





Proceeding of the Complement Symposium  
Vol.47 (2010)



第47回  
補体シンポジウム  
講演集

会 期 : 2010年9月10日 (金) ・ 11日 (土)  
会 場 : コラッセふくしま (福島市三河南町1-20)  
集会長 : 福島県立医科大学免疫学講座  
藤田 禎三

〒960-1295 福島市光が丘1  
Tel:024-547-1146  
E-mail:tfujita@fmu.ac.jp



## 第 47 回補体シンポジウム参加案内

- 会場 コラッセふくしま 4F・多目的ホール (福島駅西口)
- 受付 第 1 日 9 月 10 日 (金) 12 時より  
コラッセふくしま 4F・多目的ホール前にて  
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とおりです。  
Windows(XP) : PowerPoint2007 (2010 はサポートしていません)  
Mac(OS10.5) : PowerPoint2008/2004  
プログラム進行上持ち込みによるプレゼンテーションは不可とします。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、必ず事前に事務局までご相談下さい。ファイルの受付は、必ず発表があるセッションが始まる前までにお済ませ下さい。講演会場である多目的ホール入り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 9 月 11 日 (土) 8 : 10~9 : 00 (コラッセふくしま 4F・主催者室)
- 総会 第 2 日 9 月 11 日 (土) 13:00~13:40 (コラッセふくしま 4F・多目的ホール)
- 懇親会 第 1 日 9 月 10 日 (金) 18:30~20:30 『ki-ichigo (きいちご)』  
(コラッセふくしま 12F)
- 優秀賞 一般演題の中で最も優れたプレゼンテーションの演者に「第 47 回補体シンポジウム優秀賞」を贈呈します。なお、選考は集会長の責任で行います。
- 交通費補助 学生参加者 (筆頭発表者) には、交通費の補助があります。該当者は、集会長に連絡下さい (E-mail:immunol@fmu.ac.jp)。
- 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致しますので、そちらでご納入下さい。  
一般 : 5,000 円  
学生 : 3,000 円 (学生証等の身分証明をご用意下さい)

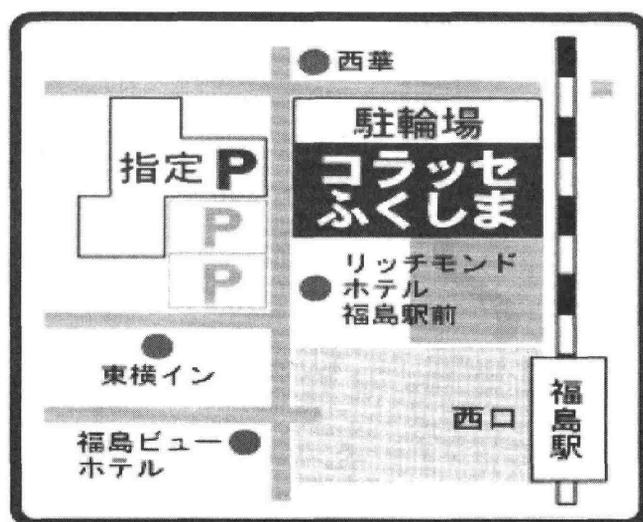
【補体研究会事務局】

〒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/>

会場および交通案内

コラッセふくしまは、JR 福島駅西口から北へ 300m(徒歩 5 分)

- ◇ 東京駅 → JR 福島駅西口  
(東北新幹線で約 1 時間 40 分)
- ◇ 福島空港 → JR 福島駅西口  
(乗合タクシー (要予約) で約 1 時間 15 分)
- ◇ 福島空港 → JR 郡山駅 → JR 福島駅西口  
(リムジンバスで約 40 分) (東北新幹線で約 15 分)  
(JR 東北本線で約 50 分)
- ◇ 仙台空港 → 仙台空港駅 → JR 仙台駅 → JR 福島駅西口  
(仙台空港アクセス鉄道で約 25 分) (東北新幹線で約 30 分)



## 日 程 表

9月10日(金) 12:00 開場

12:55~13:00	開会の辞	藤田禎三
13:00~14:15	A: レクチン経路、異物認識	座長 松下 操・遠藤雄一
14:15~15:45	B: アナフィラトキシン、サイトカイン、シグナル伝達	座長 山本哲郎・井上徳光
15:45~16:15	コーヒープレイク	
16:15~17:15	C: 補体異常	座長 堀内孝彦・畑中道代
17:15~18:15	特別講演1: Complement Dysfunction and Disease 演者 Santiago Rodriguez de Córdoba	座長 木下タロウ
18:30~20:30	懇親会	

9月11日(土) 9:00 開場

9:30~10:30	D: 進化、多様性	座長 野中 勝・中尾実樹
10:30~11:00	コーヒープレイク	
11:00~12:00	特別講演2: Lectin complement pathway and coagulation 演者 Kazue Takahashi	座長 若宮伸隆
12:00~13:00	ランチョンセミナー: 発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)と補体*	座長 木下タロウ
13:00~13:40	総会	
13:40~14:40	特別講演3: Complement and Autoimmune Diseases 演者 Gary S. Gilkeson	座長 岡田則子
14:40~15:00	コーヒープレイク	
15:00~15:45	E: 臓器障害、補体活性化	座長 水野正司
15:45~17:30	シンポジウム: 腎疾患と補体	座長 能勢真人・関根英治
17:30	優秀賞表彰式・閉会の辞	藤田禎三

\*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47回補体シンポジウム・学術プログラム

第1日 9月10日(金)

A: レクチン経路、異物認識

13:00~14:15

座長 松下 操・遠藤雄一

- A-1 補体 D 因子前駆体を活性化する MASP-1/3 複合体の解析  
高橋 実<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、Kazue Takahashi<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医大・医学部・免疫、  
<sup>2</sup>ハーバード大・医学部・マサチューセッツ総合病院
- A-2 MBL による補体第二経路活性化機構の解析  
立石恒一朗<sup>1</sup>、國廣佳孝<sup>2</sup>、Norafila Humrawali<sup>2</sup>、松下 操<sup>1,2,3</sup>  
東海大学・<sup>1</sup>大学院総合理工学研究科、<sup>2</sup>大学院工学研究科、  
<sup>3</sup>工学部生命化学科
- A-3 認識分子 Ficolin 欠損マウスの表現型  
遠藤雄一<sup>1</sup>、松坂友裕<sup>1</sup>、石田由美<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、<sup>2</sup>東海大・工・生命化学
- A-4 コレクチン CL-K1 の機能解析  
大谷克城<sup>1</sup>、吉崎隆之<sup>1</sup>、森健一郎<sup>1</sup>、本村亘<sup>1</sup>、吉田逸朗<sup>1</sup>、鈴木定彦<sup>2</sup>、若宮伸隆<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>旭川医大・医・微生物、  
<sup>2</sup>北大人獣共通感染症リサーチセンター・国際疫学部門
- A-5 Streptococcus pyogenes C6 結合タンパクのナノスケール・バイオイメーキング  
解析  
寺尾 豊<sup>1</sup>、浜田茂幸<sup>2</sup>、川端重忠<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>阪大院・歯・口腔細菌、<sup>2</sup>阪大・微研

座長 山本哲郎・井上徳光

- B-1 LPS と抗好中球抗体によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック  
田中志典、永井康裕、黒石智誠、遠藤康男、菅原俊二  
東北大・歯・口腔分子制御学
- B-2 ピーナッツは C4 を介して補体を活性化する  
兒玉利尚、関根英治、高橋実、岩城大輔、遠藤雄一、藤田禎三  
福島県立医大・医・免疫
- B-3 新型 H1N1 インフルエンザの重症化における補体アナフィラトキシンの関与  
太田里永子<sup>1</sup>、伊藤嘉規<sup>2</sup>、鳥居ゆか<sup>2</sup>、木村宏<sup>3</sup>、岡田則子<sup>1</sup>、  
今井優樹<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>名市大・医・免疫、<sup>2</sup>名大・医・小児科、<sup>3</sup>名大・医・ウイルス
- B-4 慢性白血病由来 K562 細胞を用いたヘミン誘導性赤血球分化モデルにおける部分的  
アポトーシス機構の役割  
西浦 弘志、山本 哲郎  
熊本大学・大学院生命科学研究部・分子病理分野
- B-5 乳酸による IL-23 非依存的な IL-17 産生増強経路  
井上徳光<sup>1</sup>、藪政彦<sup>1</sup>、志馬寛明<sup>1,2</sup>、松本美佐子<sup>2</sup>、瀬谷 司<sup>2</sup>、  
赤澤 隆<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学、  
<sup>2</sup>北海道大学大学院医学研究科・免疫学
- B-6 樹状細胞 MyD88 経路による NK 細胞の活性化機構  
瀬谷 司<sup>1</sup>、初谷良子<sup>1</sup>、東 正大<sup>1</sup>、志馬寛明<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、  
井上徳光<sup>2</sup>、赤澤 隆<sup>2</sup>、藤本ゆかり<sup>3</sup>、深瀬浩一<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科・免疫学、<sup>2</sup>大阪府立成人病センター  
研究所・分子遺伝学、<sup>3</sup>大阪大学理学部合成化学講座

座長 堀内孝彦・畑中道代

- C-1 異種移植における補体の活性化と凝固の促進  
三輪祐子<sup>1</sup>、山本晃士<sup>2</sup>、羽根田正隆<sup>1</sup>、岩崎研太<sup>1</sup>、劉大革<sup>1</sup>、  
矢崎智子<sup>4,3</sup>、岩元正樹<sup>4,3</sup>、大西彰<sup>3</sup>、打田和治<sup>5</sup>、中尾昭公<sup>6</sup>、  
小林孝彰<sup>1,6</sup>  
<sup>1</sup>名古屋大学免疫機能制御学、<sup>2</sup>名古屋大学輸血部、  
<sup>3</sup>農業生物資源研究所、<sup>4</sup>プライムテック株式会社、  
<sup>5</sup>名古屋第二赤十字病院、<sup>6</sup>名古屋大学消化器外科
- C-2 低補体血症性蕁麻疹様血管炎の1例  
林 宏明<sup>1</sup>、笹岡俊輔<sup>1</sup>、松浦浩徳<sup>1</sup>、秀 道広<sup>2</sup>、藤本 亘<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>川崎医大・皮膚科、<sup>2</sup>広島大・皮膚科
- C-3 発作性夜間ヘモグロビン尿症4症例におけるヒト化モノクローナル抗C5抗体  
(Eculizumab)の効果および安全性の検討  
野地秀義、七島勉、高橋裕志、小川一英、竹石恭知  
福島県立医科大学医学部 循環器・血液内科学講座
- C-4 遺伝性血管性浮腫(HAE)6家系の遺伝子解析  
堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本 浩<sup>1</sup>、有信洋二郎<sup>1</sup>、井上 靖<sup>1</sup>、新納宏昭<sup>1</sup>、吉澤 滋<sup>2</sup>、  
生野英祐<sup>3</sup>、高村和人<sup>4</sup>、町田治久<sup>5</sup>、辻岡 馨<sup>6</sup>、前原潤一<sup>7</sup>、  
赤司浩一<sup>1</sup>、山本哲郎<sup>8</sup>  
<sup>1</sup>九州大学免疫・膠原病・感染症内科、<sup>2</sup>国立病院機構福岡病院、  
<sup>3</sup>生野リウマチ整形外科クリニック、<sup>4</sup>福島生協病院、  
<sup>5</sup>国立病院機構嬉野医療センター、  
<sup>6</sup>日本赤十字社和歌山医療センター、<sup>7</sup>済生会熊本病院、  
<sup>8</sup>那珂川病院

特別講演1: 座長 木下タロウ

17:15~18:15

Complement Dysfunction and Disease  
Santiago Rodriguez de Córdoba  
Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid, Spain

第2日 9月11日(土)

D: 進化、多様性

9:30~10:30

座長 野中 勝・中尾実樹

D-1 節足動物における TEP 遺伝子の進化

関口玲生、上島 励、野中 勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

D-2 古代魚ポリプテルスにおける PSMB8 遺伝子の二型性

藤戸尚子<sup>1</sup>、塚本健太郎<sup>2</sup>、野中 勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大・院理、<sup>2</sup>藤田保健衛生大・総医研・医高分子

D-3 コイ補体レクチン経路に関連するコレクチンの異物認識多様性

一木昭土、塚本春香、柚本智軌、中尾実樹

九大院農学研究院 生命機能科学部門

D-4 Human serum mannose-binding lectin senses wall teichoic acid glycopolymer of *Staphylococcus aureus*, which is restricted in infancy

Keun-Hwa Park<sup>1</sup>, Kenji Kurokawa<sup>1</sup>, Koichiro Tateishi<sup>2</sup>, Hee Jung Kang<sup>3</sup>,  
Misao Matsushita<sup>2</sup>, Kazue Takahashi<sup>4</sup>, and Bok Luel Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Laboratory of Defense Proteins, College of Pharmacy,  
Pusan National University, Busan 609-735, Korea;

<sup>2</sup>Department of Applied Biochemistry; Tokai University, Hiratsuka,  
Kanagawa 259-1292, Japan;

<sup>3</sup>Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine,  
Anyang-si 431-070, Korea;

<sup>4</sup>Programs of Developmental Immunology, Massachusetts General Hospital,  
Harvard Medical School, Boston, MA 02114, USA.

特別講演 2 座長 若宮伸隆

11:00~12:00

Lectin complement pathway and coagulation

Kazue Takahashi

Harvard Medical School, Boston, USA

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) と補体

アレクシオン ファーマ (株)

Complement and Autoimmune Diseases

Gary S. Gilkeson

Medical University of South Carolina, Charleston, USA

座長 水野正司

E-1 古典的経路による補体活性化が確認された IgG4 関連尿細管間質性腎炎の 1 症例  
長町誠嗣<sup>1</sup>、大澤 勲<sup>1</sup>、佐藤信之<sup>1</sup>、石井雅也<sup>1</sup>、草場 岳<sup>1</sup>、  
小林 敬<sup>1</sup>、武田之彦<sup>1</sup>、堀越 哲<sup>1</sup>、大井洋之<sup>1</sup>、松下 操<sup>2</sup>、  
富野康日己<sup>1</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学医学部腎臓内科、<sup>2</sup>東海大学工学部生命化学科

E-2 正常ラット腹膜における膜補体制御因子の機能的役割  
水野智博<sup>1,4</sup>、水野正司<sup>2,3</sup>、伊藤恭彦<sup>2,3</sup>、鈴木康弘<sup>2,3</sup>、  
野田幸裕<sup>4</sup>、山田清文<sup>1</sup>、丸山彰一<sup>3</sup>、岡田則子<sup>5</sup>、B. P Morgan<sup>6</sup>、  
松尾清一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・医・医療薬学、<sup>2</sup>名古屋大・医・腎不全総合治療学、

<sup>3</sup>名古屋大・医・腎臓内科学<sup>4</sup> 名城大・薬・病態解析学 I、

<sup>5</sup>名古屋市立大・医・免疫学、<sup>6</sup>カーディフ大・補体生化学グループ

E-3 ループス腎炎の糸球体における各補体経路活性化の意義  
佐藤信之<sup>1</sup>、大澤 勲<sup>1</sup>、長町誠嗣<sup>1</sup>、石井雅也<sup>1</sup>、草場 岳<sup>1</sup>、  
堀越 哲<sup>1</sup>、大井洋之<sup>1</sup>、松下 操<sup>2</sup>、富野康日己<sup>1</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学腎臓内科、<sup>2</sup>東海大学工学部生命化学科

座長 能勢真人・関根英治

- S-1 ループス腎炎における免疫複合体病理論の評価  
能勢真人  
愛媛大学大学院医学系研究科・ゲノム病理学分野 Thrombotic
- S-2 ループス腎炎と補体・補体第2経路を特異的に標的とする治療戦略  
関根英治<sup>1</sup>, Gary S. Gilkeson<sup>2</sup>, and Stephen Tomlinson<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>福島県立医科大学・免疫学  
<sup>2</sup>Department of Rheumatology and Immunology,  
<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology,  
Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA
- S-3 microangiopathy と補体  
水野正司  
名古屋大学大学院医学研究科 腎不全総合治療学寄附講座・腎臓内科
- S-4 IgA 腎症における補体活性を介した発症病態と治療戦略  
川崎幸彦  
福島県立医科大学・小児科

Memo

---



## COMPLEMENT DYSFUNCTION AND DISEASE

Santiago Rodriguez de Córdoba

Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid, Spain

Complement is a major component of innate immunity with crucial roles in microbial killing, apoptotic cell clearance, immune complex handling and modulation of adaptive immune responses. Regulation of complement is essential to maintain complement homeostasis and to protect host cells and tissues from damage by complement. In health, activation of complement is kept at a low level and further activation of complement is limited to the surface of the activating agent. Dysregulated complement activation associates with a long list of diseases. Among them, hereditary angioedema (HAE), hemolytic uremic syndrome (HUS), dense deposit disease (DDD) and age-related macular degeneration (AMD) are prototypic diseases caused by complement dysregulation due to mutations or polymorphisms in complement proteins.

I will review the genetics of HAE, aHUS, DDD and AMD and summarize how the functional analysis of genetic variants associated with different diseases has helped to determine the molecular events which are

critical in the pathogenesis these disorders. In addition I will describe how recent advances in structure-function analyses of complement proteins by crystallography, electron microscopy and surface plasmon resonance have permitted a deeper understanding of the mechanistic basis of disease-associated genetic variations. A clear conclusion from these analyses is that there are distinct functional alterations caused by these small changes which are essential in disease pathogenesis. Importantly, the functional characterization of common complement polymorphisms has demonstrated important differences in complement activities for some combinations, which may have a significant role in determining individual predisposition to a number of common disorders. In turn, the functional analysis of disease-associated complement genetic variations has aided our understanding of the assembly and regulation of complement protein complexes. This knowledge will have important implications in therapeutic developments.



## Lectin complement pathway and coagulation

Kazuo Takahashi<sup>1</sup>, Wei-Chuan Chang<sup>1</sup>, Minoru Takahashi<sup>2</sup>, Vasile Pavlov<sup>3</sup>, Yumi Ishida<sup>2</sup>, Laura La Bonte<sup>3</sup>, Lei Shi<sup>1</sup>, Teizo Fujita<sup>2</sup>, Gregory L. Stahl<sup>3</sup>, and Elizabeth M. Van Cott<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Developmental Immunology Program, Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA02114, USA. <sup>2</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine, Fukushima 960-1295, Japan. <sup>3</sup>Center for Experimental Therapeutics and Reperfusion Injury, Department of Anesthesiology, Perioperative and Pain Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA02115, USA. <sup>4</sup>Department of Pathology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02114, USA.

The first line of host defense is the innate immune system that includes coagulation factors, complement proteins and pattern recognition molecules, which includes mannose-binding lectin (MBL). Many clinical studies have associated MBL deficiency with infection susceptibility. These observations are confirmed by mouse model studies that mice genetically lacking MBL (MBL null mice) are susceptible to certain pathogens, including *Staphylococcus aureus*. Mechanisms of increased infection have been attributed to reduction of opsonophagocytic killing and lectin complement pathway activation.

Recent our studies have observed that MBL is also involved with hemostasis *in vivo*, only when mice are injured or infected. Coagulation system itself is not affected by MBL deficiency as coagulation factors and parameters are similar to wild type mice. Nevertheless, naïve MBL null mice demonstrate prolonged bleeding time from laceration injury, indicating that lack of MBL is associated with reduced clotting. The phenotype is reversed by reconstitution with recombinant human MBL, confirming that the coagulation disorder is mediated by MBL. Moreover, *S. aureus*-infected MBL null mice develop disseminated intravascular coagulation (DIC) at an early time point when bacterial titers throughout body are similar to those in wild type mice. Further

investigations have revealed that MBL-mediated coagulation is through MBL-associated serine protease (MASP)-1/3 as MASP-1/3 null mice demonstrate prolonged bleeding time from laceration injury. MBL/MASP-1/3 complex upon binding to its ligand demonstrates activities of factor Xa-like enzyme, thrombin-like enzyme and fibrin clot formation, other function of thrombin. During *S. aureus* infection, MBL null mice develop liver injury, which is assessed by elevated levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) at the time when multi organ inflammatory responses are not observed. Taken together, these findings suggest that activated MBL/MASP-1/3 complex functions like coagulation enzymes, FXa and thrombin, and that MBL deficiency manifests into DIC, which is associated with organ failure and high mortality.

In conclusion, our findings demonstrate that MBL/MASP-1/3 complex plays important roles in coagulation during infection and tissue injury. Lectin-mediated coagulation as a host protection mechanism is not surprising because ficolins, similar molecules to MBL, which are homologous to Horseshoe crab tachylectins that function as host defense system by clotting LPS (Gram-negative bacteria) and  $\beta$ 1,3-glucan (fungi), thus providing innate immune protection.



## Alternative Complement Pathway in Autoimmune Diseases

Gary S. Gilkeson<sup>1</sup>, Stephen Tomlinson<sup>2</sup>, Hideharu Sekine<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Rheumatology and Immunology, <sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA

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

The complement system plays a dual role in the development of lupus. The early components of the classical pathway are protective against development of lupus, while complement activation is clearly involved in the tissue injury that occurs in lupus. Our studies utilized alternative complement pathway knockout mice to demonstrate that the lack of the alternative

complement pathway is protective in lupus mice. Further studies of alternative complement pathway inhibitors indicate that this pathway is an attractive target for treatment of autoimmune diseases. Lack of the alternative pathway appears to primarily impact target organ inflammation with minimal impact on systemic immunity.

Memo

---



## ループス腎炎における免疫複合体病理論の評価

能勢真人

愛媛大学大学院医学系研究科・ゲノム病理学分野

Evaluation of the theory of immune complex diseases in lupus nephritis

Masato Nose

Pathogenomics, Ehime University Graduate School of Medicine

糸球体腎炎、血管炎、関節炎の発症機序における免疫複合体病理論は、1950年代から60年代にかけて、Dixon F を代表とする Scripps の研究者たちによって、血清病モデルを中心とした研究の展開から確立されたと言える。この理論の中核は、循環血中での免疫複合体の形成、好塩基球への結合、血小板の活性化、血管透過性の亢進、そして免疫複合体の病変局所への沈着であり、補体系は、免疫複合体との結合により活性化され、アナフィラトキシンの産生、これによる局所への炎症細胞の遊走・浸潤を引き起こすという一連の III 型アレルギー反応に集約されている。ループス腎炎の発症機序も、この概念の延長上で包括されてきた。しかしながら、この理論の基盤は、あくまで外部抗原感作によって引き起こされた免疫複合体病であり、ループス腎炎の発症機序に適合し得るモデルであるか否かについては多くの問題が残されている。

MRL/lpr マウスは、病態、病理所見において、SLE ときわめて類似した表現型を発現するところから、ループスモデルとして研究の対象とされ、このマウスが発症する管内増殖

型糸球体腎炎、ワイヤーループ病変、半月形成性糸球体腎炎など多彩な糸球体病変の機序も、従来の免疫複合体理論を逸脱するものではなかった。この糸球体腎炎をゲノム的に解析するとこの理論のみでは説明できない新たな局面が明らかになってきた。例えば、このマウスから得られた腎炎原性抗体は、必ずしも affinity maturation を起こした抗体ではないこと、また、この糸球体病変の一発症機序として、抗体の糸球体局所への沈着は、抗体分子と結合したフィブロネクチンを血管内皮細胞が積極的に取り込むことによって起こり、血管透過性の亢進によるプロセスとは異なること、管内増殖性糸球体病変の発現には、必ずしもアナフィラトキシンを必要とせず、糸球体局所での接着因子や種々のケモカインの発現に依存していること、補体制御因子 Cd59 の発現が糸球体局所病変発症の抑制のみならず、おそらく個体の免疫制御機能においても重要であること、などである。

本演題では、これらの事象を提示し、ループス腎炎における従来の補体系機能を含めた免疫複合体病理論の評価を行いたい。

## ループス腎炎と補体・補体第2経路を特異的に標的とする治療戦略

関根英治<sup>1</sup>, Gary S. Gilkeson<sup>2</sup>, and Stephen Tomlinson<sup>3</sup><sup>1</sup> 福島県立医科大学・免疫学

## Complement in Lupus Nephritis;

A therapeutic strategy for lupus nephritis with a targeted inhibitor of the alternative complement pathway

Hideharu Sekine<sup>1</sup>, Gary S. Gilkeson<sup>2</sup>, and Stephen Tomlinson<sup>3</sup><sup>1</sup> Department of Immunology, Fukushima Medical University School of Medicine<sup>2</sup> Department of Rheumatology and Immunology, <sup>2</sup> Department of Microbiology and Immunology, Medical University of South Carolina, Charleston, SC, USA

全身性エリテマトーデス(SLE)は、核成分などの自己抗原に対する自己抗体が血清中出现する、原因不明の自己免疫疾患である。SLEの病態の中心像は、自己抗体によって血液中や組織で免疫複合体が形成され、古典経路が活性化されて炎症が惹起される「III型アレルギー反応」であるとされる。その過程で、C3の分解産物C3bが、第2経路(増幅経路)を活性化させ、血清中のC3を消費しながら補体による炎症を増幅させていると考えられている。

SLEにおける腎炎(ループス腎炎)発症のトリガーは古典経路の活性化であるにも関わらず、同経路構成成分の先天的な欠損者の多く(C1qまたはC4欠損者の80%以上)がSLEを合併し、この現象は“Lupus paradox”として知られている。マウスでも同様の現象が観察され、C3欠損のSLEモデルマウス(MRL/*Ipr*系)では、むしろ腎炎が増悪する。その理由として古典経路は炎症を惹起する作用以外にも、アポトーシス細胞などの自己抗原成分をクリアランスする働きがあるためと考えられ、補体を標的としたループス腎炎の治療戦略では古典経路を温存する必要性が示唆されてきた。

一方、第2経路構成因子(fB, fD)欠損のSLEモデルマウス(MRL/*Ipr*系)では腎炎が抑制される。よって、第2経路の構成因子を特異的に標的とする治療戦略は、ループス腎炎の有効な治療手段と成り得ることが予想される。

我々のグループでは第2経路を特異的に阻害するH因子(fH)と、活性化されたC3分子iC3b/C3dを標的とする補体受容体CR2とを融合させた融合蛋白CR2-fHを作成し、SLEモデルマウス(MRL/*Ipr*系およびNZB/W F1系)に投与して治療的実験を行った。その結果、対照群(生食水投与群)と比較して、CR2-fH投与群では、血清中抗dsDNA抗体値、血清C3値、アルブミン尿、腎糸球体へのC3沈着レベル、腎病理組織学的所見、および生存率ともに改善が認められた。

以上の結果から、CR2-fHを用いた第2経路を特異的に標的とする治療戦略は、ループス腎炎の有効な治療手段と成りうることが示唆された。

近年我々のグループで、転写因子であるInterferon regulatory-factor4(Irf4)を突然変異で欠損したMRL/*Ipr*マウスが同定され、同マウスの病態の解析を行った。Irf4はB細胞の免疫グロブリン産生に必須の転写因子であることから、Irf4欠損MRL/*Ipr*マウスでは自己抗体が産生されないために腎炎が惹起されないと思われた。解析の結果、Irf4欠損MRL/*Ipr*マウスでは腎糸球体に免疫複合体やC3の沈着が観察されないにもかかわらず、予想に反してメサンギウム増殖性糸球体腎炎が観察された。ループス腎炎における、非免疫複合体性腎炎のメカニズムの可能性についても紹介したい。

## Thrombotic microangiopathy と補体

水野 正司

名古屋大学大学院医学研究科 腎不全総合治療学寄附講座・腎臓内科

Complement system associated with thrombotic microangiopathy

Masashi Mizuno

Renal replacement therapy and nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine

腎病理で、microvascular diseases は重要な病理カテゴリーの一つであり<sup>1)</sup>、このうち、内皮細胞障害を形態学的初期変化とするものに Thrombotic micro-angiopathy (TMA)がある。溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome; HUS) と血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) がこの病理的变化を糸球体に來たす代表疾患であるが、その他にも、ループス腎炎や骨髄移植時に行う放射線暴露によって生じる放射線腎症にも伴うことが知られている。この病理变化を糸球体以外の腎小動脈や細小動脈レベルに障害を起こすものも含めると、systemic sclerosis の様な自己免疫疾患、sickle cell diseases、cholesterol 塞栓症など様々な病態がある。糸球体病変を伴う場合、内皮剥離、内皮下への無構造物質の沈着、係蹄内部の血小板集積と血栓形成といった、糸球体に病理变化を伴う。

補体と TMA の関係では、factor H、factor I、CD46、CD55 といった補体制御因子の異常による補体活性化が疾患進展に関与することが報告されている atypical HUS、膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN) type2 が知られている。その他の TMA 病変について、補体関与については不明な点が多い。

我々は、これまでに、抗体依存型と非抗体依存型の 2 つの TMA 類似病理变化を伴う動物モデルを用いて補体との関係を調べたので、ここに紹介する。

前者として、抗糸球体基底膜 (GBM) 抗体腎炎で、LPS 前処理すると糸球体に内皮障害と共に血栓形成を認める。これに対して、C5a の関与を調べた<sup>2)</sup>。後者については、人に対して毒性の強い *Phylodiscus semoni* による刺傷症の一部の症例に腎不全を伴うことに注目して、このイソギンチャク毒素による腎障害の可能性を調べたところ、TMA を伴う急性腎不全を起こすことを見つけた<sup>3)</sup>。このイソギンチャク毒素誘導性の急性糸球体障害において、病理变化と補体活性化、膜補体制御因子の変化を調べた。これら腎障害モデルから得られた結果より、atypical HUS や MPGN type2 以外の TMA に関連する腎障害においても、補体の関与と抗補体治療の可能性が示唆される。

### <参考文献>

- 1) Kanso AA. et al. in chapter 32. The Kidney 8<sup>th</sup> edition, 1147 (2008)
- 2) Kondo C. et al. Clin Exp Immunol 124: 323 (2003)
- 3) Mizuno M. et al. Am J Pathol 171: 402 (2007)

## IgA 腎症における補体活性を介した発症病態と治療戦略

川崎幸彦

福島県立医科大学・小児科

The pathogenesis and treatment in IgA Nephropathy

Yukihiko Kawasaki

Dept. of Pediatrics, Fukushima Medical University School of Medicine

IgA 腎症（以下、本症）は、1968年 Bergerらによって提唱された IgA の糸球体メサンギウム領域への優位な沈着とメサンギウム細胞増殖や基質増生を認めるわが国で最も頻度の高い原発性慢性糸球体腎炎である。本邦では、多くが学校検尿、職場検診などで無症候性血尿、蛋白尿として発見されている。これまでの報告で成人の 25~40%が、また小児においては 10~15%の症例が腎機能低下に陥るとされており、本症の予後は必ずしも良好ではないことが示されている。そのため、その発症病態を明らかにして治療法を確立することは非常に重要な課題である。

本症の発症機序はいまだ明らかではないが、遺伝的背景として IgA ヒンジ部の糖鎖不全があり、これに食物あるいは細菌、ウイルス感染などの抗原刺激により活性化された T 細胞が過剰な IgA の抗体産生を起し、高分子 IgA 免疫複合体が形成され、これが糸球体に沈着することによって炎症が惹起されると考えられている。しかしながら、この IgA ヒンジ部の糖鎖不全形成過程や IgA 免疫複合体形成機序に関する詳細は未だ不明のままである。

私達は、動物実験にてこれら不明な本症の病態を明らかにするために、以前より、腎炎

惹起性が注目されているコクサッキーウイルス B4 (CoxB4) を用い、各種マウスにおける腎炎の発症機序を検討してきたので、この研究成果を簡単に報告する。また、現在までに明らかになっている IgA ヒンジ部の糖鎖不全や免疫複合体の形成過程、その糸球体への沈着機序についても言及する予定である。本症では、免疫複合体の糸球体沈着後から炎症が惹起され、補体活性やマクロファージの活性化をはじめとし、凝固異常や炎症細胞浸潤がみられ、それによるサイトカイン、ケモカイン、接着分子の異常が生じ、メサンギウム増殖性腎炎が進展するとされている。この進展過程、特に補体、レクチン経路の関与について現在まで明らかになっている知見も含め報告したい。

一方、本症の治療としては、現在小児治療ガイドラインにおいて軽症群と重症群に分け治療戦略がたてられている。軽症例には、アンギオテンシン変換酵素阻害薬が、重症例ではステロイド剤、免疫抑制剤、抗血小板薬、抗凝固薬による多剤併用療法が選択されている。本講演では、これら治療薬の有用性と成人領域で多く施行されている扁桃パルス療法に関しても概説する予定である。



## 補体 D 因子前駆体を活性化する MASP-1/3 複合体の解析

高橋 実<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、遠藤雄一<sup>1</sup>、Kazue Takahashi<sup>2</sup>、藤田禎三<sup>1</sup>

<sup>1</sup>福島県立医大・医学部・免疫、<sup>2</sup>ハーバード大・医学部・マサチューセッツ総合病院

MBL-MASP-1/3 complex has an ability to efficiently cleave zymogen of complement factor D.

Minoru Takahashi<sup>1</sup>, Daisuke Iwaki<sup>1</sup>, Yuichi Endo<sup>1</sup>, Kazue Takahashi<sup>2</sup>, Teizo Fujita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Fukushima Medical Univ., Fukushima, Japan, <sup>2</sup>Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA., USA

<はじめに>

我々はレクチン経路活性化プロテアーゼ MASP-1/3 を欠損したマウス (*Masp1/3<sup>-/-</sup>*) において補体第二経路にも異常を認め、さらにその原因として血清中の補体 D 因子 (以下、Df) が活性化されず、前駆体 (ProDf) で存在していることを報告している<sup>1)</sup>。血液中の MASP-1/3 が ProDf の N 末端に存在するアクティブペプチドを切断し、活性型に転換していると予想されるが、その認識機構は未だ不明である。今回、MBL と複合体を形成している MASP-1/3 複合体が ProDf を活性化することが明らかにできたので報告する。

<方法>

【マウス】野生型 C57BL/6 と戻し交雑した *Masp1/3*, *Smad/Masp-2*, *Mbl* 及び *Fcna* の遺伝子を欠損した遺伝子改変マウスを用いた。

【ゲルろ過クロマトグラフィー (GFC)】マウス血清を 20mM トリス (pH7.6)/50mM NaCl 緩衝液下で Superose 6 (10/300) で 1ml ずつ分画した。

【Blue Native-PAGE】各分画中の MASP-1/3 の複合体を調べる目的で Blue Native (BN)-PAGE を行った。

【Df 前駆体活性化能測定】ProDf が含まれる *Masp1/3<sup>-/-</sup>* マウス血清に GFC 分画を加えて、37 度 3

時間反応させた。反応液を Endo F で Asn 結合型糖鎖を切断した後、Df の分子量を比較して ProDf の切断の有無を確認した。

<結果と考察>

1. GFC により、MASP-1/3 は 160-1700kDa の広範囲の分画に含まれることがわかった。このうち ProDf の活性化能は 700kDa 以上の分画のみに認められた。
2. BN-PAGE の結果から、ProDf 活性化能を有する分画には約 1000kDa の MASP-1/3 複合体が認められた。MBL 完全欠損マウスでこのバンドが消失することより、複合体には MBL が含まれることがわかった。
3. MBL とフィコリン A を欠損したマウス (MBL/*FcnA<sup>-/-</sup>*) でも血液中に活性化された Df が存在していることから、必ずしも MBL-MASP-1/3 複合体が ProDf の活性化に必須ではなく、野生型とは異なる機構で活性化していると考えられる。

<参考文献>

- 1) Takahashi et al., J. Exp. Med. 207: 39 (2010)

## MBL による補体第二経路活性化機構の解析

立石恒一朗<sup>1</sup>、國廣佳孝<sup>2</sup>、Norafila Humrawali<sup>2</sup>、松下 操<sup>1,2,3</sup>

東海大学・<sup>1</sup>大学院総合理工学研究科、<sup>2</sup>大学院工学研究科、<sup>3</sup>工学部生命化学科

Analysis of the mechanisms by which MBL activates the alternative pathway of complement  
Koichiro Tateishi<sup>1</sup>, Yositaka Kunihiro<sup>2</sup>, Norafila Humrawali<sup>2</sup>, Misao Matsushita<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Technology, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, <sup>3</sup>Department of Applied Biochemistry, School of Engineering, Tokai University

### [はじめに]

マンノース結合レクチン(MBL)はMASPと複合体を形成しており、糖鎖に結合するとレクチン経路を活性化する。この時、MASP-2によりC4とC2が限定分解される。MBLはレクチン経路の他に第二経路も活性化する<sup>1)</sup>。本研究では、ヒト血清より精製したMBLを用いて第二経路の活性化のメカニズムを解析した。また、ヒトMBLは様々なサイズのオリゴマーであるが、3量体のMBLを単離し、第二経路の活性化について検討した。

### [方法]

1) GlcNAc-agaroseと抗MBL-Sepharoseを順次用いてヒト血清よりMBL-MASPを精製した。また、MBL-MASPより抗MBL-Sepharoseを用いてMBLとMASPを分離した。MASPは更に抗MASP-1/3-Sepharoseを用いてMASP-1/3とMASP-2に分離した。また別途、3量体MBL(MBL-I)-MASPを単離し、MBL-I-MASPより抗MBL-Sepharoseを用いてMBL-IとMASPを分離した。  
2) MBLによる第二経路の活性化はELISA法により検討した。マンナンコートウェルに各種MBL(MBL-MASP, MBLなど)を反応させた後、MBL除去C2欠損血清(MC2DS)を反応させ、C3bのウェルへの沈着量を測定した。一部の実験にはMC2DSから更にB因子を除去した血清を用いた。

3) MBL-Iに結合しているMASPの種類をウェスタンブロッティングで検討した。

### [結果]

1) MBL-MASPはMC2DS中のC3を活性化した。C3の活性化はMBLのみでも起こった。活性化にはB因子を必要とした。また、MBLとMASPの再構成実験では、MBLとMASP、MBLとMASP-2の組み合わせにより、共にMBL単独に比べて高いC3の活性化が見られた。一方、MBLとMASP-1/3の組み合わせでは、逆にMBL単独に比べて活性化が低下した。  
2) 精製MBL-I画分にはMASP-1, MASP-2およびsMAPが検出された。MBL-IとMBL-I-MASPはMC2DS中のC3を活性化した。また、MBL-IとMASPの再構成によりMBL-Iの場合よりも高いC3の活性化が見られた。

### [考察]

MBL-MASPによる第二経路活性化のメカニズムの一つとして、MASP-2の作用により生成するC4bが関与するC2 bypassが考えられる<sup>2)</sup>。

### [文献]

- 1) Selander, B. et al. J. Clin. Invest. 116:1425 (2006)
- 2) Matsushita, M & Okada, H. J. Immunol. 136:2994 (1986)

## 認識分子 Ficolin 欠損マウスの表現型

遠藤雄一<sup>1</sup>、松坂友裕<sup>1</sup>、石田由美<sup>1</sup>、岩城大輔<sup>1</sup>、高橋実、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、<sup>2</sup>東海大・工・生命化学

Phenotypes of ficolin-deficient mice

Yuichi Endo<sup>1</sup>, Tomohiro Matsuzaka<sup>1</sup>, Yumi Ishida<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

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

### 「目的」

Ficolin は、N 末端側のコラーゲン様構造によって重合体を形成し、C 末端側のフィブリノーゲン様ドメインによって、病原微生物のような非自己を識別すると考えられる。マウスでは 2 種類の Ficolin が知られており、マウス Ficolin A (FcnA) はヒト L-Ficolin に、マウス Ficolin B (FcnB) はヒト M-Ficolin に相同である。Ficolin の多くは、MBL と同様、血中でセリンプロテアーゼ MASP と複合体を形成し、レクチン経路を介して補体系を活性化することができる。しかし、Ficolin の真の生理的役割については依然不明な点が多い。我々は、Ficolin の *in vivo* での役割を明らかにするために、三種類の Ficolin 欠損マウスを作製し、その表現型の解析と再構成を試みた。

### 「方法」

- ① FcnA 欠損マウスおよび FcnB 欠損マウスは、ジーンターゲット法により作製した。また、両者の交配により FcnA/B ダブル欠損マウスを作製した。
- ② 補体レクチン経路の構成と活性は、血清または血清の GlcNAc アガロース分画を用いて、ウェスタンブロット法、GlcNAc 結合プレート上での C4 沈着活性、細菌表面上での C3 沈着活性により調べた。
- ③ リコンビナント FcnA は、ショウジョウバエ S2 細胞で、FcnB は CHO 細胞で作製

し、再構成実験などに用いた。

- ④ *S. pneumoniae* D39 株は、Fcn A および FcnB に認識されるが、MBL-A および MBL-C にはほとんど認識されない。そこで、この菌を経鼻感染によりマウスに感染させ生存率を調べた。

### 「結果」

- ① FcnA 欠損マウスおよび FcnA/B 欠損マウスの血清では、FcnA の欠損のためにこれを介するレクチン経路を欠落しており、レクチン経路の活性が有意に低下していた。これらの血清にリコンビナント FcnA を添加すると MASP/sMAP との複合体が形成され、活性の低下が回復した。FcnB 欠損マウスの血清レクチン経路は、野生型マウスと同様の組成と活性を示した。
- ② Fcn A 欠損マウスの血清の GlcNAc 溶出分画を濃縮して解析した結果、FcnB が微量ながら存在することが判明した。リコンビナント FcnB は、MASP/sMAP と複合体を形成する能力を示した。
- ③  $3.3 \times 10^6$  CFU の *S. pneumoniae* D39 株を感染に用いた結果、野生型マウスと比較して、三種類の ficolin 欠損マウスの生存率がいずれも低い傾向を示した。

### 「結論」

FcnA および FcnB は、ともに血液や組織間液に存在し、レクチン経路を介して細菌など異物の認識と排除に働いていると考えられる。

## コレクチン CL-K1 の機能解析

大谷克城<sup>1</sup>、吉崎隆之<sup>1</sup>、森健一郎<sup>1</sup>、本村亘<sup>1</sup>、吉田逸朗<sup>1</sup>、鈴木定彦<sup>2</sup>、若宮伸隆<sup>1</sup><sup>1</sup>旭川医大・医・微生物、<sup>2</sup>北大人獣共通感染症リサーチセンター・国際疫学部門

## Functional analyses of collectin CL-K1

Katsuki Ohtani<sup>1</sup>, Takayuki Yoshizaki<sup>1</sup>, Kenichiro Mori<sup>1</sup>, Wataru Motomura<sup>1</sup>, Itsuro Yoshida<sup>1</sup>, Yasuhiko Suzuki<sup>2</sup>,Nobutaka Wakamiya<sup>1</sup><sup>1</sup>Dept. of Microbiology and Immunochemistry, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan<sup>2</sup>Dept. of Global Epidemiology, Research Center for Zoonosis Control, Hokkaido University, Sapporo, Japan

## [はじめに]

コレクチンは、コラーゲン様構造と糖認識領域を持つ特徴があり、多量体を形成し、糖鎖を有する異物をパターン認識し排除する自然免疫機能分子として知られている。これまでに、ヒトにおいては、肝臓で産生され血中を循環している MBL や肺のサーファクタントタンパク質である SP-A や SP-D が知られており、中でも MBL は、補体活性化のレクチン経路を担う重要な分子であると考えられている。我々が見出した CL-K1 はこれらの分子と同様のドメイン構造を有しているが、様々な異なる特徴を有することを明らかにしたのでその構造的な特徴や機能解析の結果について報告する。

## [方法]

コレクチン遺伝子の保存性の高い領域に着目し、ESTs データベース検索の結果得られた部分塩基配列から、その主たる発現部位であるヒト腎臓 mRNA から新規コレクチン CL-K1 のクローニングを試みた。得られた遺伝子全長の塩基配列から組換え蛋白質の作成を行い、さらに血清からの精製も試み、その機能について各種解析を行った。

## [結果と考察]

ヒト CL-K1 は、813 塩基のコーディング領域からなり 271 アミノ酸に翻訳されるが、25 アミノ酸からなるシグナル配列を有することから、分泌蛋白質であることがわかった。また、従来のコレクチンでは

見られないコラーゲン様領域のエクソンのスプライスバリエーションが存在することが明らかとなった。mRNA の発現は、肝臓、副腎、腎臓で高く、免疫組織染色においてもその局在を確認した。CHO 細胞を用いた組換え CL-K1 は、SDS-PAGE 上分子量は約 33kDa であり血清から精製した CL-K1 と同様に 3 量体を基本とした多量体を形成していたが、血清由来 CL-K1 はさらに高度の多量体であった。組換え CL-K1 とマンナンとの結合を、単糖の阻害活性で評価するレクチン活性は、同じレクチンフレームをもつ MBL 同様、L-フコース、D-マンノースで高かったが、GlcNAc との高い結合活性は見られなかった。Functional Glycomics コンソーシアムの 377 種類の糖鎖からなる Glycan Array における結合検討では、Man-9 に対する極めて高い結合活性を認めた。さらに異物リガンド結合に関しては、微生物由来の LPS や LTA、DNA と結合を認めた。また、各種抗体作成による ELISA システムを構築し、血清中の CL-K1 濃度について測定を試みたので報告する。

## [参考文献]

- 1) Keshi H et al. *Microbiol Immunol* 50:1001-1013 (2006).
- 2) Motomura W et al. *J Histochem Cytochem* 56:243-52 (2008).
- 3) 鈴木定彦 他、*臨床検査* 52:861-869 (2008).

## *Streptococcus pyogenes* C6結合タンパクの ナノスケール・バイオイメーjing解析

寺尾 豊<sup>1</sup>、浜田 茂幸<sup>2</sup>、川端 重忠<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 阪大院・歯・口腔細菌、<sup>2</sup> 阪大・微研

Bioimage analysis of C6-binding protein from *Streptococcus pyogenes* at the nanoscale

Yutaka Terao<sup>1</sup>, Shigeyuki Hamada<sup>2</sup>, Shigetada Kawabata<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Oral and Molecular Microbiology, Osaka University Graduate School of Dentistry,

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

### [目的]

*Streptococcus pyogenes*感染の侵襲性症例では、感染部位に多形核白血球の浸潤がほとんど認められない。一因として、*S. pyogenes*は補体免疫系の回避に寄与する多様な病原因子を発現することが報告されている<sup>1,2)</sup>。その結果、*S. pyogenes*は組織や血管へ侵入した後に増殖することが可能となり、種々の組織へ伝播すると推察されている<sup>3)</sup>。本研究では、*S. pyogenes*のプロテオーム解析を行い、補体C6に結合する分子を同定した(C6BP)。さらに、近年の技術進歩が著しいバイオイメーjing機器を用いて補体分子の観察系を構築し、C6BPが補体系および*S. pyogenes*の免疫回避に及ぼす影響を解析した。

### [方法]

*S. pyogenes*の菌体表層画分を抽出し、SDS-PAGEで展開した。明瞭な電気泳動像を呈するタンパクを複数選出し、アミノ酸配列の決定を行った。次に、得られた配列情報を基に、組換えタンパクおよび遺伝子欠失株を複製した。続いて、ヒト補体成分および免疫グロブリンの全サブクラスに対する当該組換えタンパクの結合能を、リガンドプロットおよび生体分子間相互作用解析装置で調べた。さらに、組換えタンパクに対する抗血清を調製し、*S. pyogenes*における当該タンパクの発現と局在を解析した。

### [結果]

*S. pyogenes*の菌体表層画分から、補体成分C6に結合能を有するC6BPを同定した。C6は補体C5bおよび補体C7-C9と膜侵襲性補体複合体(MAC)を形成する。そこで、*S. pyogenes*由来のC6BPと、C5bおよびC7-C9のC6親和性を比較した。その結果、C6BPはC7-C9よりも高い結合定数と結合速度定数を示した。次に、*in vitro*で構築したMACに*S. pyogenes*の野生株あるいは*c6bp*欠失株をそれぞれ添加したところ、*c6bp*欠失株では野生株に比較して培養後の生存率が低下した。また、この時の菌体を原子間力顕微鏡でリアルタイム観察した結果、*c6bp*欠失株ではMAC添加による菌体の破壊過程が認められた。さらに、組換えC6BPを添加すると、MAC形成が阻害される像が分子レベルで観察された。

### [考察]

高速スキャン型の原子間力顕微鏡が、生体分子の機能解析に有用となる可能性が示された。また、*S. pyogenes*のC6BP分子がMAC形成を阻害することで、補体免疫の回避に寄与することが示唆された。

### [参考文献]

- 1) Terao Y et al. *J Biol Chem* 281:14215-1422 (2006).
- 2) Terao Y et al. *J Biol Chem* 283:6253-6260 (2008).
- 3) Johansson L et al. *Clin Infect Dis* 51:58-65 (2010).



## LPS と抗好中球抗体によりマウスに誘導される アナフィラキシー様ショック

田中志典、永井康裕、黒石智誠、遠藤康男、菅原俊二  
東北大・歯・口腔分子制御学

Anaphylaxis-like shock induced by LPS plus anti-neutrophil monoclonal antibodies in mice

Yukinori Tanaka, Yasuhiro Nagai, Toshinobu Kuroishi, Yasuo Endo, Shunji Sugawara

Div. of Oral Immunology, Tohoku University Graduate School of Dentistry

### [目的]

好中球は、血中に多く存在し、感染初期に速やかに感染部位へと動員され、病原体の貪食、殺菌を行う重要な免疫担当細胞である。様々なマウス病態モデルにおいて、好中球の役割を明らかにするために、抗好中球モノクローナル抗体の投与による好中球枯渇実験が行われてきた<sup>1)</sup>。私達はその過程で、偶然、以下の現象を見出した。即ち、少量の LPS を投与したマウスに抗好中球モノクローナル抗体 RB6-8C5 を静脈注射すると、激しいアナフィラキシー様ショックが発現し、マウスは 20 分以内に死亡した。好中球により特異的なモノクローナル抗体 1A8 の投与によっても同様のショックが誘導された。本研究においては、このショックの発症機序を解析した。

### [方法]

雄の BALB/c マウスに LPS (10 µg/kg) を静脈注射し、その 2 時間後に RB6-8C5 (500 µg/kg) を静脈注射する。ショックの重症度は外見的所見の観察、および直腸温の測定により評価した。

### [結果]

私達は以下の結果を得た。

- ① LPS 投与後、肺と肝臓に好中球の集積が見られた。
- ② 血・小 板 活 性 化 因 子 (PAF; platelet-activating factor) 受容体アンタゴニスト CV-3988 はこのショックの発現を抑制した。

- ③ RB6-8C5 投与 5 分後の肺において、PAF 合成酵素 lyso-PAF acetyltransferase (lyso-PAF AT)<sup>2)</sup> の mRNA 発現レベルの上昇が見られた。この現象は LPS 前投与されていないマウスでは見られなかった。
- ④ C5 を欠損している DBA/2 マウス<sup>3)</sup>はこのショックに耐性であった。
- ⑤ DBA/2 マウスでも LPS 投与により肺と肝臓に好中球が集積した。しかし、RB6-8C5 投与後の lyso-PAF AT mRNA 発現レベルの上昇は見られなかった。

### [考察]

RB6-8C5 と 1A8 は好中球特異的膜抗原 Ly-6G を認識するモノクローナル抗体である<sup>1)</sup>。私達は以上の結果から、次のようなメカニズムを考えている。即ち、LPS 投与により肺や肝臓に集積した好中球に Ly-6G を介した刺激が入ると、PAF 合成が促進され、急激なアナフィラキシー様ショックが誘導される。C5 はこの PAF 産生に必須である。その機序は今後明らかにしたい。

### [結論]

LPS と抗好中球抗体によりマウスに誘導されるショックは、PAF と C5 に仲介される。

### [文献]

- 1) Daley J.M. et al. *J. Leukoc. Biol.* 83: 64-70 (2008).
- 2) Shindou H. et al. *J. Biol. Chem.* 282: 6532-6539 (2007).
- 3) Ooi M. et al. *Nature* 282: 207-208 (1979).

## ピーナッツはC4を介して補体を活性化する

兒玉利尚、関根英治、高橋実、岩城大輔、遠藤雄一、藤田禎三  
福島県立医大・医・免疫

Peanuts activate complements via C4.

Toshihisa Kodama, Hideharu Sekine, Minoru Takahashi, Daisuke Iwaki, Yuichi Endo, Teizo Fujita  
Dept. of immunology, Fukushima Medical University School of Medicine

【目的】補体活性化は生体防御に深く関与しているが、アレルギー性疾患にも深く関与していることが明らかとなってきている。2009年にピーナッツより抽出されたタンパク質に補体活性化能があることが示され、マウスにおけるピーナッツアナフィラキシーショックに補体活性化が関与していることが明らかとなった<sup>1)</sup>。しかし、ピーナッツによる補体活性化の詳細な機序は未だ解析されておらず、我々はC4欠損マウス及び各種 Mannose binding lectin associated serine protease(MASP)欠損マウスを用いて、ピーナッツによる補体活性化経路に関する検討を実施した。

【方法】市販のピーナッツより硫酸アンモニウムを用いた分画でタンパク質を抽出した。ピーナッツ抽出物(PE)をプレート上に固相化し、各種マウス血清を用いてC3沈着を測定した。また、同様の方法で固相化PEに沈着する各種抗体及びC1qを検出した。*in vivo*においてはPEを直接静脈内に投与し、血漿中のC3a濃度をELISA法で測定した。

【結果】固相化PEと野生型マウス血清をインキュベートしたところ、PEの用量依存的にC3沈着が認められた。EGTAを添加したCa<sup>2+</sup>非存在下及びC4欠損マウスの血清を用いた場合においては、PEによるC3沈着は認められなかった。また、MASP1/3欠損マウス血清を用いた場合においてC3沈着はやや減弱し、MASP2/sMAP欠損マウス由来血清を用いた場合のC3沈着は野生型マウスと同様に認められた。野生型マ

ウス血清を固相化PEとインキュベーションしたところ、C1q、IgG2a及びIgG2bがPEの用量依存的に沈着した。IgM及びIgG3のPEへの沈着は検出されなかった。

*In vivo*においては、野生型マウスに直接PEを静脈内投与したところ、血漿中C3a量が著しく増加した。C4欠損マウスにおいてはPEによる血漿中C3a量の増加がほとんど起こらず、MASP2/sMAP欠損マウスにおいては血漿中C3a量の増加が一部抑制されていた。またMASP1/3欠損マウスにおいてはPEによって野生型マウスと同程度に血漿中C3a量が増加した。

【考察】PEによる補体活性化は*in vitro*においてC4及び古典的経路を介して起こることが示唆された。また*in vivo*においてもPEはC4を介して補体活性化を引き起こすが、その経路は古典的経路とレクチン経路の2経路を介すると考えられた。従って、ピーナッツによる補体活性化は複数の抗原、複数の経路によって引き起こされるものと考えられる。プレートに固相化された古典的経路を活性化する抗原は比較的サイズの大きいもの、レクチン経路を介する抗原はサイズの小さいものと推測している。

【結論】ピーナッツによる補体活性化はC4を介する古典的経路及びレクチン経路を介して引き起こされる。

### 【文献】

1) Khodoun M. et al. J Allergy Clin Immunol. 123: 342 (2009)

## 新型 H1N1 インフルエンザの重症化における 補体アナフィラトキシンの関与

太田里永子<sup>1</sup>, 伊藤嘉規<sup>2</sup>, 鳥居ゆか<sup>2</sup>, 木村宏<sup>3</sup>, 岡田則子<sup>1</sup>, 今井優樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名市大・医・免疫, <sup>2</sup>名大・医・小児科, <sup>3</sup>名大・医・ウイルス

Complement Anaphylatoxin involvement in the infection with complicated 2009 H1N1 influenza.

Rieko Ohta<sup>1</sup>, Yoshinori Ito<sup>2</sup>, Yuka Torii<sup>2</sup>, Hiroshi Kimura<sup>3</sup>, Noriko Okada<sup>1</sup> and Masaki Imai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>3</sup>Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine

### 〈はじめに〉

2009年4月にWHOよりH1N1パンデミック宣言が出された<sup>1), 2)</sup>。日本においても、5月に初めてのoutbreakが確認され、それ以来、全国的に流行した。感染患者のうち死亡者は季節性のインフルエンザに比べて低いものの、重症化した症例は、15歳以下の小児を中心に多数報告された<sup>3)</sup>。

感染防御において、補体は重要な役割を果たしているが、過剰な補体活性化による補体分解産物C5aアナフィラトキシンの過剰産生は、敗血症や多臓器不全等の重篤な病態の要因のひとつである。そのメカニズムとして、サイトカインストームを引き起こし、それにより、多臓器不全に陥ると考えられる<sup>4)-6)</sup>。

そこで、アナフィラトキシンが、2009 H1N1 インフルエンザの病態に関与するかどうかを検討するため、新型インフルエンザ小児患者の血清中のサイトカイン、innate immunityの活性化物質であるhigh-mobility group box 1 (HMGB1)などの炎症性物質と、アナフィラトキシンの濃度を測定し、さらにその関連を検討した。

### 〈方法〉

RT-PCR法によりH1N1新型インフルエンザに感染したと診断された25症例(7.0±2.1歳)について、急性期及び、回復期に採取された血清中のHMGB1とアナフィラトキシン(C5a, C4a, C3a)濃度を、それぞれHMGB1 ELISA kit (Shino-test)とAnaphylatoxin ELISA kit (BD)にて測定した。また27種類のサイトカイン・ケモカイン濃度はmultiplex beads-based assay (Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex Assay Beads Assay)で測定した。

### 〈結果と考察〉

発熱から3日以内(1.0 ± 1.0日)における血清中C5a, C4a, C3aの濃度を測定したところ、コントロール群(重症合併症のないインフルエンザ患者)で健常人より有意に高値を示したが、重症化群とコントロール群で有意な差は認められなかった。今回用いたELISAでの測定方法では、不活化型C5a-desArg, C4a-desArg, C3a-desArgと、活性化型C5a, C4a, C3aを区別することはできない。補体反応は、ウイルス感染初期に即時的に増幅され、発熱から3日以内の血清では、活性化型と不

活化型が混在する状態であると考えられるため、重症化群とコントロール群で差が認められなかったと推察される。

発熱から4日以降(6.7 ± 3.0日)の血清を回復期とし、急性期の血清と比較したところ、回復期においてC3aは有意に低下を示した(p=0.029)。一方、C5a、C4aは急性期と回復期で有意な差は認められなかった。C3aとC4a、C5aの値には、それぞれ相関が認められることから、今回、回復期として血漿を採取した日より、遅れて、C4aとC5aが低下してくるのではないかと考えられた。

次に重症化群と、コントロール群で、27種のサイトカインとHMGB1の値を測定した。コントロール群と比較して、重症化群において、IL-5、IL-6、RANTESで有意に高値を示した(IL-5 P=0.001, IL-6 P=0.002, RANTES P=0.021)。

次に、アナフィラトキシンと、27種のサイトカイン及びHMGB1の相関を調べた。C5aにおいて、IL-2と相関が認められた(P=0.025, R<sup>2</sup>=0.200)。C4aについては、IL-1raと強い相関が認められ(P<0.0001, R<sup>2</sup>=0.72)、

Eotaxin(P<0.0001, R<sup>2</sup>=0.547)、MCP-1(MCAF)(P<0.0001, R<sup>2</sup>=0.495)、PDGFbb(P=0.004, R<sup>2</sup>=0.307)、VEGF(P=0.008, R<sup>2</sup>=0.272)とも相関が認められた。C3aにおいては、IL-2(P=0.003, R<sup>2</sup>=0.320)とIFN-γ(P=0.016, R<sup>2</sup>=0.226)に相関が認められた。

これらは、2009年H1N1インフルエンザウイルス感染における重症化の要因としてアナフィラトキシンの関与を示唆する結果は得られなかったが、過剰な補体活性化によるアナフィラトキシンの過剰産生は、炎症性物質の産生増大に関与することが推察された。

#### 〈参考文献〉

- 1) F. S. Dawood et al., *Engl J Med*, 360, 2605 (2009).
- 2) C. Fraser et al., *Science*, 324, 1557 (2009).
- 3) T. Kamigaki., *PLoS Curr Influenza*, RRN1139 (2009)
- 4) M. A. Flierl et al., *FASEB J*, 22, 3483 (2008).
- 5) D. Rittirsch et al., *Nat Med*, 14, 551 (2008).
- 6) J. C. Schefold et al., *Shock*, 28, 418 (2007).

# 慢性白血病由来 K562 細胞を用いたヘミン誘導性赤血球分化モデルにおける 部分的アポトーシス機構の役割

西浦 弘志、山本 哲郎

熊本大学・大学院生命科学研究部・分子病理分野

The role of a partial apoptotic system in the hemin-induced erythropoietic model of  
chronic leukemia K562 cells

Hiroshi Nishiura, Tetsuro Yamamoto

Dept. of Mol. Pathol., Faculty of Life. Sci., Kumamoto Univ., Kumamoto, Japan

## 【はじめに】

アポトーシス細胞が遊離する S19 リボソーム蛋白質 (RP S19) 二量体は、補体 C5a レセプター (C5aR) を介してアポトーシス増幅作用と単球・マクロファージ走化作用を持つ[1]。従って、RP S19 二量体・C5aR 機構は、アポトーシス細胞処理機構の中心的役割を担う。

近年、RP S19 遺伝子変異が原因のダイヤモンド・ブラックファン貧血症等の研究より、エリスロポエチンや RP S19 単量体等の抗アポトーシス作用による赤血球幹細胞維持が報告された[2]。一方、赤芽球の成熟分化に部分的アポトーシス作用やマクロファージによる脱核処理作用が必要であるか否かの論議には、決着が着いていない [3]。

我々は、部分的アポトーシスに陥った赤芽球由来の RP S19 二量体による赤芽球成熟促進とマクロファージの脱核処理増幅を仮定した。この仮説を検証するために、今回、慢性白血病 K562 細胞のヘミン誘導性赤血球分化[4]とマクロファージによる脱核処理を合わせ持つ *in vitro* モデルを構築し、アポトーシス機構の成熟分化への関与を検討した。

## 【方法】

(1) K562 細胞を、通常の 30 nM ヘミン存在下と 1 nM サイクロスポリン・4 g/L グルコース添加下の 2 条件にて 24 日間培養し、分化過程の形態学的変化をレーザー顕微鏡で観察した。(2) 赤色蛍光蛋白質 RFP 核標識 K562 細胞由来赤芽球と緑色蛍光蛋白質 GFP 標識白血病 HL-60 細胞由来マクロファージを共培養し、脱核処理を位相差顕微鏡および FACS にて観察した。(3) アポトーシス機構の関与を検討するために、マンガン (II) 誘導アポトーシスに耐性の

K562 (R-K562) 亜株を樹立し、分化過程の形態学的変化をレーザー顕微鏡で観察した。(4) 更に、アポトーシス機構および RP S19 二量体・C5aR 機構の関与を確認するために、蛋白質産生変化をウエスタン法で観察した。

## 【結果】

(1) K562 細胞は、通常の 30 nM ヘミン存在下 8 日間培養により赤芽球まで分化するが、それ以降の分化には制限が掛かる。しかし、1 nM サイクロスポリン・4 g/L グルコース添加 24 日間培養により、低率ではあるが赤血球が観察できた。(2) K562 細胞由来赤芽球の脱核物が、HL-60 細胞由来マクロファージに貪食されていた。(3) R-K562 細胞では、赤芽球までの分化が遅延するとともにトランスグルタミナーゼ・C5aR・RP S19 二量体の発現も遅れた。その際、HL-60 細胞由来マクロファージによる脱核処理も認めなかった。

## 【考察】

(1) ヘミンによる赤血球分化誘導には、サイクロスポリンの抗アポトーシス作用、高グルコースによる解糖系の促進、マンガン (II) 誘導アポトーシス関連経路の関与が必要である。(2) C5aR・RP S19 二量体機構の赤血球分化機構への関与が示唆された。

## 【文献】

- [1] Semba U. *Am J Pathol.* 2010;176:1542-51.
- [2] Flygare J. *Blood.* 2007;109:980-6.
- [3] Droin N. *Front Biosci.* 2009;14:2358-71.
- [4] Koefler HP. *Blood.* 1980;56(3):344-50.

## 乳酸によるIL-23非依存的なIL-17産生増強経路

井上徳光<sup>1</sup>、藪政彦<sup>1</sup>、志馬寛明<sup>1,2</sup>、松本美佐子<sup>2</sup>、瀬谷 司<sup>2</sup>、赤澤 隆<sup>1</sup>

<sup>1</sup>大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学、<sup>2</sup>北海道大学大学院医学研究科・免疫学

### IL-23-independent enhanced IL-17 production by lactic acid

Norimitsu Inoue<sup>1</sup>, Masahiko Yabu<sup>1</sup>, Hiroaki Shime<sup>1,2</sup>, Misako Matsumoto<sup>2</sup>, Tsukasa Seya<sup>2</sup>, Takashi Akazawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Molecular Genetics, Osaka Medical Center for Cancer, <sup>2</sup>Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University

#### [はじめに]

IL-17産生と様々な自己免疫疾患や癌周囲の炎症との関連性が指摘されている。IL-17を産生するTh17細胞は、Naïve T細胞からIL-6とTGF- $\beta$ の存在下で分化誘導されるが、IL-1b, IL-23, IL-21, IL-22などのサイトカインによって、その分化が促進されることが報告されている。また、プロスタグランジンE2や補体の活性化によるC5aもTh17細胞の分化やIL-17産生に関与することが報告され、Th17細胞やIL-17の関与する炎症が、様々な因子により制御されていることが明らかになってきている。我々は、昨年までの本シンポジウムで、癌から分泌される乳酸が、Toll-like receptor (TLR) シグナルと協調的に働き、IL-23の分泌を促進することにより、IL-17産生を増強することを報告した(1)。今回、IL-23の関与しない経路によっても、乳酸が、IL-17産生を増強することを明らかにしたので、報告する。

#### [方法]

- (1) MHCクラスIIに提示されたOvalbumin (OVA) ペプチドを認識するTCRトランスジェニックOT-IIマウス脾臓からCD4<sup>+</sup>細胞とC57BL/6Jマウス脾臓からCD11b<sup>+</sup>細胞と精製し、乳酸存在下でそれらを混合培養し、IL-17産生量を測定した。
- (2) IL-12, IL-23, IL-12p40homodimerの関与を検討した。
- (3) IL-17産生に関与することが知られているIL-1 $\beta$ の関与を検討した。

#### [結果]

- (1) 抗CD40L抗体、抗IL-12p40抗体による阻害実験より、CD40L-CD40相互作用によるIL-12p40の誘導が、重要であることを証明した。しかし、抗IL-23p19抗体による阻害実験から、IL-17の産生増強に、CD11b<sup>+</sup>とCD4<sup>+</sup>細胞の共培養では、IL-23は関与していないことが明らかになった。また、IL-23p19のmRNAの発現は誘導されたが、IL-23蛋白は、検出されなかった。
- (2) IL-12p40をサブユニットにもつ3つのサイトカインIL-12, IL-23, IL-12p40homodimerのうち、IL-23のみ、IL-17産生を増強したが、乳酸の方がより強力にIL-17産生を増強した。
- (3) IL-1 $\beta$ の産生は、乳酸により変化しなかった。IL-1bの阻害によりIL-17産生は、著しく抑制されたが、乳酸によるIL-17産生増強は観察された。

#### [考察]

今回、乳酸は、TLRリガンドの存在しない状態では、IL-23ではなく、主にIL-12p40を含む新規サイトカインによりIL-17産生を増強している可能性を示唆するデータを得た。癌周囲のような慢性炎症状態では、IL-23より、むしろIL-23非依存的な経路によってIL-17産生が誘導されている可能性が考えられ、IL-17産生には、より重要かもしれない。今後、乳酸をセンスするメカニズムやIL-23非依存的な新規IL-17産生増強経路を解明していきたい。

#### [参考文献]

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

## 樹状細胞 MyD88 経路によるNK 細胞の活性化機構

瀬谷 司<sup>1</sup>、初谷良子<sup>1</sup>、東 正大<sup>1</sup>、志馬寛明<sup>1</sup>、松本美佐子<sup>1</sup>、井上徳光<sup>2</sup>、赤澤 隆<sup>2</sup>、  
藤本ゆかり<sup>3</sup>、深瀬浩一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科・免疫学、<sup>2</sup>大阪府立成人病センター研究所・分子遺伝学、  
<sup>3</sup>大阪大学理学部合成化学講座

## How myeloid dendritic cells drive NK activation via the MyD88 pathway

Tsukasa Seya<sup>1</sup>, Ryoko Sawahata<sup>1</sup>, Masahiro Azuma<sup>1</sup>, Hiroaki Shime<sup>1</sup>, Misako Matsumoto<sup>1</sup>,  
Norimitsu Inoue<sup>2</sup>, Takashi Akazawa<sup>2</sup>, Yukari Fujimoto<sup>3</sup>, Koichi Fukase<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Microbiology and Immunology, Graduate School of Medicine, Hokkaido University,

<sup>2</sup>Molecular Genetics, Osaka Medical Center for Cancer,

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University.

## [はじめに]

微生物感染の初期応答はtype I interferon (IFN) に代表される即時的なサイトカイン応答とそれに続くNK 細胞の活性化に代表される。NK 細胞はIL-12, IL-18, IL-15, IFN- $\alpha$  などの液生メディエーターによって樹状細胞非依存性に活性化される。これとは別にNK 細胞は樹状細胞依存性に細胞接着によっても活性化する。このとき、樹状細胞は特有な成熟化状態にシフトする必要があり、それを起動する特異シグナルがある。我々はToll 受容体 (TLR) シグナルなど微生物パターン分子に依って起動するシグナルが樹状細胞のNK 活性化のドライブに重要であることを証明してきた (1)。TLRのシグナル伝達はアダプター分子、MyD88とTICAM-1 (TRIF) にスイッチ機構があり、MyD88経路は微生物応答性宿主炎症の起動に、TICAM-1 経路は主にtype I IFN 誘導に携わる。我々はMyD88経路、TICAM-1 経路がそれぞれ異なったモードで樹状細胞に NK 活性化能を付与することを証明してきた (1, 2)。本報告ではMyD88 経路のNK 活性化機構をTLR2 アゴニスト、diacyl lipopeptides (Pam2Cys) を用いて解析し、peptide 配列がNK 活性化に深く関与することを発見したので報告する。

## [方法]

(1) TLR2<sup>-/-</sup>, MyD88<sup>-/-</sup> mice は審良研 (阪大) より恵与された。TICAM-1<sup>-/-</sup>, IPS-1<sup>-/-</sup> mice は当研究室で作製した。マウスは全てSPF環境で管理し、動物実験指針 (北海道大学) に従って扱った。(2) マウス樹状細胞は骨髄から、NK 細胞は脾臓から既報に従って調整した。(3) 各種Pam2Cysは *Staphylococcus aureus* の database (DOLOP) から深瀬研 (阪大理) で合成された (3)。(4) Cytokine はELISA によって定量した。NK活性化は標的細胞 (B16D8 or YAC-1) を<sup>51</sup>Crラベルして細胞傷害活性を測定した。

## [結果と考察]

Wild-type mice 樹状細胞を各種Pam2Cys (1-19) 100 nM と混合し、4時間後にNK 細胞を同数加えて24 時間置くとNK 細胞が活性化した。Trans-well assay, 抗体阻害などからこのNK 細胞活性化は液生因子に依らずcell-cell contact によって誘導されることが判明した。TLR2, MyD88 KO mice から調整した樹状細胞はPam2CysによるNK 活性化を誘起せず、TICAM-1 KO mice 樹状細胞はNK活性化を起動した。従って、樹状細胞はTLR3/TICAM-1 経路以外に、TLR2/MyD88 経路によるNK活性化経路を持つことが判明した。

Pam2Cys の後続ペプチドについてNK活性化を検討した。Pam2CSKKKKがTLR2アゴニストとして使われている。Pam2CSKに NK活性化作用は無く、CSKK以上の長さがあればNK を活性化した。ペプチドの長さを10個程度とすると、Pam2CysのペプチドがC末近くにLysを含む場合、強いNK 活性化を惹起した。一方、N末Cys の近傍にProや疎水アミノ酸が位置する場合、NK活性化は殆ど起きなかった。

Cys の後のPro/Leu/IleをSer/Asn に変換すると、これらの変換Pam2Cys peptides はNK 活性化能を回復した。以上から樹状細胞依存性のNK細胞活性化は既報のTICAM-1経路 (4) 以外にMyD88経路に依って担われることが明らかになった。*S. aureus* のPam2CysにはこのNK活性化経路を選択しないものがあり、それらはペプチド配列に水素結合阻害性アミノ酸を含むためであることが証明された。

細菌のリポペプチドがNK 細胞を活性化しないように特化した理由は不明であるが、感染細胞の生存や慢性持続性感染の成立のためにこのNK活性化の不応答性は有利に働くかもしれない。

[参考文献]

- 1) Akazawa T. et al. *PNAS*. 180: 7175 (2007)
- 2) Azuma M., Hatsugai R. et al. *PLoS ONE* (in press) (2010)
- 3) Fujimoto Y. et al. *Chembiochem* 10: 2311 (2009)
- 4) Ebihara T., Azuma M. et al. *J Exp Med* (in press) (2010)



## 異種移植における補体の活性化と凝固の促進

三輪祐子<sup>1</sup>、山本晃士<sup>2</sup>、羽根田正隆<sup>1</sup>、岩崎研太<sup>1</sup>、劉大革<sup>1</sup>、矢崎智子<sup>4,3</sup>、  
岩元正樹<sup>4,3</sup>、大西彰<sup>3</sup>、打田和治<sup>5</sup>、中尾昭公<sup>6</sup>、小林孝彰<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学免疫機能制御学、<sup>2</sup>名古屋大学輸血部、<sup>3</sup>農業生物資源研究所、<sup>4</sup>プライムテック株式会社、  
<sup>5</sup>名古屋第二赤十字病院、<sup>6</sup>名古屋大学消化器外科

## Complement activation and procoagulant state in Xenotransplantation

<sup>1</sup>Department of Applied Immunology, Nagoya University School of Medicine,

<sup>2</sup>Department of Transfusion Medicine, Nagoya University School of Medicine,

<sup>3</sup>Department of Transplant Surgery, Nagoya Daini Red Cross Hospital,

<sup>4</sup>Department of Developmental Biology, National Institute of Agrobiological Sciences,

<sup>5</sup>Prime Tech LTD, <sup>6</sup>Department of Surgery II, Nagoya University School of Medicine

【背景、目的】異種移植において、主要異種抗原 (alpha Gal 抗原) 末梢ブタ, ヒト補体抑制遺伝子 (human DAF, MCP) 導入ブタの臓器を使った、ヒヒとの移植実験で、凝固障害による微小血管病変が問題となっている。抗原抗体反応による補体活性の抑制不足によって起こっているのか、あるいは抗凝固因子の分子間不適合による凝固系の亢進によるのか解明されていない。異種移植での補体系の抑制が凝固系制御にどのように関わっているのか検討し、ブタと霊長類の間で分子レベルの不適合が報告されている抗凝固因子 human thrombomodulin (hTM)<sup>1)</sup>の補体抑制効果も検討した。

【方法】ブタ血管内皮細胞 (PAEC) は、hDAF-TG pig と  $\alpha$ -Gal 抗原を切断する酵素 EndoGalC-pig を掛け合わせた pig 由来 PAEC (hDAF/EndoGalC-PAEC) を用いた。hTM は electroporation により PAEC に導入した。新鮮ヒト血清と PAEC を反応させ、IgG, IgM, C3d 沈着を flow cytometry (FCM) で測定した。凝固系の指標は、thrombin generation assay によって評価した。

【結果】hDAF/EndoGalC-PAEC のヒト新鮮血清刺激による C3d 沈着と抗ブタ抗体価 (IgG, IgM) は、wild の

PAEC に比較して 50%抑制した。hTM を導入した、hDAF/EndoGalC/hTM-PAEC の C3d 沈着は hDAF/EndoGalC-PAEC に比して有意な抑制はなかった。一方凝固系の指標である thrombin 産生は、(wild PAEC, hDAF/EndoGalC-PAEC, hDAF/EndoGalC/hTM-PAEC: 6.74IU/ml, 2.08IU/ml, 1.19IU/ml) と有意な減少を認めた。<sup>2)</sup>

【考察 総括】内皮細胞への抗体接着を抑え、ヒトの補体抑制遺伝子を加えると、補体抑制がかかり、さらに凝固系が抑制されることがわかったが、まだ凝固系制御には不十分である。抗凝固因子の thrombomodulin (TM) は、今回 C3d の沈着抑制には、有意な差はみられなかったが、C3a, C5a を不活化する TAFI を活性化することが知られている。TM がアナフィラトキシンを抑制することが、thrombin 産生にどのように関わっているかを調べるのが今後の課題である。

## 【参考文献】

1) J.C. Roussel et al. American Journal of Transplantation 8:1101-1112 (2008)

2) Y. Miwa et al. Xenotransplantation 17:26-37 (2010)

## 低補体血症性蕁麻疹様血管炎の1例

林 宏明<sup>1</sup>、笹岡俊輔<sup>1</sup>、松浦浩徳<sup>1</sup>、秀 道広<sup>2</sup>、藤本 亘<sup>1</sup><sup>1</sup>川崎医大・皮膚科<sup>2</sup>広島大・皮膚科<sup>1</sup>Dept. of Dermatology, Kawasaki Medical School<sup>2</sup>Dept. of Dermatology, Hiroshima University Medical School

蕁麻疹様血管炎はⅢ型アレルギーを示唆する免疫複合体が関与する疾患である。今回、当科で様々な治療に抵抗した抗 C1q 抗体陽性の蕁麻疹様血管炎の症例を経験したので報告する。

## [症例]

31歳、女性。2005年10月頃から蕁麻疹が出現するようになり近医にてステロイド内服にて治療するも完治せず2006年2月当科を紹介され受診。初診時、眼球結膜の充血、両手～前腕、腰部に浮腫性紅斑を認めた。血算、生化学には特記すべき異常を認めず、抗核抗体(ELISA)は21.6と弱陽性であるが特異抗体は全て陰性でC3 26.7 mg/dL、C4 3.7 mg/dL、CH50<10 U/mLと低補体血症があり、C1 inactivator は正常であったがC1q 結合免疫複合体 39.8 (<3.0)  $\mu$ g/mL、抗C1q抗体陽性であった。病変部皮膚の生検組織では血管周囲への多核白血球浸潤がみられ、蛍光抗体直接法では血管壁、基底膜部にIgG, C3, C1qの沈着を認めた。低補体血症を伴う蕁麻疹様血管炎と診断し、少量のステロイド薬、DDS内服で治療開始したが次第に治療抵抗性となり、ステロイドパルス療法は無効、メシル酸ナフアモスタットは持続点滴中に限り膨疹を抑制でき、現在、広島大学病院にてミコフェノール酸モフェチル内服により寛解を得ている。

詳細な補体の解析を神戸常盤大学の補体チームに依頼したところCH50, C4, 及びC2が著しく低値であった。また、C3活性、C3totalもACH50も著明な低値を示していた。一方、

C5、C6、C7、C8及びC9はほとんど基準値であった。以上の結果より、古典経路と第2経路の両方が著しく活性化されている例であることがわかった。

低補体血症性蕁麻疹様血管炎(hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome: HUVS)は、1973年に低補体血症とともに、蕁麻疹様紅斑、または血管浮腫、関節痛、関節炎、腹痛、腎障害を示した血管炎が hypocomplementemia with cutaneous vasculitis and arthritisとして初めて記載され、その後、Zeissらにより同様の症例で補体C1q分画が著しく減少し、血清中のC1q沈降素が陽性であることが明らかとなり hypocomplementemic vasculitic urticarial syndromeとして報告された疾患である<sup>1)</sup>。本疾患はC1qに対するIgG自己抗体が全例で証明され、診断に必須である。これが病態形成に果たす役割はいまだに不明であるが、抗C1q抗体が組織に沈着した免疫複合体あるいは血液中のC1qにおけるcollagen-like regionと結合し、C1に続く補体の古典的経路を活性化して炎症に導くものとして考えられている<sup>2)</sup>。本例でも抗C1q抗体は陽性が持続していたが、抗体価と病勢の相関は認めなかった。また低補体血症も著明であったが、全経過を通じて改善はしていない。

## [参考文献]

- 1) Zeiss CR. *Am J Med* 68: 867-875 (1980).
- 2) Wisniewski JJ. *Curr Opin Rheumatol*. 12:24-31 (2000).

## 発作性夜間ヘモグロビン尿症 4 症例におけるヒト化モノクローナル抗 C5 抗体 (Eculizumab) の効果および安全性の検討

野地秀義、七島勉、高橋裕志、小川一英、竹石恭知  
 福島県立医科大学医学部 循環器・血液内科学講座

Effectiveness and safety of treatment with Eculizumab in 4 patients with PNH  
 Hideyoshi Noji, Tsutomu Shichishima, Hiroshi Takahashi, Kazuei Ogawa, Yasuchika Takeishi  
 Department of Cardiology and Hematology, Fukushima Medical University

[目的] 発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) は造血幹細胞レベルでの PIG-A 遺伝子変異により各種血液細胞で glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカー膜蛋白が複合欠損するため、血管内溶血 (補体溶血) や血栓症などを来す後天性・慢性の血液疾患である。従来、PNH の薬物療法として補体溶血に対しては副腎皮質ステロイドやハプトグロビンなどが使用されてきたが確実な効果が得られたとはいえなかった。最近開発された Eculizumab は補体 C5 に対する遺伝子組換えヒト化モノクローナル抗体であり、海外では PNH 症例の補体溶血への有効性が確認された。今回、我々は「Eculizumab phase II study」に参加した PNH4 症例に対し約 2.5 年に渡り Eculizumab を投与したので、その効果・安全性を報告する。

[方法] 対象は 36-60 歳の男性 2 例および女性 2 例。厚生労働科学研究「特発性造血障害に関する調査研究班」の PNH の診断基準に準じて診断された古典的 PNH が 2 例、骨髄不全型 PNH2 例で輸血依存性であった。Eculizumab 600 mg/回点滴静注を毎週 1 回、合計 4 回試行し、その後、900 mg/回を 2 週毎に点滴静注した。Eculizumab 投与開始前および投与日に臨床症状、末梢血液検査、生化学検査、フローサイトメトリーによる赤血球における CD59 の発現を検討した。

[結果] Eculizumab 投与前の検査データは Hb  $8 \pm 2$  (6.2-10.3) g/dl、WBC  $5200 \pm 2400$

(2800-7300)/ $\mu$ L、PLT  $16.1 \pm 5.9$  万 (9.4-22 万)/ $\mu$ L、Ret  $16.1 \pm 10.3$  万 (8.1-31.4 万)/ $\mu$ L、LDH  $1753 \pm 744$  (1064-2650) IU/L、CD59 欠損赤血球  $63.4 \pm 18.8$  (48.2-90.9) % であった。Eculizumab 投与後、全症例で LDH は速やかに減少し、1 ヶ月後には  $179 \pm 55$  (108-223) IU/L とほぼ正常化し、その後も持続した。Hb は全症例で徐々に改善し、6 ヶ月後には  $9.1 \pm 2.8$  (6.6-13.0) g/dl となり、輸血に関しては投与期間中 1 症例のみが赤血球輸血 2 単位を施行されただけであった。CD59 欠損赤血球の割合は全症例で徐々に増加し、投与後 6 ヶ月後では  $88.6 \pm 13.1$  (69.2-97.5) % となり、その後は安定した。WBC および PLT はそれぞれ  $3600 \pm 1500$  (2400-5600)/ $\mu$ L および PLT  $13.4 \pm 2.8$  万 (10.7-17.2 万)/ $\mu$ L と軽度の減少傾向をきたすも有意差は認めなかった。また、全症例で血栓症を発症しなかった。治験期間を通して 1 例で 2 度の  $38^{\circ}\text{C}$  以上の発熱がみられ、また 1 例で前腕の真皮欠損をきたす外傷を起こしたが、いずれも抗生剤などにて速やかに軽快した。その他の重篤な有害事象は見られなかった。

[考察および結論] Eculizumab は病態の異なる PNH 症例の補体溶血に対して有効であり、かつ安全に投与された。今後は補体溶血をきたす PNH 症例への Eculizumab の適応基準をより明確にすべきと考えられた。

## 遺伝性血管性浮腫 (HAE) 6 家系の遺伝子解析

堀内孝彦<sup>1</sup>、塚本浩<sup>1</sup>、有信洋二郎<sup>1</sup>、井上靖<sup>1</sup>、新納宏昭<sup>1</sup>、吉澤滋<sup>2</sup>、生野英祐<sup>3</sup>、  
高村和人<sup>4</sup>、町田治久<sup>5</sup>、辻岡馨<sup>6</sup>、前原潤一<sup>7</sup>、赤司浩一<sup>1</sup>、山本哲郎<sup>8</sup>

<sup>1</sup>九州大学免疫・膠原病・感染症内科、<sup>2</sup>国立病院機構福岡病院、

<sup>3</sup>生野リウマチ整形外科クリニック、<sup>4</sup>福島生協病院、<sup>5</sup>国立病院機構嬉野医療センター、

<sup>6</sup>日本赤十字社和歌山医療センター、<sup>7</sup>済生会熊本病院、<sup>8</sup>那珂川病院

### Genetic analysis of 6 patients with hereditary angioedema

Takahiko Horiuchi<sup>1</sup>, Hiroshi Tsukamoto<sup>1</sup>, Yojiro Arinobu<sup>1</sup>, Yasushi Inoue<sup>1</sup>, Hiroaki Niiro<sup>1</sup>,

Shigeru Yoshizawa<sup>2</sup>, Eisuke Shono<sup>3</sup>, Kazuto Takamura<sup>4</sup>, Haruhisa Machida<sup>5</sup>,

Kaoru Tsujioka<sup>6</sup>, Junichi Maehara<sup>7</sup>, Koichi Akashi<sup>1</sup>, Tetsuro Yamamoto<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Kyushu University Hospital, Department of Clinical Immunology, Rheumatology and Infectious Diseases, <sup>2</sup>National Fukuoka Hospital, <sup>3</sup>Shono Rheumatology Clinic, <sup>4</sup>Fukushima Seikyo Hospital,

<sup>5</sup>Ureshino Medical Center, <sup>6</sup>Japanese Red Cross Wakayama Medical Center,

<sup>7</sup>Saiseikai Kumamoto Hospital, <sup>8</sup>Nakagawa Hospital

<はじめに>

遺伝性血管性浮腫 (Hereditary angioedema : HAE) は反復する限局性の浮腫を主徴とし、しばしば激的な腹痛や、致命的な喉頭浮腫を呈する。その病因は C1r, C1s に対する抑制因子である C1 インヒビター (C1INH) の欠損もしくは機能異常による遺伝性疾患である。

欧州では各国に HAE センターが設立され HAE の有病率や症状の把握、治療体制の確立、遺伝子異常の解析が精力的に行われている。一方本邦では、有病率をはじめとした体系的な情報は皆無といってよい。本邦において HAE の認知度を高め、診断、治療を円滑に行うために、補体研究会では今年、「HAE ガイドライン 2010」を作成した。

こうした現状をふまえて、私どもは HAE

患者の情報を蓄積し、臨床の現場に還元して、適切な医療を提供するための基盤を構築することとした。

<方法>

HAE 患者 6 家系 6 例 (男性 2 例、女性 4 例) の末梢血から DNA を抽出し、C1 インヒビター遺伝子の全領域について変異の有無を解析した。

<結果ならびに考察>

スプライス異常をきたすエクソン/イントロン境界部の一塩基置換 (2 例)、一塩基置換による一個のアミノ酸変異 (2 例)、一塩基欠失によるフレームシフト (1 例)、一塩基挿入によるフレームシフト (1 例) を認めた。6 例中 5 例では C1 遺伝子の後半となるエクソン 6 以降に異常が存在した。本報告は本邦における HAE 遺伝子異常に関する初めてのまとまった報告である。



## 節足動物における TEP 遺伝子の進化

関口玲生, 上島励, 野中勝

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

Evolution of the TEP genes in arthropod

Reo Sekiguchi, Rei Uesima, Masaru Nonaka

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

[はじめに]

脊椎動物の補体系は自然免疫の一員として、獲得免疫系の抗体等と共に感染防御に中心的役割を果たしている。補体系の中心成分である C3 はチオエステル含有タンパク質 (TEP) であり、非補体成分の  $\alpha$ 2-マクログロブリン ( $\alpha$ 2M) 等とともに TEP ファミリーを形成している。TEP ファミリーは C3 サブファミリーと  $\alpha$ 2M サブファミリーに二分され、刺胞動物に両サブファミリーが認められることから、TEP 遺伝子の起源と両サブファミリーへの分化は極めて古く、刺胞動物と左右相称動物の分岐以前に遡ることが明らかにされている。また、 $\alpha$ 2M サブファミリーはこれまで解析された全ての多細胞生物で存在が確認されたが、C3 サブファミリーはヒドラ、ショウジョウバエ<sup>1)</sup>、線虫<sup>2)</sup>などには存在しないことが明らかになり、進化の過程で複数回二次的に失われたことが示唆された。

現生の節足動物門は甲殻、多足、鋏角、六脚亜門に分けられるが、C3 は鋏角類のカブトガニには存在する<sup>3)</sup>が、六脚類のショウジョウバエ、ハマダラカには存在しないことが判明している。

そこで本研究では、節足動物門に属する種に注目しカニ (甲殻亜門)、ヤスデ (多足亜門)、クモ (鋏角亜門) について TEP ファミリー遺伝子の有無を確認

することで、節足動物門内の TEP 遺伝子の進化の過程を明らかにすることを目的とした。

[方法]

既知の C3 間で保存されているチオエステル領域の配列に基づいて縮退プライマーを作製した。このプライマーを用いて、全身または内臓から抽出した RNA から RT-PCR を行い、C3、 $\alpha$ 2McDNA の部分塩基配列約 200bp を得た。この部分配列を基にプライマーを作製し、cDNA から 3'-、5'-RACE を行い C3、 $\alpha$ 2M 遺伝子の全長配列の決定を試みた。

[結果]

アダンソンハエトリグモ (*Hasarius adansoni*) から 3 種類の配列が得られ、BLAST 検索及び系統解析の結果から、2 種は C3 サブファミリーに、1 種は  $\alpha$ 2M サブファミリーに属することが判明した。現在、3'-、5'-RACE によりこれらの cDNA の全塩基配列の解読を目指すと同時に、イソカニダマシ (*Petrolisthes japonicus*)、マクラギヤスデ (*Niponia nodulosa*) について RT-PCR を進めている。

[参考文献]

- 1) Adams, M.D. et al. Science 287, 2185-2195 (2000)
- 2) Consortium, T. C. e. S. Science 282, 2012-2018 (1998)
- 3) Zhu, Y. EMBO J. 24, 382-394 (2005)

## 古代魚ポリプテルスにおける PSMB8 遺伝子の二型性

藤戸尚子<sup>1</sup>、塚本健太郎<sup>2</sup>、野中勝<sup>1</sup>

<sup>1</sup>東京大・院理、<sup>2</sup>藤田保健衛生大・総医研・医高分子

Dimorphism of the *PSMB8* gene in *Polypterus senegalus*

Naoko Fujito<sup>1</sup>, Kentarou Tsukamoto<sup>2</sup> and Masaru Nonaka<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

<はじめに>ヒト MHC 領域には 100 以上の発現している遺伝子が高密度に存在する。このなかには免疫関連遺伝子が多く含まれ、MHC クラス I、II 遺伝子など獲得免疫に関与する遺伝子のみならず、自然免疫に関わる補体成分 C4、C2、Bf などの遺伝子もこの領域に存在する。MHC クラス I、II 遺伝子、及び補体成分を含むクラス III 遺伝子の各遺伝子群の連鎖を基本とする MHC 領域の構造は、軟骨魚類のサメからヒトに至る有顎脊椎動物の各系統において保存されており、獲得免疫の出現とはほぼ同時期に有顎脊椎動物の祖先により獲得されたものと考えられる<sup>1)</sup>。しかしながら硬骨魚類は例外で、クラス I、クラス II、補体遺伝子がそれぞれ異なる染色体上に存在している。免疫関連遺伝子がクラスターを形成することの意義は十分に解明されておらず、硬骨魚類の MHC 関連遺伝子の解析はその理解に何らかの手がかりを与えるものと期待されるが、硬骨魚類の進化過程でいつクラスター構造が失われたかは未だ不明である。

PSMB8 は免疫プロテアソームを構成するサブユニットの一つであるが、これをコードする遺伝子は MHC 領域中に存在し、*PSMB8* 遺伝子とクラス I 遺伝子の密接な連鎖は硬骨魚類でも保たれている。この PSMB8 には、基質特異性を決定する残

基に異なるアミノ酸(A と F)をもち、切断特異性が異なると思われる二つの系統が存在する<sup>2)</sup>。この二系統はサメ<sup>3)</sup>、ゼブラフィッシュ、サケ等で保存されているが、脊椎動物の進化過程では F 系統の喪失が複数回起っており、哺乳類は A 系統のみを有し、メダカやアフリカツメガエル<sup>4)</sup>は一度 F 系統を失った後、A 系統から新たに F 系統と同じ切断特異性を示すと思われるアレルを再生している。オリジナルの A、F 系統は、サメではパラログな遺伝子として、ゼブラフィッシュではアレルとして存在し、その進化過程に興味もたれる。本研究は、この *PSMB8* 遺伝子の二系統の特異な進化過程の全容を明らかにし、同時に硬骨魚類特有のクラスター構造が何時形成されたのかを解明することを目的とする。まず、有顎脊椎動物の共通祖先が獲得した *PSMB8* 遺伝子の二系統の、アレルとしての起源を明確にするため、肉鰭類とともに硬骨魚類のグループを構成する条鰭類のうち、早期に分岐した古代魚ポリプテルス (*Polypterus senegalus*) を材料に選び、*PSMB8* 遺伝子を解析した。

<方法>市販の 7 個体より RNA を抽出し、他動物の *PSMB8* 遺伝子の配列をもとに作成した縮退プライマーによる RT-PCR、及び 5'、3'-RACE に

より *PSMB8* 遺伝子の全長の塩基配列を決定した。  
 <結果と考察> ポリプテルスからは二種類の *PSMB8* 遺伝子が単離された。系統解析の結果、この二種類の遺伝子は、サメ、ゼブラフィッシュ、サケの *PSMB8* 遺伝子の二系統と各々クラスターを形成し、同じ起源をもつ古い二系統であることが示された(下図)。現在、同じ親由来の 28 個体を用いたタイピングにより、これらがアレル/パラログのいずれであるのかの検討を行っている。

<参考文献>

- 1) Kelley, J. et al.: *Immunogenetics*. 56,10 683-95 (2005)
- 2) Tsukamoto, K. et al.: *Mol. Biol. Evol.* 26(4), 769-781 (2009)
- 3) Ohta, Y. et al.: *J Immunol.* 68, 771-81 (2002)
- 4) Nonaka, M. et al.: *Immunogenetics*. 51,1 86-92 (2000)

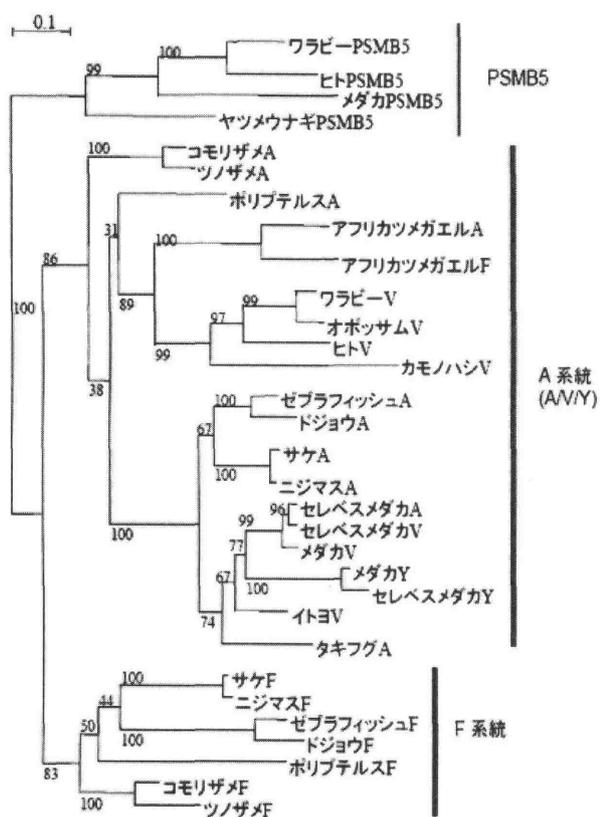


図) *PSMB8* 遺伝子の塩基配列を用いて、Maximum Likelihood 法により描いた分子系統樹

## コイ補体レクチン経路に関連するコレクチンの異物認識多様性

一木昭土、塚本春香、柚本智軌、中尾実樹

九大院農学研究院 生命機能科学部門

Diversity in target-recognition of carp serum collectins related to the lectin pathway of the complement

Akito Ichiki, Haruka Tsukamoto, Tomonori Somamoto, and Miki Nakao

Department of Bioscience & Biotechnology, Kyushu University

[はじめに]

補体レクチン経路は進化的起源の古い活性化経路で、その活性化はコラーゲン様構造を含む血清レクチンによる糖鎖認識に依存する。哺乳類のレクチン経路では、マンノース結合レクチン(MBL)とフィコリンがそれぞれペプチドグリカンと $\beta$ -1,3-グルカンを認識する。一方、硬骨魚類の一種であるコイの血中には MBL とこれに相同な構造をもつガラクトース結合レクチン(GalBL)が存在するが、フィコリンは見つからず、Fibrinogen 様ドメインのみから成る Microfibrillar-Associated Protein 4 のホモログが存在する。

このように哺乳類とは異なる多様性を備えたレクチン群が、コイ補体レクチン経路において異物認識をどのように分担しているのか不明なままである。そこで本研究では、コイ MBL と GalBL の天然のリガンドを探索し、これらレクチンによる異物認識の差異を解析した。

[方法]

コイ MBL と GalBL の糖鎖認識ドメインを pCold-I 発現ベクターと大腸菌 Origami B を用いて発現させた。封入体として得られた各組換えレクチンを SDS-PAGE で分離後、各レクチンのバンド

を切り出してウサギに免疫注射してポリクローナル抗体をえた。コイ血清を種々の異物(酵母、グラム陽性・陰性細菌)とインキュベート後、結合したタンパク質を SDS-PAGE 試料緩衝液で溶出し、各レクチンの結合性をウエスタン・ブロッティングで調べた。

[結果]

MBL は供試した全ての標的異物(パン酵母、分裂酵母(*S. pombe*)の野性株と galactose 欠損株、*E. coli*, *Aeromonas hydrophilla*, *A. salmonicida*, *Edwardsiella tarda*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio anguillarum*, *Staphylococcus aureus*, ザイモサンのいずれにも結合した。一方、GalBL は *A. salmonicida*, *S. typhimurium*, *V. anguillarum*, *S. aureus* およびパン酵母にはほとんど結合性を示さなかったが、*S. pombe* 野性株やザイモサンには MBL に匹敵する結合性を示すとともに、*A. hydrophilla* や *E. tarda* に対しては MBL よりも高い結合性を示した。

[結論]

コイ MBL と GalBL は異なる微生物結合スペクトルを備え、異物認識を分担していることが示唆された。

## **Human serum mannose-binding lectin senses wall teichoic acid glycopolymer of *Staphylococcus aureus*, which is restricted in infancy**

Keun-Hwa Park<sup>1</sup>, Kenji Kurokawa<sup>1</sup>, Koichiro Tateishi<sup>2</sup>, Hee Jung Kang<sup>3</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>, Kazue Takahashi<sup>4</sup>, and Bok Luel Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Laboratory of Defense Proteins, College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Korea; <sup>2</sup>Department of Applied Biochemistry, Tokai University, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292, Japan; <sup>3</sup>Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, Anyang-si 431-070, Korea; <sup>4</sup>Programs of Developmental Immunology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02114, USA.

The complement system is an ancient innate immune defense mediated by soluble pattern recognition molecules, such as mannose-binding lectin (MBL)<sup>1</sup>. MBL, which consists of a collagen, a neck and a carbohydrate recognition domain, belongs to the collectin family and is found in many sera of animals including human. It binds to mannose and *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) residues present on the glycopolymers of microorganisms<sup>2</sup>.

Several reports have demonstrated that MBL bound to *S. aureus* induces activation of the complement pathway<sup>3,4</sup>, however, which *S. aureus* glycopolymer is recognized by MBL is still uncertain. We have reported that human MBL binds to *S. aureus* peptidoglycan and activates the lectin pathway<sup>5</sup> and two other studies have demonstrated MBL binding to *S. aureus* lipoteichoic acid (LTA)<sup>6,7</sup>. *S. aureus* LTA was also reported to be a ligand of L-ficolin to activate the lectin complement pathway<sup>8</sup>. Bacterial glycopolymers may also be important antigens to activate the classical complement pathway and adaptive immunity and can be desirable vaccination targets<sup>9</sup>. For example, LTA

specific monoclonal antibodies have yielded promising results as a passive vaccine for severe *S. aureus* infections. Also, anti-capsular polysaccharide 5 and 8 antibodies of *S. aureus* are on the clinical trial now<sup>10</sup>.

In this paper, we investigated *S. aureus* cell wall component mutants including wall teichoic acid (WTA)- or LTA-deficient strains, which have recently become available<sup>11</sup> to determine the ligand in the complement system. We demonstrate that *S. aureus* WTA functions as a natural ligand of human MBL and induces MBL-mediated C4 deposition on the bacterium *in vitro*. Additionally, MBL-WTA interaction enhances the opsonophagocytosis of *S. aureus* by human neutrophils. Unexpectedly, serum MBL of adults cannot recognize WTA due to competition by WTA specific antibodies. In contrast, serum MBL of infants whose adaptive immunity is immature does bind WTA. Infants who have low levels of both MBL and anti-WTA-antibodies have weak ability to activate the complement system. These results indicate that *S. aureus* WTA is an important pathogen associated molecular pattern for the complement activation<sup>12</sup>.

[References]

- 1) Fujita T *Nat Rev Immunol* 2:346-353 (2002)
- 2) Weis WI, Drickamer K *Annu Rev Biochem* 65: 441-473 (1996)
- 3) Neth O et al. *Infect Immun* 68: 688-693 (2000)
- 4) Shi L et al. *J Exp Med* 199: 1379-1390 (2004)
- 5) Ma YG et al. *J Biol Chem* 279: 25307-25312 (2004)
- 6) Polotsky VY et al. *Infect Immun* 64: 380-383 (1996)
- 7) Ip WK et al. *J Exp Med* 205: 169-181 (2008)
- 8) Lynch NJ et al. *J Immunol* 172: 1198-1202 (2004)
- 9) Weidenmaier C, Peschel A *Nat Rev Microbiol* 6: 276-287 (2008)
- 10) Fattom AI et al. *Vaccine* 22, 880-887 (2004)
- 11) Fattom AI et al. *Nat Med* 10: 243-245 (2004)
- 12) Park KW et al. *J Biol Chem* in press (2010)



## 古典的経路による補体活性化が確認された IgG4 関連尿細管間質性腎炎の 1 症例

長町誠嗣<sup>1</sup>、大澤 勲<sup>1</sup>、佐藤信之<sup>1</sup>、石井雅也<sup>1</sup>、草場 岳<sup>1</sup>、小林 敬<sup>1</sup>、  
武田之彦<sup>1</sup>、堀越 哲<sup>1</sup>、大井洋之<sup>1</sup>、松下 操<sup>2</sup>、富野康日己<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>順天堂大学医学部腎臓内科、<sup>2</sup>東海大学工学部生命化学科

A case of IgG4-related tubulointerstitial nephritis with the complement activation by classical pathway

Seiji Nagamachi<sup>1</sup>, Isao Ohsawa<sup>1</sup>, Nobuyuki Sato<sup>1</sup>, Masaya Ishii<sup>1</sup>, Gaku Kusaba<sup>1</sup>, Takashi Kobayashi<sup>1</sup>,  
Yukihiko Takeda<sup>1</sup>, Satoshi Horikoshi<sup>1</sup>, Hiroyuki Ohi<sup>1</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>, Yasuhiko Tomino<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Juntendo University Faculty of Medicine,

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

【はじめに】近年、IgG4 関連疾患という新しい疾患概念が提唱されている。これは、全身諸臓器に T リンパ球と IgG4 陽性の形質細胞の浸潤を伴う線維化<sup>1)</sup>、血清 IgG4 高値<sup>2)</sup> を特徴とする全身性疾患である。障害臓器は、脾臓、胆管、胆嚢、唾液腺、後腹膜、腎臓、肺、前立腺など多岐にわたり、自己免疫性脾炎 (AIP) はその代表である。その他、IgG4 関連疾患は臨床的に高齢の男性に好発し、リンパ節腫大を高率に伴い、30~40% に低補体血症を合併するとされている。またステロイド治療が奏功することが多く、比較的予後は良好である。さらに、IgG4 関連腎障害は、糸球体病変よりも尿細管間質性腎炎を呈することが多く、通常の尿細管間質性腎炎に比べ、間質への IgG4 陽性形質細胞浸潤が多く、著しい線維化が観察される。しかし、本疾患における血清中や組織中での補体活性化経路に関する検討は十分ではない。

今回我々は、IgG4 関連尿細管間質性腎炎と診断され、血清中および腎組織で古典的経路による補体の活性化が確認された症例を経験したので報告する。

【臨床経過】59 歳 男性。味覚・嗅覚障害、食思不振を主訴に来院した。左鎖骨上窩および両鼠径リンパ節腫大、血清 IgG 高値 (4323

mg/dl)・IgG4 高値 (1970 mg/dl)、肝機能障害 (AST 65 IU/l、ALT 54 IU/l)、腎機能障害 (S-Cr 2.6 mg/dl)、低補体血症 (C3 23 mg/dl、C4 2 mg/dl 以下、CH50 7 U/ml 以下)、免疫複合体高値 (C1q 法 8.1  $\mu$ g/ml) を認めた。尿所見では、蛋白尿・血尿・尿糖陰性、 $\beta$ 2MG 5950  $\mu$ g/l、NAG 7.6 IU/l で顆粒円柱がみられた。CT で両側腎腫大、ガリウムシンチグラフィで両側腎臓の異常集積を認めたため、腎生検を施行した。糸球体に異常はみられなかったが、間質にリンパ球と IgG4 陽性形質細胞の広範な浸潤を認め、間質の高度線維化と尿管萎縮が観察された。以上より、IgG4 関連尿細管間質性腎炎と診断した。蛍光抗体法では、尿細管基底膜は、IgG、IgM、C3、C1q の線状沈着、間質は IgG、IgM、C3、C1q の顆粒状沈着を認め、電子顕微鏡では近位尿細管の基底膜内および基底膜外側に内部均一の deposits を多数認めた。プレドニゾン 40 mg/日の経口投与を開始したところ、食思不振、リンパ節腫大、腎機能障害は速やかに改善し、血清 IgG・IgG4 は低下、補体と免疫複合体は正常化した。

【血清学的検討】C1q 低値 (2.0 mg/dl 以下)、免疫複合体高値 (C1q 法 8.1  $\mu$ g/ml、mRF 法 4.1  $\mu$ g/ml) を認めた。EDTA 採血では、C3・C4 の上昇はみられなかった。

【組織学的検討】蛍光抗体法では、尿細管基底膜に IgG(++)、IgM(+)、C3(+)、C4d(+)、C1q(++)、MAC(+)、IgG1(++)、IgG2(+)、IgG3(+)、IgG4(++)の線状沈着を認めたが、MBL・L-ficolin の沈着は認められなかった。間質には、IgG(++)、IgM(+)、C3(+)、C4d(+)、C1q(++)、MAC(+)、IgG1(++)、IgG2(+)、IgG3(+)、IgG4(++)の顆粒状沈着を認めたが、MBL・L-ficolin の沈着は認められなかった。酵素抗体法では、間質に IgG1 および IgG4 陽性形質細胞の浸潤を認めた。

【考察】IgG4 関連疾患では、血清 IgG および IgG4 高値、低補体血症を認め、腎臓が標的となると著しい尿細管間質障害を呈するが、その発症機序や組織障害の機序については明らかにされていない。IgG4 は古典的経路の活性化能がない<sup>3)</sup>にも関わらず、本疾患では CH50 および C4 低下を認めた。したがって、血清中や組織中における補体活性化経路を解明する必要があると思われた。

今回我々の経験した症例では、血清学的に CH50・C4 の低下と C1q の低下を認め、C1q 法による免疫複合体は陽性であった。Cold activation の可能性も低く、血液中での古典的経路の活性化が起きていると考えられた。一方、腎組織では、尿細管や間質に IgG の各サブクラスや C1q・C4d・MAC の沈着を認めた。電子顕微鏡学的にも尿細管基底膜に沈着物を認め、腎組織内においても古典的経路を介した補体の活性化による腎障害の発症が考えられた。

レクチン経路の活性化については Muraki らが、AIP と慢性膵炎で血清中の MBL 値に差はなく、AIP の治療前後でも変化は認めないことを報告している<sup>4)</sup>。我々の経験した症例でも腎組織中に MBL・L-ficolin の沈着はみられず、レクチン経路の関与は認められなかった。

古典的経路の活性化物質については AIP において、いくつかの検討がなされている。

Kawa らは、AIP において IgG4 は Fab ではなく、Fc を介して IgG1・2・3 に結合し、IgG4 が免疫複合体のクリアランスに働いている可能性を報告している<sup>5)</sup>。また、Dhobale らは、AIP では IgG4 よりも IgG1 が高値であり、ステロイド治療により IgG4 と共に IgG1 も低下することから、IgG1 が古典的経路の活性化に強く関与している可能性を報告している<sup>6)</sup>。一方、IgG4 は、C1q の IgG1 への結合を阻害する働きも有する<sup>3)</sup>とされている。以上のことから、IgG4 関連尿細管間質性腎炎においても、IgG の様々なサブクラスを含む免疫複合体が古典的経路を活性化している可能性があると考えられる。

【結語】IgG4 関連尿細管間質性腎炎では、血清中や腎組織中で古典的経路を中心とした補体の活性化が起きていると思われた。

#### 【参考文献】

- 1) Kamisawa T, et al. *World J Gastroenterol* 14: 3948-3955(2008).
- 2) Hamano H, et al. *N Eng J Med* 344:732-738 (2001).
- 3) van der Zee JS, et al. *Clin exp Immunol* 64: 415-422(1986).
- 4) Muraki T, et al. *Pancreas* 32:16-21(2006).
- 5) Kawa S, et al. *PLoS one* 3:e1637(2008).
- 6) Dhobale S, et al. *J Clin Rheumatol* 15:354-457(2009).

## 正常ラット腹膜における膜補体制御因子の機能的役割

水野 智博<sup>1,4</sup>、水野 正司<sup>2,3</sup>、伊藤 恭彦<sup>2,3</sup>、鈴木 康弘<sup>2,3</sup>、野田 幸裕<sup>4</sup>、山田 清文<sup>1</sup>、丸山 彰一<sup>3</sup>

岡田 則子<sup>5</sup>、B.P Morgan<sup>6</sup>、松尾 清一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>名古屋大・医・医療薬学、<sup>2</sup>名古屋大・医・腎不全総合治療学、<sup>3</sup>名古屋大・医・腎臓内科学、  
<sup>4</sup>名城大・薬・病態解析学 I、<sup>5</sup>名古屋市立大・医・免疫学、<sup>6</sup>カーディフ大・補体生化学グループ

### The role of membrane complement regulator in normal rat peritoneum

Tomohiro Mizuno<sup>1,4</sup>, Masashi Mizuno<sup>2,3</sup>, Yasuhiko Ito<sup>2,3</sup>, Yasuhiro Suzuki<sup>2,3</sup>, Yukihiro Noda<sup>4</sup>, Kiyofumi Yamada<sup>1,4</sup>, Shoichi Maruyama<sup>3</sup>, Noriko Okada<sup>5</sup>, B.P Morgan<sup>6</sup>, Seiichi Matsuo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Neuropsychopharmacology and Hospital pharmacy, <sup>2</sup>Renal Replacement Therapy and

<sup>3</sup>Nephrology, Nagoya University Graduate School of Medicine, <sup>4</sup>Clinical Sciences and

Neuropsychopharmacology, Meijo University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, <sup>5</sup>Immunology,

Nagoya City University Graduate School of Medicine, <sup>6</sup>Complement Biology Group, Medical

Biochemistry and Immunology, School of Medicine Cardiff University

【目的】末期腎不全の治療法には腎移植と透析療法があり、透析療法には腹膜透析と血液透析の2種類がある。腹膜透析は血液透析に比べ患者の日常生活、透析時における身体的負担が少ないとされているが、透析療法に占める腹膜透析患者の比率は、血液透析患者と比較して、全体の4%弱に留まっている。腹膜透析の離脱要因として、腹膜機能の劣化と被嚢性腹膜硬化症等の合併症の発症である。被嚢性腹膜硬化症は発症した場合の致死率が10%前後と言われており、発症メカニズムの解明と予防法・治療法の開発は、極めて有用である。被嚢性腹膜硬化症の発症に関わる因子として、腹膜透析液暴露による慢性的な腹膜刺激、尿毒素による全身の慢性炎症、細菌性・真菌性腹膜炎による急性炎症が挙げられる。これらの因子が腹膜線維化・血管新生を助長し、被嚢性腹膜硬化症の発症に繋がる。しかし、腹膜透析離脱後に被嚢性腹膜硬化症を発症する患者も多く、その病態に不明な点が多い。

炎症に関わる免疫機構の一つである補体活性化経路は、腹膜線維症・被嚢性腹膜硬化症の進展機序に

関与している可能性があるが、詳細な検討はほとんど成されていない。さらに、腹膜での膜補体制御因子(CReg: complement regulatory proteins)に関する検討は、*in vitro*の系でCD59のみ報告されているが、腹膜での報告は極めて少ない。そこで、我々は腹膜透析における補体制御機構を解明するため、腹膜の恒常性維持に膜補体制御因子がどのように寄与しているか検討を行った。

【方法】C3レベルを抑制するCRegであるCrryとDAF、膜侵襲複合体(MAC)レベルを抑制するCD59に対する中和抗体を用いて、*in vivo*および*in vitro*での腹膜におけるCRegの機能を検討した。*In vivo*における検討として、CRegに対する中和抗体を、4.25%グルコース濃度酸性腹膜透析液に溶解し、ラット腹腔内へ各中和抗体を単独投与もしくは併用投与した。投与から24時間後に屠殺し、腹膜障害の程度、炎症系細胞の浸潤、C3とMACの組織沈着について評価を行った。CRegの機能抑制後に見られた組織障害が補体依存的に発現したことを確認するため、コブラ蛇毒因子(CVF: cobra venom

factor) を前投与し、全身の補体関連物質を抑制した条件下で、CReg の機能を抑制した。In vitro における検討として、腹膜中皮細胞における補体活性化経路の制御機構を明らかにするため、ラット腹膜中皮細胞の Primary culture を用い、中皮細胞に対して、補体関連物質を含む血清負荷を行った。血清負荷と同時に中和抗体を用いて、Crry、DAF、CD59 の各 CReg の機能を抑制した。コントロールには熱非動化血清を用いた。抑制実験後、細胞表面に C3 が沈着している細胞を C3 陽性細胞と定義し、任意の 20 視野における C3 陽性細胞の割合を測定し、補体活性を定量した。

【結果】ラット腹腔内の Crry と CD59 を同時に抑制した群のみ、腹膜に組織障害が認められた。C3、MAC の組織沈着の程度、炎症系細胞の組織浸潤数も、コントロール群やその他の投与群と比較して、有意に増加した。これらの組織障害、C3、MAC の沈着の増加、炎症系細胞の増加は、CVF 前投与群では認められなかった。Primary Culture により得られた中皮細胞を用いた CReg 抑制実験では、Crry と CD59 を同時に抑制した群は、コントロール群、他の投与群と比較して、C3 の沈着陽性細胞の割合が有意に増加していた。

【考察】ラット腹膜において、Crry および CD59 を同時に抑制した群のみ組織障害が認められたことから、CReg の単独抑制によって組織障害が惹起される皮膚、腎臓、関節等の他の臓器と比較して、腹膜では Crry と CD59 による制御がより強いことが示唆された。培養腹膜中皮細胞での検討でも、in vivo と同様の結果が得られたことから、Crry と CD59 が腹膜における補体制御機構において、より重要な役割を果たしている可能性が示唆された。さらには腹膜での特異的な制御機構が、腹膜透析関連合併症の発症メカニズムにどのような影響を与えているのか、各種腹膜透析液を用い、腹膜透析液が膜補体制御因子の発現に与える影響について検討をしていくことは重要であると思われた。

【結論】正常ラット腹膜に存在する CReg の中で、特に Crry と CD59 が補体活性化経路の制御に重要な役割を果たしていることが示唆された。腹膜における膜補体制御因子が、腹膜透析関連合併症の発症に与える影響を今後検討していく。

## ループス腎炎の糸球体における各補体経路活性化の意義

佐藤信之<sup>1</sup> 大澤勲<sup>1</sup> 長町誠嗣<sup>1</sup> 石井雅也<sup>1</sup> 草場岳<sup>1</sup>堀越哲<sup>1</sup> 大井洋之<sup>1</sup> 松下操<sup>2</sup> 富野康日己<sup>1</sup><sup>1</sup>順天堂大学腎臓内科、<sup>2</sup>東海大学工学部生命化学科

## A significance of each complement activation pathway in glomeruli of lupus nephritis

Nobuyuki Sato<sup>1</sup>, Isao Ohsawa<sup>1</sup>, Seiji Nagamachi<sup>1</sup>, Masaya Ishii<sup>1</sup>, Gaku Kusaba<sup>1</sup>,  
Satoshi Horikoshi<sup>1</sup>, Hiroyuki Ohi<sup>1</sup>, Misao Matsushita<sup>2</sup>, and Yasuhiko Tomino<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Juntendo University  
Faculty of Medicine, <sup>2</sup>Department of Applied Biochemistry, Tokai University

## [はじめに]

補体の活性化経路には、classical pathway (CP)、alternative pathway (AP)、lectin pathway (LP) の3つがあるが、近年properdin (P) から始まるproperdin directed pathway (PDP) が再び注目されている。PDPは、Pがグリコサミノグリカンを認識することでapoptotic T cell に結合し、補体の活性化を引き起こし、または補体の活性化を介さずに、マクロファージによる貪食が生ずる経路である<sup>1)</sup>。ループス腎炎の腎生検組織では、C1qが沈着しており、一般的にはCPが病態に関わっていると考えられているが、APおよびLPが関与しているとの報告もある<sup>2),3)</sup>。しかし、ループス腎炎において、どのような症例でCP以外の経路が活性化されているかについては、明らかではない。

## [目的]

今回我々は、ループス腎炎の腎組織に各補体成分の免疫染色を行い、CP以外の経路の関与と臨床所見との関連性について検討した。

## [方法]

2003年から2010年にかけて、当科で腎生検を行いループス腎炎と診断した15例の患者を対象とした。ループス腎炎の病理組織型は、IV型10例、V型2例、V型+IV型1例、I型

1例、II型1例であった (ISN/RPS分類、2003)。

対照として、微小変化群3例と正常腎1例を用いた。IgG、IgA、IgM、C3、C1qに加えて、factor B・factor H・P・MBL・L-ficolinの染色を蛍光抗体法で行い、糸球体への沈着を観察した。次に、組織への各成分の沈着所見とSLEおよびループス腎炎の罹患期間、年齢、検査成績 {尿蛋白量、クレアチニン・クリアランス (Ccr)、C3、C4、CH50、抗DNA抗体、末梢血リンパ球数}、間質の線維化との関連性を検討した。

## [結果]

すべてのループス腎炎症例で糸球体にIgG・IgA・IgM・C3・C1qの顆粒状沈着が認められたが、微小変化群と正常腎では沈着は認められなかった。微小変化群と正常腎は、factor B、factor H、P、MBL、L-ficolinも沈着しなかった。

ループス腎炎では、factor B、factor Hは7例 (IV型6例、V+IV型1例) に、Pは10例 (IV型8例、V+IV型1例、V型1例) に、MBL、L-ficolinは10例 (IV型8例、V+IV型1例、V型1例) に認められた。Pが沈着した10例中3例 (IV型2例、V型1例) では、factor Bおよびfactor Hは沈着しなかった。I型およ

びII型では、P、factor B、factor H、MBL、L-ficolinはいずれも陰性であった。

ループス腎炎の腎組織の factor B・factor H 陽性群は、陰性群と比べ SLE および腎炎の罹患期間が有意に長かった ( $P < 0.05$ )。また、P 陽性群は陰性群と比べ、尿蛋白量が有意に多かった ( $P < 0.05$ )。P 陽性群のなかで factor B および factor H が陰性であった 3 例では、腎炎の罹患期間が 1 ヶ月と短かったが、他の項目も含めて統計学的な有意差はみられなかった。MBL・L-ficolin 陽性群と陰性群の比較検討では、全ての項目で統計学的に有意な差はみられなかった。

#### [考察]

ループス腎炎では CP が重要視されているが、実際には AP、LP さらに PDP の関与も示唆された。今回の検討では、SLE およびループス腎炎の罹患期間と AP の糸球体障害への関与とは相関したが、SLE の血清学的活動性とは相関しなかった。ループス腎炎では、血清学的活動性が低下していても腎炎が進行することがあり、一度始まった組織障害が AP によって増悪している可能性を示唆している。

Rothfieldらは、ループス腎炎 6 例の腎組織に P が沈着したが、factor B は沈着しなかったと報告している<sup>2)</sup>。この染色性の違いについては明らかにされていないが、我々も同様の症例を経験し、P から始まる PDP の存在があるのではないかと考えた。今回の研究で、P 陽性群は陰性群と比べて、尿蛋白量が有意に多いという結果が得られた。P 陽性群の 80% (8/10 例) は IV 型であり、I 型・II 型は含まれなかった。Machielらは蛋白尿を認める腎疾患において、尿中に P を認めた場合、有意に腎障害が進行すると報告している<sup>5)</sup>。腎組織そのものも P を産生することが報告されており<sup>6)</sup>、組織や尿中の P は、腎炎そのものの発症期や増悪時の活動性を表している可能性があると考えられる。一方、LP の活性化は、比較的組織障害の軽いループス腎炎 (I 型と

II 型) には認められなかった。LP は、ループス腎炎の組織障害の増悪に関与している可能性があると思われる。

#### [結論]

以上より、CP の活性化を基本とするループス腎炎では、組織障害の発症当初や増悪期に PDP が活性化され、腎炎の長期化や組織障害の強い症例では AP と LP の活性化が共に起きていると考えられた。

ループス腎炎の治療は一般的にステロイドや免疫抑制薬が主力であるが、その補体活性化経路は多彩であり、組織障害の時期により抗補体薬も含めた治療法の選択が重要であると思われる。

#### [参考文献]

- 1) Kemper C. et al. Mol Immunol 45(16): 4048-4056(2008)
- 2) Rothfield N et al. N Engl J Med 287: 681(1972)
- 3) Karl L et al. Nephrol Dial Transplant 14: 881-886(1999)
- 4) Casciola-Rosen LA et al. J Exp Med 179:1317-1330(1994)
- 5) Machiel A. Siesenga et al. Nephrol Dial Transplant 25: 1157-61(2010)
- 6) Song.D et al. Nephron 78:15-22(1998)

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

# 発作性夜間ヘモグロビン尿症は、患者さんの生命にかかわる進行性の疾患です。

## 血栓症

### 静脈

- ・肺塞栓症 (PE)
- ・深部静脈血栓 (DVT)
- ・脳
- ・腹腔内虚血
- ・皮膚
- ・肝静脈/門脈

### 動脈

- ・脳卒中/一過性脳虚血発作 (TIA)
- ・心筋梗塞 (MI)

## 慢性腎臓病

- ・腎不全
- ・血液透析

## 貧血

- ・輸血
- ・ヘモグロビン尿

## 肺高血圧症

- ・呼吸困難
- ・心機能障害

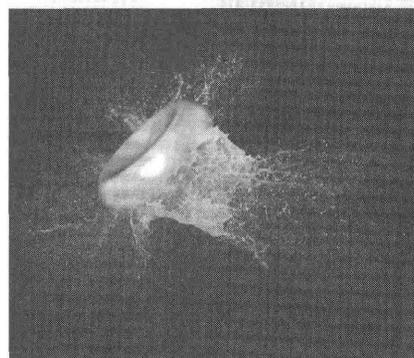
## 臓器障害

- ・脳
- ・肝
- ・消化器

## 疲労/QOLの低下

- ・嚥下障害
- ・腹痛
- ・身体機能の低下
- ・勃起不全

原因は、慢性溶血です。



詳しくは、  
**PNHSource™** 日本語版  
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

[www.PNHSource.jp](http://www.PNHSource.jp)

または、下記にお問い合わせ下さい。

**ALEXION™**  
[www.alexion.co.jp](http://www.alexion.co.jp)

お問い合わせ  
 アレクシオン ファーマ  
 メディカル インフォメーション センター  
 〒150-0012 東京都渋谷区広尾1-1-39 恵比寿プライムスクエアタワー  
 フリーダイヤル 0120-577657

## 謝 辞

アレクシオン ファーマ（株）より第47回補体シンポジウムへご支援を賜りました。心から御礼申し上げます。

第47回補体シンポジウム  
集会長 藤田禎三

## 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  
エーザイ株式会社  
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  
堀内 孝彦  
遠藤 雄一  
畑中 道代  
若宮 伸隆  
水野 正司

監 事 岡田 秀親  
松本美佐子

事務局長 井上 徳光

集会長 藤田 禎三  
次期集会長 岡田 則子



