



Title	補体古典経路のC5転換酵素におけるC4b-C3b二量体の意義
Author(s)	高田, 裕子
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35281
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・（本籍）	たか　　た　　ゆう　　こ 高　　田　　裕　　子
学位の種類	医　　学　　博　　士
学位記番号	第　　7 6 5 6　　号
学位授与の日付	昭 和 62 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	補体古典経路の C 5 転換酵素における C 4 b - C 3 b 二量体の意義
論文審査委員	(主査) 教 授 井 上　公 蔵 (副査) 教 授 内 田　　駿　　教 授 藤 尾　　啓

論 文 内 容 の 要 旨

〔目　　的〕

補体第五成分（C 5）は、活性化されると、好中球や単核球の走化性因子となる C 5 a，膜侵襲複合体形成の開始分子となる C 5 b に限定分解される。その C 5 の活性化は、C 5 転換酵素（C 4b2a3b 及び C 3bBb3b）という複合酵素によっておこる。

古典経路の C 5 転換酵素（C 4b2a3b）に関しては、従来、C 3 転換酵素（C 4b2a）と、それによって活性化され近傍の膜表面に共有結合した C 3 b とで形成されと考えられてきた。然し、種々の標的表面上で形成される C 5 転換酵素が、どのようにして、常に一定の形をとれるのか？ また、C 5 の結合部位がどのような構造をとっているのか？ 構造と機能の関係では多くの疑問が残されている。

本研究では、C 5 転換酵素の構成成分間の結合と、C 5 結合部位に関して検討を加えた。

〔方　　法〕

- (1) C 5 転換酵素（E A C 1423）は、感作羊赤血球（E A）に精製補体成分を順次加えて作成した。
- (2) C 4 b - C 3 b 二量体は、¹²⁵I - 標識 C 4 または C 3 を用いて E A C 1423 を作成し、S D S - P A G E とそれに続く Autoradiography により解析した。
- (3) 2 次元電気泳動は、還元 S D S - P A G E をした後、1 M hydroxylamine で処理し、再び還元状態で S D S - P A G E を行なった。
- (4) C 4 b - C 3 b 二量体の分子数は、赤血球に結合した標識蛋白量と、非還元 S D S - P A G E のバンドの濃さの比とから求めた。
- (5) E A C 43 または E A C 14 への C 5 の結合能は、¹²⁵I - 標識 C 5 を用いて Scatchard-plot から求めた。

[成 績]

(1) EAC1423上のC4b-C3b二量体の形成

SDS-PAGEによる解析から、EAC1423形成過程で、C3bが赤血球上の低分子物質と結合しているC4bに共有結合し、C4b-C3b二量体が選択的に形成されている事が明らかになった。

(2) C4b-C3b二量体の性質

2次元電気泳動による解析から、C4b-C3b二量体は、C4bの α' 鎖とC3bの α' 鎖がエステル結合してできた物であることが証明された。そのEAC1423上のC4b-C3b二量体は、pH 7.4, 37°C中で、半減期4.7時間で崩壊した。

(3) C5転換酵素内のC5結合部位

EAC43へのC5の結合能を調べると、結合定数 $2.1 \times 10^8 \text{ L/M}$ の高親和性結合部位が存在した。C3bを変量して異なった数のC5結合部位を持つEAC43を作成し、そのC4b-C3b二量体の分子数を測定すると、分子数はC5結合部位数に一致した。即ち、C4b-C3b二量体が、C5結合部位となっていることが示唆された。

(4) EAC14へのC5の結合

今まで結合しないと思われていたEAC14へのC5の結合能を調べると、結合定数 $8.1 \times 10^7 \text{ L/M}$ の高親和性結合部位がわずかに存在した。その結合は、抗C3抗体で阻害されず、抗C4抗体で阻害される特異的なものであった。SDS-PAGEによる解析から、C4b-C4b二量体の形成を示唆するバンドが見出され、C4b-C4b二量体にC5が結合する可能性が考えられた。

[総 括]

(1) 古典経路のC5転換酵素中には、共有結合したC4b-C3b二量体が存在することがわかった。

(2) C4b-C3b二量体は、C5結合部位となることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

C5転換酵素は、C3転換酵素(C4b2a)とそれによって限定分解を受けたC3の一断片C3bとで構成される複合酵素である。本研究は、標的物質上に共有結合したC4bに、C3bが、エステル結合し、ヘテロ二量体を作り、その二量体がC5結合部位となることを示唆したものである。C3とC4は分子内チオエステル構造を持ち、標的物質に共有結合することは、従来から知られていたが、複合酵素の四次構造獲得に、エステル結合が使われていることが、証明されたのは初めてである。補体系の蛋白質に限らず、複合酵素の機能発現に、共有結合が使われている例はほとんどなく、酵素学の領域に新たな概念を加えるものである。よって、この研究は、学位論文に値するものと考えられる。