

Title	補体の活性化とその調節機構に関する研究
Author(s)	飯田, 恭子
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/31836">https://hdl.handle.net/11094/31836</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	飯 田 恭 子
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	第 4 1 0 4 号
学位授与の日付	昭和 52 年 12 月 8 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	補体の活性化とその調節機構に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 池原 森男
	(副査) 教授 青沼 繁 教授 岩田平太郎 教授 近藤 雅臣

論 文 内 容 の 要 旨

緒 論

補体は、血清中にある蛋白質で、第 1 成分(C1)から第 9 成分(C9)までの 9 成分から成る。又、C1 は、Clq, Clr, Cls の 3 つのサブコンポーネントから成る。生体内では、補体は、不活性型で存在するが、抗原抗体複合物などで活性化されると、生物学的活性を発揮する。補体活性化の経路には、classical pathway (CP) と alternative pathway (AP) の 2 つがある。CP は抗原抗体結合物などによって、C1 が活性化されるところから開始する。活性化された C1 が、C4, C2 を部分切断して C4b2a を形成する。これが C3 に働き C4b2a3b を形成して C5 以下を順に活性化する。AP は多糖体やある種の抗体によって、活性化される。ここでは、C1, C4, C2 の反応は、必要でなく、C3 から反応が開始する。この時、IF(initiating factor), B, D が必要で、これらの共働で C3 が、C3bB を形成する。C3 C3bB が、C3 および C5 を活性化して以後は CP と同様に C6~C9 の反応が進行する。

生体内で補体が活性化されたとき、それを阻害する方向に働く因子がいくつか存在するのは、他の生体内の反応と同じである。

このような補体の反応系の中で、免疫グロブリンによる活性化および C1 inactivator の作用機序についての研究を行った。

本 論

第 1 章 免疫グロブリンによる補体の活性化

ヒト免疫グロブリンの 5 つのクラスのうち IgG と IgM の 2 つだけが、補体結合性があるとされていた。

近年APの発見によって、再検討が必要となり、IgGは、CP、APの両経路、IgE、IgDはAPを活性化することが報告された。モルモット、ウサギ抗体のF(ab')<sub>2</sub>がAPを活性化することも報告された。IgAおよびIgEの補体活性化能の有無と、補体活性化がいずれの経路を介するのかを検討した。またウサギIgGのF(ab')<sub>2</sub>フラグメントを用いて、AP活性化の機構についても検討を加えた。

#### 1) TTHAを用いたEAC14 cellの作成

補体活性化を調べる手段として、各補体成分の溶血活性の変化を測定する。この時、感作ヒツジ赤血球(EA)に、補体成分が安定な形で結合した各種のintermediate cellが必要である。キレート剤TTHA(Triethylene tetramine hexaacid acid)の存在下、血清とEAを反応させて、簡単に、EAC 14 cellを作成する方法を開発した。

#### 2) IgAによる補体活性化

IgAの2つのサブクラスIgA1、IgA2の両方のミエローマ蛋白を精製して、ペプシン消化で得た、F(ab')<sub>2</sub>フラグメントと、Streptococcus sanguisの産生するproteaseで消化して得たFcフラグメント及びwhole moleculeをBDB(bis-diazotized benzidine)でカップリングさせ、ヒト血清と反応後、血清中の補体消費を測定した。IgA1のF(ab')<sub>2</sub>およびFcは、C4、C2を著しく低下させ、これらがCPを介して補体を活性化したことが明らかとなった。またwhole moleculeは活性は低いがCPを活性化することを示す結果を得た。IgA1、IgA2による差異もみられた。IgA2はwhole moleculeのときIgA1に較べ活性が高いが、F(ab')<sub>2</sub>は、whole moleculeよりも活性が低かった。

#### 3) IgEによる補体活性化

IgEの2つのミエローマ蛋白を精製して、IgAと同様の方法で、補体活性化を検討した。パパイン消化で得たFcフラグメントと、whole moleculeを用いた。石坂の報告によると、IgEは、モルモット補体のAPを活性化する。これに反して、ヒト補体ではC4、C2を著しく低下させる。CP活性化を示す結果が得られた。補体のspeciesによる差異は、実際に活性化の経路が違うのか、それともいずれも両経路が、活性化されていて、その結度に差があるだけなのかは明らかではない。

#### 4) ウサギIgG・F(ab')<sub>2</sub>によるAPの活性化機構

egg albumineとそのウサギ抗体のF(ab')<sub>2</sub>による沈降物(F)を作製して実験を行った。Fはヒト血清と反応させると、C1、C4、C2を消費せず、C3以下を消費する。これはFの上にヒト血清中の種々の因子(X)が結合してC3およびC5分解活性をもつことによる。一方作製したFXを37°CでincubateするとFX活性がなくなる。これは、FXから構成因子のいくつかはdecayしたためである。decayした後のFX(FXd)に、BとDを同時に新しく加えた場合だけに、FX活性が回復することから、FX上からdecayした因子は、Dによって活性化されたBであり、DはFX上には結合されていなかったことが推定できた。

### 第2章 補体の調節機構

#### — C1 inactivatorの作用機序 —

C1 inactivator(C1INA)は、C1のみでなく、凝固第XII因子Hageman factor、第XI因子Plasma thromboplastin antecedent、カリクレイン、プラスミンなどをも不活性化する。しかしその作用機序

については明らかではない。C1の構成成分であるC1rおよびC1sが、C1INAによって不活性化される機序をアクリルアミド電気泳動法を用いて検討した。単離精製したC1INAとC1rを反応させて電気泳動を行うと、新しいバンドが形成される。この新しいバンドは、C1rとC1INAの両方の抗原性を持ち、C1rとC1INAの分子量の和にほぼ一致する分子量を持つ。C1sとC1INAを反応させた時にも、両方の抗原性を持ち、分子量が双方の和によく一致する新しいバンドを形成する。

C1INAは、C1rおよびC1sと1:1の分子複合体を作って、これらを不活性化するのである。C1INAをC1と反応させた時は、C1r、C1sの両方とそれぞれ複合体を形成していることがわかった。

#### 結 論

1. キレート剤TTHAの存在下で、ヒツジ感作赤血球と血清を反応させ、安定なEAC14 cellを作製する方法を開発した。
2. IgA1およびIgA2とそれらのフラグメントは、ヒト補体をclassical pathwayを介して活性化することがわかった。
3. IgEとそのFcフラグメントは、ヒト補体を、classical pathwayを介して活性化することが明らかとなった。
4. ウサギIgG・F(ab')<sub>2</sub>を用いた時のヒト補体のalternative pathway活性化機構についての知見を得た。
5. C1 inactivatorによるC1不活性化は、C1rおよびC1sの各々と1:1の分子複合体を形成して行われることがわかった。

#### 論文の審査結果の要旨

補体活性化機構の開明のため、請求者は、キレート剤TTHAの存在下で安定なEAC14細胞を作製する方法を開発し、IgA1及びIgA2及びそのフラグメントがヒト補体をclassical pathwayを介して活性化することを見出した。又、IgEとそのFCフラグメントに於ても同様であった。

ウサギIgG・F(ab')<sub>2</sub>フラグメントに於てはヒト補体をalternatine pathwayによって活性化する機構を解明した。

更にC1 inactivatorによるC1不活性化はC1r及びC1sと各々1:1の分子複合体を形成することにより行われていることを証明した。

これらの成果は博士号請求に値するものと考えらる。