複合体レベル、糸球体へのC3の沈着、尿中アルブミン排泄量、生存率(CR2-fH投与群のみ)の有意な($p < 0.05$)改善が認められた。2)CR2-fH投与群では、さらに血清中抗dsDNA抗体レベルと腎の病理学的所見の改善が認められた。3)CR2単独投与群でも有意な血清中抗dsDNA抗体と免疫複合体レベル、糸球体C3沈着の改善が認められたが、尿中アルブミン排泄量や生存率の改善は認められなかった。

<結語>

1)CR2-fH投与による補体第二経路の阻害はSLEモデルMRL/*lpr*マウスにおける腎炎の治療に有効で、CR2-Crryを用いた全補体経路を阻害する治療よりも効果的だった。2)CR2単独投与群では、腎炎と生存率は改善されなかったが免疫血清学的な改善が認められたことから、CR2による自己免疫の抑制効果が示唆された。

<参考文献>

1) Huang, Y. et al. A novel targeted inhibitor of the alternative pathway of complement and its therapeutic application in ischemia/reperfusion injury. *J Immunol* 181: 8068 (2008)

2) Atkinson, C. et al. Low-dose targeted complement inhibition protects against renal disease and other manifestations of autoimmune disease in MRL/lpr mice. *J Immunol* 180: 1231 (2008)

腫瘍細胞上の補体制御因子による T 細胞応答の制御

今井優樹^{1,2)}, Varela JC²⁾, Atkinson C²⁾, 太田里永子^{1,2)}, 岡田則子¹⁾, Rapisardo M²⁾, Tomlinson²⁾
 名市大院・医¹⁾ サウスカロライナ医科大²⁾

Modulation of protective T cell immunity by complement inhibitor expression on tumor cells.

Imai M, Varela JC, Atkinson C, Ohta R, Rapisardo M, Tomlinson S.

¹⁾ Department of Immunology, Nagoya City University, Nagoya, Japan ²⁾ Department of Microbiology and Immunology, Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA.

〈はじめに〉

癌細胞の上に発現している補体制御因子は腫瘍関連抗原に対する宿主の免疫応答を潜在的に調整している可能性がある。今回、我々は腫瘍細胞上補体制御因子を、siRNA を用いて発現低下させることにより、抗体免疫療法の効果に影響を与えるかどうかを、マウスモデルを用いて検討した。また、腫瘍細胞上補体制御因子の発現低下により、誘導される獲得免疫への影響も併せて検討した。

〈方法〉

1) 細胞は C57BL/6 由来のマウス膀胱癌細胞 MB49 を用いた。MB49 細胞はヒト腫瘍関連抗原である MUC1 及び/またはマウス補体膜制御因子である Crry の発現を抑制する siRNA を遺伝子導入し、併せて 4 種の MB49 細胞 (①MB49/Crry^{normal}, ②MB49/MUC1+/Crry^{normal}, ③MB49/Crry^{low} ④MB49/MUC1+/Crry^{low}) を作製した。各抗原の発現レベルはフローサイトメーターを用いて確認した。マウスは C57BL/6 バックグラウンドの MUC1 トランスジェニックマウス及び C3 欠損マウスを用いた。

2) マウス膀胱癌転移モデルは 5×10^5 の細胞をマウス尾静脈から注射した。抗体療法群は、腫瘍細胞免疫後、1 日目と 3 日後に抗 MUC1 抗体 BCP8 を注射した。

3) T 細胞応答は脾臓細胞からの IFN- γ 産生を ELISPOT 法で測定した。

〈結果と考察〉

Crry の発現を抑制する siRNA を遺伝子導入した MB49 細胞は、Crry の発現を 90% 以上減弱させた。抗 MUC1 抗体 BCP8 存在下の補体感受性を比較検討した結果、MB49/MUC1+/Crry^{low} は MB49/MUC1+/Crry^{normal} よりも補体感受性が著しく増大した。次にマウス同種同系モデルを用いて BCP8 抗体免疫療法による Crry の効果を検討した結果、MB49/MUC1+/Crry^{low} は MB49/MUC1+/Crry^{normal} よりも有意に生存期間が延長した。しかしながら、MB49/MUC1+/Crry^{normal} を移植した群は、BCP8 抗体を投与した群とコントロールとして PBS を投与した群間では違いが見られなかったが、MB49/MUC1+/Crry^{low} も同様に BCP8 抗体を投与した群とコントロール群間では違いが見られなかった。すなわち、このモデルの生存期間の延長は抗体療法によるものではなく、腫瘍細胞上 Crry の発現量の違いによる現象であることを示している。また、各群の脾臓細胞を採取し、ELISPOT 法で IFN- γ 産生細胞数を比較した結果、MB49/Crry^{low} は MB49/Crry^{normal} よりも有意に高値を示し、MB49/MUC1+/Crry^{low} 処置群の生存期間の延長は T 細胞の関与が示唆された。これらのデータより腫瘍細胞上の補体制御因子が T 細胞応答を抑制しているため、腫瘍細胞上の補体制御因子の発現ダウンレギュレートすることによって補体活性化を誘導することにより、T 細胞応答を促進できる可能性が示唆された。

Zymosan による増殖性腹膜炎ラットモデルの作成と

補体治療の可能性

水野正司^{1,2)}、伊藤恭彦^{1,2)}、Natalie Hepburn³⁾、湯澤由紀夫²⁾、Claire L. Harris³⁾、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⁾、カーディフ大学医学部医学生化学&免疫学
講座³⁾

Zymosan triggers sever and progressive peritoneal injury accompanied by complement activation in a rat
peritonitis model and pitfall of anti-compliment therapy.

Masashi Mizuno^{1,2)}, Natalie Hepburn³⁾, Yukio Yuzawa²⁾, Claire L. Harris³⁾, B. Paul Morgan³⁾, Seiichi
Matsuo²⁾

Renal Replacement Therapy¹⁾ & Dept. of Nephrology²⁾, Internal Medicine, Nagoya University Graduate
School of Medicine, Nagoya, Japan, Medical Biochemistry & Immunology, School of Medicine Cardiff
University, Cardiff, UK³⁾.

[はじめに]

腹膜透析(PD)の致死合併症の一つに腹膜硬化症(EPs)がある。長期 PD 施行や反復性腹膜炎が原因の一つと考えられており¹⁾、腹膜の増殖性変化や線維化といった病理的变化を認める。炎症が機序の主体であると思われるが、その病態は未だ不明な点が多く、治療法についても卓越した技術を持つ術者による手術以外に確立した治療法は無い。

臨床的に予後の悪い腹膜炎の一つに、真菌性腹膜炎がある。これは EPs に陥る誘因の一つとも考えられている。真菌成分の Zymosan が補体を活性化することも知られている。補体活性化系は、様々な炎症に関与しており、EPs 発症にも関与している可能性がある。また、この前駆病態と考えられている慢性腹膜変化をもたらす理想的動物モデルがほとんど存在しない。今回我々は、慢性かつ進行性の新たな腹膜炎モデルを作成し、腹膜慢性炎症

進展への補体活性化の関与と抗補体療法の可能性について検討を行った。

[方法]

1. PD 患者の物理的腹膜障害に疑似的な、一過性の腹膜炎と軽い線維化を生じるラット腹膜擦過モデル(control 群)²⁾に Zymosan を、PD 液とともに 5 日間投与(Zymosan 投与群)して、高度の慢性炎症性腹膜炎モデルを作成した³⁾。

2. 上記モデルについて、経時的に腹膜の厚さ、炎症細胞数、C3 および MAC(C5b-9)の沈着を調べた。

3. 腹膜上の膜補体制御因子の分布の変化を調べた。

4. 上記モデルについて、腹膜障害に補体活性化が関与しているか、調べるために、CVF で全身の補体抑制し、Zymosan を投与を行い、腹膜の肥厚、浸潤細胞、補体の沈着を観察し

た。

5. 局所補体活性化の抑制効果を調べるために、sCR1、または半減期の長い Crry-Ig を腹腔内に投与し、その効果を検討した。

[結果]

1. Control 群では Day5 をピークに炎症は治まっていたが、Zymosan 投与群で、肉眼的、組織学的に、Day36 まで、腹膜の炎症の継続と腹膜の肥厚を観察した。

2. Zymosan 投与群で炎症細胞浸潤は、control に比べて Day5 以降有意に増加し、Day36 においても持続していた。

3. C3、MAC 沈着も control では Day3 ではほとんど認めなくなるが、Zymosan 投与群では Day36 でも沈着を認めた。

4. 膜補体制御因子の発現について、control 群では Day5 で発現パターンが untreated rat のレベルに回復しているのに対し、Zymosan 投与群では、腹膜に集積した浸潤細胞に制御因子の強い発現が認められた。

5. CVF で全身補体を抑制した場合、Zymosan 投与群において、有意に腹膜の炎症が抑制された。

6. 補体の局所抑制効果については、Crry-Ig、sCR1 共に組織障害の抑制が認められたが、Crry-Ig の方がより抑制される傾向が示された。

[考案]

PD 患者における、物理的腹膜障害を想定した腹膜擦過モデルについて、Zymosan を短期間投与することにより、腹膜の炎症が慢性的、進行性に変化し、これは、他の microorganism の成分である LPS との比較して、著しく高度な変化であり、臨床的に真菌感染症でより予

後が悪いことを示唆すると思われる。補体の活性化がこの病態に関わっていると同時に、抗補体療法が今後、腹膜障害に対して、予防的・治療的に役立つ可能性が示唆された。

[文献]

1) Kawanishi H. et al., *Peritoneal. Dial. Int.* 25:S14 (2005)

2) Nishimura H. et al., *Am. J. Physiol.* 294:F1084 (2008)

3) Mizuno M. et al., *J. Immunol.* (in press, 2009)

補体 C5a レセプター下流 Find-Me シグナル伝達経路

西浦 弘志、山本 哲郎
熊本大学大学院医学薬学研究部分子病理分野

Find-Me Signal Transduction Pathway Downstream of C5a Receptor

Hiroshi Nishiura, Tetsuro Yamamoto

Dept. of Mol. Pathol., Faculty of Med. and Pharm. Sci., Kumamoto Univ., Kumamoto, Japan

【はじめに】

細胞は、周囲環境に対応するために、G タンパク質介在性レセプターから情報を収集する[A]。その1例として、我々は、単球・マクロファージが、アポトーシス細胞を発見するために、アポトーシス細胞由来の Find-Me 因子の1つであるリボソーム蛋白質 S19(RPS19)二量体という分子情報を補体 C5a レセプター(C5aR)によって収集し、細胞走化シグナルへ変換していることを示した[B]。近年、補体 C5a に RPS19 二量体の機能領域を連結させた Find-Me 因子機能性類似体 C5a/RPS19 を調製し[C]、肥満細胞株 HMC-1 上 C5aR が、単球・マクロファージ上 C5aR と同様の変換作用を持つことを発見した。従って、今回、この実験系で誘導された変換機構と細胞内シグナル経路を、分子生物学的に解析した。

【方法】HMC-1 細胞内シグナル伝達の過程を、ウエスタン法で辿り、薬理的阻害剤にて確認した。また、細胞内シグナルが惹起する生物学的反応は、細胞内カルシウム測定およびケモタキシス法にて確認した。

【結果】

C5a/RPS19 は、C5a と比較して、僅かではあるが C5aR への結合能が優れていた。高いリガンド/リセプター結合様式は、通常は解放されている Gi タンパク質依存性経路を閉鎖し、逆に、通常は抑制されている Gi タンパク質依存性 p38MAPK 経路を解放した。新しい p38MAPK 経路は、細胞外カルシウムを導入することで、細胞走化を惹起した。このシグナル伝達機構は、単球・マクロファージにおいてより高く発達していた。

【考察】単球・マクロファージは、RPS19 二量体と

いうアポトーシス情報を、C5aR を介して察知し、通常は抑制されている Gi タンパク質依存性 p38MAPK 経路を解放することで細胞外カルシウム導入依存性に細胞走化反応へと変換し、アポトーシス細胞を発見する。

【文献】

- [A] Nishiura H. Lab Invest. 2009; 89: 676-694.
- [B] Horino K. Lab Invest 1998; 78: 603-617.
- [C] Oda Y. J Biochem 2008; 144: 371-381.

血漿の S19 リボソームタンパク質様分子の二量体化と単球 C5a レセプターの

凝血塊吸収における役割

太田宜彦、千場梅子、謹 俊、西浦弘志、山本哲郎
熊本大学大学院医学薬学研究部分子病理学分野

Roles of dimerization of ribosomal protein S19-like molecule in plasma and monocyte C5a receptor
in coagulum resorption

Department of Molecular Pathology, Faculty of Medical and Pharmaceutical Sciences,
Kumamoto University Graduate School

<はじめに>

細胞がアポトーシスに陥ると S19 リボソームタンパク質(RP S19)が細胞内トランスグルタミナーゼの作用で架橋二量体化されて C5a レセプターに対するリガンド能を獲得し、細胞外に遊離されて単球/マクロファージを動員してアポトーシス細胞を処理させる。最近、ヒトおよびモルモットの正常血漿中に RP S19 と区別できない分子が存在することを見出したので、凝血塊形成の過程で血漿トランスグルタミナーゼ(活性型凝固 XIII 因子)の作用で二量体化されて単球/マクロファージを動員し、凝血塊を貪食処理させるのではないかと考え、*in vitro* および *in vivo* の実験でそれを検証した。

<方法>

ヒトおよびモルモット血液から血漿と血清を調製し、単球及び多核球に対する走化活性を比較した。走化活性は、ヒト末梢血より分離した白血球並びにモルモット腹腔浸潤白血球を用いたマイクロウェルチャンバー法により測定した。モルモット血をガラスチューブ内で凝血させたものを腹腔内に挿入し、経日的に回収して、重量測定により吸収状態を観察するとともに、白血球浸潤の状態を組織学的および超微形態学的に観察した。

<結果と考察>

1. 血液由来血清および富血小板血漿由来血清にのみ単球/マクロファージに対する走化性が認められた。凝固 XIII 因子欠損血漿由来の血清には走化性は認められなかった。その単球走化活性は、C5a レセプター・アンタゴニストで抑制された。また、多核球には走化性を示さず、逆に、C5a による走化を抑制した。抗 RP S19 抗体を用いたウエスタン・ブロッティングにおいて、血漿に RP S19 と同じ分子量に相当するバンドが、また、血清にはその二倍の分子量のバンドが認められた。

2. モルモット腹腔内の凝血塊は、24 時間後には浸潤した単球/マクロファージにより完全に被覆された。また、単球/マクロファージの一部は凝血塊内にも浸潤し、赤血球の盛んな貪食が認められた。凝血塊は、挿入 7 日目までには完全に吸収された。抗 RP S19 抗体あるいは変異型 RP S19 の共存下で調製した凝血塊を挿入した場合には、単球/マクロファージの浸潤も凝血塊の吸収も有意に抑制された。

以上より、正常血漿中には RP S19 様の分子が存在し、血液凝固の過程で活性型 XIII 因子の作用で二量体化されて C5a レセプターに対するリガンド能を獲得し、単球を特異的に浸潤させて凝血塊の貪食処理をもたらすことが明らかとなった。この系は、血管内血栓の処理にも寄与していると思われる。

ドメイン欠損 CL-P1 のリガンド結合解析

森 健一郎¹、大谷 克城¹、張 成宰¹、金 然旭²、本村 亘¹、孫 啓輝¹、吉田 逸朗¹、鈴木 定彦³、
若宮 伸隆¹

¹旭川医科大学・医・微生物学、²鮮文大学・医生命科学、

³北海道大学・人獣共通感染症リサーチセンター

Ligand binding domain of collectin CL-P1

Kenichiro Mori¹, Katsuki Ohtani¹, SeongJae Jang¹, YounUck Kim², Wataru Motomura¹, QiHui Sun¹,

Itsuro Yoshida¹, Yasuhiko Suzuki³, Nobutaka Wakamiya¹

¹Department of Microbiology, Asahikawa Medical College, Asahikawa, Japan

²Department of Biomedical Science, SunMoon Univ., Asan, Korea

³Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido Univ., Sapporo, Japan

<はじめに>

コレクチン CL-P1 は、コラーゲン様構造を有する C 型レクチンのスーパーファミリーで、2 型膜貫通タンパク質として 3 量体を形成すると推測される。解析が進んでいる分泌型コレクチン MBL は、その糖認識領域で細菌などの外膜糖鎖構造を認識し、異物排除に関与すると考えられている。一方 CL-P1 は、変性 LDL (酸化 LDL) と結合することでスカベンジャー受容体の機能を有し、また、酵母、大腸菌、黄色ブドウ球菌などと結合することで、生体防御に直接的に関わると推測されている^{1) 2)}。近年の膜型レクチンやスカベンジャー受容体の結晶解析では、糖認識領域が多量体構造をとり、立体的に糖鎖や変性 LDL などのリガンドと結合することが明らかとなっている。CL-P1 は複数の結合候補ドメインを有するが、多様なリガンドとの結合が、どの領域において担われているかについては明らかになっていない。

<方法>

今回、CL-P1 の各ドメイン (コイルドコイル、コラーゲン様、ネック、糖認識領域) の欠失体を CHO 細胞を用いて発現させ、蛍光標識した酸化 LDL、真菌

(zymosan)、グラム陰性菌 (E. coli)、グラム陽性菌 (S. aureus)、糖鎖抗原 (Lewis^x) について細胞レベルでの結合解析を行った。

<結果と考察>

酸化 LDL はコイルドコイル領域とコラーゲン様領域の両領域がその結合に不可欠であることが明らかになった。一方、zymosan、E. coli、S. aureus などの真菌、細菌はコラーゲン様領域の有無で結合に有意な差が出たことから、これらの結合にはコラーゲン様領域が重要であることが示唆された。また、zymosan においてコイルドコイル領域が欠失すると結合が増大することから、コイルドコイル領域が真菌との結合に阻害的に働いていることが予想された。本来、PAMPs (pattern-associated molecular patterns) 認識領域と考えられていた糖認識領域は、その欠損の有無で真菌、細菌との結合に有意な差が認められず、本領域が結合に特に関与しないことが示唆された。糖鎖抗原である Lewis^x は、糖認識領域が欠失した CL-P1 と全く結合しないことから、本糖認識領域が糖鎖との結合に機能していることが明らかになった。

今回、CL-P1 分子の多様なリガンドに対する結合に関与する機能ドメインが明らかになった。

<参考文献>

1) Ohtani, K. et al., J Biol Chem 276:44222 (2001)

2) Jang, S. et al., J Biol Chem 284:3956 (2009)

乳酸は Th1/Th17 バランスを Th17 細胞側に傾ける

藪政彦¹、志馬寛明^{1,2}、赤澤隆¹、井上徳光¹

¹大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学部門、²北海道大学大学院医学研究科・感染症制御学分野

Lactic acid alters Th1/Th17 balance to Th17 cells

Masahiko Yabu¹, Hiroaki Shime^{1,2}, Takashi Akazawa¹, Norimitsu Inoue¹

¹Department of Molecular Genetics, Osaka Medical Center for Cancer, Osaka, Japan、

²Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University

〈はじめに〉

癌局所では補体活性化を初め、慢性炎症が誘導されていることが知られている。我々は、癌周囲に炎症を引き起こす分子メカニズムを解明する目的で、炎症誘導に関わるサイトカイン、IL-23 の p19 サブユニットの発現を増強する因子として、癌細胞株培養上清より乳酸を同定した¹⁾。IL-23 は p19 と、IL-12 と共通のサブユニット p40 とからなるヘテロダイマーであり、TLR リガンド刺激により樹状細胞やマクロファージから分泌される。MHC class II に提示された OVA ペプチドを抗原として特異的に認識する OT-II トランスジェニックマウス脾細胞を、乳酸存在下で OVA と TLR リガンドで刺激すると、IL-23 を介して IL-17 産生が増強された。興味深いことに、TLR リガンド非存在下でもこの増強作用が認められた。本研究では、この IL-23/IL-17 経路活性化に関わる細胞や分子の解析を行ったので報告する。

〈方法〉

C57BL/6 または OT-II トランジェニックマウス脾細胞からそれぞれ、抗原提示細胞、CD4⁺T 細胞を MACS にて分離して混合し、OVA ペプチドを加えて培養し、サイトカイン遺伝子 mRNA 量をリアルタイム PCR、IL-17 分泌量を ELISA にて測定した。また、ナイーブ CD4⁺T 細胞を MACS にて分離し、IL-6・TGF- β 存在下で抗 CD3、CD28 抗体で刺激した細胞を IL-17 産生 CD4⁺T (Th17) 細胞として用いた。さらにサイトカインや共刺激分子の関与を調べるため、抗 IL-12/23p40 抗体、抗 IL-23p19 抗体、抗 CD40 リガンド(CD40L)抗体を中和抗体として

用いた。

〈結果と考察〉

どの細胞が乳酸による IL-17 産生増強に関与するか調べるために、脾細胞を分画すると、CD11b⁺、F4/80⁺両方の分画で最も強い増強活性を示した。また骨髄由来 macrophage にも同様の活性が認められた。一方、CD4⁺T 細胞を naïve と memory T 細胞とに分画すると、増強活性は memory T 細胞で強く認められた。これらの結果から、乳酸は macrophage に作用し、memory T 細胞の抗原刺激依存的な IL-17 産生を増強することが示唆された。抗原提示細胞・T 細胞間相互作用における様々な分子の関与を、抗体による阻害実験により検討すると、乳酸による増強作用は抗 IL-12/23p40、抗 IL-23p19、抗 CD40L 抗体により抑制され、これらの分子が関与することが示唆された。しかし、抗 CD40L 抗体による IL-23p19 の mRNA 量には変化はなく、IL-23p19 の発現には別経路が関与することが示された。また、Th17 細胞への分化には、乳酸は関与しないことがわかった。さらに、IL-17 産生量の上昇が産生細胞の割合の増加によるか調べるために、細胞内 FACS で検討すると、乳酸存在下では IFN- γ 、IL-17 産生細胞の増殖は共に抑制されたが、IL-17 産生 T 細胞の割合、そして IL-17 の発現量は増加した。今後、IL-23p19 の転写が誘導されるメカニズムを明らかにしていきたいと考えている。

〈参考文献〉

1) Shime, H. et al., J Immunol 180: 7175 (2008)

樹状細胞 TLR3 の誘導する NK 細胞活性化の分子機構

海老原敬、松本美佐子、瀬谷 司

北海道大学大学院医学研究科免疫学分野

How dendritic cell drives activated NK cells?

Takashi Ebihara, Misako Matsumoto, Tsukasa Seya

Department of Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University

<はじめに>

樹状細胞 (myeloid DC, mDC) はどういう機構で NK を誘導して抗がん活性を発揮するのであろうか? 急性期の感染症は樹状細胞のパターン認識レセプターを介してインターフェロンや炎症性サイトカインを誘導するが、mDC が細胞性免疫の起動を如何に行うかは感染症においても未解明の問題である。演者らはウイルスのパターン分子 (RNA duplex) と mDC の認識レセプター, Toll-like receptor3 (TLR3) の相互応答から NK の活性化が起動する分子経路を解明してきた。mDC 依存性 NK 活性化担当分子を同定したので報告する。

<結果と考察>

RNA duplex (2重鎖 RNA) を mDC に加えると NK 活性化を *in vitro* で再現できる。この系において wild-type mDC を TICAM-1^{-/-} mDC に置き換えると NK 活性化は大幅に減弱する。TICAM-1 (TRIF) は TLR3 のアダプター分子なので、RNA は RIG-I などの細胞質センサーではなく主に TLR3 経路で NK 活性化をドライブしていると解釈される。TICAM-1 下流の転写因子は IRF-3 と IRF-7 である。それぞれの欠損マウス mDC を用いると IRF-3^{-/-} mDC だけで NK 活性化が減衰した。

また、IRF-3^{+/+} mDC でも NK との接着を妨げる transwell で NK 活性化は起こらなかった。このことは IRF-3 誘導性の膜分子が mDC の NK 活性化を誘起していることを物語る。そこで候補分子を genechip 解析などから抽出して Lentivirus の発現系を用いて TICAM-1^{-/-}mDC (または IRF-3^{-/-}mDC) に発現させ、NK 活性化能を回復する分子を同定した。4 回膜貫通型の細胞表面発現分子 (INAM) を mDC の NK 活性化分子と同定できた。この分子は未刺激 mDC には発現しておらず、polyI:C 成熟化 mDC に発現誘導が起こり mDC-NK の細胞接着により NK を活性化する。INAM 発現 mDC を担がんマウスに養子免疫するとがんは NK 依存性に退縮した。確認のため IRF-3^{-/-} の mDC に Lentivector で INAM を発現させた mDC でもがん退縮が観察された。INAM は NK にも高発現しており、mDC-NK の reciprocal activation を支える分子と判明した。その分子誘導と機能について検証を行っている。

<文献>

- 1) Ebihara, T. et al., Hepatology 48: 48 (2008)
- 2) Oshiumi, H. et al., J. Biol. Chem. 284: 807 (2009)
- 3) Ebihara, T. et al., Identification of INAM, a polyI:C-inducible membrane protein, that

participates in dendritic cell-mediated
natural killer cell activation. (submitted)
(2009)

抗体および補体によるネクロシス細胞に対する免疫応答の調節

若狭健太郎、志馬寛明、松本美佐子、瀬谷 司

北海道大学大学院医学研究科免疫学分野

Antibodies and complement modulate the immune response to necrotic cells

Kentaro Wakasa, Hiroaki Shime, Misako Matsumoto, Tsukasa Seya

Department of Microbiology and Immunology,

Hokkaido University Graduate School of Medicine

<はじめに>

ネクロシス細胞の異常蓄積は、慢性炎症や自己抗体の産生を誘導し、慢性炎症性疾患や自己免疫疾患の一因となる。したがって、ネクロシス細胞に対する免疫応答は、単に不要細胞の除去のみならず様々な疾患の病態に深くかかわっていると考えられる。上記のような慢性炎症性疾患や自己免疫疾患、あるいは悪性腫瘍などでは、自己抗体の産生やそれに伴う補体の活性化が起こる。しかし、それらの自己抗体や補体が、ネクロシス細胞に対する免疫応答にどのように関わっているかはよくわかっていない。今回我々は、貪食細胞のネクロシス細胞に対する免疫応答において、自己抗体や補体が、その貪食効率やサイトカイン産生にどのような影響を与えているのかを検討した。

<方法>

樹状細胞のネクロシス細胞に対する貪食効率をフローサイトメトリーを用いて、また樹状細胞からのサイトカイン産生を ELISA を用いて測定した。ネクロシス細胞は、ヒト成人性 T 細胞性白血病の cell line である MT1 細胞を、熱刺激および Anti-Fas 抗体による刺激でネクロシスを誘導することで得た。自己抗体は、ネクロシス MT1 細胞を免疫したマウスから hybridoma を作成し、その培養上清から得た。ネクロシス細胞を

hybridoma 上清やマウス血清に懸濁し、自己抗体や補体を結合・沈着させた。ネクロシス細胞への自己抗体の結合や補体の沈着はフローサイトメトリーにて確認した。マウス骨髄細胞から GM-CSF 刺激下で誘導した樹状細胞と、蛍光色素で標識したネクロシス細胞を、24 時間共培養した後に細胞および培養上清を回収し、ネクロシス細胞への自己抗体や補体の結合・沈着が、貪食効率やサイトカイン産生に与える影響を検討した。

<結果と考察>

樹状細胞とネクロシス細胞を共培養させた場合、ネクロシス細胞の貪食と炎症性サイトカインである IL-6 の産生がみられた。自己抗体や補体はその貪食効率に影響を与えなかったが、IL-6 の産生は増強した。以上の結果より、ネクロシス細胞に結合した抗体や補体は、貪食細胞を活性化することで炎症を誘導することが示唆された。現在、他の貪食細胞でも抗体や補体による IL-6 産生増強がみられるかどうか検討中である。近年、Th 細胞の新たなサブセットとして Th17 細胞が注目されているが、IL-6 はこの Th17 細胞の分化誘導に必須のサイトカインである。現在我々は、ネクロシス細胞を貪食した貪食細胞による IL-6 産生が Th17 の分化誘導を調節しているかどうか検討中である。

カプトガニ体液凝固因子 Factor G の β -1,3-D-グルカン認識モジュールと 土壌細菌 *Cellvibrio mixtus* の糖鎖認識モジュールとの構造類似性

植田 祐生¹、大和田 修平¹、阿部 義人²、柴田 俊生¹、飯島 学¹、吉光 由希子¹

中田 宗宏³、植田 正²、小柴 琢己^{1,4}、川畑 俊一郎^{1,4}

¹九大院・システム生命 ²九大院・薬 ³東海大・応用生化学 ⁴九大院・理

Factor G utilizes a carbohydrate-binding cleft that is conserved between horseshoe crab and bacteria
for the recognition of β -glucans

Ueda Yuki¹、Ohwada Shuhei¹、Abe Yoshito²、Shibata Toshio¹、Iijima Manabu¹、Yoshimitsu Yukiko¹

Nakata Munehiro³、Ueda Tadashi²、Koshiha Takumi^{1,4}、Shun-ichiro Kawabata^{1,4}

¹Graduate School of Systems Life Sciences, Kyushu University, ²Graduate School of Pharmaceutical Sciences,

Kyushu University, ³Department of Applied Biochemistry, Tokai University,

⁴Faculty of Sciences, Kyushu University

[はじめに]

自然免疫系で働くタンパク質は、感染微生物に特有の分子パターンを認識することで、自己-非自己を区別し、速やかに異物の排除をおこなっている。カプトガニFactor Gは、真菌の表層成分である β -1,3-D-グルカンによって活性化し、体液凝固を開始するセリンプロテアーゼ前駆体である。Factor Gは、ふたつのサブユニット (α 、 β) によって構成されている。これまでの研究で、 α サブユニットのC末端のキシラナーゼZ様モジュールの二回繰り返し部位 (Z1、Z2) によって、 β -1,3-D-グルカンを認識することが判明している。また、Z1およびZ2は、土壌細菌*Cellvibrio mixtus*由来のエンドグルカナーゼ5Aのセルロース結合モジュール (CmCBM6) と相同性があり、すでにCmCBM6は、リガンドとの共結晶構造が判明している。今回、NMRを用いてZ2のリガンド結合部位を特定した。

[方法]

β -1,3-D-グルカン認識機構を詳細に解明するため、Z1、Z2モジュールの組み換えタンパク質を調製し、不溶性の β -1,3-D-グルカンであるカードラン、可溶性の β -1,3-D-グルカンであるラミナリン、およびラミナリオリゴ糖に対する親和性を詳細に調べた。さらに、NMRを用いてラミナリペンタオースとの相互作用を解析した。

[結果と考察]

Factor GのキシラナーゼZ様モジュールは、繰り返し構造をとることで、その単独モジュールと比較して、カードランに対して高い親和性を獲得していることが明らかとなった。また、CmCBM6には、2種のリガンド結合部位 (Cleft AとCleft B) が存在するが、Z2はCleft Bに相当する部位で、ラミナリペンタオースを認識していた。したがって、 β -1,3-D-グルカン認識に必須の構造様式は、細菌とカプトガニ間で保存されていることが判明した。

チオエステル含有タンパク質の進化と起源

藤戸尚子、杉本早苗、野中勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Ancient origin and gene duplications of the thioester-containing protein (TEP) genes

Naoko Fujito, Sanae Sugimoto and Masaru Nonaka

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

<はじめに>

補体系における C3 の機能的な重要性から、補体系の進化は C3 の出現に端を発すると考えられる。C3 はチオエステル含有タンパク質 (TEP) ファミリーに属するが、このファミリーはヒトゲノムにおいては、C3、C4、C5 の他、非補体成分である alpha2-macroglobulin (A2M)、CD109、PZP、CPAMD8 の 7 つのメンバーから構成される。これらの遺伝子は基本構造を共有しており、共通の祖先分子の遺伝子重複により生じたものと考えられている。しかし、それら相互の系統関係は未だ明確ではない。近年、刺胞動物のサンゴから C3 様の分子が報告され¹⁾、C3 が非常に古い起源をもつことが明らかにされた。しかし、刺胞動物における他の TEP 遺伝子の有無については情報が得られていないため、TEP 遺伝子の進化過程は依然として謎のままである。本研究では C3 を含む TEP 遺伝子の起源と進化過程を明らかにするため、刺胞動物タテジマイソギンチャク (*Haliplanella lineata*) を用いて TEP 遺伝子の単離を行った。

<方法>

既知の他動物のアミノ酸配列をもとに、TEP 遺伝子間で保存されるチオエステル結合領域に縮退プライマーを作成した。これを用いてイソギンチャクの totalRNA から RT-PCR を行ったところ、TEP 遺伝子の部分配列 4 種が得られた。イソギンチャクの cDNA ライブラリを作成し、これらの部分配列をプローブに用いたスク

リーニング、及び 5'-、3'-RACE 法により、これらの遺伝子の cDNA 全長の塩基配列を決定した。得られた各遺伝子について *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、発現パターンを解析した。

<結果と考察>

イソギンチャクから単離された 4 種の TEP 遺伝子と、既知の TEP 遺伝子のアミノ酸配列を用いた系統解析により、TEP ファミリーは C3 サブファミリーと A2M サブファミリーに大別されることが明らかになった。イソギンチャクの 4 つの TEP 遺伝子のうち、2 つはヒト C3 と相同性が高く、HaliC3-1 及び HaliC3-2 と名付けた。残る 2 つは A2M サブファミリーに属し、各々ヒトの A2M 及び CD109 と高い相同性が見られたことから、HaliA2M、HaliCD109 と名付けた。これら 4 つの TEP 遺伝子は、脊椎動物の C3 には存在するが A2M には存在しないいくつかの構造上の特徴を共有し、脊椎動物の A2M で構造的な特化が生じたことが示された。又、*in situ* ハイブリダイゼーションの結果、各々が異なる発現パターンを示すことが明らかとなった。以上より TEP ファミリーの代表的な遺伝子である C3、A2M、CD109 間の遺伝子重複、及びそれに続く機能分化は、刺胞動物と左右相称動物の分岐以前に起きていたことが示された。

<参考文献>

1) Dishaw, L. J. et al., Immunogenetics 57: 535 (2005)

魚類 C3 アイソタイプの生体防御における機能分化

一木智子、鶴木（加藤）陽子、杣本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

Functional differentiation of complement C3 isotypes in the teleost immune defense

Satoko Ichiki, Yoko Kato-Unoki, Tomonori Somamoto, Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology, Kyushu University, Japan

[はじめに]

補体系の中心成分である C3 は活性化されると異物に共有結合し、溶解経路の活性化による標的細胞の破壊、貪食細胞から異物が認識されやすくなるオプソニン化など、様々な生体防御活性を誘導する。ヒトを含め、補体系を備えるすべての生物が持つ C3 は、異物への結合反応が分子内ヒスチジン残基によって触媒される His タイプである¹⁾。

一方硬骨魚類の補体系には、複数の C3 アイソフォームが存在し^{2,4)}、通常の His タイプ C3 に加え、触媒性 His が他のアミノ酸に置換した non-His タイプ C3 が含まれることが報告されている。

コイでは、5 つの C3 アイソタイプが同定されており、そのうち、His タイプの C3-H1 と non-His タイプの C3-S はコイ血清中に主要なアイソタイプとして存在している。本研究では、これら 2 種の主要なコイ C3 アイソタイプの生体防御における機能的な違いを明らかとすることを目的とし、それぞれのアイソタイプを特異的に識別するモノクローナル抗体（以下 MAb と略す。）を用いて、C3 の異物への結合能と溶解経路活性化能に着目した機能解析を行った。

[方法]

1) 補体活性化物質 [ウサギ赤血球、感作ヒツジ赤血球、パン酵母、酵母マンナン、リゾチウム免疫複合体（卵白リゾチウムに抗リゾチウムコイ IgM を感作させて作製）] をコイ血清と反応させ、沈着した C3b アイソタイプを、それぞれ MAb を用いて Flow cytometry、ELISA 等により検出した。また典型的なグラム陽性/陰性細菌 (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) や魚病細菌 (*Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Edwardsiella tarda*) を紫外線照射した死菌を用意し、それぞれに対する C3b アイソタイプの結合を、MAb を用いた Flow cytometry により解析した。

2) コイ血清と様々な濃度の抗 C3-S、抗 C3-H1 もしくはマウスコントロール抗体をあらかじめインキュベートした後、ウサギ赤血球や感作ヒツジ赤血球と反応させ、その上清の 541 nm における吸光度を測定し、溶血率を算出した。

[結果]

1) C3-S は解析した 10 種の標的すべてに結合したのに対して、C3-H1 は感作ヒツジ赤血球、*S. aureus*、*A. salmonicida*、*E. tarda* へは結合しなかった。

2) MAAb を用いて、コイ血清による異種赤血球の溶血反応を阻害したところ、抗 C3-H1 はコントロール抗体と同様に、ウサギ赤血球に対しても感作ヒツジ赤血球に対しても溶血反応を全く阻害しなかったのに対して、抗 C3-S は両者の溶血反応を強く阻害した。

[考察]

以上の結果より、C3-H1 と C3-S アイソタイプ間に、異物への結合能と溶血反応への関与において、顕著な機能分化が認められた。C3-S は幅広い種類の異物に対する結合能を有し、溶血反応においては必要不可欠な成分であると考えられる。

このことから、硬骨魚類の補体系では、通常の His タイプ C3 よりもむしろ、魚類に特有な Non-His タイプ C3 が、中心的な役割を担っていることが示唆された。

[文献]

- 1) Law S. K. and Dodds A. W. *Protein Sci.* 6: 263-274 (1997)
- 2) Sunyer J. O. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 8546-8551 (1996)
- 3) Sunyer J. O. et al. *Biochem J.* 326 (Pt 3): 877-81 (1997)
- 4) Nakao M. et al. *Eur. J. Immunol.* 30: 858-866 (2000)

コイ初期発生における C3 アイソタイプの発現パターン

Vo Kha Tam、大蔵千恵、柚本智軌、中尾実樹

九州大学大学院農学研究院

Expression pattern of complement component C3 isotypes during early development of the common carp

Vo Kha Tam, Chie Okura, Tomonori Somamoto, Miki Nakao

Department of Bioscience and Biotechnology

Kyushu University

<Introduction>

In all the teleost species analyzed so far, C3 is present as multiple isoforms encoded by distinct genes ¹⁾. In carp, many innate immune factors including complement components have been shown to be present before hatching ²⁾. In trout complement, the embryos initially obtain several complement components, such as C3 isotypes, C4, C5, C7, Bf and Df, by maternal transfer, and then synthesize at least C3 during early developmental stages ^{3,4)}. Similar ontogeny analysis of the complement components have also been performed on Atlantic halibut and Atlantic cod, and revealed the presence of the complement in the early ontogeny stages ^{5,6)}, though it is not clear if the early complement system is functional in biodefense.

In this study, expression of transcripts encoding the complement component C3 isotypes in the embryos, larvae, and juveniles of carp was examined using a quantitative real-time PCR technique. Furthermore, expression of two major C3 isotypes, C3-H1 and C3-S, which had been shown to differ in some functions *in vitro* ¹⁾, was also examined by whole mount *in-situ* hybridization, to know difference in their expression sites during ontogeny.

<Methods>

Before hatching, the carp embryos were collected every 4 to 6 hr. After hatching, larvae and juveniles were sampled at several time points for 49 days. Eggs used for whole-mount *in-situ* hybridization were allowed to develop in 0.003% 1-phenyl-2-thiourea from 12 hours post fertilization (hpf) to inhibit pigmentation.

Adult carp hepatopancreas, four pools of five embryos before hatching, and four larvae/juveniles at each time point were used for total RNA extraction. Primers used for real-time quantitative (RQ)-PCR were designed to amplify the cDNA encoding the following carp complement component C3 (C3-H1, C3-H2, C3-S, C3-Q1, and C3-Q2). β -actin served as an internal standard of each amplification.

RNA probes were synthesized using AmpliScribe T7 High Yield Transcription Kit and DIG-11-UTP, according to the manufacturer's instructions. Whole-mount *in situ* hybridization was performed as describe by Yoshiura (personal communication, 2008).

<Results>

It was noted that transcripts of C3-H2, C3-S, and C3-Q1 isotypes were already present in unfertilized egg, and their levels went down close to zero within the first 20 hr. Thereafter, the

His-type C3 isotypes, C3-H1 and C3-H2, have started to emerge, and around 40 to 70 hpf, which was still before hatching, their expression levels became comparable to those in the adult hepatopancreas. In contrast, non-His-types of C3, such as C3-S, C3-Q1, and C3-Q2, started to be synthesized later than the His-types, showing significant expression levels only after 50 hpf. The emergence of C3-S, a major non-His-type C3, was particularly retarded only detected after hatching, but increased to the adult level within two weeks after fertilization.

Whole-mount in situ hybridization showed that C3-H1 and C3-S were expressed in the yolk syncytial layer, liver bud and hepatopancreas during carp development. At 4 and 5 dpf, C3-S transcripts were found in the nerve and sensory organs of most embryos, while that of C3-H1 was found in the gill at 4 dpf and olfactory nerve (presumably) at 5 dpf of some examined embryos. At 6 dpf, the expressions of two C3 isotypes were very weak and at 8 dpf C3S almost no express. During ontogeny C3-H1 started to express earlier than C3-S (1 dpf compared with 2 dpf).

<Discussion>

It is particularly intriguing that C3-S expression

was much later than that of C3-H1/C3-H2, implying that C3-S isotype is more engaged to defense against invading pathogens. Expression of C3-H1 observed much earlier than hatching may be indicative for its role not only in possible host defense but also in morphogenesis or other homeostasis. The result of Whole-mount in situ hybridization of C3-H1 and C3S during carp development suggests that C3-H1 and C3-S isotypes may play different roles for organogenesis of some organs such as hepatopancreas, nerves, and sensory system.

<References>

- 1) Nakao, M. et al., *Adv Exp Med Biol.* 586: 121 (2006)
- 2) Huttenhuis et al. *Fish Shellfish Immunol.* 20: 586. (2006)
- 3) Løvoll, M. et al. *Immunogenetics.* 58: 168 (2006)
- 4) Løvoll, M. et al. *Fish Shellfish Immunol.* 23: 721 (2007)
- 5) Lange, S. et al. *Fish Shellfish Immunol.* 16: 359 (2004)
- 6) Lange, S. et al. *Dev Comp Immunol.* 29: 1065 (2005)

コイ C1 複合体の亜成分組成

市居 敬¹、辻倉正和¹、柚本智軌¹、鶴木陽子¹、加藤慎一²、吉国通庸²、中尾実樹¹

九大院農学研究院 ¹生物機能科学部門・²動物資源科学部門

Subcomponent structure of the first complement component (C1) in the common carp

Takashi Ichii¹, Masakazu Tsujikura¹, Tomonori Somamoto¹, Yoko Kato-Unoki¹,

Shin-ichi Kato², Michiyasu Yoshikuni², °Miki Nakao¹

¹Department of Bioscience & Biotechnology, and ²Department of Animal & Marine Bioresource Sciences,
Kyushu University

[はじめに]

哺乳類の補体第一成分 C1 は、3種の亜成分 C1q、C1r、および C1s が 1:2:2 のモル比で Ca²⁺依存的に会合した複合体である。硬骨魚類補体にも古典経路の活性があるが、C1 については cDNA レベルでいくつかのサブユニットが同定されているだけで、タンパク質レベルでの構造と機能に関する情報は非常に僅かである。本研究は、コイ C1 複合体を構成する亜成分を解明することを目的とした。

[方法]

まず、コイ肝臓 cDNA ライブラリーから 2 種の C1s 様 cDNA を単離した (C1s-1、C1s-2)。一方、既にクローニングされたコイ C1q-A、-B、-C 鎖の cDNA 塩基配列を元に、C1q-A 鎖の組換え球状ドメイン(gh) を大腸菌で用いて発現させた。これをウサギに免疫注射して抗血清を作成し、固相化抗体カラムによってコイ血清から C1 複合体を精製した。この複合体を SDS-PAGE および二次元電気泳動で分離後、主要ポリペプチドの N 末端および内部のアミノ酸配列を決定し、これまでに我々がクローニングした C1q-A、-B、-C、C1r/s-A、-B、および C1s-1、

-2 の推定アミノ酸配列と比較した。

[方法]

C1s-1 と C1s-2 は約 80% のアミノ酸配列を共有し、既報の C1r/s-A、C1r/s-B との同一性は 40% であった。分子系統樹解析では、これらと哺乳類の C1r および C1s との対応関係は判然としなかった。抗コイ rC1q-A·gh ウサギ抗体は、抗体感作ヒツジ赤血球に対するコイ補体の溶血活性を強く阻害し、ウエスタンブロッティングでコイ血清中の 27 kDa のポリペプチドを認識した。固相化抗体カラムで精製したコイ C1 複合体から、二次元電気泳動で等電点の異なる 26~28 kDa のポリペプチド 3 種と、C1r や C1s の H 鎖(約 60 kDa)および L 鎖(約 30 kDa)と予想されるポリペプチドが 2~3 種検出された。また、これら H 鎖、L 鎖様のポリペプチドは、抗体カラムに結合した C1 複合体から EDTA によっても溶出された。これらポリペプチドの N 末端あるいは内部アミノ酸配列解析によって、コイ C1q-A、C1q-B、C1q-C、C1r/s-A または -B、および C1s-1 に帰属される部分アミノ酸配列が得られたことから、コイ C1 複合体は、既にクローニングされてい

る C1q、C1r/s、および C1s を亜成分として含むことが判明した。

[結論]

コイ C1 も哺乳類の C1 と同様に 3 種の亜成分 (C1q、C1r および C1s) から成ることが示唆されたが、依然として C1r と C1s の同定は確定的ではないので、C4 分解活性などの機能を解析する必要がある。

本邦 PNH 症例における補体阻害剤 (Eculizumab) の安全性と有効性 : AEGIS 第 2 相臨床試験

西村純一¹、金倉譲¹、大屋敷一馬²、七島勉³、岡本真一郎⁴、安藤潔⁵、二宮治彦⁶、
川口辰哉⁷、中尾眞二⁸、中熊秀喜⁹、木下タロウ¹⁰、Camille Bedrosian¹¹、Marye Ellen Valentine¹¹、
小澤敬也¹²、小峰光博¹³

¹大阪大学血液・腫瘍内科、²東京医科大学第一内科、³福島医科大学第一内科、

⁴慶應大学内科血液、⁵東海大学血液内科、⁶筑波大学血液病態制御医学、

⁷熊本大学感染免疫診療部、⁸金沢大学細胞移植学、⁹和歌山医科大学輸血・血液疾患治療部、

¹⁰大阪大学微生物病研究所、¹¹Alexion Pharm、¹²自治医科大学内科学血液学部門、¹³昭和大学

Safety and Efficacy of the Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Japanese Patients
with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: AEGIS Phase II Clinical Study Results
Jun-Ichi Nishimura¹, Yuzuru Kanakura¹, Kazuma Ohyashiki², Tsutomu Shichishima³, Shinichiro
Okamoto⁴, Kiyoshi Ando⁵, Haruhiko Ninomiya⁶, Tatsuya Kawaguchi⁷, Shinji Nakao⁸, Hideki
Nakakuma⁹, Taroh Kinoshita¹⁰, Camille Bedrosian¹¹, Marye Ellen Valentine¹¹, Keiya Ozawa¹²
and Mitsuhiro Omine¹³

¹Osaka Univ. Hosp., Suita ²Tokyo Medical Univ. Hosp., Tokyo ³Fukushima Med. Univ.,
Fukushima ⁴Keio Univ. Hosp., Tokyo ⁵Tokai Univ., Isehara ⁶Univ. of Tsukuba,
Tsukuba ⁷Kumamoto Univ., Kumamoto ⁸Kanazawa Univ., Kanazawa ⁹Wakayama Med. Univ.,
Wakayama ¹⁰Osaka Univ., Suita ¹¹Alexion Pharm., Cheshire, CT, USA ¹²Jichi Med. Univ. Hosp.,
Tochigi ¹³Showa Univ., Yokohama, Japan

<はじめに>

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH) は、補体による血管内容血、造血不全、血栓症を主徴とする後天性造血幹細胞疾患である^{1,2)}。PNHにおける慢性的な血管内容血は、QOLを低下させるだけでなく、時に重篤な合併症を引き起こす。補体阻害剤であるヒト化抗C5抗体 eculizumab (Soliris、Alexion社)がPNHの溶血治療薬として開発され、欧米でその有効性が報告され、多くの国で承認されるに至った^{3,4)}。本邦

におけるその安全性と有効性を評価する目的で、オープンラベル第2相臨床試験 (AEGIS) を行った。

<方法>

29例のPNH症例を対象に eculizumabの安全性と有効性を評価した。投与方法は点滴静注で、600mgを週1回4週続けて投与し、5週目に900mgを投与、その後2週毎に900mgを12週目まで投与し、効果判定を行った。

<結果>

Eculizumab は9施設の29例に投与され、27例が完遂した。血管内溶血は速やかに有意に抑制され、血清LDH値曲線下面積をもとに溶血量を算定すると、12週目において86%の溶血抑制効果 ($P<0.001$) を認めた。ヘモグロビン値は、治療前 7.5g/dL (中間値) から12週目には9.0g/dLまで増加し ($P=0.002$)、輸血依存性は、治療前と比較して71%減少した ($P<0.001$)。FACIT-Fatigue 法による疲労度は、治療開始後1週以内に著明に改善し、12週目には5ポイント (中間値) 改善した ($P<0.001$) (3ポイント以上の改善をもって臨床的に有意な改善と判定する)。Eculizumab の慢性腎障害に対する効果についても解析したところ、41% (29例中12例) で改善をみた ($P<0.001$)。29症例において治療前に5事象の血栓症が報告されていたが、治療後現在までのところ血栓症は報告されていない。ほとんどの有害事象は軽度～中等度なもので、薬剤関連性の重篤な有害事象は報告されていない。

<総括>

Eculizumab は、安全かつ忍容性も良好で、PNHの溶血に対して極めて有効な薬剤であると言える。

<参考文献>

- 1) Parker, C. et al., Blood 106:3699 (2005)
- 2) Nishimura, J. et al., Medicine 83:193 (2004)
- 3) Hillmen, P. et al., N Engl J Med 350:552 (2004)
- 4) Hillmen, P. et al., N Engl J Med 355:1233 (2006)

C5a を標的とした補体阻害ペプチド AcPepA 導入による

移植後早期膵島障害の抑制

戸子台和哲¹⁾ 後藤昌史¹⁾²⁾ 稲垣明子²⁾ 中西渉¹⁾ 岡田則子³⁾ 岡田秀親³⁾⁴⁾ 里見進¹⁾

¹⁾ 東北大学先進外科 ²⁾ 東北大学国際高等研究教育機構 ³⁾ 名古屋市立大学医学部免疫学

⁴⁾ 医療法人福祉村病院長寿医学研究所

C5a inhibitory peptide combined with gabexate mesilate is a clinically available candidate for preventing rapid loss of intraportally transplanted islets

Kazuaki Tokodai¹⁾, Masafumi Goto¹⁾²⁾, Akiko Inagaki²⁾, Wataru Nakanishi¹⁾, Noriko Okada³⁾, Hidechika Okada⁴⁾, Susumu Satomi¹⁾

1) Division Of Advanced Surgical Science And Technology, Tohoku University

2) International Advanced Research and Education Organization, Tohoku University

3) Department of Immunology, Nagoya City University

4) Choju Medical Institute, Fukushima Hospital

【目的】既に臨床応用されている膵島移植のさらなる移植成績向上において、凝固・補体系の活性化が主因である instant blood-mediated inflammatory reaction (IBMIR) の制御は不可欠である。今回我々は、IBMIR における補体関与の解明に加え、臨床応用が望める補体阻害ペプチド AcPepA と既に頻用されている抗凝固剤を併用する臨床応用可能な protocol を作成し、その有用性と作用機序について検討した。

【方法】C5a に対する receptor である C5aR と C5L2 の膵組織及び分離膵島における発現の有無、及び cytokine (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ) が与える影響について免疫染色及び flow cytometry にて検討した。次に STZ 誘導性糖尿病ラットへの同系膵島移植 (n=8) を経門脈的に、対照群, gabexate 群, AcPepA 群, 試薬併

用群の 4 群に対し行い、移植前, 移植後 0.5, 1, 3, 6h における凝固活性や炎症反応を解析した。さらに同様の同系移植を対照・試薬併用群の 2 群間

(3.0IEQs/kg (n=6), 2.5IEQs/kg (n=7))、及び上記 4 群間 (2.5IEQs/kg (n=5)) で行い、治癒率, 体重増加率, 糖負荷耐糖能試験, 肝内インスリン量を比較検討した。

【結果】分離膵島に C5aR 及び C5L2 の発現を認め、また、cytokine により両 receptor の up-regulation が認められた。凝固活性の指標である TAT は試薬を用いた 3 群において有意に低く (p=0.004)、炎症反応の指標である HMGB1 は AcPepA を用いた 2 群で低値を示した。試薬併用群の治癒率は著明に改善し (2 群間: 3.0IEQs/kg p=0.005, 2.5IEQs/kg p=0.06, 4 群間: 0vs40vs50vs100%, p<0.05)、糖負荷耐糖能

は有意に良好な結果を示した(2群間: $p < 0.05$, 4群間: $p = 0.0003$)。また、肝内インスリン量は試験群に多い傾向を認めた。試験を用いた実験群における体重増加率は良好で、C5a阻害ペプチドとメシル酸ガベキセート投与によるレシピエントへの有害作用は検討範囲内では認められなかった。

【結語】 AcPepA と抗凝固剤を併用することにより、IBMIR抑制を目的とした有用な protocol を作成できた。また、膵島自身に C5a receptor の発現が認められ、補体関与の新たな機序の可能性が示唆された。

アナフィラトキシン阻害ペプチドについての臨床研究と臨床治験

岡田秀親

医療法人福祉村病院長寿医学研究所

Clinical Study and Evaluation of a C5a anaphylatoxin inhibitory peptide

Hidechika Okada

Choju Medical Institute, Fukushima Hospital

<はじめに>

C5a アナフィラトキシンに対する相補性ペプチドである AcPepA はエンドトキシンショックのカニクイザルを救命します。豚新生児の回盲部を結札穿孔 (CLP) 処置で起こるゼプシスでも延命効果を発揮します。この AcPepA を臨床治療薬として実用化することを目指しています。そのために実施する臨床研究と臨床治験の要点についてご紹介します。

<臨床研究>

ヒトでの治療研究を臨床研究と云います。必要条件は、①投与する薬剤が cGMP 基準で造られていること、②実験動物を用いての前臨床安全性試験で安全性が確認されていること、③社団法人日本医師会治療促進センターの臨床試験情報登録システム (JAM CCT) 等に登録すること、④健康人での安全性試験を実施しておくこと、⑤医師が医師としての裁量権の範囲内で治療研究を行うこと、などです。有効性などのデータが得られれば、それを論文発表などで公表することはできますが、薬事申請のデータにすることはできません。

<臨床治験>

薬事申請を行うためのデータを集積するための治療研究。臨床研究よりも厳しい条件としては、前臨床安全性試験を GLP 基準を満たした施設で行う必要があります。1 億円余の委託費が必要となります。治療研究においても、臨床治験として求められる手続きなどが詳細に規

制されているので、医薬品開発に精通した専門家の協力が不可欠で、そのコンサルタント料も 2000 万円は用意する必要があります。

<感想>

ゼプシス (敗血症) を含む全身性炎症反応症候 (SIRS : Systemic Inflammatory Response Syndrome) は致命的な病態であるが、製薬企業は薬剤の開発で多くの失敗を重ねた歴史を持ち、開発への参加に後ろ向きになってしまっているのは残念です。

<参考資料>

- 1) 平成 15 年 7 月 平成 15 年厚生労働省告示第 255 号
「臨床研究に関する倫理指針」
- 2) 平成 20 年 7 月 31 日 厚生労働省医政局 (医政発第 0731001 号) 「臨床研究に関する倫理指針の改正等について」
- 3) 平成 20 年 12 月 26 日 厚生労働省医政局研究開発振興課長 (医政研発第 1226001 号) 「臨床研究に関する倫理指針質疑応答集 (Q&A) の周知について」

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

畑中道代¹、北野悦子¹、北村 肇²

¹神戸常盤大学保健科学部医療検査学科、²関西福祉科学大学福祉栄養学部福祉栄養学科

Clinical cases with complement system disorder defined in Kobe Tokiwa University

Michiyo Hatanaka¹, Etsuko Kitano¹, Hajime Kitamura²

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

Kobe, Japan, ²Department of Nutritional Sciences for Well-being, Faculty of Health Sciences for Welfare,

Kansai University of Welfare Sciences, Osaka, 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、我が国では上記以外の補体の精査のできる施設はなく、多くの臨床医を悩ませている。

これまでは北村らが長年にわたり臨床における補体の相談や解析の依頼を受けてきた（於大阪府立成人病センター、大阪府立看護大学医療技術短期大学部）。平成 17～18 年度は宮川周士先生（大阪大学大学院医学系研究科）のもとで測定を継続した。平成 19 年度より測定のを神戸常盤大学・保健科学部・医療検査学科に移し、補体チームとして臨床症例に於ける補体の相談や解析の依頼を受けることになった。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 47 件の依頼（相談を含む）を受けた。ここでは、これまでに依頼を受けた例を紹介し、最近臨床で問題となる補体異常について報告する。

〈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。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〉

依頼を受けた 47 件のうち、補体活性化が起こっている場合が 11 例、コールドアグチベーション現象は 1 例、補体成分欠損症は 8 例であった。C9 欠損症が多い（4 例）が、まれな欠損症として C1q 欠損症、C3 欠損症、C5 欠損症、C7 欠損症各 1 例ずつが明らかとなった。最近は溶血性尿毒症症候群と関連する Factor H の依頼も数件あった。

〈参考文献〉

- 1) 畑中道代 他、最近の補体測定法、臨床検査 52 : 911-916、2008.
- 2) 北村 肇 他、広範囲 血液・尿化学検査・免疫学的検査 (3)、C4、C5、日本臨床 増刊号 : 84-91 (2005)
- 3) 北野 悦子 他、同上、C2、C3 : 59-66 (2005)

遺伝性血管性浮腫 (hereditary angioedema: HAE) の疾患認知度

大澤 勲、大井洋之、富野康日己

順天堂大学医学部 腎臓内科

Prompt from questionnaire of hereditary angioedema

Isao Ohsawa, Hiroyuki Ohi, Yasuhiko Tomino

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

<はじめに>

遺伝性血管性浮腫 (hereditary angioedema: HAE) は、若年期より身体各所に生ずる浮腫と低補体血症を呈する特徴的な疾患であるが、国際的にも臨床医における認知度は低いといわざるを得ない。諸外国を見るとヨーロッパを中心として HAE の啓蒙活動が盛んに行われており、医師や患者への教育のみならず、救急ネットワーク作り、患者登録システム、確定診断のためのセンター設立、遺伝カウンセリングなどが行われ成果をあげている。我々も以前経験し症例から HAE の疾患認知度に疑問を持ち、2002 年に重篤な症例が搬送されると考えられる本邦の救命救急センター142 施設を対象としてアンケート調査を行った。回答のあった 88 施設のうち HAE を知っていたのは 44%にとどまっており、HAE を鑑別すべき患者のべ 30 例以上を見逃していた可能性を報告した (第 39 回補体シンポジウム、東京)¹⁾。今回我々は、HAE の患者が診断加療される可能性の高い多くの診療科を対象とし、各分野における HAE の認知度を明らかにすることを目的に全国規模のアンケート調査を行った。

<方法>

日本全国の 2100 医療施設から医師 9279 名を対象として (300 床の施設各診療科代表と 100 床以上の施設代表者)、HAE の概略を明記したうえでアンケート調査を行った。

<結果>

4490 名 (48.4%) より解答が得られた (皮膚科 540 名、血液内科 247 名、小児科 595 名、歯科口腔外科 368 名、呼吸器内科 466 名、救命救急科 139 名、耳鼻咽喉科 392 名、消化器内科 390 名、麻酔科 439 名、消化器外科 520 名)。

全体でみると、HAE を知っていたのは 2013 名 (44.8%) で、そのうち HAE を経験したことがある医師は 388 名 (19.3%)、経験した症例数はのべ 1030 例であった。一方、HAE を知らなかったのは 2477 名 (55.2%) で、レトロスペクティブにみて HAE の可能性があった症例に遭遇していたのは 284 名 (11.5%)、症例数はのべ 638 例に及んだ。

診療科別の疾患認知度では、皮膚科や血液内科で HAE の疾患認知度は高く (それぞれ 93.2%と 60.3%)、以後、順に小児科 (50.5%)、歯科口腔外科 (45.3%)、呼吸器内科 (42.0%)、救命救急科 (41.3%)、耳鼻咽喉科 (40.1%)、消化器内科 (34.6%)、麻酔科 (30.0%)、消化器外科 (16.1%) となった。

その他コメントを要約すると、診断ガイドラインの作成、すみやかな C1-インヒビター定量の必要性、遺伝子診断の可能な施設の紹介希望や、学会・書物・Web を利用した啓蒙活動、患者会の設立、難病指定への働きかけなどの提案、本邦で可能な治療に対する質問などがあつた。

<考察>

全対象におけるHAEの疾患認知度は、以前我々が行ったアンケート結果と同等であったが、診療科ごとに大きな差があった。日常診療で「血管浮腫」や「血液成分の欠損症」を診ている皮膚科、血液内科、小児科では認知度が高かった。しかし重症例に遭遇する可能性のある歯科口腔外科、呼吸器科、救命救急科では、救命可能な疾患としての早急な啓蒙活動が必要であると感じられた。

文献的にはHAEの疾患頻度は5-15万人に1人と いわれており²⁾、これを日本の人口に換算すると本邦には800人から2500人ほどのHAE患者がいることになる。今回のアンケートにおいても本邦に

おけるHAEの実際の患者数や頻度は不明であるが、この結果をふまえ、今後のHAEの啓蒙や難病あるいは特定疾患登録による社会的援助に働きかける契機にしたいと考えている。

<謝辞>

今回のアンケート調査に際し、CSLベーリング社の篠原直樹様、板橋 妙様をはじめ多数の方々のご協力に感謝いたします。

<文献>

- 1) 大澤 勲、他、Medical Torch 5: 28 (2009)
- 2) Visentin DE, et al., Ann Allergy Asthma Immunol 80: 457 (1998)

SLE・シェーグレン様症状を呈した遺伝性血管浮腫（HAE）の一例

有信 洋二郎¹、三苦 弘喜¹、井上 靖¹、新納 宏昭¹、塚本 浩¹、吉澤 滋²
堀内 孝彦¹、赤司 浩一¹

¹九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科、²国立病院機構 福岡病院 リウマチ科

Lupus and Sjogren like disease associated with hereditary angioedema

Arinobu, Y., Mitoma, H., Inoue, Y., Niino, H., Tsukamoto, H., Yoshizawa, S., Horiuchi, T., Akashi, K.

Dept. of Med. and Biosystemic Sci., Graduate School of Medical Sciences, Kyushu Univ., Fukuoka, Japan

Dept. of Rheumatology, National Hospital Organization Fukuoka Hospital, Fukuoka, Japan

<はじめに>

遺伝性血管浮腫（Hereditary angioedema; HAE）は、補体前期成分 C1r, C1s に対する抑制因子である C1 inhibitor (C1-INH) の欠損もしくは機能異常による遺伝性疾患で、反復する限局性の浮腫を特徴とする。HAE 患者に自己免疫性疾患が発症したという報告はこれまでも散見され、そのメカニズムとして、補体低下によるアポトーシス細胞のクリアランス不全があげられている。今回我々は、SLE・シェーグレン様症状を呈した HAE の一例を経験したので、報告する。

<症例>

症例は 30 歳、女性。21 歳時に HAE の診断を受けるも、無治療のまま経過していた。2008 年 3 月、間欠的な発熱・頸部リンパ節腫脹が出現し、6 月、当科紹介入院。白血球数の減少、抗核抗体 320 倍と高値、抗 ds-DNA 抗体・抗 Sm 抗体・抗 SS-A 抗体・抗 SS-B 抗体の出現、及び唾液腺シンチにて両側耳下腺の集積低下を認めた。C3 正常、C4・CH50 は測定感度以下、C1-INH 抗原定量低値から、HAE type

I に SLE・シェーグレン様症状を併発した症例と考えた。HAE に対する治療として、Budapest Protocol に則り Danazol と Tranexamic acid の内服を開始。以後、C4・CH50 は上昇、発熱・頸部リンパ節腫脹は軽快し、CRP は陰性化した。

<考察>

ヒト補体前期成分の欠損症において SLE を高頻度に合併することが知られている。同様に、C4 欠損マウスでも、ループス様症状を呈すると報告された。この発症メカニズムとして、Waste Disposal 仮説が提唱されている。これは、補体前期成分の欠損により、アポトーシス細胞の処理機構が十分機能せず、これらの細胞が自己抗原として提示される為、自己免疫現象が惹起されるというものである。HAE 患者においては、C1-INH 欠損による補体前期成分の過剰な消費により C4 低値が持続する。この為、C4 欠損症患者と同じ機序で、自己免疫疾患を発症するのではないかと考えられている。今後、HAE に対する治療のみで、SLE・シェーグレン様症状及び免疫学的検査異常が消失することを期待したい。

遺伝性血管性浮腫の問題点と今後の課題

香坂隆夫、大橋裕子、二瓶健次、阿部正義

東京西徳洲会病院 小児難病センター

Future Assignments of Hereditary Angioedema with Our Experiences of Three Families

Kohsaka Takao, Oohashi Yuko, Nihei Kennji, Abe masayoshi

The Center for Refractory Diseases of Children. Tokyo Nishi-Tokushukai Hosp, Tokyo, Japan

<はじめに>

遺伝性血管性浮腫 (HAE) はその多彩な症状から、古くより知られてきた疾患である。しかし、本邦の臨床家の間でその認知度は低く、多くの例が診断不明のまま、誤った治療が施されてきた可能性も高い。この疾患は欧州で見出された関係上、米国においても本邦と同様の状態であったが、昨年来、医師会より勧告がなされ注目される疾患の一つとなった¹⁾。本邦でも HAE の治療薬として数年前から C1 インヒビター (C1INH) 製剤の使用が可能となり、急性期の治療が可能となったにもかかわらず、その使用数は 30 名弱にとどまっている。こうした現状を改善するために我々の経験を発表させていただき、問題の提起としたい。

<方法>

症例は 3 家系 8 名である。

家族 A ; 来院時 12 歳の女兒で主訴は激しい腹痛であった。炎症所見を欠くことより、精神的問題、自律神経性てんかんなどが考慮されたが、父親も同様の発作が認められたことから、本症が疑われ、C3, C4 測定の結果診断を確定した。腹痛は点滴で、発作の予防は Transamin の投与で経過観察していたが、その後 20 年を経過し、成人後は発作がなく、現在、通常の会社員生活を送っているとのことである。

家族 B ; 1 歳の女兒でたまたま採血時の検査で C4 の異常低値が指摘され、C1INH 測定の結果本症と診断された。両親、4 歳に到るまで児ともに HAE を疑わせる症状はなく、優性遺伝ということもあり、注意事項を伝えたのみで検索は現在まで行っていない。

家族 C ; 発端者は 63 歳の男性で、この家系から 5 名の患者が見出されている。この男性の症状は経年的で 20 歳代の浮腫で始まり、手がグローブのように腫れあがったという。さらに一晩中唾液さえ飲み込めないような窒息様の発作が生じ、受診を繰り返したが診断がつかず、12 時間程度で改善するので、自宅で我慢していたという。次いで 30 代の心電図異常、心筋梗塞様発作と続き、40 代の頭痛、脳梗塞を経て、心筋梗塞の手術を行い、50 代から糖尿病の併発、頻回の腹痛発作となり、経過から診断の確定した例である。この間 2 回の開腹手術を受けていた。心筋梗塞の後、ARB を服用しており、この中止および C1INH 製剤の投与により現在 2 回/月あった腹痛発作はほとんど認められていなくなった。しかし、DM 腎症の蛋白抑制効果を期待して ARB の投与を再開した所、強い腹痛発作が認められたため現在再び中止している。

<結果と考察>

家族 A の症例は、腹痛、窒息の発作をのりきれば、

本症の長期的予後は悪くなく、HAE においては長期的視野に立った管理が必要となることを示し、HAE の経過の典型例といえよう²⁾。

家族 B の結果から、乳幼児においても C1INH の低値を示すことから、新生児スクリーニングの可能性が考えられる。HAE は優性遺伝を示すため、両親のどちらかだけに遺伝子異常が見出される点と、また次の子供への罹患率も 1/2 と高いことがあるため、説明には注意を払う必要がある。

家族 C の発端者の経過は特異的であり、また本疾患に対する種々の問題点を提起している。HAE に関連する症状は、20 代の四肢の浮腫、同年代後半の窒息様症状、30 歳代の心電図異常、40 歳代の心筋梗塞の手術、頭痛、血管障害、繰り返す腹痛発作と多彩であった。2 回の開腹手術、ARB の投与などある意味では HAE としても最も悲惨な経過と言える。医学的視点として、まず心筋梗塞が HAE と関係しているかが問題である。HAE の発症の機序は、Bradykinin の産生上昇とされ、血管拡張に働くことより、抹消血管では浮腫を引き起こし、気道閉塞や消化管イレウスの原因となるが、心臓に関しては保護的に働くこととされている²⁾。今回の症例は心筋梗塞が若年で出現しており、HAE との関連が示唆されるが、Bradykinin の過剰産生がこの病態を引き起こすならば、本症の治療に関して発作の予防だけでなく、生命予後のための治療戦略を考える必要がある。ACE 抑制剤や ARB の副作用で 0.5% 程度にイレウスによる腹痛が認められており³⁾、本例のような場合、心血管にまで悪影響をおよぼす可能性が示唆される。しかし本家族歴は、この可能性を必ずしも支持しない。HAE は両親のいずれからか受け継いだ可能性が強いが、二人とも 92 歳という長命であり、HAE の症状もなく生涯を終えている。また同胞では事故で亡くなった例を

除き、本症と確認された兄を含め、全員に症状がない。子供では 2 男子に浮腫の既往、片頭痛などの症状を認めたがいずれも軽度であり、さらに本症と確定した孫 1 名は無症状であるなど、この発端者を除いては障害を残す病状は見出されていない。結局、本例での HAE と心血管障害との関連は、ある種の要因が加わることにより、心血管障害を引き起こす可能性は残り、今後さらに検討を要する。

まとめ

1. 今後の課題としてまず C1INH 製剤の利用が可能な現在、本症を見落とすことは許されないことを臨床医に警告する必要がある。
 2. HAE の大部分は無症状ないし、一過性の発作で、しかも改善していく経過が考えられるが、ARB, ACE 抑制剤の投与とともに症状の再発現する可能性があり、今後、本剤の使用拡大に伴い注意が必要である。
 3. 新生児スクリーニングは、少量の試料で測定可能な系を開発すれば容易であり、検討の価値がある。しかし本症が優性遺伝であることを考えると、夫婦のどちらかに責任を負わせる結果を生むので、説明には注意を要する。本症は心血管障害に対し抵抗性があるなどの利点も想定され、本症の家系は案外長寿である可能性も否定できず、今後症例の蓄積とともに家族歴を調べ検討していく必要がある。
- 以上 HAE に関する問題提起として本演題を発表させていただいたが、今後本シンポジウムが HAE の対処について前向きに検討されることを期待したい。

<参考文献>

- 1) Castaldo AJ. Ann Allergy Asthma Immunol. 100:S47 (2008)
- 2) Zuraw BL. N Engl J Med. 359:1027 (2008)
- 3) Nielsen EW et al. Acta Anaesthesiol Scand. 50:120 (2006)

Memo

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	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) 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

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

Memo

謝 辞

第 46 回補体シンポジウムは、九州大学大学院農学研究院および九州大学大学院生物資源科学府の後援の下に開催されます。また、株式会社ジーンネット様よりご協賛いただきました。ご支援に対し、心から御礼申し上げます。

第 46 回補体シンポジウム

集会長 中尾実樹

●ジーンネット ●委託解析サービス

サービス名	サービス内容	価格
DNA 合成	全製品 逆相カートリッジカラムでの精製品です。 @オリゴは高品質・低価格・早さがモットーです。	単品 ¥80~
DNA シークエンス	¥3,000/サンプルからの格安シークエンスサービス!	¥3,000~ /1サンプル
siRNA 用 RNA セット	27 mer までの定額料金で siRNA 用 RNA を 2 本セット(1 本鎖ずつ納品)でお届けいたします。また、RNAi 研究を始められる方や、Knock down 効率の高い siRNA 配列のスクリーニング実験を行う方におすすめの、少量で低価格のお試し siRNA もご用意しております。	¥20,000~/組
抗体作製	初回免疫から 9 週間でウサギ抗血清 60ml を納品いたします。 その他の動物種もご用意しております。	¥99,800 /ウサギ1羽
ペプチド合成	液体クロマトグラフィー(HPLC)データ 質量分析(Mass)データ 確認用アミノ酸配列・計算上分子量(MW)・等電点(pI)計算データシート その他オプションのご用意がございます etc; 合成量・精製純度・修飾	¥2,500~ /1アミノ酸残基当り

お問い合わせは...

gene 株式会社 ジーンネット

福岡市東区多の津 5 丁目 22 番 8 号

TEL 092-626-2722 FAX 092-626-2723

E-mail info@genenet.co.jp

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

補体研究会賛助会員 (五十音順)

アレクシオン ファーマ株式会社
株式会社アミノアップ化学
株式会社蛋白科学研究所
CSL ベーリング株式会社
明治製菓株式会社

補体研究会

会長 木下タロウ
会長補佐 野中 勝

運営委員 藤田 禎三
松下 操
岡田 則子
瀬谷 司
山本 哲郎
阿部 正義
井上 徳光
大井 洋之
中尾 実樹
南学 正臣

監事 松本美佐子
岡田 秀親

事務局長 井上 徳光

集会長 中尾 実樹
次期集会長 藤田 禎三

