

## 最終講義

## ベーチェット病と補体

東京女子医科大学 眼科学

小 暮 美 津 子

(受付 平成10年3月24日)

## はじめに

最初に最終講義にベーチェット病と補体というテーマを選ばせていただいたいきさつをお話し、それから本題に移らせていただくことにする。

## ベーチェット病との出会い

私が大学院を卒業した当時、東京女子医科大学病院の眼科では大勢のベーチェット病患者が治療を受けていた。それはベーチェット病を専門とされていた氏原 弘先生が、本学へ助教授として赴任してこられたからである。

お蔭で、それまで診たこともない病気をたくさん経験することができ大変勉強にはなったが、そのうちその極めて悲惨で苛酷な様をみるにしのびず、何とかしなければと思うようになってきた。当時は今のようにコルヒチンをはじめシクロスポリンなど眼の発作を起こさないようにする薬（眼再発抑制薬）がまだ導入されていなかったため、発作が起きる度ごとにステロイド薬を全身投与する以外に方法はなかった。ステロイド薬を全身投与すると、視力は一旦は回復するが、そのうちにさらに強い発作がまた誘発されるという悪循環の繰り返しで、遂には回復不可能の視力低下を招いていた。この病気は働き盛りの青壮年に好発し、その方々が次から次へと失明して行くのを、ただ見守るのみのつらい日々であった。

そのうち氏原先生が御病気になられ、しばらくの間療養生活が続いた。この間、代診を務めた私がベーチェット病患者を診ることになり、ますま

す何とかしなければならぬという思いがつのようになってきた。

## 補体との結びつき

私が大学院を卒業して、先ずとり組んだのが、ベーチェット病の原因の究明と治療法の確立であった。図書館で文献を調べたがベーチェット病の病因については、当時の医学で、最高のレベルまで研究され尽くされていた。唯一誰も手がけていない領域が補体に関するものであった。補体系に異常があるかどうかを調べるには、先ず血清補体価 CH50を測定しなければならない。CH50は今でこそ簡便でルチンに測定できるようになったが、当時は手技が複雑でその上、全部自分でしなければならなかった。

あれこれ調べていくうちに幸いなことに補体の重要成分である補体第3成分 (C3), C5, C8, C9を発見した西岡久寿弥先生が帰国し国立癌センターにおられることを知り、お尋ねする決心をした。それまで自分で測定したデータを持ち、ベーチェット病の病態を御説明申し上げていくうちに、西岡先生は大変、学問的興味をもたれ、有難いことに、国立癌センターの研究室を使うようにお勧め下さった。丁度その頃癌センターで研究していた嶋田孝吉博士を紹介いただき、大学院生原弘子先生と一緒にしばらくの間築地に通った。

## ベーチェット病の血清補体価

CH50を測っているうちに、ごく一過性ではあるが、測定不能の低値となる検体のあることがみ

つかった。その検体を調べると臨床的には眼発作の少し前で、全身的にも症状が重複して現われる時期と一致していた。実際にCH50が異常低値となる疾患のあることが注目され、多くの疾患で盛んにCH50が測定されるようになった。やがて全身性エリテマトーデス、膜増殖性糸球体腎炎、遺伝性血管神経浮腫などの補助診断にCH50の測定は欠かせないようになってきた。

そのうち本学でもルチンに測定したいという若くて熱心な中検の方のお申し出を受け、私もお手伝いさせていただいた。学生に補体の講義をするよう当時の微生物学吉岡守正教授から仰せつかったのもこの頃である。

### 補体異常低値の要因

同一患者でCH50が異常に低い時とそうでない時との補体成分の活性値を測定し、異常低値の時はC1, C4, C2, C3ともに活性が失われ、中でもC3活性には著しい低下がみられた。しかし補体の異常低値の時とそうでない時との蛋白量には明らかな差がなく、補体の産生系には異常がなかった。補体は産生後に消費され活性が失われ低補体になったと考えられた。

低補体が産生後の補体の消費によるものであることは免疫電気泳動でも確かめることができた。

### 補体の反応経路

補体の反応経路には大きく分けて古典経路 classical pathway と第2経路 alternative pathway の二つがある。補体系は正常な生理状態のもとではほとんど不活性な状態で存在している。古典経路は抗原抗体複合物などによってC1からC4, C2, C3, C5と順次C9まで反応するもので、第2経路は常時起きている微量のC3の活性化が基本にあり、抗体非依存性の反応で、リポ多糖類などによってC3より後半が活性化される経路のことである。

### ベーチェット病の補体活性化経路

ベーチェット病では、両経路を介した補体の活性化が起こることを同一症例で偶然とらえることができた。これは臨床的に眼発作前でC1, C4, C2, C3の活性がともに低くCH50は10以下に低下していた。しかし次に起きた眼発作では、C1, C4,

C2に低下はなく、C3から始まる補体の活性化、つまり第2経路によると思われる反応が起こり、CH50の低下は中等度であった。しかし、ベーチェット病における低補体はごく一過性のもので通常は古典経路(CH50)、第2経路(APCH50)ともに正常よりもはるかに高値である。

### 補体の分解産物

さて両経路による補体の活性化が起こると、個々の補体成分は分解され、さまざまな生物活性を持つフラグメントが生成される。その中で液相中に遊離されるC3a, C4a, C5aは、血管の透過性亢進にかかわるアナフィラトキシン活性や、活性酸素放出、リンホカイン産生、ケモタキシスなど多彩な免疫反応を引き起こす。

C4に例をとると、CIsの作用でC4は活性化されC4aとC4bに限定分解される。このうちC4bは抗原物質の表面に結合してその後の反応系に加わるが、C4aは液相中に遊離して、アナフィラトキシン活性を発揮したり白血球に働いて遊走活性を亢進させる。

ベーチェット病では、血中にこのような補体分解産物C3a, C4a, C5aが多量に流出していた。

### 補体レセプター

ところで、ヒトの赤血球、白血球、単球、マクロファージなどには、各々の補体フラグメントに反応して親和性を持つ膜レセプターが存在する。これを補体レセプターという。ベーチェット病の補体レセプターCR1, CR2には発現の低下がみられたが、CR3は正常範囲内であった。

このCR1はIAレセプターとして古くから知られ、赤血球膜上に存在するC3b結合蛋白で、好中球、単球、マクロファージやリンパ球などにも存在する。CR1にはC3, C5転換酵素を失活させるDAF活性と、リガンドであるC3bをI因子の存在下でC3biに分解するコファクター活性があり、補体制御因子としての側面も持っている。

CR2は主にB細胞に発現し、これを活性化する糖蛋白で、CR3は単球や好中球、マクロファージ、NK細胞などにも発現し、食細胞の粘着、貪食、活性酸素の産生、細胞障害などに関与する。

### 補体制御因子の存在をめぐって

ベーチェット病では、補体の両経路の活性化により種々の生物活性を持つフラグメントが形成されるが、補体レセプターの発現が十分ではなかった。そこで次に考えられる可能性は、細胞膜表面の補体制御因子の存在である。活性化された補体は自己の細胞にとっては非常に危険である。補体制御因子は活性化された補体の侵襲から自己細胞を守るために細胞表面に出現する膜蛋白のことである。

補体制御因子は大きく分けてC3の段階で制御する群とC9が結合する段階での抑制の二つがある。前者にはCR1とMCP, DAFがあり、後者にはHRF20がある。これらの膜蛋白はMCPが赤血球にないという例外を除くと血液にさらされているほとんどすべての細胞表面に存在している。

ベーチェット病では、これら制御因子にも低下がみられた。

ここで考えられることは、白血球やリンパ球などの血液細胞自体がすでに異常をきたし、レセプターの制御因子の発現能力が低下していること、補体の活性化により、細胞が常時刺激を受け、血中ですでにプライミングされている可能性、さらには制御因子、補体レセプターともに低下して相補的に生体防御に当たっていることなどが挙げられる。

この中で本日のテーマにそって、補体の標的細胞が、すでにプライミングされている可能性について検討したものを述べる。

#### ベーチェット病における白血球の位置づけ

この問題については別の観点からも検討を進めてみた。

ベーチェット病の原因はいまだに不明であるが、その病態形成には好中球のさまざまな機能異常、好中球の遊走能亢進や活性酸素産生能の亢進、ライソゾーム酵素放出能の亢進などが、深く関与していることが明らかにされてきている。昔から本症の特徴とされている前房蓄膿性虹彩炎で眼局所に浸潤してくる炎症細胞の95%以上は多核白血球(PMN)で占められている。これは眼以外の炎症局所においても同様である。

### 白血球はC3を産生するか

そこで血液細胞の中でも好中球をとりあげ補体の中心的存在であるC3との接点をさがす目的で白血球からC3が産生されているかどうかを調べた。

白血球を分離培養し、その上清中のC3蛋白量を対照とくらべるとベーチェットPMNのC3産生能が明らかに上昇していたがC3 mRNAの発現には差が認められなかった。このC3蛋白量の増加は炎症の程度と相関していた。

前房内に浸潤したPMNをウサギ抗ヒトC3ポリクローナル抗体で染色すると細胞質内にC3の局在が認められる。これがC3であることはC3を用いた吸収試験での染色性の低下からも明らかであった。

#### TPA刺激による変化

培養上清中にTPAを添加してPMNのC3産生能の変化を蛋白レベルと遺伝子レベルで調べた。TPAには白血球膜を通過してプロテインカイネースCを活性化する作用があるため、TPAを添加することによってC3の産生が促進されるかどうかを確かめた。ベーチェット病PMNはTPA刺激前後で培養上清中のC3蛋白量にほとんど差がなかったが、一方の対照ではTPA刺激後のC3蛋白量に明らかな増加がみられた。また刺激後のC3 mRNA発現の増加もベーチェット病が36.8%であったのに対して対照では80%にも達していた。

白血球のC3 mRNAの発現についてはベーチェット病ではすでにTPA刺激前からSouthern blot hybridizationで検出されていたC3 mRNAのバンドがTPA添加後には検出されなかった。しかし対照では刺激前になかったバンドがTPA刺激で検出されるようになっていた。このTPA刺激でC3 mRNAの発現とC3蛋白量の増加がともにみられたのは対照の70%に対してベーチェット病では20%と少なく、一方TPAに全く反応しなかったのは対照が10%であったのに対してベーチェット病では30%以上にみられた。

このように本症の病態と最も関係のある白血球をターゲットとした場合、白血球はin vivoです

でプライミングされていると考えることができた。

#### 眼炎症局所における補体制御因子

そこで話をもとに戻して眼炎症局所に果して補体制御因子が存在するかどうかについてを、治療目的で切除した虹彩を利用して調べることにした。

虹彩は免疫組織学的に各補体制御因子に対するモノクローナル抗体を用いて染色した。CR1, MCP, DAF の発現、つまり C3 の段階で抑制する因子は、ベーチェット病、対照ともに検出されなかった。mRNA の発現もみられなかった。一方の C9 での抑制に関与する HRF20 は患者、対照ともに同じレベルで血管内皮細胞、虹彩基質や虹彩色素上皮が染色され、中では血管内皮細胞に強い染色性が認められた。ヒト虹彩においては C3 を介した補体の反応、つまり血管透過性の亢進であるとか白血球の遊走は起きてても、C9 が活性化される段階では抑制機構が働き、細胞溶解や膜破壊には至らないであろうと推測できた。

このことは病理組織学的にも本症患者の虹彩には炎症が強いにもかかわらず壊死性変化が少ないという報告や、眼発作時の房水中には C5, 6, 7 複合体や C3a, C5a に由来する多核白血球遊走因子が存在するという報告とも一致すると思われた。

#### おわりに

ベーチェット病における補体の位置づけについて述べてきた。補体は特異性を持たない因子として長らく脇役に甘んじてきたが、そのうち赤血球や白血球、マクロファージ、リンパ球などの細胞膜表面に補体レセプターの存在が発見され、補体レセプターは、これらの細胞が機能するためには欠かせない重要な役割を担っていることが判ってきた。

また最近では、自己補体を特異的に抑制する膜因子、補体制御因子が同定され、自己細胞膜上で、補体反応は進行しない仕掛けになっていることも明らかになってきた。

補体は反応が複雑で敬遠されがちであるが、こうしてみると歴史的には古くても新知見の発見とともに、最近になりめざましく進歩した分野でもある。ここで、あえて結論は申し述べないが、今後、あとに続く方達がお出し下さることを願って終りとしたい。

眼科に入局して40年がたちましたが、その間、特にお世話になり育てて下さいました今は亡き加藤金吉教授と内田幸男教授に深謝申し上げます。また長い在職期間中、御指導、御協力下さいました学内外の多くの先生方に心から厚く御礼を申し上げます。

(1998. 3. 7, 於弥生記念講堂)