

原 著

## ベーチェット病患者好中球に対する補体 C5a の影響

<sup>1)</sup>東京女子医科大学 医学部 眼科学 (主任:堀 貞夫教授)<sup>2)</sup>同 解剖学・発生生物学

呂	テシヤク 天 爵 <sup>1)</sup>	ニシカワ 西 川	メグミ 恵 <sup>2)</sup>	シマカワ マチコ 島川真知子 <sup>1)</sup>
ホリ	サダオ 貞夫 <sup>1)</sup>	アイカワ 相 川	エイゾウ 英三 <sup>2)</sup>	

(受付 平成11年11月11日)

## The Fifth Component A of Complement (C5a) in Relation to the Neutrophils of Behçet's Disease Patients

Tian-Jei LUE<sup>1)</sup>, Megumi NISHIKAWA<sup>2)</sup>, Machiko SHIMAKAWA<sup>1)</sup>,  
Sadao HORI<sup>1)</sup> and Eizo AIKAWA<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Department of Ophthalmology (Director: Prof. Sadao HORI),<sup>2)</sup>Department of Anatomy and Developmental Biology,

Tokyo Women's Medical University, School of Medicine

Behçet's disease is a multisystem disorder that presents with recurrent oral and genital ulcerations as well as ocular involvement. The etiology and pathogenesis of the disease remain obscure, however, neutrophil dysfunction is thought to be involved. Complement (C5a) is a potent neutrophils chemoattractant and is known to mediate many types of inflammatory responses. To elucidate the relationship between neutrophils and C5a in Behçet's disease, the peripheral neutrophils of 31 patients with Behçet's disease and of 16 sex-age-matched normal controls were studied. Expression of C5a receptor mRNA was detected in Behçet's disease but not in the normal controls ( $p = 0.045$ ). Chemotaxis ( $p = 0.011$ ) and superoxide release ( $p = 0.001$ ) by Behçet's neutrophils was significantly higher than by normal neutrophils, and the intracellular calcium mobilization of Behçet's neutrophils was more active than that of normal neutrophils ( $p = 0.004$ ). Based on these results, we conclude that Behçet's disease is associated with priming of peripheral neutrophils in vivo, suggesting that C5a may play a role in the etiology and pathogenesis of Behçet's disease.

## 緒 言

ベーチェット病は増悪と寛解を繰り返しながら遷延性の経過をとる原因不明の難治性全身疾患である。患者の約6割に眼症状が出現し、炎症局所には好中球の強い浸潤がみられる。それらの好中球には遊走能<sup>1)2)</sup>をはじめ、活性酸素産生能<sup>3)~5)</sup>、サ

イトカイン産生能<sup>5)6)</sup>、ライソゾーム酵素分泌能<sup>7)8)</sup>の亢進など多彩な機能異常が認められ、病態形成において好中球は常に主役を演じている。これら好中球の機能異常が、本症の病態形成に深く関わっていると考えられている。

一方、補体系では眼発作に伴い補体の古典経路

や第2経路を介した活性化や血清補体価(CH50)の低下<sup>9)10)</sup>, 眼発作直前に補体分解産物(C3a, C5a)の流出<sup>11)12)</sup>, 房水中の補体分解産物の存在<sup>13)</sup>などが観察されることから, 眼病変の発症機序の一因として, 補体系の関与が考えられている。近年, C3がヒト好中球から産生されることが報告されている<sup>14)</sup>。補体C3分解産物であるC5aは生体内で最も強力なアナフィラトキシン作用があり, C3aより強い生理活性を持っている<sup>15)16)</sup>。また, 好中球の膜にはC5a受容体(C5aR)がクローニングされ<sup>16)</sup>, C5aとの結合により細胞走化作用, 酸化代謝の亢進, 酸素フリーラジカルの産生, ヒスタミン遊離, リピッドメディエーターの産生等が起こる<sup>16)17)</sup>。しかし, ベーチェット病においてC5aと好中球についての検討はこれまでになされていない。

本研究では, ベーチェット病において補体系が活性化された時, アナフィラトキシン作用のあるC5aが, 好中球にどのように作用しているかを解明することを目的とした。そのためにベーチェット病患者の好中球をC5aで刺激し, 好中球の遊走能, 活性酸素産生能, および細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を測定し, 健常者の好中球の値と比較した。そして, 生体内でのC5aと好中球の関連を調べるためC5a受容体(C5aR)mRNAの発現を検索した。

## 対象および方法

### 1. 対象

東京女子医科大学病院眼科で経過観察中のベーチェット病患者31症例を対象とした(表1)。その内訳は, 男性23例, 女性8例, 年齢は22~64歳(平均40.1±11.6歳), 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班が1987年度に改訂した診断基準<sup>18)</sup>による完全型13例, 不全型18例である。これらの眼病変は前眼部型2例, 眼底型29例で, 疾患活動性の分類は研究班の基準案に従い<sup>19)</sup>, 活動期22例, 非活動期9例であり, 眼罹病期間は1.0~28年(平均7.8年)であった。患者には, コルヒチン, シクロスポリン(CsA)の単独もしくは併用療法が行われていたが, 2例は内服療法は行っていない。

患者群と性, 年齢分布のほぼ等しい健常成人16名を対照とした。なお採血に際しては十分なイン

フォームド・コンセントを行って了解を得た。

### 2. 方法

#### 1) 好中球分離

末梢静脈血10mlをヘパリン加採血し, 好中球をフィコール二重比重遠心法により直ちに分離した。顆粒球分画を採取してリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で3回洗浄後, 好中球の精製を確認し, 細胞数 $1 \times 10^7$ 個/mlに調整して10% fetal calf serum (FCS; Biocell Laboratories Inc., Rancho Dominguez, CA)/90% Roswell Park Memorial Institute 1640培養液(RPMI 1640; GIBCO BRL, Grand Island, NY)/Kanamycin 60 mg/lに浮遊した。好中球分離はすべて採血後3時間以内に終了し, 遠心分離は4℃で行った。

C5aR mRNAの発現に使用した好中球は培養液のかわりに, セルバンカーを用い, 実験使用時まで-80℃で保存した。

#### 2) 遊走能の測定 (Agarose 平板法)

直径4cmのプラスチックディッシュに厚さ3mmの1% Agarose (10% FCS + 90% RPMI 1640)を入れ, このAgarose平板に3連のウエル(径3mm, ウエルとウエル距離10mm)を開けた。一方の端のウエルにC5a (100 nM, SIGMA) 10 μlを入れ, もう一方の端のウエルに対照として培養液のみを入れて遊走因子の濃度勾配を作ったうえで, 中央のウエルに好中球 $1 \times 10^6$ 個を入れて37℃で2.5時間保温した。Agarose平板とプラスチックディッシュの間隙を好中球が遊走した後, その遊走距離を測定した(図1)。

#### 3) 活性酸素産生能の測定 (Chemiluminescence 法)

Assay tubeに好中球 $1 \times 10^5$ 個, RPMI 1640 0.4 mlと反応素luminol(1 mg/ml) 10 μlを添加した。37℃10分間保温後, 5分間ルミネッセンスアナライザー(Biolumat, Japan)で背景蛍光を測定した。次にC5a (1 μg/10 μl) 6 μlで刺激して放出された活性酸素を光子(photon)として捕え, その蛍光強度をルミネッセンスアナライザーで計測した。

#### 4) 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の測定

##### (1) 蛍光色素fura-2の導入: 培養液(10% FCS

表1 対象としたベーチェット病の臨床背景

症例	年齢	性別	病型	部位	活動性	治療	眼病歴 (年)
1	56	男性	完全型	眼底型	活動性	Col	6.0
2	25	男性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	9.0
3	32	女性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	4.5
4	23	男性	不全型	眼底型	非活動性	Col	4.5
5	25	男性	不全型	眼底型	活動性	Col	4.3
6	44	男性	完全型	眼底型	非活動性	CsA	4.5
7	52	男性	完全型	眼底型	非活動性	Col	13.6
8	38	男性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	5.0
9	46	男性	不全型	眼底型	活動性	CsA	2.5
10	64	女性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	10.0
11	63	女性	完全型	眼底型	活動性	Col	2.0
12	40	女性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	9.7
13	52	男性	不全型	眼底型	活動性	Col	5.3
14	44	男性	不全型	眼底型	活動性	CsA	2.5
15	56	男性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	25.0
16	32	男性	不全型	眼底型	非活動性	Col + CsA	4.8
17	36	男性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	5.0
18	42	男性	完全型	眼底型	非活動性	Col	11.7
19	37	女性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	8.0
20	57	男性	不全型	眼底型	非活動性	(-)	28.0
21	31	女性	不全型	前眼部型	活動性	(-)	10.0
22	38	男性	不全型	前眼部型	非活動性	Col	5.2
23	52	男性	完全型	眼底型	活動性	Col	10.3
24	39	男性	不全型	眼底型	非活動性	Col	9.8
25	39	男性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	10.0
26	48	女性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	2.3
27	31	男性	不全型	眼底型	活動性	Col	3.0
28	32	男性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	11.6
29	22	男性	不全型	眼底型	活動性	Col + CsA	4.0
30	34	男性	完全型	眼底型	活動性	Col + CsA	1.0
31	44	女性	不全型	眼底型	非活動性	Col + CsA	7.8

Col: コルヒチン, CsA: シクロスポリン, (-): 投薬なし.

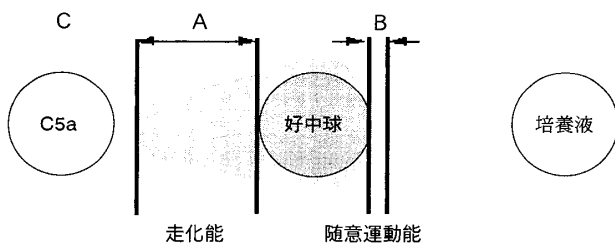


図1 遊走能の測定法

A は好中球の走化能, B は好中球の随意運動能, C は走化性因子 (C5a) を示す. 遊走能の判定は走化指数 (chemotactic index = A/B) で比較した.

+90% RPMI 1640) の中に Fura-2-AM の濃度を 2.0  $\mu$ M に調整し, 好中球  $1 \times 10^5$  個を入れて 37°C で 20 分間保温した.

(2) 培養液を PBS で 2 回洗浄後, 好中球と PBS 0.5 ml をガラス材に poly-L-lysine でコートしたガラスボトムディッシュに入れ, 37°C で 10 分間保温後, 好中球をガラスに接着させた.

(3) 好中球を C5a (最終濃度 100 nM) で刺激した際, 単細胞レベルでの細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の変化をカルシウム画像解析システム (ARGUS-50/CA 浜松フォトニクス, 浜松) で経時的に解析し, 2 波長 (340 nm と 380 nm) で 7 分間測定した.

5) 好中球における C5aR mRNA の発現

C5aR mRNA の発現は, reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) で C5aR mRNA を増幅後, これを膜に転換し, cDNA と hybridization することにより検索した. mRNA

は、好中球から RNA isolation Kit (Stratagene, La Jolla, CA) を用いて total RNA を抽出し、Oligo (dT) (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) によりポリ (A)<sup>+</sup>RNA を精製した。RT-PCR は、精製した mRNA より Moloney murine leukemia virus reverse trans-cryptase (GIBCO) によって cDNA を合成後、オリゴヌクレオチドプライマー：5'-GAGCCCAGGAGACCAGAACATG-3' (6-27), 5'-TCCCTCATCCTGCTCAACATGTA-3' (364-386) で C5aR 鎖の exon 1 から exon 4 部分を増幅した<sup>16)20)</sup>。増幅条件は、denaturation 94℃1分, annealing 60℃1分, extension 72℃1分、40 サイクル行った。PCR 産物は 1.5% アガロースゲルで電気泳動後、ナイロンフィルター Hybond-N (Amersham Life Science, Buckinghamshire, England) にトランスファーした。プローブは Human C5aR Oligonucleotide Probe: 5'-GATA-AACTTCTAACACGCTGCGTGTTCC-3' (103-131, 日本バイオサービス, 埼玉) を、Oligolabeling Kit (Pharmacia Biotech) を用いて<sup>32</sup>P-CTP 標識し、カラムで精製してから使用した。フィルターと標識プローブを Rapid-hybridization buffer (Amersham) を用いて 50℃ 一晚, hybridization を行った。0.05% SDS+2×SSC, 50℃ でフィルターを 3 回洗浄し、X 線フィルムに感光させた。

陽性コントロールとして  $\beta$ -actin を用いた。

6) 患者における背景因子と好中球の遊走能, 活性酸素産生能, 細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度および C5aR mRNA 発現との関係

遊走能, 活性酸素産生能および細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を年齢, 性別, 病型, 活動性, 内服治療薬の種類, 眼病歴などの関連について検討した。

7) 統計学的処理

統計学的有意差検定には, t 検定, Fisher の直接確率法を用いた。p<0.05 (両側検定) をもって有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. 好中球分離

末梢静脈血から分離した好中球の平均純度は 96.7% であった。

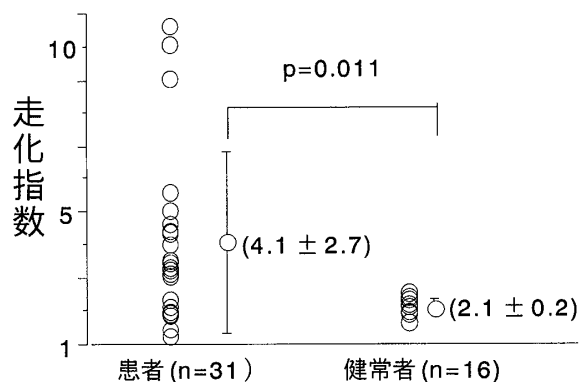


図 2 遊走能測定の結果

ベーチェット病患者好中球の走化指数は、健常者より有意に高値であった (p=0.011, unpaired t-test)。

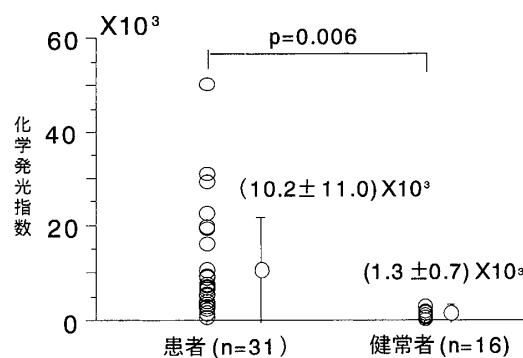


図 3 活性酸素産生能

C5a 刺激後、ベーチェット病患者は健常者に比べて、有意 (p=0.006, unpaired t-test) に高値を示した。

### 2. 遊走能の測定

C5a を入れたウエルに向かう好中球は、培養液を入れたウエルに向かう好中球より、より長い距離を走化した。ベーチェット病患者の走化指数は  $4.1 \pm 2.7$  で、健常者では  $2.1 \pm 0.2$  であり、患者好中球の走化指数は健常者より有意 (p=0.011, unpaired t-test) に高かった (図 2)。

### 3. 活性酸素産生能の測定

活性酸素産生能が C5a 刺激前後でどのように変動したかを、化学発光指数を用いて比較したところ、ベーチェット病患者は  $(10.2 \pm 11.0) \times 10^3$  で、健常者の  $(1.3 \pm 0.7) \times 10^3$  に比べて、有意 (p=0.006, unpaired t-test) に高値を示した (図 3)。

### 4. 細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の測定

細胞が重なったり、移動したりしたものは解析できないので除去して残った細胞 (患者: 100 個,

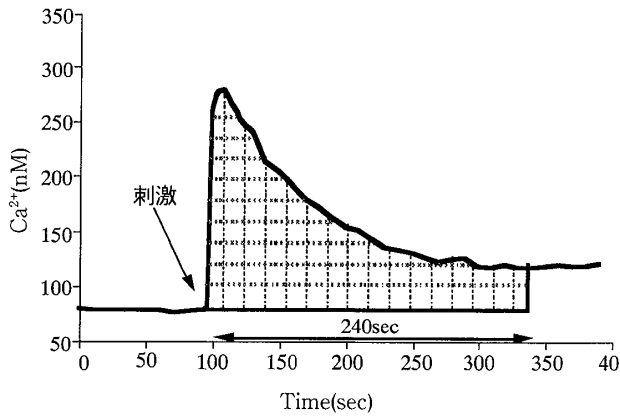


図4 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の解析  
1個の好中球の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を7分間観察した。刺激後、base lineより上昇したCa<sup>2+</sup>濃度(Y軸値)を4分間積分した値を求め、その値を比較した。

表2 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の積分値 (nM × sec)

		積分値
患者好中球	(n = 100)	(1.87 ± 0.8) × 10 <sup>3</sup>
健常者好中球	(n = 86)	(1.53 ± 0.7) × 10 <sup>3</sup>

p = 0.004

健常者：86個)は図4のように解析し、各々の細胞についてその値を比較した。患者の好中球では(18.7 ± 8) × 10<sup>3</sup>nM × sec、健常者では(15.3 ± 7.7) × 10<sup>3</sup>nM × secで、患者は健常者に比べて有意(p = 0.004, unpaired t-test)に高値であることが明らかになった(表2)。

表3 好中球におけるC5a受容体mRNAの発現

	C5aRmRNA (+) 例 / β-actin (+) 例 (%)
患者	6/16 (37.5)
健常者	0/9 (0)

p = 0.045, Fisher's exact probability test.

### 5. 好中球におけるC5aR mRNAの発現

β-actinのbandは585 base pair (bp)にあるのに対して、C5aR mRNAは381 bpにbandがみられた。Southern-hybridizationで、381 bpのbandはC5aR mRNAであることが確認できた(図5)。

β-actin陽性の好中球は患者16例、健常者9例にみられ、このうち患者好中球におけるC5aR mRNAの発現は16例中6例(37.5%)、健常者19例中0例で、有意差(p = 0.045, Fisher's exact probability test)が認められた(表3)。

さらに、C5aR mRNA陽性患者6例中3例は採血前、2週間以内に、眼発作があったことが判明している。

### 6. 患者における背景因子と好中球の遊走能、活性酸素産生能、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度およびC5aR mRNA発現の検討

遊走能、活性酸素産生能および細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度は年齢、性別、病型、活動性、内服治療薬の種類、眼病歴に、有意の相関あるいは有意の差を認めなかった。一方、C5aR mRNAの発現は採血前、2

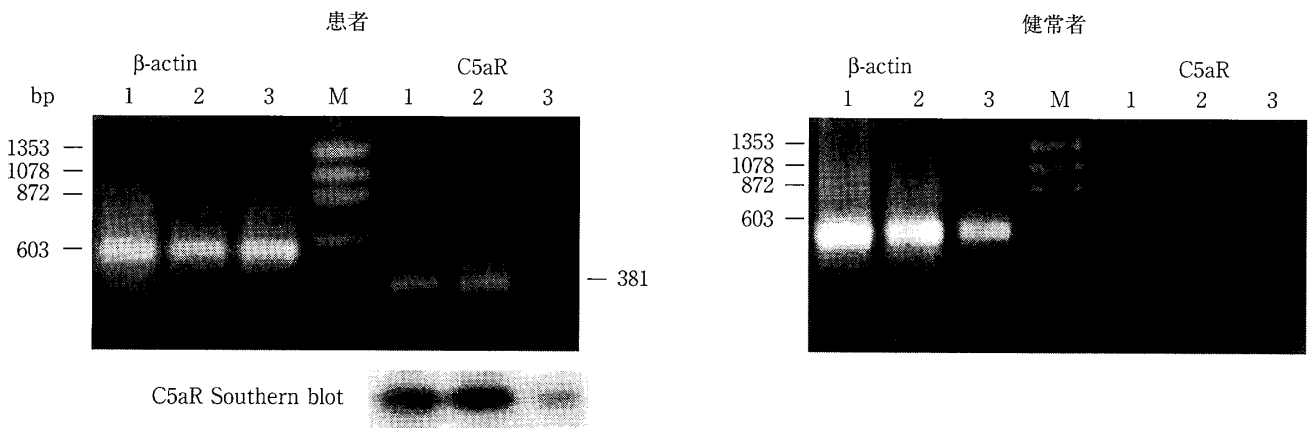


図5 好中球におけるC5aR mRNAの発現  
患者3例と健常者3例の結果を示す。患者のβ-actinのbandは585 bp、C5aR mRNAのbandは381 bpでみられ、Southern-hybridizationでもC5aR mRNAが確認される。一方、健常者はcontrolであるβ-actinのみを認める。M: marker

週間以内、眼発作があった3名全員から mRNA が検出された。

### 考 察

ベーチェット病眼症状の病変局所には、好中球を主体とした強い炎症細胞の浸潤がみられ<sup>13)21)</sup>、病態形成において好中球は常に主役を演じている。しかし、ベーチェット病患者好中球と補体 C5a についての報告はまだない。

遊走能 (chemotaxis) とは、化学因子の濃度勾配に沿って移動する細胞の一定方向への運動であるが、好中球はこの遊走能によって炎症局所へ選択的に動員され、種々の機能を発揮する。炎症性疾患では好中球より産生される活性酸素が組織傷害性に働くことが知られている<sup>22)</sup>。今回の研究で、C5a 刺激により患者好中球の遊走能、活性酸素産生能は、ともに健常者より有意に亢進していた。このことより、C5a がベーチェット病患者好中球の組織浸潤とその後の病態形成に、強く関与していると考えられる。

Ca<sup>2+</sup> はホルモンや神経伝達物質などの、さまざまな細胞外刺激物質の第 2 メッセンジャーとして、情報伝達系において中心的な役割を担っている。遊走に関しては、食作用時の局所的細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇、遊走中の好中球頭部の局所的細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇が観察されている<sup>23)</sup>。また活性酸素産生に関しては、好中球表面の特異的な受容体に、C5a, formil-methionyl-leucyl-phenyl-alanine (FMLP) などの刺激物質が結合すると膜結合性ホスホリパーゼ C (phospholipase-C, PLC) が GTP (G) 蛋白質の媒介により活性化され、NADPH-オキシダーゼから活性酸素を放出させる。PLC により生成した IP<sub>3</sub> が細胞内 Ca<sup>2+</sup> の貯蔵部位にある IP<sub>3</sub> 受容体に結合することによって、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 貯蔵部位から Ca<sup>2+</sup> を遊離させる<sup>24)25)</sup>。このように、細胞内 Ca<sup>2+</sup> の細胞内動態と遊走能や、活性酸素産生能には、密接な関係があることが報告されている。

本研究において C5a 刺激により患者好中球の遊走能、活性酸素産生能が健常者より有意に亢進していたことと、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度が長時間高いまま保持されていたことについて、以下のようなこ

とが考えられる。ベーチェット病患者の好中球の細胞内 Ca<sup>2+</sup> 貯蔵部位 (小胞体) から Ca<sup>2+</sup> が持続的に放出され、小胞体の Ca<sup>2+</sup> ポンプ等に異常が生じ、カルモジュリンなど Ca<sup>2+</sup> 結合蛋白が低下して、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度が上昇したものと考えられる。

しかし、ベーチェット病患者の好中球の細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度は種々の刺激に対して反応性の低下<sup>26)</sup> という報告もある。その原因は測定方法にあると考えられている。報告では fluorometer で同時に多数の好中球の細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度を測定し、刺激後の高値で比較している。本研究でも刺激後の高値で比較すると、報告と同じ結果となってしまうであろう。今回の研究で単細胞レベルでの細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の変化を経時的観察したところ、患者好中球の一部は C5a の刺激で細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度が長時間高いまま保持されていたことが判った。

患者好中球における C5aR mRNA 発現の結果から、ベーチェット病患者好中球は、生体内ですでにプライミングされていることを反映している。また、C5aR mRNA は病勢を反映している可能性がある。

これまで臨床病期に関する報告では血液中の好中球遊走能は活動期に著明に亢進していた<sup>13)27)</sup> というものや、相関性を生じない<sup>28)</sup> というものもある。つまり、コルヒチン、シクロスポリン等免疫抑制作用がある薬をベーチェット病の治療に用いる前の報告より、好中球機能は活動期に相関するという報告が多いが、近年少なくなっている。

今回の研究において、遊走能、活性酸素産生能および細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度は活動期に亢進と予測していたが、結果では有意の相関あるいは有意の差を認めなかった。原因の一つはコルヒチン (対象例 31 例中 26 例)、シクロスポリン (対象例 31 例中 18 例) 等、免疫抑制作用がある薬を使っている症例が含まれているためと考えられた。また、コルヒチンは好中球の運動の方向性を決める微小管の重合を阻害することより、好中球の遊走を抑制するとされている<sup>29)30)</sup>。このために、Ca<sup>2+</sup> 濃度と病勢との有意の相関あるいは有意の差を認めなかった可能性がある。

## 結 論

ベーチェット病患者好中球における補体 C5a を検討し、以下の結果を得た。

1. C5a により刺激された患者好中球は、遊走能と活性酸素産生能が健常者の好中球より有意に亢進していた。

2. C5a 刺激後、患者好中球の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度は、長時間高いまま保持されていた。

3. 患者好中球における C5aR mRNA は、健常者に比べて有意に高頻度に発現していた。

以上から患者の好中球は、補体 C5a を介する機能亢進状態にあり、細胞内情報伝達機構に、 $Ca^{2+}$  を介する何らかの異常が生じていることが示唆された。また、患者好中球は、生体内ですでにプライミングされていることが示唆され、血清中の補体 C5a が、ベーチェット病患者の病態形成の一端を担っていると考えられた。

本研究をまとめるにあたり、貴重なご助言とご指導をいただきました東京女子医科大学眼科学小暮美津子名誉教授、第二生理学白川英樹助手に感謝いたします。研究にご協力いただきました眼科学教室、第二生理学、解剖学・発生生物学の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) **Matsumura N, Mizushima Y:** Leucocyte movement and colchicine treatment in Behçet's disease. *Lancet* **ii**: 813, 1975
- 2) **Efthimiou J, Addison IE, Johnson BV:** In vivo leucocyte migration in Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis* **48**: 206-210, 1989
- 3) **Pronai L, Ichikawa Y, Nakazawa H et al:** Enhanced superoxide generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood leukocytes in Behçet disease—effects of colchicine. *Exp Rheumatol* **9**: 227-233, 1991
- 4) **Niwa Y, Miyake S, Sakane T et al:** Auto-oxidative damage in Behçet disease—endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol* **49**: 247-255, 1982
- 5) **西川 恵, 佐藤孝子, 樋口千恵子ほか:** ベーチェット病における多核白血球の活性酸素産生とサイトカインによる調節機構. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班平成2年度研究業績

- 集: 85-90, 1990
- 6) **西川 恵, 古川浩司, 兼岡秀俊ほか:** ベーチェット病における好中球の自己産生サイトカイン. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班平成4年度研究業績集: 122-124, 1992
- 7) **橋本喬史:** ベーチェット病と炎症. *炎症* **1**: 354-361, 1981
- 8) **難波克彦:** ベーチェット病の眼発作型と白血球ライソゾーム酵素. *日眼会誌* **85**: 1463-1467, 1981
- 9) **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**: 1260-1268, 1971
- 10) **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
- 11) **呉 朋子, 小暮美津子, 福田尚子:** ベーチェット病における補体分解産物 C4a. *臨眼* **48**: 666-667, 1994
- 12) **小暮美津子, 島川眞知子, 高橋義徳ほか:** ベーチェット病における補体分解産物 C3a, C5a. *眼臨医報* **86**: 1068-1072, 1992
- 13) **嶋田孝吉, 矢尾阪英夫, 鹿野信一:** Behçet 病患者房水中の白血球遊走活性. *日眼会誌* **75**: 2100-2105, 1971
- 14) **Faried HF, Tachibana T, Okuda T:** The secretion of the third component of complement (C3) by human polymorphonuclear leukocytes from both normal and systemic lupus erythematosus cases. *Scand J Immunol* **37**: 19-28, 1993
- 15) **Hugli TE, Muller-Eberhard HJ:** Anaphylatoxins: C3a and C5a. *Adv Immunol* **26**: 1-53, 1978
- 16) **Gerard NP, Gerard C:** The chemotactic receptor for human C5a anaphylatoxin. *Nature* **349**: 614-617, 1991
- 17) **阿部正義, 田中拓夫, 桜田二友ほか:** C5a とそのレセプターの機能. 補体シンポジウム講演集 **33**: 25-28, 1996
- 18) **厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班:** 1987年ベーチェット病診断基準. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班昭和61年度研究業績集: 16-17, 1986
- 19) **橋本喬史:** ベーチェットにおける疾患活動性の評価. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班平成5年度研究業績集: 58-61, 1993
- 20) **Werfel T, Oppermann M, Butterfield JH:** The human mast cell line HMC-1 expresses C5a receptors and responds to C5a but not to C5a (des-Arg). *Scand J Immunol* **44**: 30-36, 1996
- 21) **山本昇吉, 森田栄伸:** Behçet 病の皮膚病変. *医のあゆみ* **164**: 17-21, 1993
- 22) **Closs CE, Halliwell B, Borish ET et al:** Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med* **107**: 526-545, 1987

- 23) Sawyer DW, Sullivan JA, Mandell GA: Intracellular free calcium localization in neutrophils during phagocytosis. *Science* **230**: 663-666, 1985
- 24) 竹重公一郎, 水上茂樹: 好中球の生理と病理. 代謝 **29**: 3-14, 1992
- 25) Blackwood RA, Hartiala KT, Kwoh EE et al: Unidirectional heterologous receptor desensitization between both the fMLP and C5a receptor and the IL-8 receptor. *J Leukocyte Biol* **60**: 88-93, 1996
- 26) 笹田昌孝, 浅越康助, 尾崎承一ほか: ベーチェット病患者好中球の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班平成6年度研究業績集: 146-148, 1994
- 27) 三好和夫, 白神 皋, 宮本 弘ほか: ベーチェット病の好中球機能と血清中の chemotactic factor. 厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班昭和49年度研究業績集: 241-248, 1975
- 28) 陳 麗理: ベーチェット病患者における多核白血球の補体第3成分 (C3) 産生能. *東女医大誌* **67**: 33-42, 1977
- 29) 山本俊輔, 樋口安典: 白血球浸潤一機序を中心として. 「炎症と抗炎症療法」(水島 裕ほか編) pp 27-34, 医歯薬出版, 東京 (1982)
- 30) 竹内明輝: ケモタクティックファクター. 「炎症と抗炎症療法」(水島 裕ほか編) pp 159-164, 医歯薬出版, 東京 (1982)