



補体別経路の活性化の制御

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 白濱, 茂穂 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/870

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 17号	学位授与年月日	昭和60年 3月26日
氏 名	白 濱 茂 穂		
論文題目	補体別経路の活性化の制御		

医学博士 白濱茂穂

論文題目

補体別経路の活性化の制御

論文の内容の要旨

補体の別経路は、細菌膜成分(ザイモサン等)、菌体内毒素(LPS等)、ウサギ赤血球などにより活性化される。この際、別経路の構成成分であるプロベルジン、B、C3、D等の因子は、相互に複合体を作り、反応を促進することが知られている。この複合体形成機構を解明するために、複合体形成に対する種々アミノ酸、ペプチドの影響を調べた。

ウサギ赤血球は直接ヒトの補体別経路を活性化し、そして活性化された補体によりウサギ赤血球自身は溶血する。この補体別経路の活性化と溶血作用に対するアミノ酸の影響を調べると、中性で溶解するすべてのアミノ酸のうち、lysine(Lys), arginine(Arg), histidine(His)という塩基性アミノ酸と、glutamic acid(Glu), aspartic acid(Asp)という酸性アミノ酸のみが抑制した。またザイモサンは血清中の補体別経路を活性化して補体を消費させるので、この血清をウサギ赤血球に加えても溶血はおこさない。この系にアミノ酸を加えてウサギ赤血球が溶血すれば、ザイモサンによる補体活性に対するアミノ酸の抑制効果を知ることができる。実験の結果、塩基性アミノ酸そして酸性アミノ酸がザイモサンによる別経路の活性化を抑制することがわかった。ペプチドではGlu, Lys, 芳香族アミノ酸を含むペプチドが強く活性化を抑制した。

また著者は、補体の別経路がザイモサン等の活性化物質を必要とせず、血清を昇温するのみで活性化されることを見出したが、この現象は別経路構成タンパクの構造変化により複合体形成が促進されるためと推察した。熱処理血清中のC3とBの活性化に対して種々アミノ酸を加えると、Arg, Lysのような塩基性のアミノ酸のみがC3とBの活性化を抑制し、酸性アミノ酸は抑制しなかった。さらに純化したC3とB, D, Mg^{++} を用い、C3とBの活性化を調べると、塩基性アミノ酸は、C3とBの活性化を阻害したが、酸性アミノ酸はほとんど影響を与えなかった。

これらのことから、塩基性アミノ酸はC3とBの反応(多分C3とBの結合)を競合的に阻害して別経路の活性化を抑制し、酸性アミノ酸はプロベルジンのC3, Bへの結合等、それ以外の部分を抑制するものと考えた。

論文審査の結果の要旨

本論文は3つの部分よりなっている。1, は補体別経路の活性化に対する種々アミノ酸の影響、2, は温度上昇に伴う補体別経路活性化と補体構成タンパク質の温度による構造変化、3, は昇温による補体活性化に対する種々アミノ酸の影響である。

1. ヒト血清にウサギ赤血球を加えるとヒト血清中の補体別経路が活性化され、それによりウサギ赤血球は溶血する。この系に種々アミノ酸を加えウサギ赤血球の溶血を指標として補体別経路に対する抑制を検討するとアミノ酸のうちarginine, lysineのような塩基性アミノ酸とglutamic acid, aspartic acidのような酸性アミノ酸に抑制効果がみられたが、cysteineを除く他の中性溶液に可溶性のアミノ酸には100mM迄抑制効果はなかった。次にザイモサンのような補体別経路を活性化する物質によるヒト補体活性化に対するアミノ酸の作用をしらべても同上のように塩基性アミノ酸と酸性アミノ酸が阻害した。ペプチドでは芳香族のtyrosine, phenylalanine, tryptophaneを含むdipeptideと塩基性または酸性アミノ酸を含むdipeptideが強い(アミノ酸のみの10倍位)阻害を示した。

2. 血清を45℃位で30分インキュベートすると補体のC3, Bが各々C3aとC3b, BaとBbに分解する、即ちC3とBが活性化されることがわかる。この変化は37℃位からはじまり次第に強くなり、50℃位では逆にタンパクが変性してこのような活性化はみられなくなる。この時どのような変化がC3とBにおこっているかを物理化学的、化学的方法で検索した。まず蛍光偏光解消法ではC3, Bともに昇温によりN

末端の回転緩和時間が延長し分子容量が大きくなっていることがわかる。円二色性分散測定では215nmでの負の分子円率が減小し β 構造が一部ランダムになっていることが推察された。一方C3がC3(H₂O)に変化する時に出現するSH基を測定すると昇温と共にSH基が増しC3がC3(H₂O)になっていることがわかった。即ちC3が一部C3(H₂O)になりこれが構造変化したBと反応し補体別経路の活性化が促進するものと推察された。

3. このようにして見られる液相における補体別経路を利用して種々アミノ酸の昇温による補体活性化に対する抑制を検討した。液相では塩基性アミノ酸のみがC3, Bの活性化を抑制し、酸性アミノ酸は抑制しなかった。さらにC3, B, D, を純化しMg⁺⁺の存在下でインキュベートするとC3, Bともに即時的に活性化されるがこの際も塩基性アミノ酸が活性化を抑制した。このことは塩基性アミノ酸がC3 (又はC3(H₂O))とBの反応を阻害し、酸性アミノ酸は固相上でのコンベルターゼの作用を安定化する、即ちプロペルジンとC3, Bbとの反応を阻害していると推察された。

これらの検討から昇温による補体の活性化は発熱、光過敏等のような病態に関与したり腫瘍の温熱療法の際の抗腫瘍作用に関係している可能性が示唆され補体活性化の阻害によりこれらの病態の修飾が可能となることが示された。以上の研究成果は補体の基礎的研究として新しい発見を含み、臨床応用の可能性を示唆したものであり、学位授与に値するものであることが全員一致で認められた。

論文審査担当者 主査 教授 高 田 明 和

副査 教授 菅 野 剛 史 副査 教授 山 下 昭

副査 助教授 小 出 幸 夫 副査 助教授 瀧 川 雅 浩