

図 5 補体関連 aHUS の原因遺伝子と変異報告部位
 変異の見つかったエクソンは白，日本人に多い変異は四角で囲ってある。(文献 14 より引用，改変)

(20~30%)が，本邦では 10% 弱程度である。CFH は C3b と結合し不活化，C3 転換酵素の分解促進などの役割を担う。100 以上の遺伝子異常が報告されているが，多くの変異は C3b や血管内皮に結合する領域である C 末端の変異である。

aHUS は小児の発症が多いが，CFH の変異では半数以上が成人発症と報告されており，腎予後・生命予後ともに悪い¹⁴⁾。

2) CD46(MCP)の異常

CD46，または membrane cofactor protein(MCP)と呼ばれ細胞膜上に発現する膜貫通型蛋白で，2003 年に家族性 HUS の原因遺伝子として報告された^{17,18)}。日本人，欧米人でも aHUS の約 10% の原因とされる。CD46 は CFI の cofactor として C3b の分解を促進する。aHUS における CD46 の変異は細胞表面の CD46 の発現量を低下させるタイプと，発現量には影響を与えず C3b への結合能が低下するタイプが

存在する。CD46 の変異による aHUS は小児期に発症するが，腎生存率，予後は比較的良好なことが知られている。

3) Complement factor I(CFI)の異常

2004 年に家族性 HUS で CFH に変異のない家系から CFI の変異が報告された^{19,20)}。CFI はセリンプロテアーゼであり，CFI は CD46 や factor H の cofactor として働き，C3b と C4b を不活化する。本邦においては CFI による異常の報告はまだない。

2. 補体系を活性化する因子の異常による aHUS

4) C3 の異常

aHUS における C3 の heterozygous の変異は 2008 年に報告された²¹⁾。欧米において aHUS の C3 変異の占める割合は 10% 弱であるが，奈良県立医科大学と国立循環器病研究センター研究所における日本人の解析では，aHUS の原因の 40% 程度にのぼり，日本人においては C3 変異の割合が高い。C3b の CFH や CD46 への結合能が低下し C3b の分

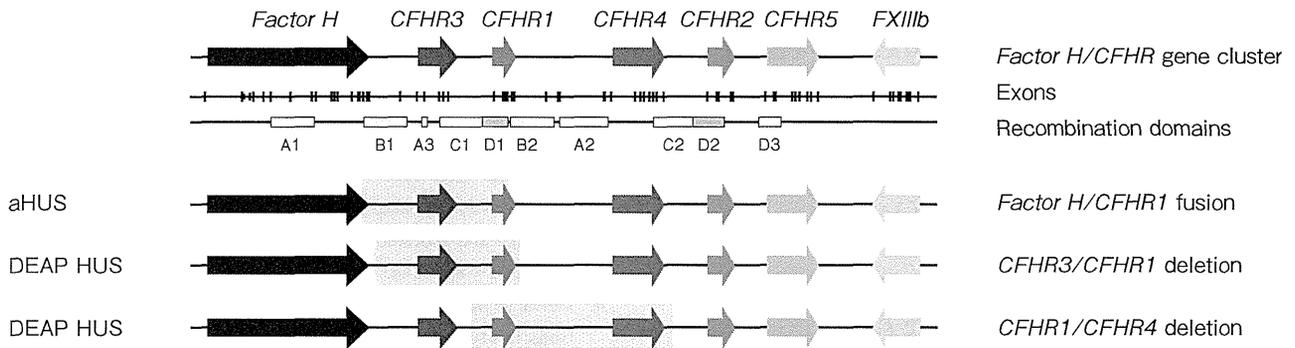


図 6 CFHR の遺伝子図(文献 25 より引用)

解が減少することによる補体系の活性が原因と考えられている²²⁾。欧米では図 5 のように多彩な変異が報告されているが、日本人では I1157T の変異が多く、また、三重大学の報告では aHUS 患者において高頻度でこの変異が報告されており、本邦に多く、さらに地域性のある変異である可能性もある²³⁾。

5) Complement factor B (CFB) の異常

CFB は C3 転換酵素の形成を促進する。CFB の変異による aHUS は 2007 年に報告された²⁴⁾。この変異は gain-of-function の変異で、C3bBb の形成を促進する。欧米では aHUS の 1~2% 程度と原因としては稀であり、本邦でも同様に非常に稀な変異である。

6) Factor H 抗体による aHUS

aHUS 患者の約 8~10% で CFH に対する自己抗体の存在が 2007 年に報告され、この抗体は CFH の C 末端を認識し、CFH の C3 変換酵素への結合を阻害し、CFH による細胞保護作用を阻害する。factor H 抗体の出現は CFH 関連蛋白質 (complement factor H related: CFHR) 1~5 の遺伝子異常 (欠損, 融合) が関与していることが判明しており²⁵⁾、これらの遺伝子異常により CFH に対する抗体が出現し、CFH の機能を阻害するものと考えられている。特に CFHR 遺伝子欠損により factor H 抗体が出現した aHUS は、DEAP-HUS (DEficiency of CFHR plasma proteins and Autoantibody Positive form of Hemolytic Uremic Syndrome) とも呼ばれている。factor H と CFHR 1~5 の遺伝子は図 6 のように染色体 1q32 の領域にクラスターを形成しており、nonallelic homologous recombination (NAHR) を起こしやすい領域である。最も頻度が高い異常は CFHR3-CFHR1 の欠損であり、factor H 抗体が陽性となり、aHUS 発症との関連が示唆されている。そのほかにも CFH/CFHR1, CFH/CFHR3, CFHR1/CFH の hybrid 遺伝子の形成, fusion protein 産生により factor H 抗体

が陽性となり aHUS が発症する例が報告されている²⁶⁾。

特に CFHR1 領域の欠損が抗体出現と関連すると考えられているが、健常人でも認められる変異であることから、CFH 抗体の出現と疾患の関連については現在も詳細はわかっていない。ドイツとオーストリアのグループは、CFHR の変異と CFH 抗体の出現について健常人も含めて調査している。aHUS 患者のなかで CFHR1 欠損は 32% であり、CFHR1 欠損の aHUS 患者の 82% で CFH 抗体が陽性であり、CFHR1 欠損以外の aHUS 患者でも 6% に CFH 抗体陽性が認められた。一方で、健常人でも 3% 程度に CFHR1 遺伝子欠損が認められたが、CFH 抗体陽性は認められなかった。また、CFH 抗体陽性 aHUS 患者では初発や再発時に抗体価が上昇しており、CFHR1 遺伝子欠損患者が何らかの trigger により抗体が惹起されて aHUS を発症するものと考えられる²⁷⁾。

凝固関連 aHUS 各論

7) Thrombomodulin (THBD) の異常

152 例の aHUS 患者のうち、7 例の患者で THBD の遺伝子異常が 2009 年に報告され、約 5% の aHUS の原因遺伝子とされる⁴⁾。380 例の健常人の遺伝子と比較して、健常人にはないアミノ酸置換を伴う 6 種類の THBD の変異を報告し、これらの変異体が *in vitro* で C3b 分解活性の低下を示すことから、補体系への関与も示唆されている。

この変異の一つである D486Y 変異は、4 家系の 4 症例で認められ predisposing factor とされているが、国立循環器病研究センター研究所の宮田敏行らは、吹田研究において健常人でも 2.2% でこの変異を保有していることを報告している。D486Y 変異に限らず、ある遺伝子変異が本当に病態と関連する変異であるかどうかを同定することは非常に困

難であり、最近「Nature」に出されたガイドラインでも、ある遺伝子変異が疾患と関連したものであるかを証明するにあたり、健常人や公共データベースとの遺伝子変異の比較、蛋白レベルでの機能解析などが推奨されているが²⁸⁾、これらを施行しても疾患の原因となる変異であると断定することは困難であることを物語っている。

8) Diacylglycerol kinase ϵ (DGKE)の異常

劣性遺伝を示す aHUS 患者で、9家系から DGKE の変異が Lemaire らにより 2013 年に報告された⁶⁾。DGKE は血管内皮細胞、血小板、podocyte に発現しており、diacylglycerols (DAG) は protein kinase C を活性化し血栓形成傾向を促進するが、DGKE は普段は DAG シグナルを抑制しており、DGKE の変異により DAG シグナルが活性化されることにより血栓形成傾向になると推定している。これらの患者の特徴としては、1歳以下の発症で補体系の異常を伴わないことが報告されているが、2014年の JASN には C3 軽度低下家系の報告もあり²⁹⁾、今後のより詳細な報告が待たれる。また、DGKE の変異により MPGN 様の glomerular microangiopathy を呈するトルコの近親婚家系が報告されており⁵⁾、この報告では Lemaire らの報告とは違う変異であるためか 8 歳未満の発症であり、DGKE と腎病変との関連も報告されている。

9) Plasminogen (PLG)の異常

aHUS 患者 36 例の補体系、凝固系遺伝子の網羅的な解析により、2014 年に plasminogen 遺伝子が原因遺伝子として報告された⁷⁾。plasminogen 欠損に関連した変異であり、欠損により血栓形成が促進されると推定されている。

日本人においては奈良県立医科大学、国立循環器病研究センター研究所での上記の 1) から 7) までの遺伝子検査のスクリーニングにて、約 7 割程度の患者で遺伝子異常が判明している。

おわりに

補体・凝固関連 aHUS の病態について概説した。今後も新規の遺伝子や、新規の変異部位の報告が続くと思われ、進歩の著しい分野である。本邦での遺伝子解析や疫学的調査が待たれる。また、エクリズマブも臨床使用が可能となっており、適応疾患、長期的な適正使用法についても検討が必要と思われる。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文献

1. Kaplan BS, Chesney RW, Drummond KN. Hemolytic uremic syndrome in families. *N Engl J Med* 1975 ; 292 : 1090-1093.
2. Thompson RA, Winterborn MH. Hypocomplementaemia due to a genetic deficiency of beta 1H globulin. *Clin Exp Immunol* 1981 ; 46 : 110-119.
3. Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, et al. Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 1998 ; 53 : 836-844.
4. Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 345-357.
5. Ozaltin F, Li B, Rauhauser A, et al. DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol* 2013 ; 24 : 377-384.
6. Lemaire M, Fremeaux-Bacchi V, Schaefer F, et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 531-536.
7. Bu F, Maga T, Meyer NC, et al. Comprehensive genetic analysis of complement and coagulation genes in atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 : 55-64.
8. 日高義彦, 黒澤優子, 北原正志, 他. Factor H の遺伝子変異と蛋白機能異常が認められた溶血性尿毒症症候群の 1 例. *日小児腎臓病会誌* 2008 ; 21 (Suppl) : 135.
9. Sawai T, Nangaku M, Ashida A, et al. Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society. *Pediatr Int* 2014 ; 56 : 1-5.
10. Sawai T, Nangaku M, Ashida A, et al. Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society. *Clin Exp Nephrol* 2014 ; 18 : 4-9.
11. Scully M, Goodship T. How I treat thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br J Haematol* 2014 ; 164 : 759-766.
12. George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014 ; 371 : 654-666.
13. Mele C, Remuzzi G, Noris M. Hemolytic uremic syndrome. *Semin Immunopathol* 2014 ; 36 : 399-420.
14. Fremeaux-Bacchi V, Fakhouri F, Garnier A, et al. Genetics and outcome of atypical hemolytic uremic syndrome : a nationwide French series comparing children and adults. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013 ; 8 : 554-562.
15. Loirat C, Fremeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011 ; 6 : 60.
16. Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 1676-1687.
17. Noris M, Brioschi S, Caprioli J, et al. Familial haemolytic uraemic syndrome and an MCP mutation. *Lancet* 2003 ; 362 : 1542-1547.
18. Richards A, Kemp EJ, Liszewski MK, et al. Mutations in human complement regulator, membrane cofactor protein (CD46), pre-

- dispose to development of familial hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 12966-12971.
19. Kavanagh D, Kemp EJ, Mayland E, et al. Mutations in complement factor I predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2005 ; 16 : 2150-2155.
 20. Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, Blouin J, et al. Complement factor I : a susceptibility gene for atypical haemolytic uraemic syndrome. *J Med Genet* 2004 ; 41 : e84.
 21. Fremeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, et al. Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2008 ; 112 : 4948-4952.
 22. Fan X, Yoshida Y, Honda S, et al. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol* 2013 ; 54 : 238-246.
 23. Matsumoto T, Fan X, Ishikawa E, et al. Analysis of patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated at the Mie University Hospital : concentration of C3 p. I1157T mutation. *Int J Hematol* 2014.
 24. Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J, et al. Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 240-245.
 25. Skerka C, Chen Q, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement factor H related proteins (CFHRs). *Mol Immunol* 2013 ; 56 : 170-180.
 26. Valoti E, Alberti M, Tortajada A, et al. A novel atypical hemolytic uremic syndrome-associated hybrid CFHR1/CFH gene encoding a fusion protein that antagonizes factor H-dependent complement regulation. *J Am Soc Nephrol* 2014 June 5. Epub ahead of print.
 27. Hofer J, Janecke AR, Zimmerhackl LB, et al. Complement factor H-related protein 1 deficiency and factor H antibodies in pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013 ; 8 : 407-415.
 28. MacArthur DG, Manolio TA, Dimmock DP, et al. Guidelines for investigating causality of sequence variants in human disease. *Nature* 2014 ; 508 : 469-476.
 29. Westland R, Bodria M, Carrea A, et al. Phenotypic expansion of DGKE-associated diseases. *J Am Soc Nephrol* 2014 ; 25 : 1408-1414.

補体反応

¹⁾ 国立循環器病研究センター 分子病態部

²⁾ 同 高血圧・腎臓科

みやたとしゆき ¹⁾ なかむらさとこ
宮田敏行 ¹⁾ 中村敏子 ²⁾

point

- ▶ 補体は侵入した微生物などの異物に反応して殺菌反応や炎症反応を惹起する生体防御反応であり、3つの経路を通してC3が活性化する。
- ▶ 補体第二経路で活性化したC3は、微生物だけでなく自己細胞にも結合する。自己細胞上には補体の活性化を抑制する複数の蛋白質が存在し、C3を不活化している。
- ▶ 遺伝子異常や自己抗体によりC3の制御が不全に陥ると、C5がC5aとC5bに分解され白血球の動員や膜侵襲複合体の形成が起こり、血管内皮細胞が障害を受ける。これが非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome : aHUS) のメカニズムである。
- ▶ 最近、aHUSの治療薬として抗C5単クローン抗体であるエクリズマブが、本邦でも保険適応となり、aHUS患者の治療に効果を上げている。



補体系はどのような機能をもっているのでしょうか？



補体は、侵入した微生物などの異物に反応して殺菌反応や炎症反応を惹起する生体防御反応です¹⁾。補体系には総計、30種以上の血漿蛋白質と細胞上の蛋白質が関わっています。生体に侵入した微生物などは、補体因子成分によって認識され、蛋白分解カスケードが作動し、これにより、炎症惹起物質が生成するとともに細胞溶解もしくは貪食によるクリアランスのための目印がつけられます。補体の活性化は3つの経路があります。すなわち、①抗原抗体反応により活性化される古典経路、②細菌やウイルス上の糖鎖に結合するレクチンによって活性化されるレクチン経路、および③認識分子がなくC3を活性化する第二経路です。3つの補体活性化経路はC3の段階で合流するので、C3は補体の中でもっとも重要な因子であり、血中量も極めて多いです(1.2g/L)(図1)。これらの経路から生成したC3bは、微生物などの表面に多数共有結合することによ

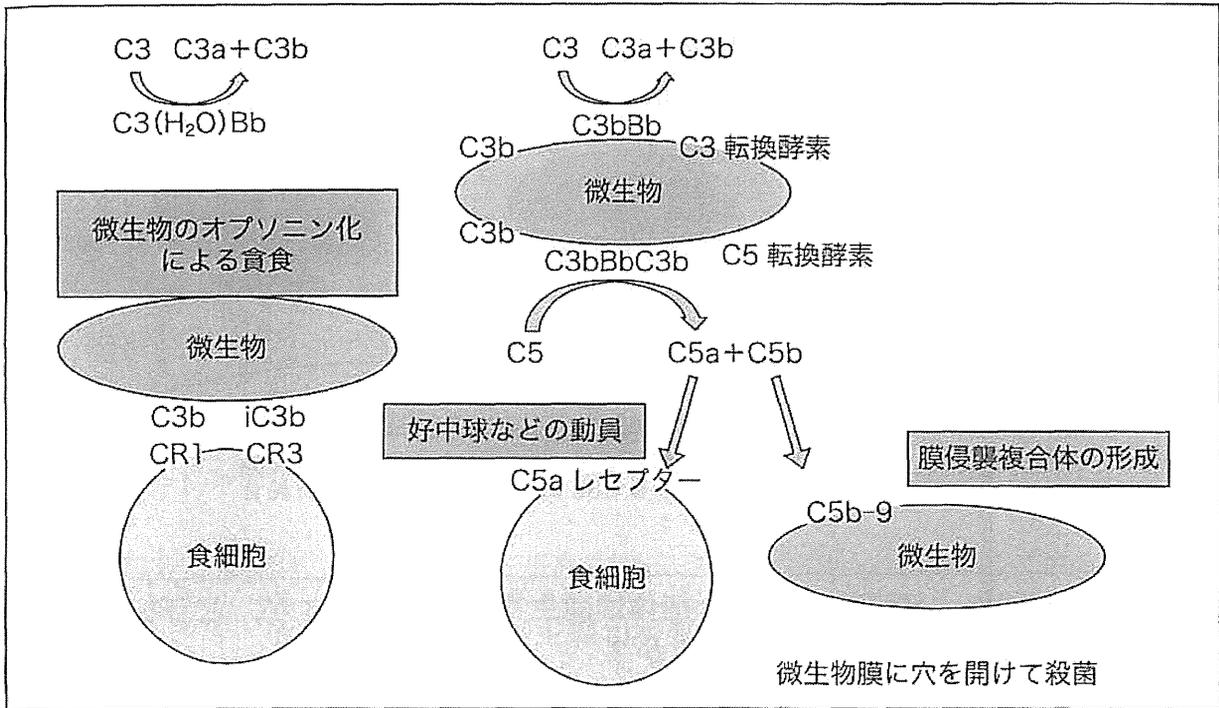


図1 C3を中心とした補体系による生体防御システム

り微生物をオプソニン化^{*}します。オプソニン化された微生物は、食細胞により貪食されます。微生物上のC3bはC3転換酵素であるC3bBb複合体となり、さらにC5転換酵素であるC3bBbC3b複合体となります。C5転換酵素は、C5をC5aとC5bに分解します。C5aは強力なアナフィラトキシン活性をもち、炎症を惹起して好中球などを動員します。微生物上のC5bは、膜侵襲複合体であるC5b-9を形成し、微生物を溶解させ殺菌します。

^{*}オプソニン化：微生物をはじめとする細胞が効率的に食細胞により貪食されやすいように変えられること。C3bや免疫グロブリンが結合すると、貪食されやすくなります。

補体第二経路は、どのようなメカニズムで活性化されるのですか？

第二経路は微生物などの水酸基をもつ表面で起こり、その開始には微生物に結合する蛋白質を必要としません。第二経路は、C3の自発的な加水分解によって始まります。すなわち、かなりの速度でC3が加水分解によりC3(H₂O)になり、これにB因子が結合してC3(H₂O)Bが形成されます。これにプロテアーゼであるD因子が作用し、液相C3転換酵素であるC3(H₂O)Bbが形成されます。これは少量しかできませんが、多くのC3をC3aとC3bに分解します。生成したC3bの多くは加水分解により不活化されますが、一部のC3bは微生物や自己細胞の表面上の水酸基に共有結合して付着します(図2)。このC3bにB因子が結合してC3bBbとなり、このB因子がD因子により活性型プロテアーゼBbへと分解され、第二経路のC3転換酵素であるC3bBbが形成されます。

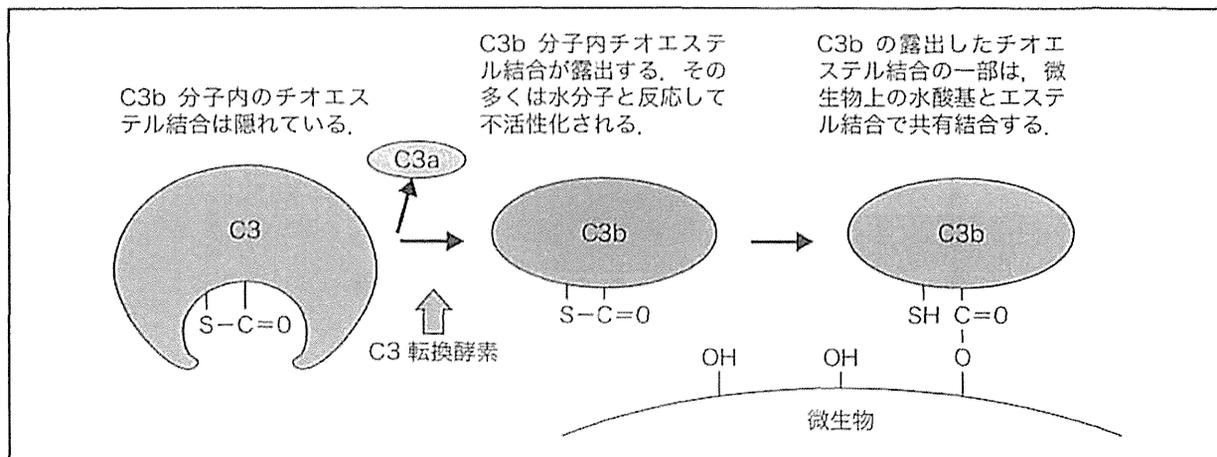


図2 C3の限定分解で生じるC3bの微生物表面への共有結合

? 第二経路により活性化された補体は微生物を攻撃しますが、どうして宿主細胞は攻撃されないのでしょうか？

A 第二経路の活性化で生じるC3bは水酸基に反応するので(図2)、微生物だけでなく自己細胞上にも結合します。自己細胞に結合したC3bは、有害なのですみやかに無毒化されます。このため、自己細胞はC3bを分解する仕組みをもっています(図3)。血漿蛋白質H因子は自己細胞のシアル酸などの陰電荷をもつ糖鎖に結合し、細胞表面上のC3bに結合します。H因子は血漿プロテアーゼI因子によるC3b分解のコファクターであり、C3bのiC3bへの分解・不活化を促します。H因子は、

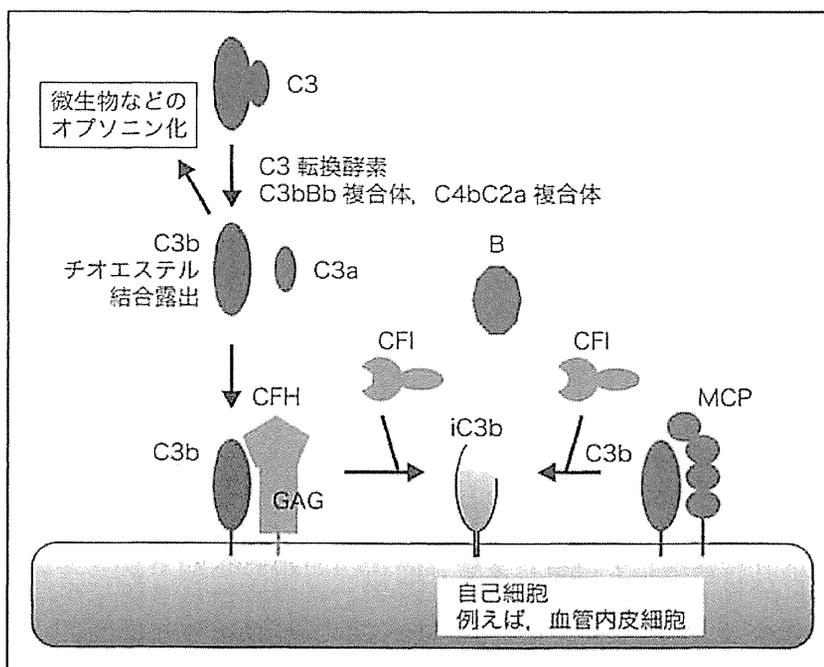


図3 自己細胞上でのC3bの分解による不活化

C3bBb から Bb を遊離させる能力ももちます。自己細胞上には Membrane cofactor protein (MCP) とよばれる膜蛋白質が存在し、I 因子による C3b の分解を促進します。血液凝固制御因子である膜蛋白質トロンボモジュリンは H 因子の存在下、I 因子の C3b の分解を促進します。このように、自己細胞に結合した C3b は、H 因子、I 因子、MCP、トロンボモジュリンの協調作用により分解・不活化されます。しかし、これらの因子に loss-of-function の遺伝子変異が生じたり、H 因子に対する自己抗体が生じると、C3b の分解が妨げられることとなります。また、C3b が分解を受けにくい gain-of-function の遺伝子変異をもつ場合や、B 因子の gain-of-function の変異をもつ場合も、C3b の分解が障害されることとなり、分解が遅延して自己細胞が障害を受けます。



aHUS について教えてください



aHUS は、破碎赤血球を伴う溶血性貧血、血小板減少、急性腎不全を三徴とする疾患です^{2,3)}。2012 年、本邦における aHUS 診断基準が日本腎臓学会と日本小児科学会の合同で作成されました。本診断基準では、aHUS は志賀毒素による HUS と ADAMTS13 の活性著減による血栓性血小板減少性紫斑病以外の血栓性微小血管障害 (TMA) であり、溶血性貧血・血小板減少・急性腎障害を三主徴とする疾患と定義されています (<http://www.jsn.or.jp/guideline/ahus.php>)。したがって、本診断基準での aHUS には、補体系の遺伝子変異を有する HUS と二次性 TMA が含まれます。二次性の TMA を除外する aHUS の定義もあります³⁾。

最近の欧米の研究により、aHUS の多くは補体活性化の制御に異常が生じ、糸球体などの血管内皮細胞が補体により攻撃を受けるというメカニズムが広く受け入れられるようになってきました²⁾。aHUS の約半数の症例で、補体制御因子である H 因子、I 因子、MCP、トロンボモジュリンに

表 1 aHUS の遺伝子異常と予後

| 異常蛋白 | 異常遺伝子 | aHUS での頻度 (%) | 血漿療法に対する短期反応 |
|----------------------------------|---------|---------------|----------------------------|
| H 因子 | CFH | 20~30 | 寛解率 60% |
| CFHR1 と CFHR3 + 抗 H 因子抗体 | CFHR1/3 | 6 | 血漿交換に免疫療法を加え 寛解率 70~80% |
| MCP | MCP | 10~15 | 血漿療法の適応なし |
| I 因子 | CFI | 4~10 | 寛解率 30~40% |
| B 因子 | CFB | 1~2 | 寛解率 30% |
| C3 | C3 | 5~10 | 寛解率 40~50% |
| トロンボモジュリン | THBD | 5 | 寛解率 60% |
| diacylglycerol kinase epsilon | DGKE | 不明, 13 例の報告 | 不明 |

(文献 2 を参照して作成)

loss-of-function の遺伝子変異, および補体因子の C3 と B 因子に gain-of-function の遺伝子変異が同定されています (図 3, 表 1). これらの遺伝子変異により, 血管内皮細胞上で C5 転換酵素が形成され, C5 から C5a と C5b が形成され, 内皮が障害されると考えられます. 中でも腎の微小血管の障害が顕著にみられ, 急性腎障害を示すと考えられています.

TOPICS

aHUS の治療薬としての抗 C5 抗体薬

aHUS は C3b が自己細胞に共有結合し, 補体制御系が十分に働かなかった場合に発症します. 最近, aHUS の治療薬として抗 C5 単クローン抗体であるエクリズマブ* (ソリリス[®]) が, 本邦でも保険適応となりました. 自己細胞の表面に C5 転換酵素が形成されると, C5 が C5a と C5b に限定分解されますが, 抗 C5 抗体は C5 に結合し, この限定分解を阻止し, 強力なアナフィラトキシン活性を有する C5a の産生や膜侵襲複合体の形成を阻害します (図 4). これにより炎症反応が抑制され, 加えて自己細胞は膜破壊から免れます. 2009 年, 難治性 aHUS 患者 2 名にエクリズマブが使用され, 劇的に症状が改善し, その後, 著効例が多数報告されました⁴⁾. 本薬剤は発作性夜間ヘモグロビン尿症の治療薬として開発され, 承認されています.

*エクリズマブ

本邦の発作性夜間ヘモグロビン尿症患者への投与例では, 約 3% の患者に症状の改善がみられず, これらの患者は C5 分子に p.Arg885Cys 変異を有していました⁵⁾.

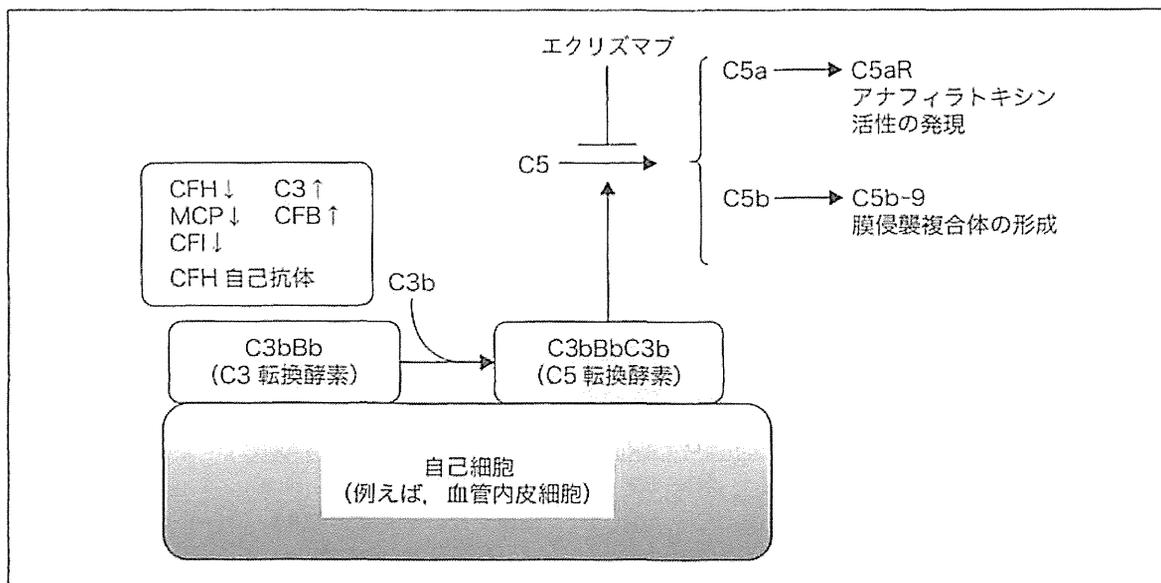


図 4 抗 C5 抗体薬の作用点

aHUS 患者の約半数に, H 因子自己抗体や, H 因子, I 因子, MCP, トロンボモジュリンの loss-of-function 変異, C3, B 因子の gain-of-function 変異が同定されています.

まとめ

補体第二経路は平素より常にわずかに活性化されており、侵入してくる微生物などの異物に即時に対応できるようになっています。この中心となるのは C3 です。C3 の活性化で生じる C3b は微生物などの水酸基に結合し、オプソニンとして働きます。さらに、C3b は C3 転換酵素 (C3bBb)、C5 転換酵素 (C3bBbC3b) へと変化し、C5 を C5a と C5b に分解し、アナフィラトキシン活性の発現と膜侵襲複合体の形成につながります。この C3b が自己細胞上に結合すると有害なので、無毒化するため、いくつかのメカニズムを備えています。この無毒化に関わる因子に対して、自己抗体が生じる場合、および遺伝子変異がある場合、補体系により自己細胞が障害を受けます。aHUS 患者の半数に補体制御系の異常がみられます。

[文 献]

- 1) Java A, Atkinson J, Salmon J : Defective complement inhibitory function predisposes to renal disease. *Annu Rev Med* 64 : 307-324, 2013
- 2) Noris M, Remuzzi G : Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 361 : 1676-1687, 2009
- 3) Campistol JM, Arias M, Ariceta G et al : An update for atypical haemolytic uraemic syndrome : diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia* 33 : 27-45, 2013
- 4) Nurnberger J, Philipp T, Witzke O et al : Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 360 : 542-544, 2009
- 5) Nishimura J, Yamamoto M, Hayashi S et al : Genetic variants in C5 and poor response to eculizumab. *N Engl J Med* 370 : 632-639, 2014



解説

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の病態と治療戦略*

吉田 瑤子** 藤村 吉博**

Key Words : atypical HUS, complement, alternative pathway, eculizumab

はじめに

溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome, HUS)は、細血管障害性溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害を3主徴とする疾患である¹⁾。HUSと似た病態を示す疾患に血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP)があるが、その多くは von Willebrand 因子(VWF)の得意的切断酵素である ADAMTS13の活性著減により発症する。HUSとTTPを包括した概念として血栓性微小血管障害症(thrombotic microangiopathy, TMA)という病理学的診断名があり、TTPとHUSの不可分例にはTMAという用語をそのまま用いる場合がある。

HUSの約90%は志賀毒素産生性大腸菌(*shiga toxin-producing Escherichia coli*, STEC)への感染を契機に発症する典型的HUS(STEC-HUS)である。一方で、残りの約10%は前述した大病菌の感染を介さずに発症し、非典型HUS(atypical HUS, aHUS)と呼ばれる。aHUSの原因は肺炎球菌や薬剤、妊娠など多岐にわたるが、約半数は補体活性化の制御異常により生じる先天性疾患である。従来、aHUSはSTEC-HUS以外のHUSを指す用語として用いられてきたが、最近では補体介在性のaHUSとそれ以外のaHUSは用語を区別するべきであるとする考え方もある²⁾。本稿では補体介在性の先天性aHUSを中心にその病態と治療について述べる。

補体活性化反応

aHUSの病態を理解するうえで補体活性化とその制御機構を理解することは必須である。補体の活性化経路には古典経路、レクチン経路、第二経路の異なる3種の経路が存在する。このうち第二経路は、その活性化にある種の認識分子の介在を必要とせず、補体第3成分(C3)の特異的な性質により活性化される。1974年以降、aHUS患者にはC3の低下がみられるが、C4の低下はみられないとの報告がなされた³⁾。第二経路では活性化反応にC3の分解を伴うが他の経路とは異なりC4の分解は伴わない。これより、aHUSには第二経路の活性化が特異的に関与していることが予想され、1980年代後半より相次いで第二経路に属する因子の遺伝子異常が報告されるようになった。

第二経路とその制御機構

図1に第二経路の概要を示す。C3は血漿中に多量(1.2 mg/ml)に含まれ、分子内にチオエステル結合を持つ。このチオエステル結合が水分子の侵入を受けて加水分解されるとC3(H₂O)となり、B因子(complement factor B, CFB)およびD因子の作用によりC3(H₂O)Bbを形成する。これが第二経路の活性化の起点となる。C3(H₂O)BbはC3をC3aとC3bに分解し、生じたC3bの多くは即時に反応性を失うが、一部は

* Pathology of atypical hemolytic uremic syndrome and their treatment.

** Yoko YOSHIDA, M.S. & Yoshihiro FUJIMURA, M.D., Ph.D.: 奈良県立医科大学輸血部(〒634-8522 奈良県橿原市四條町840); Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University, Kashihara, Nara 634-8522, JAPAN

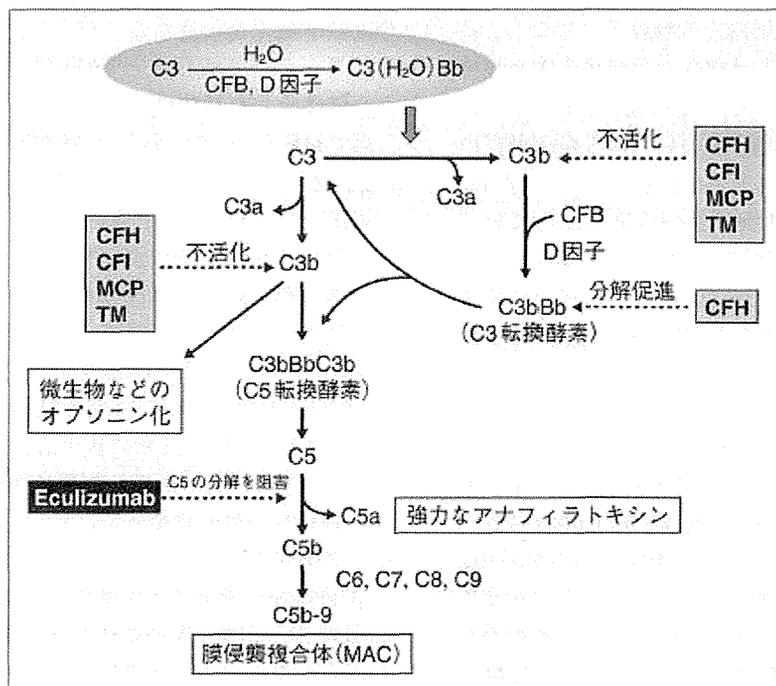


図1 第二経路の概略と補体制御因子の作用経路

C3の分解により生じたC3bはチオエステル結合を使って細胞膜表面に結合し、微生物などのオプソニン化を行う。またC3bはCFBの結合とD因子による分解反応によりC3転換酵素(C3bBb)を生じる。C3転換酵素はC3bと結合し、C5転換酵素(C3bBbC3b)の形成を経て最終的に膜侵襲複合体(MAC)を形成する。C3bの不活化はCFIにより行われる。CFIはCFHやMCP、TM等を補助因子として、C3を不活化型に分解する。CFH, complement factor H; CFI, complement factor I; MCP, membrane cofactor protein; CFB, complement factor B; TM, トロンボモジュリン (文献⁹⁾より引用改変)

微生物などの細胞膜表面に共有結合(オプソニン化)し、マクロファージによる貪食の目印になる。また、C3bはCFBやD因子と反応してC3転換酵素(C3bBb)となり、さらなるC3の分解反応を促進し、生じたC3bと結合してC5転換酵素(C3bBbC3b)を形成する。C5転換酵素はC5をC5aとC5bに分解し、生じたC5bがC6-C9と順次反応することで最終的に膜侵襲複合体(C5b-9)を形成し、病原体の溶菌・細胞膜融解を引き起こす。また、一連の過程で生じたC3aやC5aは好塩基球や肥満細胞からヒスタミンなどを放出させるアナフィラトキシンとして働く。

C3bはきわめて反応性の高いチオエステル結合を有するため、病原体だけでなく自己の細胞膜上にも結合して傷害する恐れがある。そのため生体内には、補体制御因子と呼ばれる物質により、生じたC3bを速やかに不活化す

る機構が存在する。液相上の主な制御因子にH因子(complement factor H, CFH)やI因子(complement factor I, CFI)がある。さらに、自己の細胞膜上ではmembrane cofactor protein(MCP)やトロンボモジュリン(TM)などの膜結合型制御因子が存在し、CFHの一部も細胞膜に結合して、CFIによるC3bの不活化を促進している。aHUSは、これらの補体制御機構に異常が生じて、補体の傷害作用が自身の血管内皮細胞にまで及ぶことにより発症する。以下に、aHUS患者において遺伝子異常が報告されている因子とその特徴を示す。

1. 制御因子異常

(1)CFH

CFHは、①CFIによるC3bの不活化反応の補助、②C3bへのCFBの結合阻害、③C3転換酵素の解離促進といった役割を持つ。さらにC末

端領域を介して血管内皮細胞などに結合し、補体による傷害から自己細胞を保護する働きも持つ。変異の約70%はC末端領域に存在することから、CFHでは細胞膜表面における保護機構の破綻が発症に関与していると考えられる。なお、変異の多くはCFH抗原量の低下を示さない。欧米ではCFH異常が20~30%と高頻度で見られるが²⁾、本邦における頻度は少ない(詳細は後述)。CFH異常症例の約70%は発症から1年以内に末期腎不全に至ることがわかっており、腎機能の予後は不良である³⁾。

aHUS患者の6%でCFHに対する自己抗体の存在が確認されている²⁾。自己抗体の産生にはCFH関連(complement factor H related, CFHR)タンパク質の遺伝子欠損(特にCFHR1とCFHR3)が関与していることが示されているが⁴⁾、遺伝子欠損を認めない症例も少なからず存在し、自己抗体産生の機序はいまだ明確でない部分が多い。CFH自己抗体によるaHUSの多くは小児期に発症し、40~60%の症例でC3の低下がみられる²⁾。

(2) MCP

MCPは赤血球を除くすべての細胞膜上に発現する膜貫通型タンパク質であり、CFIの補助因子としてC3bの不可逆的な活化反応を促進する。変異の多くはMCPの発現量低下をもたらすが、一部の変異は発現量には影響を与えずC3bへの結合低下をもたらす⁷⁾。MCP異常の患者は発作を頻回に繰り返す傾向にあるが、比較的予後が良い。

(3) CFI

CFIは分子量88 kDaのセリンプロテアーゼであり、CFH、MCP、TMなどを補助因子としてC3bを不活化する。変異の約80%はセリンプロテアーゼドメインに存在し、約50%はCFIの発現量低下を示す⁸⁾。血漿交換などの治療に対する反応は悪く、予後は不良である。本邦では現在までにCFI異常症例の報告はない。

(4) TM

TMは血管内皮細胞上に存在するタンパクで、C3bとCFHに結合してCFIを介したC3bの不活化を促進する。同時にトロンピンを介してカルボキシペプチダーゼであるthrombin-activatable fibrinolysis inhibitor(TAFI)を活性化し、C3a、

C5aの不活化を促進する。TMに遺伝子変異が生じるとC3b不活性化能とTAFIの活性化が減弱し、活性化した補体に対する防御能が低下することでaHUSが発症するといわれている⁹⁾。

2. 活性化因子異常：C3, CFB

aHUSでは補体活性化因子であるC3やCFBそれぞれ自体の遺伝子異常により機能獲得型異常として補体機能が過剰に活性化する症例も報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。欧米ではC3の遺伝子変異はaHUS患者の2~10%で認められており、C3bのCFHやMCPへの結合が低下してC3bの分解が著減するとされている。CFBの異常は約1~2%に認められる稀な変異である。変異CFBはC3bへ過剰に結合し、C3転換酵素を活性化してC3bを過剰に産生させる。

aHUSでは、原因となる遺伝子変異を有していても必ずしもHUSを発症するとは限らない。さらに同一家系内で同じ変異を有していても病態の発症時期や重症度には差がみられる。この理由として、aHUSの発症リスクを高めるSNPの存在や環境的要因との関連性が考えられているが、いまだ明確な理由付けはなされていない。また近年では、血小板活性化に必須のアラキドン酸代謝経路シグナルを遮断するdiacylglycerol kinase ϵ (DGKE)の遺伝子異常が高血圧を呈するaHUS患者の原因として報告されるなど¹²⁾、補体系以外の因子の異常も報告されている。

本邦におけるaHUS患者解析と その疾患背景

2011年から、奈良県立医科大学大輸血部と国立循環器病研究センター研究所分子病態部(代表・宮田敏行先生)の共同研究で本邦の先天性aHUS患者の病態解析を開始し、補体制御因子のタンパク質解析(溶血試験¹³⁾や抗CFH自己抗体解析)を輸血部で、遺伝子解析を国立循環器病研究センターで実施した¹⁴⁾。

2013年12月末までに同定した先天性aHUS疑い症例は77例であり、このうち50例について解析を実施した(6例のみ他施設で遺伝子解析を施行)。表1に本邦で同定された異常の頻度を示す。CFH異常を示す症例はわずか8%程度であったが、C3異常を示す症例が約40%と高頻度にも

表1 本邦と欧米における aHUS 患者の遺伝子変異の比較と血漿交換に対する予後

| 遺伝子変異/ 抗CFH自己抗体 | 頻度(%) | | 血漿交換に対する短期反応 (欧米からの報告) |
|--------------------|--------|-------------|---------------------------|
| | 欧米 | 日本(n=50) | |
| CFH | 20~30% | 8% (4/50) | 寛解率60% |
| MCP | 5~15% | 8% (4/50) | 血漿療法の適応なし |
| CFI | 4~10% | 0% (0/50) | 寛解率30~40% |
| THBD | 3~5% | 2% (1/50) | 寛解率60% |
| C3 | 2~10% | 38% (19/50) | 寛解率40~50% |
| CFB | 1~4% | 4% (2/50) | 寛解率30% |
| Anti-CFH Ab | 6% | 14% (7/50) | 寛解率70~80% (免疫抑制療法を併用) |
| 遺伝子変異未確定 | 30% | 26% (13/50) | - |

C3異常を認めた19例のうち、16例にC3-p. I1157Tの変異を認めた。また、CFH異常を認めた4例中、3例はCFH-p. R1215Q変異を1例はCFH-p. R1215G変異を有しており、いずれも溶血試験で羊赤血球の溶血亢進を認めた。CFH自己抗体陽性症例7例のうち、CFHR領域の遺伝子欠損を認めた症例は2例であった。
(欧米のデータは文献²⁰⁾より引用改変)

られた。溶血試験で明らかな溶血亢進(50%以上)を認めた10例中7例にCFH異常や抗CFH自己抗体を認めたことから、CFH関連異常の同定には溶血試験が有用であることが示された。19例の患者にC3変異を認め、そのうち16例はI1157Tという同じ変異を有していた。興味深いことにC3異常を呈した症例はすべて関西圏の症例であった。なお、C3-I1157T変異は溶血試験では異常を示さなかったことから、本変異の同定にはRFLP解析(Restriction Fragment Length Polymorphism)が有用であった。現在までに約7割の症例でaHUSの原因と考えられる遺伝子変異が同定されているが、依然として原因不明の症例が約3割存在し、今後の検討課題として残されている。

治療

1. 血漿療法

aHUSに対する血漿療法〔血漿輸注(plasma infusion, PI)、血漿交換(plasma exchange, PE)〕は、2010年まではexpert opinionとして治療の第1選択として位置づけられ、診断後は24時間以内にPEを開始することが推奨されている¹⁶⁾。新鮮凍結血漿(fresh frozen plasma, FFP)の輸注は正常なCFH、CFI、CFB、C3の補充を行い、PEは前述した因子の補充に加え異常補体因子や抗CFH自己抗体の除去が可能となる。CFH欠損症例に対してはPIが有効であり¹⁶⁾、抗CFH自己抗体陽性症例に対してはPEと免疫抑制療法の併用が効果的であるとされている¹⁷⁾。異常因子別に血漿療法の効果を表1に示すが、いずれも決して満足できる

ものではなく、膜結合型タンパク質であるMCPに限っては血漿療法の適応はない。遺伝子解析による異常部位の同定には時間を要するため、実際にはSTEC-HUSや肺炎球菌に伴うHUSが否定された時点で血漿療法を開始することになる。

2. エクリズマブ

エクリズマブ(商品名ソリリス[®]、アレクシオンファーマ)は補体C5に対するヒト化モノクローナル抗体であり、元来、発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)の治療薬として本邦では2010年に承認された。エクリズマブは補体C5の分解とそれに伴う膜侵襲複合体の形成を阻害する一方で、微生物のオプソニン化や免疫複合体のクリアランスに必要な近位補体経路には影響を与えない。

欧米では、2009年頃からaHUSに対するエクリズマブの有効性が次々と報告され¹⁸⁾¹⁹⁾、2011年にaHUSの治療薬として承認された。2013年には37名のaHUS患者を対象とした第II相臨床試験の結果が報告された²⁰⁾。患者は、血漿療法を行ったものの血小板の低値と腎障害を認めた17例(Trial 1)と、定期的な長期の血漿療法を受け、血小板数は正常であるが腎障害を認める20例(Trial 2)の2群で評価された。その結果、Trial 1では投与後第26週で平均7.3万/ μ lの有意な血小板数の増加を認め、4例の患者が透析を離脱することが可能となった。Trial 2では、投与後26週目までに80%の患者がTMAイベントフリーとなり、いずれの群においても早期の投与がeGFRの改善に有用であった。

エクリズマブは本邦においても2013年9月に

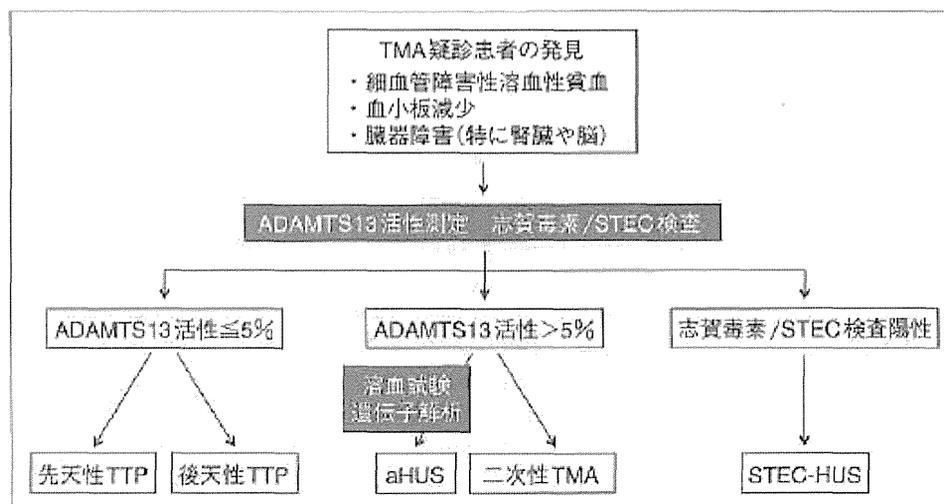


図2 TMA病態を示す疾患の診断フローチャート

TMAが疑われる症例については、まずADAMTS13活性測定とSTEC-HUSの検査を実施する。ADAMTS13活性が著減(≤5%)を示す症例ではTTPと診断し、インヒビターの有無により先天性か後天性かを判断する。TTPが否定され、STEC-HUSが否定された症例については、aHUSや二次性TMA(造血幹細胞移植後や自己免疫疾患などの基礎疾患に伴って発症するもの)の可能性が考えられる。補体活性化の制御異常を伴う先天性aHUSの確定診断においては、溶血試験や遺伝子解析の施行が必要である。

aHUS治療の薬剤として保険適用となり、治療が奏効した症例が報告されている²¹⁾。aHUSの新たな治療薬としてその効果が期待されるが、非常に高額な薬剤であるということを忘れてはいけない。最近、造血幹細胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)後のTMAに対する本薬剤の有効性を示す報告がなされたが、これはHSCT-TMA症例の中でも抗CFH自己抗体陽性、もしくはCFHR1/3領域の欠損症例に対する報告である²²⁾。そのため、補体異常との明らかな関連性が示されない時点では、HSCT-TMA症例に対する本薬剤の安易な使用は慎むべきであると考え。また、本邦におけるエクリズマブの保険適用取得のための治験で対象とされた症例はすべて補体制御因子異常を呈するaHUSであったが、最近ではこれ以外のaHUSに対する本薬剤の使用が見受けられる。このような状況を受け、2014年6月にaHUS診断基準作成委員会よりエクリズマブ使用に関する注意喚起文が公表された。これには、補体異常を同定するにはある程度の時間を要するため急性期に本薬剤を使用する状況は想定されるが、長期的な投与に際しては補体制御因子のタンパク質学的解析ならびに遺伝子解析

を行い、その結果をふまえた上で慎重に判断することが重要であると明記されている。

3. 腎移植

aHUSでは遺伝子変異の違いにより、腎移植後の再発率が異なる²³⁾。そのため移植前には原因遺伝子の検索が必要であり、実際、われわれが解析を行ったaHUS症例の中にも家族間の生体腎移植を予定していたが、ドナーとなる親に患者と同様の遺伝子異常が同定され移植が中止となったケースが存在する。2012年には、22症例についてエクリズマブ使用に関するまとまった報告がなされ、移植後の再発例や再発予防における本薬剤の有用性が示されている²³⁾。

おわりに

補体活性化の制御不能がaHUSの根底をなすことが示され、TTP、STEC-HUS、aHUSの病態をより明確に区別することが可能となってきた(図2)。それに伴い、個々のTMA病態に適した診断・治療が可能となりつつある。今後、aHUSに関しては本邦における患者の遺伝子異常別の疾患背景を明らかにし、治療成績等のデータを集積する必要があると考える。

文 献

- 1) Gasser C, Gautier E, Steck A, et al. [Hemolytic-uremic syndrome : bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia]. *Schweiz Med Wochenschr* 1955 ; 85 : 905. German.
- 2) Loirat C, Frémeaux-Bacchi V. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2011 ; 6 : 60.
- 3) Stühlinger W, Kourilsky O, Kanfer A, Sraer JD. Letter : Haemolytic-uraemic syndrome : evidence for intravascular C3 activation. *Lancet* 1974 ; 2 : 788.
- 4) Kavanagh D, Goodship TH, Richards A. Atypical haemolytic uraemic syndrome. *Br Med Bull* 2006 ; 77-78 : 5.
- 5) Caprioli J, Noris M, Brioschi S, et al. Genetics of HUS : the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood* 2006 ; 108 : 1267.
- 6) Jozsi M, Licht C, Strobel S, et al. Factor H autoantibodies in atypical hemolytic uremic syndrome correlate with CFHR1/CFHR3 deficiency. *Blood* 2008 ; 111 : 1512.
- 7) Richards A, Kathryn Liszewski M, Kavanagh D, et al. Implications of the initial mutations in membrane cofactor protein (MCP ; CD46) leading to atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol* 2007 ; 44 : 111.
- 8) Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 1676.
- 9) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, et al. Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 361 : 345.
- 10) Goicoechea de Jorge E, Harris CL, Esparza-Gordillo J, et al. Gain-of-function mutations in complement factor B are associated with atypical hemolytic uremic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007 ; 104 : 240.
- 11) Frémeaux-Bacchi V, Miller EC, Liszewski MK, et al. Mutations in complement C3 predispose to development of atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2008 ; 112 : 4948.
- 12) Lemaire M, Frémeaux-Bacchi V, Schaefer F, et al. Recessive mutations in DGKE cause atypical hemolytic-uremic syndrome. *Nat Genet* 2013 ; 45 : 531.
- 13) Sánchez-Corral P, González-Rubio C, Rodríguez de Córdoba S, López-Trascasa M. Functional analysis in serum from atypical Hemolytic Uremic Syndrome patients reveals impaired protection of host cells associated with mutations in factor H. *Mol Immunol* 2004 ; 41 : 81.
- 14) Fan X, Yoshida Y, Honda S, et al. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol* 2013 ; 54 : 238.
- 15) Ariceta G, Besbas N, Johnson S, et al. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009 ; 24 : 687.
- 16) Nathanson S, Frémeaux-Bacchi V, Deschênes G. Successful plasma therapy in hemolytic uremic syndrome with factor H deficiency. *Pediatr Nephrol* 2001 ; 16 : 554.
- 17) Dragon-Durey MA, Sethi SK, Bagga A, et al. Clinical features of anti-factor H autoantibody-associated hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2010 ; 21 : 2180.
- 18) Gruppo RA, Rother RP. Eculizumab for congenital atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 360 : 544.
- 19) Nürnberger J, Philipp T, Witzke O, et al. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2009 ; 360 : 542.
- 20) Legendre CM, Licht C, Muus P, et al. Terminal complement inhibitor eculizumab in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 2169.
- 21) Udagawa T, Motoyoshi Y, Matsumura Y, et al. Effect of Eculizumab and recombinant human soluble thrombomodulin combination therapy in a 7-year-old girl with atypical hemolytic uremic syndrome due to anti-factor H autoantibodies. *CEN Case Reports* 2014 ; 3 : 110.
- 22) Jodele S, Licht C, Goebel J, et al. Abnormalities in the alternative pathway of complement in children with hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* 2013 ; 122 : 2003.
- 23) Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, et al. Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant* 2012 ; 12 : 3337.

