

## 補体系制御因子

## ヒト membrane cofactor protein(MCP)

## Human membrane cofactor protein(MCP) of complement

瀬谷 司\*

## はじめに

侵入細菌がヒト血液中で速やかに溶菌したり、または血球に粘着して脾臓などで除去されるという現象は生体防御を扱う免疫学の重要な研究テーマであった。この現象を引き起こす物質は抗体と異なる血漿蛋白質群で、また2つの異なった出発点をもつカスケード(補体系)を構成していることが、ヒツジ赤血球を用いる溶血アッセイ系で1960年代まで約4半世紀をかけて明らかにされてきた。

それに付随して、各補体成分の純化精製は必然のこととなり、研究の主流は“試験管”内で補体系を再構成させ、補体の活性化のメカニズムを明らかにしていく試みに移行していった。1960年代後半～70年代は、蛋白質化学の時代であった。この過程で2つの補体経路とそれに携わる因子群が確立され、さらにいくつかの血漿補体インヒビターが見いだされた。

しかし一方、精製した補体成分の再構成実験から生み出された理論は、しばしばヒトの病態から垣間見る補体-細胞反応とは大きなギャップがあり、“補体系は生体防御因子として必須なものなのか”という疑問は、補体系が確立するにつれて、また血漿インヒビターが見いだされるたびに繰り返し反問されてきた。この背景には、ほぼすべての補体成分の欠損症が見いだされたにもかかわらず、臨床的に sub-clinical の場合が多いこと、血漿中の補体のインヒビターが細胞上で起こる補体の連続反応を必ずしも阻害しないことなどが明らかにされてきたという伏線がある。この過程で、ヒト補体でどうして

も溶けない細胞種(これには多くのヒト細胞が含まれる)、が存在することも見いだされた。この場合、補体系は殺すべき細胞と殺すべきでない細胞を“区別”して攻撃していることになる。こうして補体の研究が、その殺すメカニズムを調べることから殺さないメカニズムを調べることに、いい換えると、“補体はなぜ異物細胞を殺して自己細胞を傷害しないのか”という命題に向かうのは1980年台のことになる。

この研究の流れは、補体-細胞反応をより *in vivo* に近い系で理解しようとする方向に向き、白血球、赤血球、血小板、内皮細胞など、宿主細胞と補体系-補体の沈着した異物細胞(標的細胞)の相互反応をとらえ、解明していこうとする研究に連なっていく。このような動きを促進した理由の1つは遺伝子工学的手法の導入により、細胞上の微量蛋白質が扱いやすくなったことがあげられる。

このような研究の最大の成果が、細胞性補体インヒビターと補体レセプターの機能解明であるといえる。membrane cofactor protein(MCP, CD46)は、細胞性補体インヒビターの1つとして1985年に同定された。

## 1. “細胞-補体系”としての補体経路

図1は、細胞上の補体関連因子群と血漿補体系の相互反応を含めた“補体系”を、多少の語弊を恐れずに概観したものである。補体系にはC3とC9に代表される2種のeffectorがある。C3の活性化はC3b(活性化フラグメント)の細胞沈着を誘発し、その細胞を標的化する。C3b沈着標的細胞は、図1-A～Dの4種の反応のい

\*Tsuchida 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

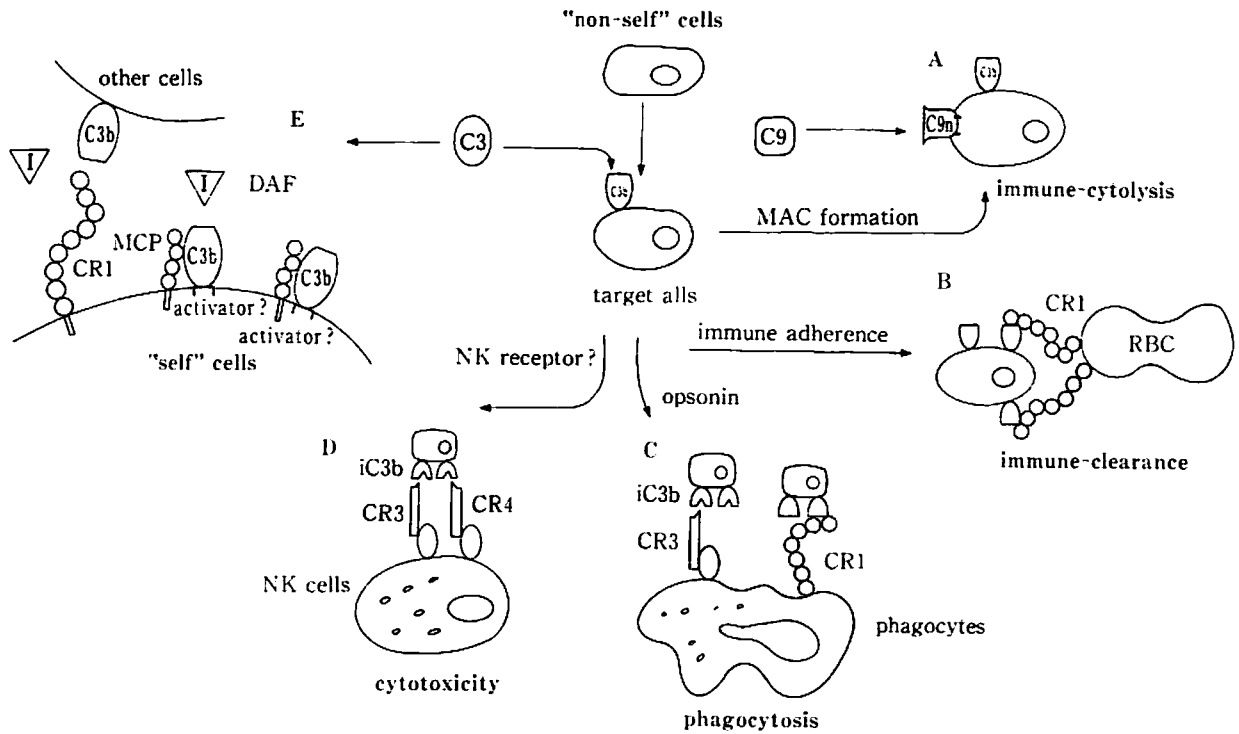


図1 “細胞-補体系”の概略

従来の血漿補体成分のみでおこる反応を A に示した。この反応は immunecytolysis の一型に分類されてきた(A)。図中、MAC は membrane attack complex の略である。一方、target cell 上に C3b の沈着がおきると、赤血球の CR1 はこれら target の C3b と結合して肝脾などの網内系に運ばれて処理される(B)。この宿主細胞の CR1 と異物細胞上の C3b との結合反応は、古来、immuneadherence と呼ばれてきた(B)。食細胞上の CR1 は、2通りの働きをする。1つは target 上の C3b と結合して、fibronectin などの存在下に貪食を促進する(C)。一方で血漿プロテアーゼ、factor I と共に C3b を C3bi に変換し、同じ食細胞上の異なった補体レセプター、CR3 に対するリガンド(つまり C3bi)を用意する反応にたずさわる。食細胞上の CR1、CR3 はともに貪食を促進する(C、オプソニン作用)。さらに C3bi で coat された target は、NK cell と CR3、CR4 を介して結合する。この結合は、target cell に細胞障害作用をもたらす(D)。

自己細胞ではこれら A~D の反応は誘起されない。その理由は、仮りに C3b が沈着しても、自己細胞上の DAF、MCP によって C3b、C4b の後続補体成分活性化反応(C3 コンバーターゼ形成)は阻止され、結果として、それ以上の C3b 沈着はおこらない(E)。CR1 の機能は、C3b/C4b レセプターの項参照。

くつかによって細胞障害をうけ生体(宿主)から除去される。またこの過程で C3a、C5a に代表される mediator が放出される。

このうち、血漿成分のみで C3b 沈着標的細胞の融解がおきる系(図 1-A, immune-cytolysis)が補体系と定義づけられてきた。この細胞融解の実体は C3 が後続補体成分の活性化を促し、結果としてもう 1つの補体の effector, C9 による“穴あけ”(pore formation)を促進することによる(これら補体系の活性化については別項参照)。一方、標的細胞上の C3b は赤血球上の C3b/C4b レセプター(CR1, CD35)と結合し、“固定化”されて肝脾などの網内系に運搬される。肝脾を通りぬけて現れるのは赤血球だけであることから、標的細胞は網内系で処理されたと考

えられる(図 1-B, immune-clearance)。さらに、標的細胞上の C3b(またはその I 因子による分解産物 C3bi)は貪食を亢進させる(オプソニン作用として古来知られてきた)。この貪食促進作用は、細胞上の C3b と食細胞上の CR1、C3bi レセプター(CR3, CD11b/CD18)との相互作用によって fibronectin, cytokines などの共存下におこる(図 1-C, phagocytosis)。さらに標識細胞上の C3b が効率よく C3bi に変換をうけると、単核球(恐らく NK cells)の target として細胞障害をうける(図 1-D, cytotoxicity)。この際、標的細胞上の C3bi は effector cells の CR3、CR4 と相互反応することが示されつつある(この他 C3d/EB ウイルスレセプター(CR2, CD21)を介する反応と抗体産生の関連性が指摘

され、さらに他の細胞系と標的細胞間の補体を介した反応系も知られつつあるが今回は省略した)。

このような細胞障害反応は、正常ヒト細胞上では決して誘導されない。この意味で正常ヒト細胞はヒト補体にとって“self”であるといえる。正常ヒト細胞に C3b が沈着しない理由の 1 つは、主に 2 種の細胞性補体インヒビター decay-accelerating factor (DAF, CD55) と MCP が自己細胞に結合した C3b を直ちに不活化し、C3b の沈着とその増幅を防ぐためである (図 1-E)。補体にとっての“non-self” cells とは、これら細胞性補体インヒビターのないものと考えられる。

## 2. MCP の構造と機能

MCP の生化学的性質については、すでに邦文<sup>1,2)</sup>で略説した。①血漿プロテアーゼ、I 因子のコファクターとして働き、C3b を C3bi に限定分解する<sup>3)</sup>(その結果、C3b の後続補体成分活性化能は失われる)。② C3 convertase の解離促進活性(DAF の項参照)はない<sup>3)</sup>。③ CR1 と異なり、他細胞上の C3b には働かない<sup>4)</sup>(図 1-E の CR1 と MCP の比較)。④ C3b ロゼット、C4b ロゼットを形成しない<sup>5)</sup>。

以上の結果は、MCP が自己細胞上の C3b を他細胞上の C3b と“区別”して前者を選択的に不活化させるべく働いていることを示唆する (図 1-E)。またその functional profile は DAF と相補的である。さらに MCP は、C3b → C3bi 変換を I 因子とともに促進することから、もし target cell 上に MCP があれば図 1-C, D の反応を促進せしめる可能性もある。図 1-B の反応は、C3b が C3bi に変わってしまうので抑えられる。

一方、構造上の性質として、①分子量 4.5~7 万:細胞種によって異なった表現型をもつ<sup>5)</sup>。表現型の違いは糖鎖と一次構造両方に起因する<sup>6,7)</sup>。②酸性蛋白質である (pI 4.0 以下)<sup>8)</sup>。③ 4 個の short consensus repeats (SCR) (アミノ酸約 60 個から成る繰り返し構造、CR1 の項参照)をもつ<sup>9)</sup>。④ transmembrane region と、

表 1 MCP の性質

1. structure	
A. Mr. 45-70 kD	5)
B. two band pattern	5)
C. two precursors	6)
D. N- and O-glycosylation	6)
E. four short consensus repeats	9)
F. transmembrane and cytoplasmic region	9)
2. function	
A. binds C3b and C4b	3)
B. potent cofactor for factor I	3, 4)
C. no rosette formation	5)
3. distribution	
A. peripheral blood nuclear cells	7)
B. platelets	7)
C. tissue	*
D. negative in erythrocytes	5, 7)
4. immunological cross-reactivity	
A. C4bp	12)
B. A Mr 60 kD plasma protein	12)
5. genetics	
A. gene on long arm of chromosome 1	9)
B. multiple mRNAs	11)

詳細は引用文献(右端)を参照されたい。

\*: Mcnearney, T. et al.: J. Clin. Invest. 84: 538, 1989.

cytoplasmic tail をもつ貫通型膜蛋白質である<sup>9)</sup>(この点 phosphatidyl inositol (PI)-anchored protein である DAF と異なる)。

遺伝学的知見として、①構造遺伝子は chromosome 1 にあり、他の補体インヒビターと gene cluster を形成する<sup>10)</sup>。②多くの細胞種で 4 種以上の mRNA を表現している<sup>11)</sup>。③ C4bp と免疫的に交叉する、ことが分かっている<sup>12)</sup>。

以上の既知の性質は、表 1 にまとめて示した。

## 3. Protective protein としての MCP

補体レセプターは主に C3b, (C3bi) 標識細胞のプロセッシングに関係する (図 1-B~D) のに対し、補体インヒビターは、“self” cells 上の C3b 沈着の増幅を防ぐ<sup>13)</sup> (図 1-E)。それでは補体インヒビターは“self” cells のマーカーになるであろうか? 筆者らは 22 種類のヒト血液細胞由来の細胞株について CR1, DAF, MCP の分布・定量解析を行った。CR1 欠損株は 13/22 株、DAF 欠損株は 2/22 株であった。MCP の

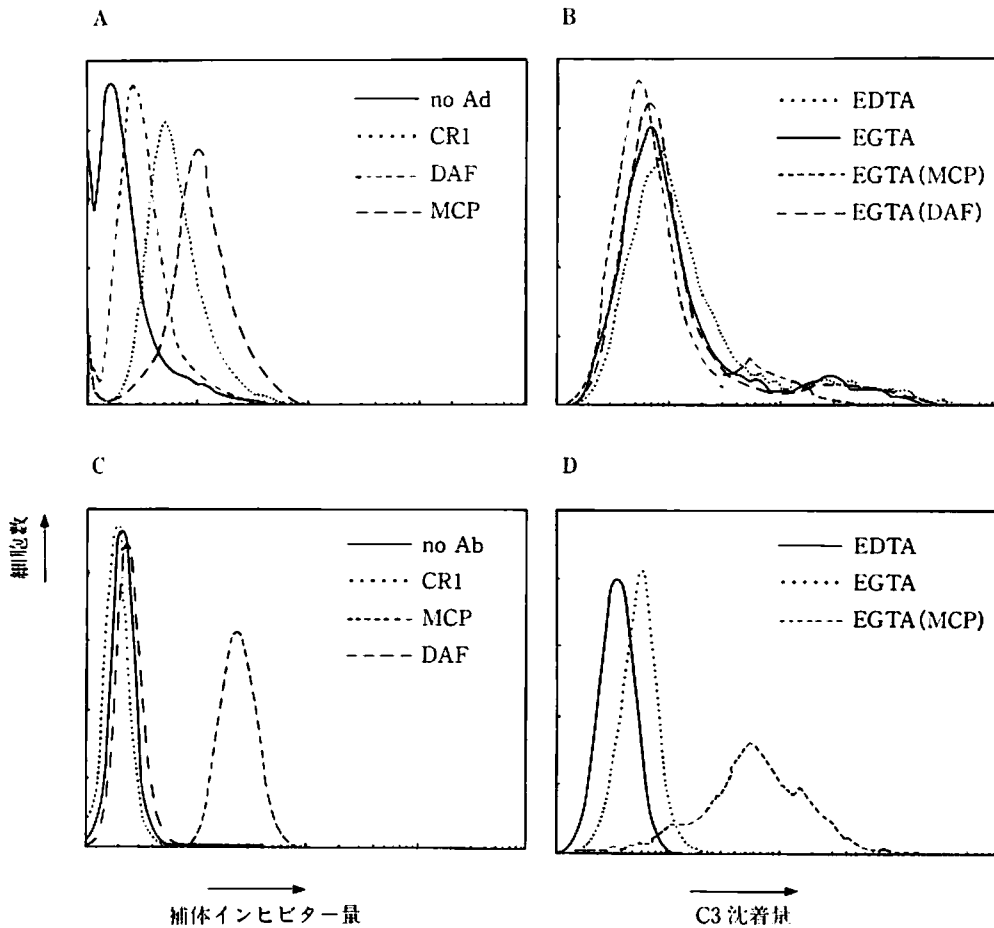


図2 MCPの抗体処理によるC3フラグメント沈着の誘起

図は flowcytometry analysis を示す。A は HEL (human erythroid leukemia cell line) の CR1, DAF, MCP の分布量を示す。HEL は CR1<sup>+</sup>/DAF<sup>+</sup>/MCP<sup>+</sup> である。この細胞を Mg<sup>2+</sup>-EGTA ヒト血清で処理しても C3b の沈着は誘導されない(B) (Mg<sup>2+</sup>-EGTA 血清は抗体非依存性補体経路のみを活性化しうる)。

HEL をあらかじめ抗 DAF 抗体または抗 MCP 抗体で処理しても、C3b の沈着は起こらなかった(B)。

C は TALL1 という T lymphoid cell line である。この細胞株は CR1<sup>-</sup>/DAF<sup>-</sup>/MCP<sup>+</sup> であることが分かった(C)。TALL1 を Mg<sup>2+</sup>-EGTA 血清処理してもほとんど C3b は沈着しない。しかし、TALL1 をあらかじめ抗 MCP 抗体で処理してから Mg<sup>2+</sup>-EGTA 血清と混合すると、多量の C3 フラグメントの沈着が誘起された(D)。本データの解釈は本文参照。

欠損株は見いだされなかった<sup>14)</sup>。C3 フラグメントの沈着は CR1, DAF の有無にかかわらずほとんどの細胞株で誘発されなかった。6 株に微かな C3 の沈着がみられたが、うち 4 株は EB ウイルス感染 B 細胞株で、2 株は骨髓細胞株であった。面白いことに、DAF 欠損の細胞株を MCP の抗体で処理(MCP の機能をブロック)してやると大量の C3b, C3bi の沈着が誘起された(図 2)。DAF<sup>+</sup> の細胞株では、MCP の抗体処理は C3 の沈着を誘発しなかった。

以上の結果から、①細胞が C3b で標識されな

いたためには、その細胞が MCP か DAF のいずれか一方を表現することが必要条件である。つまり、MCP<sup>+</sup> または DAF<sup>+</sup> は “self” cells のマーカーとなる。両方を失うと細胞上に C3b の沈着が起こり、標的細胞化する。すなわち、“non-self” 化する。② C3b の初期沈着は恐らく、これら補体インヒビターの分布・量とは異なった要因の関与のもとにおこる、の 2 点が推論される。①については発作性夜間血色素尿症(PNH) の赤血球が補体によって容易に溶けるのに対し、PNH 白血球が補体で溶けにくいことの説明と

なる。赤血球に MCP はないが、白血球はほとんどすべてが MCP をもち、これらは DAF と異なり、PNH の血球でも失われない。②について、Mold ら<sup>15)</sup> は CR2 が C3d のレセプターであるとともに、その上に C3b の初期沈着を許す“受け入れ分子”(acceptor)としても働くことを示唆している。EB ウイルス感染 B 細胞には、一般に CR2 が大量に表現されている。したがって、B 細胞株で C3b の初期沈着が(補体インヒビターの存在にもかかわらず)誘起されるのは、このような acceptor 分子上の C3b がインヒビターの制御活性に“うち勝って”生きのびるためと考えられる。

この項目における結論を列記する。① DAF, MCP のいずれかを表現することが血液(補体)中で細胞が生存するための必要条件である。② C3b の最初の沈着がおきるか否かには、インヒビターの他に acceptor 分子の量、性質が深く関与する。そして acceptor 分子についてはまだ不明な点が多い。

#### おわりに

現状で、確立された腫瘍細胞株全てが MCP をもつという事実は、MCP<sup>-</sup> の腫瘍細胞がもし現れても補体によって preclear されてしまうことを示唆するかも知れない。これが事実なら、補体にも監視機構が備わっているといえる。また、DAF と MCP が異なった手段で細胞膜に結合しているとの知見は、細胞での 1 つの異変が両者を同時に失う結果にならないための、“自然の工夫”を反映するものかも知れない。

以上の原則は、ヒト細胞に関して適用できる。補体抵抗性の微生物や寄生虫、またヒト以外の細胞がどのような補体防御機構をもつかは、今後の問題として残される。

#### 文 献

- 1) 瀬谷 司：細胞性補体制御因子, membrane cofactor protein(MCP)の構造と機能. 北海道医学雑誌 63: 259, 1988.
- 2) 瀬谷 司：Membrane cofactor protein(MCP). 日

本臨牀 46: 1933, 1988.

- 3) Seya, T. et al.: Purification and characterization of a membrane protein(gp45-70) that is a cofactor for cleavage of C3b and C4b. *J. Exp. Med.* 163: 837, 1986.
- 4) Seya, T. & Atkinson, J. P.: Functional properties of membrane cofactor protein of complement. *Biochem. J.* 264: 581, 1989.
- 5) Cole, J. L. et al.: Identification of an additional class of C3-binding membrane proteins of human peripheral blood leukocytes and cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 859, 1985.
- 6) Ballard, L. et al.: Biochemical characterization of membrane cofactor protein of the complement system. *J. Immunol.* 141: 3923, 1988.
- 7) Seya, T. et al.: Distribution of membrane cofactor protein of complement on human peripheral blood cells: An altered form is found on granulocytes. *Eur. J. Immunol.* 18: 1289, 1988.
- 8) Seya, T. et al.: Regulation of proteolytic activity of complement factor I by pH: C3b/C4b receptor and membrane cofactor protein(MCP) have different pH optima for factor I-mediated cleavage of C3b. *J. Biochem.* 107: 310, 1990.
- 9) Lublin, D. M. et al.: Molecular cloning and chromosomal localization of human membrane cofactor protein(MCP). *J. Exp. Med.* 168: 181, 1988.
- 10) Bora, N.: Structural gene for human membrane cofactor protein(MCP) of complement maps to within 100 kb of the 3' end of the C3b/C4b receptor gene. *J. Exp. Med.* 169: 597, 1989.
- 11) Post, T. W. et al.: New classes of membrane cofactor protein(MCP) cDNA. *Complement* 6: 389, 1989. (Abstr.)
- 12) Seya, T. et al.: C4b-binding protein(C4bp) and a 60000 dalton plasma protein share antigenic determinants with membrane cofactor protein(MCP) of complement. *J. Immunol.* 1990. (in press)
- 13) Seya, T. et al.: Quantitative analysis of membrane cofactor protein(MCP) of complement: High expression of MCP on human leukemia cell lines, which is down-regulated during cell-differentiation. *J. Immunol.* 1990. (in press)
- 14) Seya, T. et al.: Quantitative analysis of membrane cofactor protein(MCP) among tumor cell lines with monoclonal antibodies. *Complement* 6: 400, 1989. (Abstr.)
- 15) Mold, C. et al.: CR2 is a complement activator and the covalent binding site for C3 during alternative pathway activation by Raji cells. *J. Immunol.* 140: 1923, 1988.