

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

臨床病理 (2012.08) 60巻8号:779～785.

補体系の役割と臨床医学でのトピックス

若宮伸隆

補体系の役割と臨床医学でのトピックス

Biological roles of complement and recent topics in clinical medicine

若宮伸隆

旭川医科大学医学部微生物学講座

〒078-8510 旭川市緑ヶ丘東2条1丁目1-1

Nobutaka Wakamiya MD, PhD.

Asahikawa Medical University

2-1-1-1 Midorigaoka Higashi, Asahikawa, 078-8510, Japan

Key words: 補体、発作性夜間ヘモグロビン尿症、遺伝性血管性浮腫、GPI アンカー型タンパク質、C1 インヒビター、3MC 症候群

Key words: complement, PNH, HAE, GPI-anchor protein, C1-inhibitor, 3MC syndrome

英文抄録

The complement has been identified as a complementation factor to compensate a function of antibody. The complement consists of C1-C9, complement related molecules, and its regulating molecules. Three major biological roles in complement are classified. First is an opsonization following the phagocytosis and elimination of microbes. Second is a direct destruction of bacteria due to make membrane attack complex (MAC). Third is a complement activation following the induction of anaphylactoid factors and local recruitment and activation of neutrophilic leukocytes. In this review, I summarize the basic findings and recent treatments of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and hereditary angioedema (HAE). Finally, I make a short review with a rare autosomal recessive disorder of 3MC syndrome and propose the new biological functions of complement factors except for that of innate immunity.

1. はじめに

補体 (complement/C) とは動物血中タンパク質の一群で、血清グロブリン分画の約 5%を占める。当初、細菌などの微生物や異物が体内に侵入した際、抗体と共同して働き、抗体により活性化されその結果細菌の細胞膜を壊すなどして生体防御に働く機能を持つ因子として同定された。補体の成分は C1~C9 で表され、基本的には C5a、C5b のように分解されてそれぞれ大小 2 分子になる (C5a<C5b)。さらに、C1~C9 の補体タンパク質以外に B 因子、D 因子などを含めた 16 種類のタンパク質、5 つの調節因子 (I 因子、H 因子、C4Bp、C1-INH、properdin)、細胞膜上の 4 種類の調節因子 (CR1、CR2、MCP、DAF) など補体機能の発現・調節に関与しており、これらを総称して補体系と呼んでいる。補体系の役割は、①微生物や異物のオプソニン化により、引き続く貪食細胞による貪食と破壊、②補体活性化によっておこる細菌の直接融解 (膜侵襲複合体: MAC)、③補体活性化により生じる、低分子補体成分による白血球の局所動員と活性化、の 3 機能があげられ、生体防御に重要な役割を担っている。しかしながら、近年の研究から補体は生体防御を担うシステムとして外界からの微生物などの侵入に対し敏感に反応するが、逆に様々な要因により生体に不利に働き疾患を惹起することに関与することも明らかになってきた。

一方、臨床医学的には、溶連菌感染後におこる急性糸球体腎炎で、補体活性化によっておこる補体因子消費による補体値 C3、C4、CH50 低値が有名であり、またいくつかの補体因子欠損症が細菌における易感染性や膠原病などの自己免疫性疾患の発症に関与することが明らかになっている。本総説では、①夜間発作性ヘモグロビン尿症 (PNH) の病態と分子標的剤の治療効果、②C1 インヒビターの欠損が原因である「HAE (遺伝性血管性浮腫)」の病態と最近認可された治療薬、③補体活性化に関与する 2 分子のどちらかの異常によっておこる常染色体劣性遺伝病 3 MC 症候群、について概説し補体系因子の新しい機能を紹介する。

2. 発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)

発作性夜間ヘモグロビン尿症、または発作性夜間血色素尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH) は、補体制御因子の DAF (decay-accelerating factor: CD55) や CD59 を含む GPI アンカー型膜タンパク質の発現低下によって、異常赤血球集団が後天的に出現し、それらが補体系の異常活性化により溶血を受け、種々の病態を呈する¹⁾。PNH は、男女ほぼ同頻度でおこり、主として 30 歳から 50 歳台に発症し、いったん発症すると 10 年以上の長期にわたって症状が持続する難病である。患者の頻度としては、10 万当たり 1 人程度との報告がなされている。病因となる、補体制御因子の発現低下は、それぞれの因子の遺伝子に問題があるわけではなく、これらの GPI アンカー型膜タンパク質を生合成する因子の遺伝子の異常でおこる。本因子の異常により、GPI アンカー型膜タンパク質の生合成が低下し、DAF や CD59 ばかりでなくその他の GPI アンカー型膜タンパク質が、これらの血球では欠損する。GPI アンカー型膜タンパク質の生合成経路については他紙に譲るが、本

疾患では、GPI アンカーの PIG-A (phosphatidylinositol glycan anchor, class A) をコードする遺伝子のクローン性の体細胞変異により、生合成の低下がおこると推測される²⁾。理論的には、GPI アンカー型膜タンパク質の発現低下は、PIG-A 以外の遺伝子でも PNH の原因遺伝子になりうるが、今まで発見された PNH 患者の原因遺伝子はすべて PIG-A である。これは他のすべての PIG 遺伝子群が常染色体上に存在するのに対して、PIG-A のみが X 染色体に存在することによる。また男女の発症頻度が同じである理由としては、女性は X 染色体として 2 つのアレルをもつが、造血幹細胞では 1 つのアレルのみが活性型となるので、男性と同じ頻度で変異がおこると考えられる。PNH の発症の機序としては、まず PIG-A 遺伝子の体細胞突然変異を持つ造血幹細胞が出現し、つぎに自己免疫によって GPI アンカー欠損クローンが拡大し、最終的に GPI アンカー欠損細胞群に第 2 の体細胞突然変異が生じ、良性腫瘍性クローンが大きく拡大すると考えられている^{3, 4)}。ちなみに、DAF 遺伝子欠損症はタンパク漏出胃腸炎を呈するが溶血は見られず、CD59 欠損症では PNH 様の溶血性貧血を呈することより、補体系による体内での血球溶血には CD59 が主に防御的に働いていることが推測される。

疾患の特徴は、補体の活性化によって引き起こされる、血管内溶血、静脈血栓、骨髄不全を 3 主徴とする⁵⁾。血管内溶血は、赤血球の破壊によりヘモグロビンを生じ、全身の臓器に沈着するヘモグロビンが様々な病態を引き起こす。静脈血栓は肝静脈や門脈などの深部静脈に発生し、欧米では主な死因となる。骨髄不全は、再生不良性貧血と類似の病態を示すことが多く、同じく造血幹細胞における自己免疫性の疾患であると考えられる。とくに、再生不良性貧血から PNH が発症してくる場合、再生不良性貧血-PNH 症候群と呼んでいる。PNH の診断は、夜間血色素尿症と溶血性貧血から臨床診断がなされるが、検査としてはフローサイトメトリーによる GPI アンカー型タンパク質欠損血球の存在を証明することで行われる⁵⁾。通常、我が国では、抗 DAF, CD59 抗体で赤血球を染色し、検出する方法がとられる。本検査で、どちらかもしくは両方の因子の欠損が証明されれば、PNH の診断が確定する。なお、急激な溶血発作の直後や頻回な輸血により、血球動態が大きな変化を受けている場合は好中球における CD59 や CD46 を測定することが推奨される。従来行われていた補体感受性赤血球を、溶血反応で検出するハム試験や砂糖水試験は現在では、用いられない。

PNH の治療については、貧血に対しては赤血球輸血が行われ、血栓症には抗血栓薬の予防的投与が行われてきた。近年、欧米で補体による血管内溶血を抑制することを主眼とした分子標的剤エクリズマブが開発された⁶⁾。エクリズマブは、ヒト化 C5 モノクローナル抗体で、C5 に結合し C5 転換酵素による活性化を阻害する [図 1]。この阻害によって補体活性化における最終反応物である膜侵襲複合体の形成を阻害する。効果は劇的であり、溶血の低下と倦怠感や疲労感の速やかな消失がみられる。検査値としては、血中ヘモグロビン値や LDH 値の低下の軽減がみられる。さらに、日本における臨床試験や欧米の最近のエクリズマブによる治療により、静脈血栓の抑制効果がみられており、生命予後に関与する重要な疾患である血栓症についての朗報となっている。しかしながら、本薬剤は、補体系活性化の最

終産物である膜侵襲複合体の形成を阻害するため、細菌感染において、特に *Neisseria* 属の細菌に対しては感染防御能が低下しているため、感染予防や感染に対する注意が必要となる。

3. 「HAE（遺伝性血管性浮腫）」

浮腫の鑑別は、治療が異なるので臨床では非常に重要なプロセスである。全身性浮腫の主な原因としては、心臓疾患、肝臓疾患、腎臓疾患に由来するものが3大疾患を占めている。一方、局所性の浮腫も原因が多岐にわたっており、ここで概説する遺伝性血管浮腫（hereditary angioedema: HAE）は、局所性で突発性の血管性浮腫に分類される。突発性浮腫の鑑別診断では、血管性浮腫とその他の浮腫に分類される。血管性浮腫の特徴は、経過が急性で数時間のうちに浮腫が完成し、3日程度で消失する。さらに、浮腫は限局性であり、非対称で、通常指圧痕を残さない。また、浮腫は重力に関係のない場所に出現し、眼瞼、口唇、喉頭、消化管などにも浮腫が生じる。突発性浮腫は、堀内らにより表1のように鑑別されている。突発性浮腫の中で、HAEは古くからその存在は知られており、遺伝性の浮腫が生じることが初めて証明されたことで有名である。当初は、血管運動神経の異常によるものと考えられていたため、血管神経性浮腫（hereditary angioneurotic edema: HANE）と呼ばれていた。1963年、本患者に血清中のC1インヒビター（C1-inhibitor: C1-INH）の欠損があることをDonaldsonが発見した⁷⁾。その後の研究で、C1-INH欠損によるカリクレイン-キニン系の異常活性化が血管拡張や血管透過性の亢進を引き起こすことから、遺伝性血管浮腫（HAE）が正式な病名となった。実際の頻度としては、5万人あたり1人とされており、人種による偏りは報告されていない。

HAEは、疾患原因によって3つの型に分類されている⁸⁾。

- ① 1型 HAE: HAE全体の85%を占めており、常染色体優性遺伝で、C1-INHのタンパク量、活性ともに低下している。
- ② 2型 HAE: HAE全体の15%を占めており、染色体優性遺伝で、C1-INHのタンパク量は正常もしくは増加だが、活性が低下している。
- ③ 3型 HAE: 頻度は極めてまれ、日本での報告例無し。主に女性に発症し、一部には凝固因子第XII因子の変異を認める。C1-INHのタンパク量、活性ともに正常である。

臨床症状としては、浮腫ができる部位によって3つに大きく分類される。

- ① 皮下浮腫、粘膜浮腫で、特に眼瞼、口唇、四肢に生じ、痛みやかゆみは無い。
- ② 消化器に発症する浮腫により、腹痛、嘔気、嘔吐、下痢などの消化器症状を呈する。腹痛は激烈であるが、炎症性疾患にみられる筋性防御は無い。腹部エコーや腹部CTで、腸管の浮腫を認めることができる。
- ③ 喉頭に生じる浮腫は、嚥下困難、喉の絞扼感、息苦しさ。窒息感など症状を呈し、進行すると呼吸困難となる。

これらの臨床症状は、外傷や歯科治療、ストレスなどにより誘発され、一度浮腫がおこる

と24時間で最大となり、72時間でほぼ消失する。常染色体優性遺伝の疾患であるが、実際症状が現れるのは思春期以降である。この最初の浮腫の発症から、重症型である喉頭浮腫の発症までには約10年を要するとの報告があり⁹⁾、この間に医療関係者らによる患者把握が重要となる。

HAEの検査としては、患者をHAEと疑うことが最も重要であり、その後血清C4の定量とC1-INH活性の測定で診断がつく。保険外検査で、C1-INH定量により、1型、2型HAEの病型の診断がつく¹⁰⁾。

HAEの治療としては、補体研究会が2010年に作成した「HAEガイドライン2010」を参考にされたい¹⁰⁾。特に発作時の治療薬として、C1-INH製剤が2010年11月に認可されている¹¹⁾。世界では、数種のC1-INH製剤が販売されているが、日本ではヒト血漿由来のものが販売されている。基本的に、発作時にはC1-INH製剤を使用するが、その他トラネキサム酸なども使用されるが効果は、はるかに弱い。発作が起こることが予想される、手術や歯科治療時には、短期の予防としてC1-INH製剤の投与を補充療法として行う。長期の予防に対しては、トラネキサム酸やタンパク同化ホルモンなどの投与により、肝臓よりC1-INHの産生を促すような治療法がとられる。詳細は、補体研究会ウェブサイトを参照されたい¹⁰⁾。

4. 3MC症候群

コレクチンは、コラーゲン様構造とC型レクチンをその分子内部に有するタンパク質の呼称で、川岸らが発見したマンナン結合レクチン (MBL: mannan-binding lectin)¹²⁾ がその代表的分子で、肺に存在するサーファクタントタンパク質 A, D (SP-A, SP-D: surfactant protein A and D)^{13, 14)}、大谷らが発見した CL-L1 (collectin liver 1)¹⁵⁾、CL-K1 (collectin kidney 1)¹⁶⁾、CL-P1 (collectin placenta 1)¹⁷⁾ の6分子が明らかになっている。その後、藤田らは、MBL が MASP (MBL-associated serine protease) と結合して、補体第3経路であるレクチン経路を活性化することを見出したが、現在では、MBL 以外にも ficolin、CL-K1 というコラーゲン様構造を内部に持つ2分子が同レクチン経路を活性化することが明らかになっている¹⁸⁾。さらに、2011年3月、3MC 症候群 (Carnevale, Mingarelli, Malpuech, Michels syndrome) と呼ばれる常染色体劣性遺伝病の原因が、CL-K1、MASP-3 のいずれかの遺伝子の変異によるタンパク質欠損症によるものであることが報告された (遺伝子異常マップと特徴的な顔貌: ¹⁹⁾。3MC 症候群は両眼隔離、眼裂狭小、眼瞼下垂、球状眉、眼異形、頭蓋骨癒着、口蓋裂、前房欠損等を特徴とする遺伝病であり、血族結婚などにより相同染色体の両遺伝子の部位に変異がおこることによって生じると考えられる。次世代シーケンズによる本疾患の病態解析による結果は、自然免疫に関与すると今まで考えられてきた CL-K1 と MASP 分子が連動して個体形成時に機能するという、新しい知見を我々にもたらした。本論文は、筆者らが明らかにした新規コレクチン分子が硬骨魚類やマウスで形態形成に関与するという可能性が、実際ヒト体内で働いていることを示している。本類似疾患は日本においても琉球大学知念らによる症例報告があり、知念らと共同で日本における本遺伝病の実態把握を行うことを計画している。また、筆者らは、CL-K1 の各種抗体作成を行い、血中濃度測定のための ELISA システムの構築を行った²⁰⁾。

本 ELISA を利用した解析では、日本人における CL-K1 の血中濃度は $0.34 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$ であり、MBL の血中濃度 ($1-2 \mu\text{g/ml}$) よりも低いことを明らかにした²⁰⁾。さらに、CL-K1 の血中濃度は、MBL の SNPs によっておこる血中濃度のばらつきが認められないこと、また性差や年齢による影響を受けないこと、MBL の血中濃度との相関性のないことを明らかにした。さらに、CL-K1 濃度測定 ELISA 系や MASP-3 測定系を組み合わせたアッセイ系を樹立して、本疾患診断に役立つ分析システム構築を計画している。

5. おわりに

補体系は、今まで自然免疫に関与する分子群の集合と考えられてきたが、近年の実験事実は補体を構成する分子集団が、動物の個体で生命維持に重要なさまざまな役割を担っている可能性を示唆している。遺伝子欠損動物の作成、補体系の分子標的剤開発、補体関連因子欠損症に対する補体因子の補充療法などによって、今次々と補体分子の新しい機能が発見されている。

引用文献

- 1) Kinoshita T, Fujita M, Maeda Y. Biosynthesis, remodeling and functions of mammalian GPI-anchored proteins: recent progress. *J Biochem* 2008; 144: 287-294.
- 2) Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 1993; 73: 703-711.
- 3) Araten DJ, Nafa K, Pakdeesuwan K, et al. Clonal population of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 5209-5214.
- 4) Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, et al. Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2006; 108: 4232-4236.
- 5) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 特発性造血生涯に関する調査班、「発作性夜間ヘモグロビン尿症診療の参考ガイド」平成22年改訂版
- 6) Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al. The complement inhibitors eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006; 355: 1233-1243.
- 7) Donaldson VH, Evans RR. A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. Absence of serum inhibitor of C' 1-esterase. *Am J Med* 1963; 35: 37-44.
- 8) Bowen T, Cicardi M, Farkas G, et al. 2010 International consensus algorithm for the diagnosis, therapy and management of hereditary angioedema. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2010; 6: 24-36.
- 9) Bork K, Hardt J, Schicketanz KH, et al. Clinical studies of sudden upper airway

obstruction in patients with hereditary angioedema due to C1 esterase inhibitor deficiency. Arch Intern Med 2003; 163: 1229-1235.

- 10) 遺伝性血管性浮腫 (HAE) ガイドライン 2010. 補体研究会 (<http://square.umin.ac.jp/compl/HAE/HAE.html>)
- 11) Waytes AT, Rosen FS, Frank MM. Treatment of hereditary angioedema with a vapor-heated C1 inhibitor concentrate. N Engl J Med 1996; 334: 1666-1667.
- 12) Kawasaki N, Kawasaki T, Yamashina I. Isolation and characterization of a mannan-binding protein from human serum. J Biochem 1983; 9: 937-847.
- 13) White RT, Damm D, Miller J, et al. Isolation and characterization of the human pulmonary surfactant apoprotein gene. Nature 1985; 317: 361-363.
- 14) Persson A, Chang D, Rust K, et al. Purification and biochemical characterization of CP4 (SP-D), a collagenous surfactant-associated protein. Biochemistry 1989; 28: 6361-6367.
- 15) Ohtani K, Suzuki Y, Eda S, et al. Molecular cloning of a novel collectin from liver (CL-L1). J Biol Chem 1999; 274: 13681-13689.
- 16) Keshi H, Sakamoto T, Kawai T, et al. Identification and characterization of a novel human collectin CL-K1. Microbiol Immunol 2006; 50: 1001-1013.
- 17) Ohtani K, Suzuki Y, Eda S, et al. The membrane-type collectin CL-P1 is a scavenger receptor on vascular endothelial cells. J Biol Chem 2001; 276: 44222-44228.
- 18) Degn SE, Jensenius JC, Thiel S. Disease-causing mutations in genes of the complement system. Am J Hum Genet 2011; 88: 689-705.
- 19) Rooryck C, Diaz-Font A, Osborn DP, et al. Mutations in lectin complement pathway genes COLEC11 and MASP1 cause 3MC syndrome. Nat Genet 2011; 43: 197-203.
- 20) Yoshizaki T, Ohtani K, Motomura W, et al. Comparison of human blood concentrations of collectin kidney 1 and mannan-binding lectin. J Biochem 2012; 151: 57-64.

図 1. Hemolysis mechanism and the effective point of Eculizumab in PNH

図 2. Mutations of CL-K1 and MASP-3 gene and typical facial characteristics in 3 MC syndrome

表 1 突発性浮腫の鑑別診断（堀内らによる分類）

Classical pathway

Lectin pathway

Alternative pathway



C3

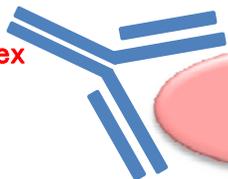
C3a

C3b

Eculizumab

(Anti-C5 mAb)

binds to C5, thereby preventing the generation of the C5b-9 complex or MAC



C5

C5a

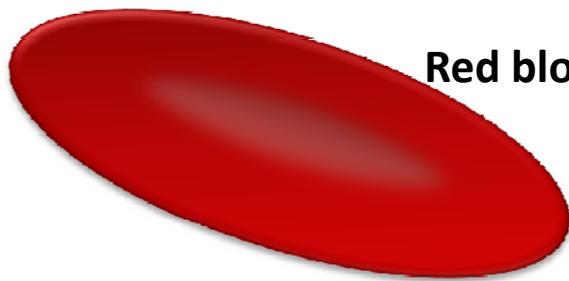
~~C5a~~

~~C5b~~

C5b

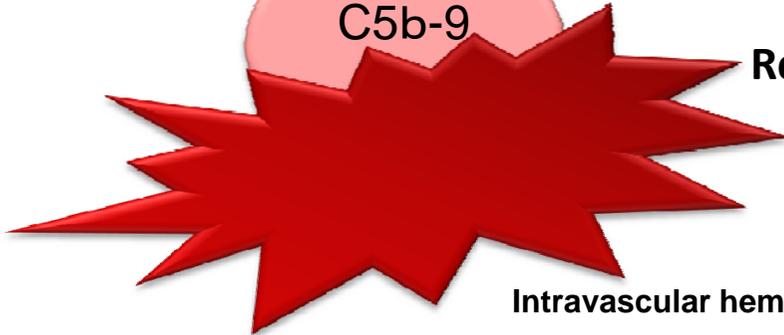
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)

C5b-9



Red blood cell

Inhibition of intravascular hemolysis



Red blood cell hemolysis

Intravascular hemolysis

	突発性浮腫(血管性浮腫)	その他の多くの浮腫
経過	数時間のうちに浮腫が完成 3日程度で消失	慢性の経過
症状	限局性 非対称性(顔を除く) 指圧痕を残さない 重力に関係のない場所に生じる 眼瞼、口唇、喉頭や消化管に生じやすい	範囲は広い 対称性 指圧痕を残す

