

Studies on the Molecular of Mechanism C3b Deposition on Microbes in the Horseshoe Crab Complement System

田川, 圭介

<https://doi.org/10.15017/1441054>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（理学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名	田川 圭介
論 文 名	Studies on the Molecular Mechanism of C3b Deposition on Microbes in the Horseshoe Crab Complement System (カブトガニ補体系における微生物への C3b 沈着の分子機構についての研究)

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

哺乳類の補体系は、血漿中の 30 種類以上の蛋白質から成る自然免疫である。その中心的な因子である補体 C3 因子が活性化されることにより、白血球による異物の貪食や膜攻撃複合体の形成などを引き起こす。C3 の活性化には以下の 3 種類の経路がある。異物に結合した抗体によって引き起こされる経路である古典経路、異物表面上の糖鎖を認識するレクチンと呼ばれるタンパク質によって引き起こされるレクチン経路、C3 因子の自発的な活性化経路である第二経路である。いずれの経路もセリンプロテアーゼカスケードであり、最終的に C3 の切断とその活性化断片である C3b の異物表面上への沈着を引き起こす。C3b の沈着は、白血球による貪食や膜攻撃複合体形成の引き金となる。

本研究では、無脊椎動物の補体系の活性化機構を明らかにするため、日本産カブトガニ (*Tachypleus Tridentatus*) をモデル生物として実験を行った。カブトガニは大量の体液を採取できることから、補体系の分子構造の解明において優れた生物である。当研究室の有木らにより、カブトガニの体液凝固因子の一つであり、セリンプロテアーゼ前駆体である Factor C がグラム陰性菌のリポ多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) を特異的に認識して活性化し、C3 の切断・活性化と C3b の細菌表面上への沈着を引き起こすことが報告されていた。しかし、グラム陽性菌、真菌に対する C3b の沈着の分子機構は不明であった。

カブトガニの肝臓および筋肉より、哺乳類の補体 B 因子と相同な 2 種類の因子 (B1 および B2) を見だし、それらをクローニングした。両者ともに N 末端から complement control protein (CCP) ドメイン、von Willebrand factor (XWF) ドメイン、セリンプロテアーゼ (SP) ドメインを有しており、哺乳類の補体 B 因子と同様のドメイン構造であった。また、特異抗体を用いたウエスタンブロットにより、両者はカブトガニの血漿中に発現していることが判明した。SP ドメインを有していることから、両者は血漿中の補体 C3 因子の活性化において重要な働きをしていると考えられる。

哺乳類の補体 B 因子は、 Mg^{2+} 要求性のプロテアーゼであるが、血漿にグラム陰性菌、グラム陽性菌、真菌を加えると、B1 および B2 は Mg^{2+} 依存的に限定分解されることが明らかとなった。また、免疫沈降法により、両者は血漿中で C3 と複合体を形成していることが判明した。さらにフローサイトメトリーにより、C3b のグラム陽性菌および真菌への沈着には、 Mg^{2+} が必要であることが判明した。以上のことから、カブトガニの血漿中にグラム陽性菌および真菌を加えると、何らかのプロテアーゼによって B1 および B2 が活性化され、C3b の菌体表面上への沈着が引き起こされると考えられる。一方、グラム陰性菌への Cb3 の沈着には B1 や B2 は必ずしも必要でないこと、グラム陽性菌への Cb3 の沈着には Mg^{2+} が必要であることが判明した。カブトガニ血漿中には、 Mg^{2+} 要求性のレクチンが複数種存在しており、それがグラム陽性菌への Cb3 沈着に関与していることが推定された。そこで、血漿に Mg^{2+} 要求性レクチン (TtCRP-1, TL-5A) に対する抗体を加えたところ、グラム陽性菌への Cb3 の沈着が阻害された。また、カブトガニの主要なレクチンである TL-1 は、

Cb3 を真菌表面にリクルートする役割を果たしていることが明らかになった。

以上の結果は、節足動物における感染微生物特異的な Cb3 沈着の分子構造を初めて示した研究であり、比較免疫学や生化学の分野において価値ある業績であると認められる。よって、本研究者は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認める。