

補体系制御因子

C3b/C4b レセプター(補体 C3 レセプター, タイプ 1)

C3b/C4b receptor (complement receptor type 1)

瀬 谷 司*

はじめに

細菌をその抗体とヒト血清で処理するとヒト赤血球と結合したり、白血球によって貪食されやすくなる。この現象は 1953 年、Nelson によって immuneadherence としてはじめて記載された。その後、この反応は細菌に結合した C3 フラグメントと赤血球または白血球上のレセプター (immuneadherence receptor) との相互反応によるものと考えられてきた。

一方、Fearon らは精製成分を用いて補体の抗体非依存性経路 (alternative pathway) を再構成する過程で、ヒト赤血球上に alternative pathway の強力なインヒビターが存在することを見いだした。Fearon らは、このインヒビターが C3b に効率よく結合することから、C3b のアフィニティークロマトグラフィーなどで精製を試み、その抗体を作製した。その抗体は C3b を介する補体の活性化を抑えるインヒビター分子 (分子量約 20 万、C3b/C4b レセプター、CD35、以下 CR1 と略記する) を認識するばかりでなく、上記の immuneadherence 反応も強く阻害した。

その後、CR1 の補体インヒビターとしての機能とその意義は Nussenzweig らのグループで、補体レセプターとしての機能は Brown, Wright, Newman らによって研究が進められてきた。一方、CR1 には分子量 16 万～25 万にわたる多形性があることが Atkinson のグループによって明らかにされ、構造とその多形性をめぐる研究は主に Fearon と Atkinson の両グループによって遺伝子工学的手法を用いて進められつつある。

CR1 の構造と機能については、1988 年本誌で概説した¹⁾。この総説では、CR1 の生理的機能をやや詳しく解説するとともに、この 2 年間でこの領域に新たに加えられた新知見を紹介し、略説する。

1. CR1 の生理機能

ヒトにおいて、CR1 の分布は赤血球、好中球、単球、一部の T リンパ球、B リンパ球に限られる²⁾。血小板、NK cells, plasma cell にはない。また、promyelocyte までの未分化な myeloid cells、幼若 B リンパ球にも存在しない。したがって、CR1 はおおむね分化抗原であるといえる³⁾。

冒頭に述べたように、CR1 には補体インヒビターとしての機能と補体レセプターとしての機能がある。精製 CR1 を用いて補体インヒビターとしての機能が調べられてきた。白血球由来の CR1 も赤血球由来の CR1 も、① factor I の cofactor として働いて、② C3b を C3bi または C3c+C3dg に限定分解すること (図 1-a)、③ C4b を C4c+C4d に限定分解すること (これらの反応によって、補体活性化は不可逆的に阻害される)。④ 古典経路 (classical pathway) の C3 コンベルターゼ C4bC2a、抗体非依存性経路の C3 コンベルターゼ C3bBb をともに解離促進し、結果として C3 コンベルターゼを (可逆的にではあるが) 阻害し (図 1-b)、補体活性化を抑えることが判明してきた。したがって、C3b/C4b に対する CR1 の振舞いは赤血球、白血球の間で基本的な相違はないといえる。

CR1 の factor I の cofactor としての機能は、

*Tsukasa SEYA: 大阪府立成人病センター研究所・第 6 部 Division VI, The Center for Adult Diseases, Osaka

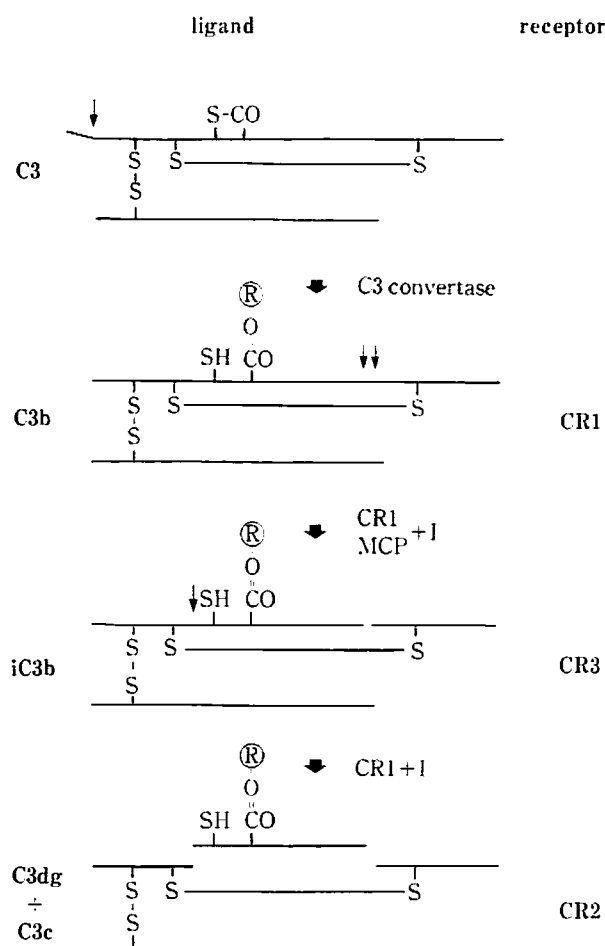


図1-a 膜結合 C3b の分解(不活性化)プロセスと各分解産物に対応するレセプター

異物などに沈着した C3b は、宿主細胞の CR1 と結合する。この反応は immuneadherence と呼ばれてきた。一方、その CR1 は factor I の cofactor としても働き、C3b を補体活性化能のない C3bi に限定分解する反応にもたずさわる。C3bi は CR3 のリガンドとして機能する。CR1 と factor I は中性～塩基性条件下でさらに C3bi を C3dg と C3c に限定分解する。C3c は膜から遊離するが、C3dg は膜上にとどまり、CR2 のリガンドとして働く。

もう1つの細胞性 cofactor, membrane cofactor protein(MCP)との比較によって、その相違点が明確化された。CR1 は自己細胞上の C3b, 他細胞上の C3b をほとんど区別なく factor I とともに分解する。しかるに、MCP と factor I は他細胞上の C3b をほとんど分解しない(図2-E)⁹⁾。さらに CR1 と factor I の C3b 分解反応の各ステップ(図1-a)は pH によって著しく影響をうける。C3b → C3bi 変換は pH 7.0~7.5 の生理的 pH で極大に達するが、C3bi → C3c + C3dg 変換は pH 8.5 の塩基性条件下で最大に

なる。これら CR1 の至適条件は MCP, factor H など他の cofactor の至適 pH (pH 6.0) と顕著に異なる⁹⁾。

CR1 の C3 コンベルターゼ解離促進活性は、もう1つの細胞性 C3 コンベルターゼ解離促進蛋白質である decay-accelerating factor(DAF) の活性との比較によって特徴づけられてきた。すなわち、DAF は自己細胞上の C3b, C4b と主に反応して、これらの C3 コンベルターゼ(C3bBb, C4bC2a)を解離に導くが他細胞上の C3b, C4b にはほとんど働かない。CR1 は自己細胞上の C3b, C4b, 他細胞上の C3b, C4b を区別せず C3 コンベルターゼを失活せしめる⁹⁾。

これらの知見は、CR1 の補体制御活性は“外に向かって発揮される(extrinsic)”性質のもので、この点において DAF, MCP(両者は intrinsic regulatory proteins と呼ばれる)とは異なる、との推論を可能にする。

一方、レセプターとしての機能は細胞種によって明らかに異なる。図2は、細胞と補体系の相互反応を図示したものである(説明は、MCPの項参照)。図2-Bに示すように、赤血球上の CR1 は C3b の沈着した異物細胞と結合して肝脾に“運搬”する(immune-complex clearance) 役目を担っている。immune-complex は肝脾の網内系で処理される。白血球の CR1 は、C3b 沈着細胞と結合すると capping をおこして cluster を形成する。後述するように、CR1 には複数の C3b/C4b 結合部位があるので、細胞に沈着した C3b 群と白血球の CR1 群は多価でしかも多数が結合に参加し、結果として強い複合体形成がなされるものと想定される。これが恐らく、immuneadherence の実体である。当初の予想に反して、この C3b と CR1 を介した結合のみでは食作用は誘起されない。食作用発現のためには fibronectin, または lymphokine などの付帯刺激が必要である。C3b のオプソニン作用はこの点で、Fc receptor を介するオプソニン作用と明らかに異なる。現時点では、しかし、CR1 依存性の食作用発現に係る messenger や signal transduction の機構は不明である。

以上の結果から、CR1 は図2の B, C, E の

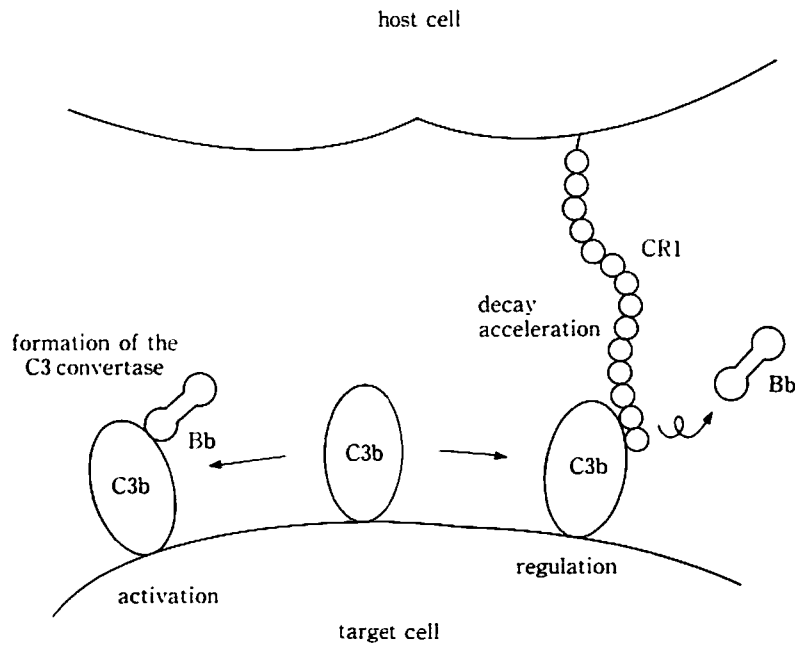


図 1-b CR1 の C3 convertase 解離促進活性

他細胞上に沈着した C3b は宿主細胞上の CR1 によって、C3 convertase の形成を阻害され、かつ、すでに形成されている C3 convertase の解離を促進される。CR1 と結合した C3b は後続補体成分の活性化に参与できない。また、もし、血漿プロテアーゼ factor I が存在すれば、同時に図 1-a の反応もおこり、C3b は C3bi に分解されて不可逆的に失活する。

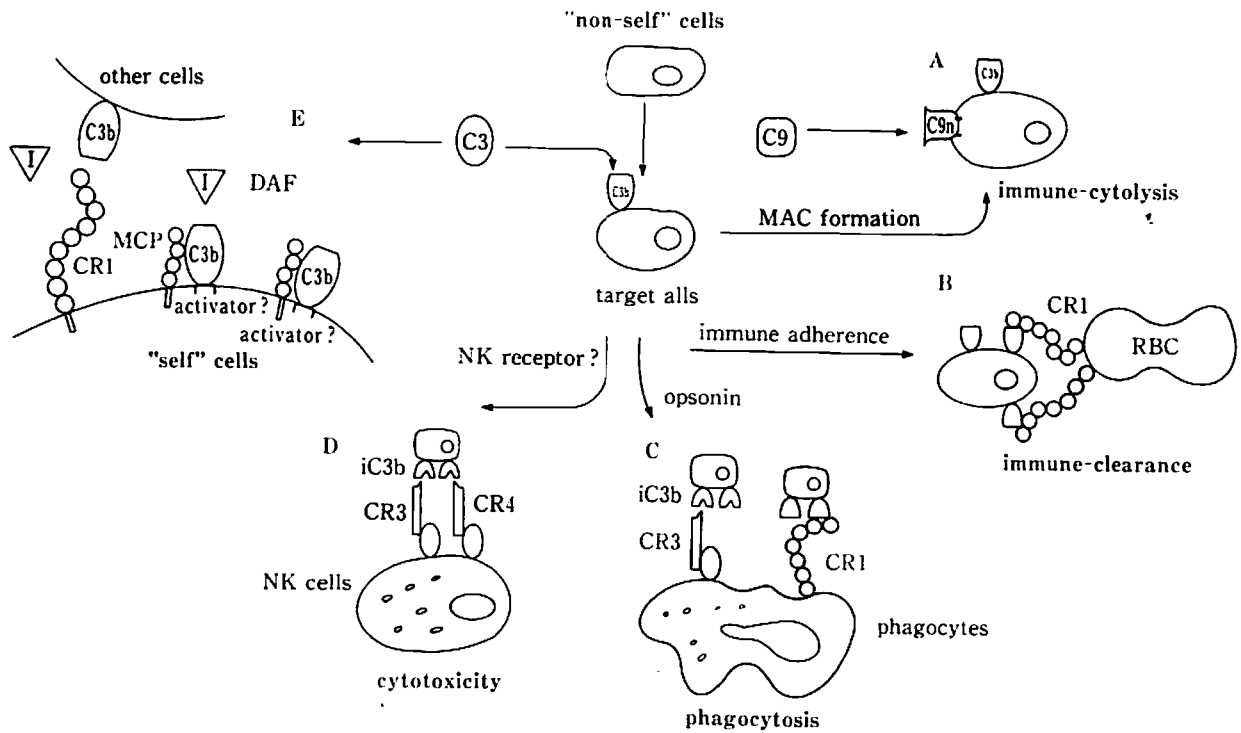


図 2 細胞上の補体関連因子群と補体によって誘起される反応群

C3b の沈着した異物細胞は、赤血球の CR1 と結合して肝脾などの網内系に運搬される (B, Immune clearance.) : 食細胞の CR1 と結合すると、fibronectin などの存在下に食食を誘起する (C, phagocytosis) : さらに血漿プロテアーゼ、factor I が存在すると C3b→C3bi 変換反応が誘起され、CR3 のリガンドを用意する (C, E, C3bi generation). CR1 は生体内で以上の反応に関与している証拠が見いだされつつある。図の説明は MCP の項でさらになされている。

反応に関与する。しかし、図2-EのC3b→C3biのリガンド変換反応が型のごとく(図1-a)おきたならば、図2-Bに示すimmune clearanceにおけるCR1とC3bの結合は解離する(C3biはCR1と固い結合を保持できない)。したがって、補体インヒビターとしてのCR1の機能はしばしば補体レセプターとしてのCR1の機能と相容れない。

C3biとCR3の結合を介して発現する食作用が、C3bとCR1の相互反応によって発現する食作用より10倍も強いという報告もあるので、食作用発現におけるCR1の役割はそれ自身の食作用レセプターとしての機能よりもむしろ、標的細胞上のC3bをiC3bに変換して、CR3のリガンドを用意する機能の方に生理的意義があるのかも知れない。

CR1はphorbol myristate acetate(PMA)刺激によってリン酸化される。しかし、その生理的意義は明らかでない。

またT cell, B cell, 腎臓のpodocytesなどのCR1、血漿中にも微量のCR1が存在するが、それらの機能は明らかでない。

2. CR1の構造・機能における新発見

最も高頻度のアロタイプ、CR1-Aの全一次構造が明らかにされた。CR1-Aは30個のshort consensus repeat(SCR, アミノ酸約60個からなる繰り返し構造)、transmembrane region, cytoplasmic tailから構成される。典型的なintegral membrane proteinである(図3)。SCRはさらに7個を1ユニットとするlong homologous repeat(LHR)4つ(A, B, C, D)と、C末の2個のSCRに分けられ、全機能ドメインを構成すると考えられる(図3)^{7,8)}。

Klicksteinらは、CR1-Aの全一次構造をコードするcDNAを作製し、それをCR1を表現していない細胞(COS cells)にtransfectしてCR1-Aを発現させることに成功した。さらに、deletion mutagenesisの手法でLHR-A, B, C, Dをそれぞれ欠くものを作製し、蛋白質を発現させてその機能を調べた。その結果、LHR-A

はC4bに、LHR-B, -CはC3bにより強く結合することが明らかとなった。さらに、factor IのcofactorとしてC3bを分解する活性も、LHR-Bか-Cを含む表現型のみに強く発現された。各LHRのN末2個のSCRをdeletionするとこれらの活性は消失することから、図3に示すようなCR1の機能ドメインの局在モデルを提出している⁷⁾。

一方、HourcadeらはLHR-Aの一次構造を明らかにするとともに、LHR-Aを含むSCR 8.5個のユニットがtranscription(転写)のプロセシングの相違によって、CR1とは独立に分泌されるとしている。実際、このようなtruncated formのCR1は血液中に見いだされていないが、CR1を発現する多くの細胞種のNorthern blot analysisでこのmessageが検知できることから、あるいはこのtruncated formのCR1が既報にある分泌型CR1を部分的に説明するのも知れない⁹⁾。Klicksteinらの報告と併せると、このようなtruncated formのCR1はC4bと特異的に結合し、古典経路のC3コンベルターゼを失活させるような分子量6万前後の1本鎖蛋白質であることが推定される。C3bとは恐らく結合しない。

3. マウスCR1とヒトCR1の分子生物学的比較

マウスのCR1様蛋白質に関しては、木下らの一連の研究がある。また遺伝子の方からはWeisのグループが優れたアプローチを展開している。

木下らは、マウスC3bと結合する3種の膜蛋白質をマウスspleen cellsから単離した。3種のC3b結合蛋白質が見いだされ、分子量は19万, 14万, 6万であった。分子量19万のC3b結合蛋白質をC3b-Sepharoseなどで精製したところ、factor Iのcofactor活性をもっていた。これをCR1と想定し、モノクローナル抗体を作製したが、3種のモノクローナル抗体のうち2種は分子量14万のC3b結合蛋白質と交叉した。14万の蛋白質と交叉しない抗体のみで19万の蛋白質のcofactor活性は抑えられた。抗体は

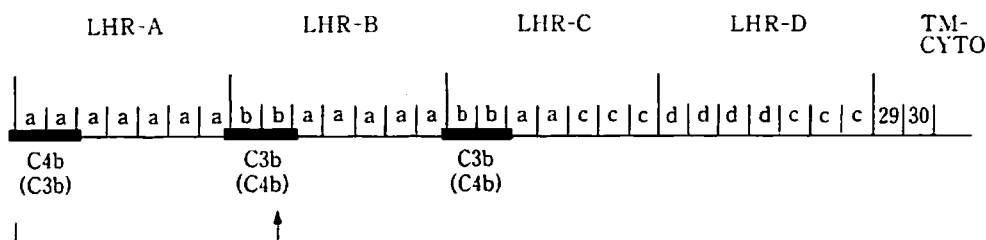


図3 CR1-A の全構造の模式図

図は文献7)より引用した。個々の SCR には、相似性の高いもの(1次構造で90%以上の homology)と低いもの(60%前後の homology)がある。図では homology の高いものを同じアルファベットで表現してある。C4b、C3b の結合ドメインは各 LHR の N 末の2つの SCR にあることが mutagenesis の実験から示唆されている。主なリガンドは、LHR-A で C4b、-B、-C で C3b である。LHR-D には、C3b、C4b への結合活性はないらしい。

矢印は Hourcade らによって推測されている truncated form の分泌型 CR1: N 末から8.5 個の SCR を含む。

ロゼット形成も阻害した。しかし14万、19万の C3b 結合蛋白質は赤血球にも血小板にも同定できなかった。これらの結果から木下らは、19万の蛋白質をヒト CR1 に、14万の蛋白質をヒト CR2 に比定した⁹⁾。

これに対し、Wong らは、ヒト CR1 の抗体と交叉する分子量6.5万の膜蛋白質(p65)がマウス血液細胞に広く分布することを見いだした¹⁰⁾。Weis らはこれを受けて、ヒト CR1 の cDNA を probe として cross-hybridize する2種のマウス gene を得た。一種(CRY)は他の補体制御因子群とともに chromosome 1 にあり、分子量7万ほどの gene product を表現した¹¹⁾。これは木下らの CR1 と分子量の点で明らかに異なる。

さらに Weis らは、ヒト CR2 の cDNA を probe として、マウスの library から4種の transcripts(3, 5, 9, 11 kb)を得た。9 kb, 11 kb の transcripts に対応する一部アミノ酸 sequence は、ヒト CR2 にきわめて高い homology を示した。彼らはこれらがマウスの14万、19万の蛋白質に対応する message であろうと推測している¹²⁾。この場合、木下らのマウス CR1, CR2 はともにヒト CR2 に対応し、Weis らの CRY, そして恐らく Wong らの p65 がヒト CR1 に対応すると訂正される。

木下らの説ではマウス CR1, CR2 はきわめて homology の高い類似蛋白質であり、immune-complex clearance には関与しないことになるが、Weis らの説では、CR1 と CR2 はヒトとマ

ウスが種として分れる前にすでに diverge していなければならない。さらにヒトでは分子量7万程度の祖先型 CR1 が何度か gene duplication をおこして数倍の大きさになったと考えなければならない。この説では CR1 と CR2 は縁遠い蛋白質となる。この2説はどちらが正しいかの問題ではなく、CR1 を構造によって定義するか機能によって定義するかの問題を、われわれに提出することになるであろう。

文 献

- 1) 瀬谷 司: C3b/C4b リセプター(CR1). 日本臨牀 46: 1921. 1988.
- 2) Fearon, D. T.: The human C3b receptor. Springer Semin. Immunopathol. 6: 159, 1983.
- 3) Tedder, T. F. et al.: Expression of C3b receptors on human B cells and myelomonocytic cells but not natural killer cells. J. Immunol. 130: 1668, 1983.
- 4) Seya, T. & Atkinson, J. P.: Functional properties of membrane cofactor protein of complement. Biochem. J. 264: 581, 1989.
- 5) Seya, T. et al.: Regulation of proteolytic activity of complement factor I by pH: C3b/C4b receptor (CR1) and membrane cofactor protein (MCP) have different pH optima for factor I-mediated cleavage of C3b. J. Biochem. 107: 310, 1990.
- 6) Medof, M. E. et al.: Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay-accelerating factor (DAF) into their membranes. J. Exp. Med. 160: 1558, 1984.
- 7) Klickstein, L. B. et al.: Identification of distinct C3b and C4b recognition sites in the human C3b/C4b receptor (CR1, CD35) by deletion mutagenesis. J. Exp. Med. 168: 1699, 1988.

- 8) Hourcade, D. et al.: Identification of an alternative polyadenylation site in the human C3b/C4b receptor (complement receptor type 1) transcriptional unit and prediction of a secreted form of complement receptor type 1. *J. Exp. Med.* 168: 1255, 1988.
- 9) Kinoshita, T. et al.: Monoclonal antibodies to mouse complement receptor type 1 (CR1): Their use in a distribution study showing that mouse erythrocytes and platelets are CR1-negative. *J. Immunol.* 140: 3066, 1988.
- 10) Wong, W.W. & Fearon, D.T.: p65: A C3b-binding protein on murine cells that shares antigenic determinants with human C3b receptor (CR1) and is distinct from murine C3b receptor. *J. Immunol.* 134: 4048, 1985.
- 11) Paul, M.S. et al.: The murine complement receptor gene family: Analysis of mCRY gene-products and their homology to human CR1. *J. Immunol.* 142: 582, 1989.
- 12) Kurtz, C.B. et al.: Murine complement receptor gene family: II. Identification and characterization of the murine homology (CR2) to human CR2 and its molecular linkage to Crry. *J. Immunol.* 143: 2058, 1989.