

ベーチェット病における補体制御因子 CR 1, MCP, DAF, MACIF

呉 朋子, 小暮美津子

東京女子医科大学眼科学教室

要 約

以前我々は、ベーチェット病では眼発作直前に一過性に CH 50 が異常低値を示すことがあり、またアナフィラトキシン活性や多核白血球遊走活性を有する補体フラグメント C 3 a, C 5 a が眼発作直前に高値を示し、CH 50 と C 3 a, C 5 a の動きには負の相関が認められたことを報告した。今回、補体制御因子を測定したところ、C 3 b・C 4 b receptor (CR 1) と membrane cofactor protein (MCP) の明らかな低値に加え、decay accelerating factor (DAF) と membrane attack complex inhibition

factor (MACIF) にも低い傾向がみられ、本症では補体制御因子の機能は全体として低下していることが示唆された。しかし、CH 50, ACH 50 の平均はともに高値を保ち、どちらが原因と結果であるかは明らかでないが、補体の産生系は過剰に機能し相補的に作用しているように考えられた。(日眼会誌 100: 376—380, 1996)

キーワード：ベーチェット病, CR 1, MCP, DAF, MACIF

Complement Regulatory Proteins CR 1, MCP, DAF, and MACIF Levels in Patients with Behçet's Disease

Tomoko Kure and Mitsuko Kogure

Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College

Abstract

We previously reported that serum complements in patients with Behçet's disease were extremely low just before the ocular attack. On the other hand, C3a and C5a levels, which have anaphylactic activity and chemotactic activity for polymorphonuclear leucocytes, were higher just before the ocular attack than at the time of the ocular attack, and there was negative correlation between C3a/C5a and CH50. In this report, we evaluated complement regulatory proteins. The results of low levels of C3b/C4b receptor (CR1) and membrane cofactor protein (MCP), and low tendency of decay accelerating factor (DAF) and membrane attack complex inhibi-

tion factor (MACIF) suggested that the function of complement regulatory proteins in patients with Behçet's disease decreases as a whole. But mean levels of both CH50 and ACH50 were significantly higher than in the controls. Although it is unclear which is the cause and which is the result, we suppose the function of complement production works excessively and these phenomena are caused by making up for the lack of complement regulatory proteins. (J Jpn Ophthalmol Soc 100: 376—380, 1996)

Key words: Behçet's disease, CR1, MCP, DAF, MACIF

I 緒 言

以前我々は、ベーチェット病では眼発作直前に一過性に血清補体価(CH 50)が異常低値を示すことがあり¹⁾²⁾、また、アナフィラトキシン活性や多核白血球遊走活性を

有する補体フラグメント C 3 a, C 5 a が眼発作直前に高値を示し、CH 50 と C 3 a, C 5 a の動きには負の相関が認められ、補体の活性化がベーチェット病の病態と関わりが濃いことを報告³⁾した。

一方、活性化された補体から自己細胞を守るために細

別刷請求先：162 東京都新宿区河田町 8-1 東京女子医科大学眼科学教室 呉 朋子
(平成 7 年 8 月 15 日受付, 平成 8 年 1 月 8 日改訂受理)

Reprint requests to: Tomoko Kure, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku Tokyo 162, Japan

(Received August 15, 1995 and accepted in revised form January 8, 1996)

表1 ペーチェット病患者のCD 35, CD 46, CD 55, CD 59

	CD 35(%)	CD 46(%)	CD 55(%)	CD 59(%)
患者	8.13±3.75* (n=259)	93.6±5.57** (n=259)	30.4±11.4 (n=259)	90.1±13.5 (n=109)
発作期	7.94±3.63* (n=213)	91.9±10.8 (n=213)	35.9±21.4 (n=213)	89.1±14.7 (n=88)
寛解期	9.00±4.26 (n=46)	93.5±4.33** (n=46)	30.4±2.79 (n=46)	94.2±4.83 (n=21)
対照	11.3±6.84 (n=30)	95.7±2.97 (n=30)	31.5±11.9 (n=30)	93.7±4.08 (n=15)

* : p<0.001 ** : p<0.05

胞膜上には補体制御因子が存在し、補体の際限ない活性化を防いでいる。今回、補体制御因子の中からC3の活性化を抑えるC3b・C4b receptor (CR1), membrane cofactor protein (MCP), decay accelerating factor (DAF)と、C9を抑える membrane attack complex inhibition factor (MACIF)を測定し、ペーチェット病患者の各臨床病期における変動を検討した。

II 対象および方法

1993年11月から1994年9月の間に東京女子医科大学眼科外来を受診中のペーチェット病患者95例を対象とした。その内訳は、完全型34例、不全型61例、男性68例、女性27例で、平均年齢は41.4±11.6歳であった。ペーチェット病の診断および病型分類は、厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班が1987年度に改定した診断基準に従って行った。対照としては、患者群と性、年齢分布のほぼ等しい健康成人30例を用いた。なお、対象のうち47例は2～9回まで重複して採血を施行しているため、対象数と検体数は一致していない。また、検査はペーチェット病における免疫機能を調べるためというインフォームド・コンセントのもとに、主として定期的に行う必要のある採血の時期に合わせて3ml多く採血した。

1. 補体制御因子、血清補体価の測定

対象から末梢血をヘパリン加で採取し、それぞれの精製モノクローナル抗体CD 35(CR 1), CD 46(MCP), CD 55(DAF), CD 59(MACIF)を一次抗体として血液に添加し、混和後ice baseで30分間インキュベーションした。その後、PBSを加え遠心分離で細胞を洗浄し、さらに、二次抗体としてFITC標識抗マウスIgGを加え、再度30分間のインキュベーション後PBSで細胞洗浄を行った。洗浄後、塩化アンモニウムをベースにした lysing reagent を加え室温で15分静置し、赤血球の溶血を確認後、フローサイトメトリーで各抗体に陽性を示したリンパ球を百分率で表した⁴⁾。

同時に採血し-70°Cに保存した血清について、Mayerの50%溶血法⁵⁾を用い補体の古典経路(classical pathway)の溶血活性はCH 50で、第2経路(alternative pathway)の溶血活性はACH 50で表した。補体の第2経路の溶血活性は、古典経路の反応に必要なCa²⁺イオン

をEGTAでキレートし、選択的に除く通常の方法で同様に測定した⁵⁾。

2. 発作期と寛解期の比較

本症の眼症状、もしくは眼外症状が現れている時期の検体を発作期とし、そのいずれもが認められないものを寛解期とした。

3. 眼発作の推移に伴う変動

採血時に眼外症状がなく、自覚的に眼発作の起きた日の明らかな症例を選び、発作の起きた日から10日までを眼発作期、それ以外を寛解期とし、さらに、寛解期についてはretrospectiveに眼発作の5日前までを眼発作直前、5～7日前までを発作前期とした。

4. 活動期と非活動期の比較

採血した月を中心に前後1か月、計3か月間に眼発作がなく、眼外スコア⁶⁾の平均が1以下で、採血時に眼外症状がなかったものを非活動期とし、それ以外を活動期とした。

統計学的検討ではすべてt検定で行い、5%以下を有意とみなした。

III 結果

1. ペーチェット病患者の補体制御因子

ペーチェット病患者のCD 35, CD 46は、それぞれ健常対照に比べて有意に低値であった(p<0.001, p<0.05)。CD 55, CD 59は健常対照に比べて低値であったが、有意の差はみられなかった(表1)。

2. 発作期と寛解期の比較

CD 35, CD 46, CD 55, CD 59のいずれにおいても発作期と寛解期の間に有意の差はなかったが、CD 35, CD 46, CD 59では発作期の方が寛解期に比べて低い傾向があった。発作期と寛解期のそれぞれを健常対照と比較したとき、CD 35は発作期において、CD 46は寛解期において有意に低値を示した(表1)(p<0.001, p<0.05)。

3. 眼発作の推移に伴う変動

CD 35, CD 46, CD 55は各臨床病期の間にそれぞれ有意の差は認められなかったが、CD 35, CD 46では眼発作直前に最も低値を示し、CD 55では眼発作期に次いで眼発作直前に低値を示した(図1a～c)。CD 59においては発作前期に最も低値を、眼発作直前に最も高値を示し、両

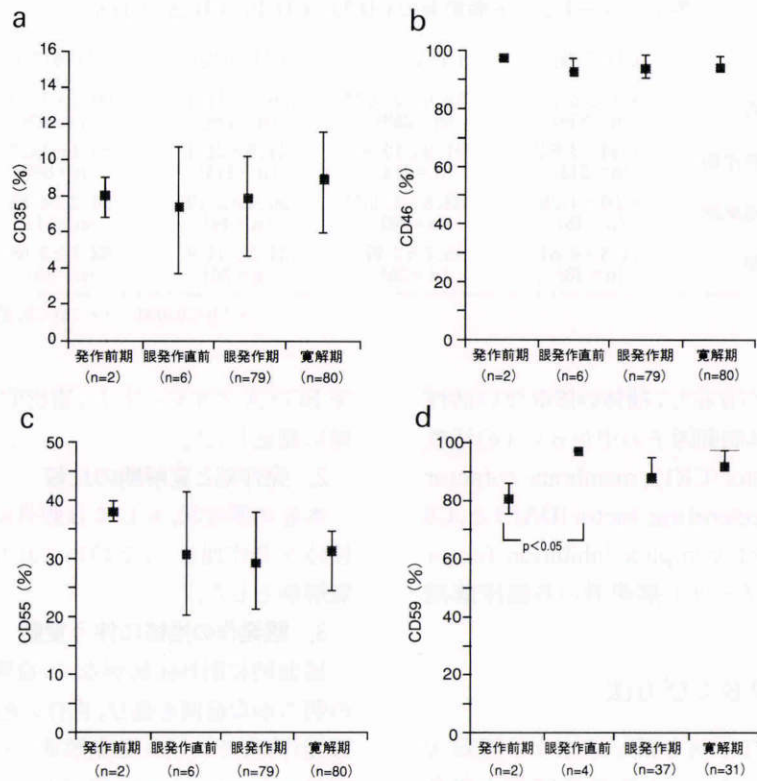


図1 眼発作の推移に伴う変動。

a, b: CD 35 と CD 46 では眼発作直前に最も低値を示した。c: CD 55 では眼発作期に次いで眼発作直前に低値を示した。d: CD 59 においては発作前期に最も低値を、眼発作直前に最も高値を示し、両者間に有意の差がみられた。

図の■は平均値、縦線は標準偏差を表す。

表2 活動期と非活動期

	CD 35(%)	CD 46(%)	CD 55(%)	CD 59(%)
活動期	8.08±3.62* (n=225)	93.7±5.70 (n=225)	30.1±11.6 (n=225)	89.7±14.0 (n=97)
非活動期	8.45±4.57 (n=34)	92.7±4.60 (n=34)	32.4±9.39 (n=34)	93.4±6.85 (n=12)
対照	11.3±6.84 (n=30)	95.7±2.97 (n=30)	31.5±11.9 (n=30)	93.7±4.08 (n=15)

* : p<0.001 ** : p<0.05

者間に有意の差がみられた(図1 d) (p<0.05)。

4. 疾患の活動性との関係

活動期と非活動期との間に有意の差を認めたものはなかったが、CD 35, CD 55, CD 59 では活動期の方が非活動期に比べて低い傾向を示した。活動期と非活動期のそれぞれを健常対照と比較すると、CD 35 は活動期において、CD 46 は非活動期において有意に低値を示した(表2) (p<0.001, p<0.05)。

5. ベーチェット病患者の血清 CH 50, ACH 50 について

ベーチェット病患者の CH 50, ACH 50 は、それぞれ健常対照に比べて有意に高値を示した(p<0.001, p<0.05)。両測定値は発作期と寛解期の間に有意の差はなかったが、健常対照と比較すると発作期、寛解期ともに有意に高値を示した(表3)。

表3 ベーチェット病患者の CH₅₀, ACH₅₀

	CH ₅₀ (u/ml)	ACH ₅₀ (u/ml)
患者	39.9±5.07* (n=227)	90.3±21.4** (n=258)
発作期	40.2±5.26* (n=181)	90.7±22.4** (n=212)
寛解期	38.7±4.11* (n=46)	88.5±16.2** (n=46)
対照	35.7±3.74 (n=30)	80.8±13.5 (n=30)

* : p<0.001 ** : p<0.05

6. 補体制御因子と CH 50, ACH 50 との関係

CD 35, CD 46, CD 55, CD 59 と CH 50, ACH 50 との値を比べると、CD 59 と CH 50, ACH 50 との間に相関を認めたが、他の制御因子との間に相関はみられなかった(図

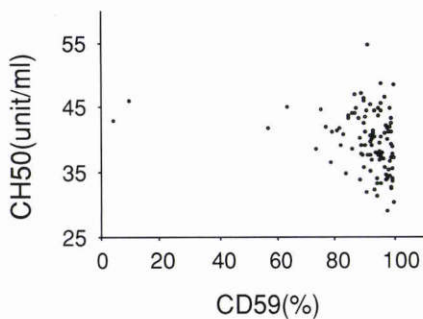


図2 CD59とCH50との関係。

CD59とCH50との間に相関を認めた, $n=104$ $r=0.257$ $p<0.01$

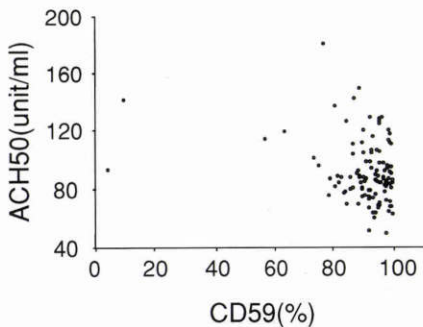


図3 CD59とACH50との関係。

CD59とACH50との間に相関を認めた, $n=110$ $r=0.259$ $p<0.01$

2, 3).

7. その他

対象患者95例中, 22例を除いては何らかの薬物療法を受けていた。その内訳は, コルヒチンが35例, シクロスポリンが15例, FK 506が11例, コルヒチンとシクロスポリンの併用が19例, コルヒチンとFK 506の併用が4例であった(検討期間中に投薬内容が変更となった症例もあったため, その合計数は一致していない)。しかし, 投薬内容が等しい患者間でも投薬量や使用期間, また, 症状の程度などの相違があるため, 今回の検討では一定の見解は得られなかった。

また, 対象のうち47例は重複して採血を施行したが, それぞれの時期による測定値の変動はretrospectiveに各臨床病期に分けると, 1症例ずつ検討するには検体数に偏りがみられたが, これまでの結果とほぼ同様の傾向があった。

なお, CD 35, CD 46, CD 55, CD 59と本症の活動性のマーカーである白血球数, 血沈やCRPなどの検査成績との間に有意の相関はなかった。

IV 考 按

免疫系の重要な働きの1つに自己・非自己識別機構があり, 補体の反応系においても自己細胞に不要な反応を起こさないための自己防御システムが存在する。補体により異物が障害を受け正常細胞が障害を受けないのは,

自己細胞膜上に存在し自己補体の反応を抑制する特異的な制御因子で守られているためである。中でも主要なものとして, ①C3の活性化を抑える群—C3b・C4b receptor (CR 1), membrane cofactor protein (MCP), decay accelerating factor (DAF), ②C9の活性化を抑える群—membrane attack complex inhibition factor (MACIF)の蛋白質があげられる。MCPは, 細胞上に沈着したC3bやC4bをプロテアーゼ factor Iとともに不活性型のC3bやiC4c+C4dに限定分解することによって, C3転換酵素の形成を不可逆的に阻害する。DAFは, 沈着したC3bやC4bに結合し, 2分子集合体であるC3bBbやC4bC2aを解離することによってC3転換酵素の形成を阻害する。CR1はMCPとDAFの機能を併せ持つが, 自己細胞と他細胞のC3bやC4bを区別せずに失活せしめるため, 自己細胞の防御能は顕著ではない。MACIFは, C5b-8のC8やC5b-9のC9に結合し, C9の重合を阻害することにより膜障害複合体(membrane attack complex, MAC)の形成を阻害する。これらの膜因子のうち, CR1は血小板を除く血液細胞に, MCPは赤血球以外の血液細胞に, DAF, MACIFは血液細胞や血管内皮細胞などに存在することが示されている。したがって, これらの補体制御因子の欠損や機能低下は生体にさまざまな障害を及ぼすことになる。疾患との関係については, これまでにCR1欠損症とSLE, DAF・MACIF欠損症と発作性夜間血色素尿症, MCPの異常と習慣性流産などが報告^{7)~11)}されている。

以前我々は, ベーチェット病のCH50を測定し, 平均値は高値であったが変動が大きく, 眼発作直前に一過性に異常低値を示すことがあり, これには補体の古典経路, 第2経路の両方を介した活性化が関与することを報告¹²⁾した。他のぶどう膜炎を伴う全身疾患であるサルコイドーシス, 原田病のCH50は高値を示すが, 経過中の変動幅は少なく, 一過性に異常低値となることもなく, 消炎とともにCH50は正常値に復し, ベーチェット病とは明らかに違った動きを示す¹²⁾¹³⁾。これらの疾患の補体系は単なる急性期反応物質としてとらえられるが, ベーチェット病ではこれらの疾患と違って, その病態形成に補体の関与の大きいことを示す所見であった。そこで, その後アナフィラトキシン活性や多核白血球遊走活性を有する補体フラグメントを測定し, C3a, C5aが眼発作直前に高値を示し, CH50とC3a, C5aの動きには負の相関が認められたことを報告³⁾した。今回, ベーチェット病患者の補体制御因子を測定し, 本症患者ではCR1とMCPの明らかな低値に加え, DAFとMACIFにも低い傾向がみられ, 本症における補体制御因子の不足はC3を中心としたものであるが, C9を抑える群にも不足がみられ, 補体制御因子の機能は全体として低下していることを示唆していた。

また, 本症は種々の症状が再発, 寛解を繰り返す全身病

である。その背景にある全身的要素や病勢も考慮して評価するのが妥当と考え、本報告では単に採血時の症状の有無で分けた発作期と寛解期の比較の他に、種々の症状が多発している活動期とそうでない非活動期に分けても検討した。それぞれの補体制御因子の値を比較すると、発作期と寛解期の間、また活動期と非活動期の間に有意の差を認めたものはなかった。

また、眼発作を中心とした各臨床病期における補体制御因子の変動には、有意差は認めなかったものの、C3の活性化を抑えるCR1とMCPが眼発作直前において最も低値を示し、先に述べた眼発作直前に観察されたCH50の低値とC3a, C5aの高値に関連した興味深い所見が得られた。C9の活性化を抑えるMACIFが眼発作直前に高値を示したことは、C3の活性化を抑える制御因子の不足を補っているとも考えられた。以上から、本症を補体の側面から観察すると、補体の両経路を介した異常なC3の失活は補体制御因子、中でもC3転換酵素の形成を阻害する膜蛋白因子の低下による可能性が大きいと考えられた。しかし、本報告においてもCH50, ACH50の平均はともに高値を保ち、どちらが原因と結果であるかは明らかでないが、補体の産生系は過剰に機能し相補的に作用しているように考えられた。このC3を中心とした補体制御因子の低下をめぐることは、これを表現する細胞の機能を含めたさらなる検討を今後の課題とした。

文 献

- 1) 小暮美津子, 原 弘子, 嶋田孝吉: ベーチェット病における補体. 日眼会誌 75: 1260—1286, 1971.
- 2) 小暮美津子, 大野弓子: Behçet病における alternate complement pathway. 日眼会誌 79: 172—

- 176, 1975.
- 3) 小暮美津子, 島川真知子, 高橋義徳, 若月福美, 伊佐井久美子, 福田尚子, 他: ベーチェット病における補体分解産物 C3a, C5a. 眼臨 86: 1068—1072, 1992.
- 4) 馬場眞澄: フローサイトメトリーによるリンパ球分類法. Medical Technology 21: 550—557, 1993.
- 5) Mayer MM: Experimental Immunology, ed. 2, Springfield, III, Charles C Thomas, 1964.
- 6) 小暮美津子, 大曾根倫子, 若月福美, 高橋義徳, 吉川啓司: Behçet病における interleukin 2 system. 臨眼 41: 921—925, 1987.
- 7) 岡田秀親: 補体の制御蛋白質. 免疫 28: 87—92, 1991.
- 8) 瀬谷 司: 補体制御因子とその異常. 臨床病理 39: 1317—1324, 1991.
- 9) Lublin DM, Atkinson JP: Decay-accelerating factor: Biochemistry, molecular biology, and function. Annu Rev Immunol 7: 35—58, 1989.
- 10) Liszewski MK, Post TW, Atkinson JP: Membrane cofactor protein (MCP, CD46): Newest member of the regulators of complement activation gene cluster. Annu Rev Immunol 9: 431—455, 1991.
- 11) Meri S, Morgan BP, Davies A, Daniels RH, Olavesen MG, Woldman H, et al: Human-protein (CD59), an 18,000—20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers. Immunology 71: 1—9, 1990.
- 12) 小暮美津子: アレルギー性眼疾患と補体. 免疫と疾患 2: 579—586, 1981.
- 13) 小暮美津子, 若月福美: サルコイドーシスの免疫異常. あたらしい眼科 3: 1549—1554, 1986.