

気管支喘息における体液因子に関する研究

第 2 編

補体系 C3 ($\beta_{1C/1A}$), C4 (β_{1E}) 値の変動について

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

石 橋 健

(平成 3 年 1 月 14 日受稿)

Key words: 気管支喘息, C3, C4

緒 言

気管支喘息の発症機序の 1 つとして, IgE 抗体の関与する即時型アレルギーの関与が示唆されている。この IgE 抗体による I 型アレルギーには補体は関与していないとされており, 補体面からの気管支喘息についての研究はほとんどなされてなかった。近年気管支喘息の発症機序として, III 型¹⁾²⁾, IV 型アレルギー反応³⁾⁴⁾の関与, IgG 抗体の関与⁵⁾⁶⁾, さらに alternative pathway の関与⁷⁾⁸⁾⁹⁾などが注目されるようになってきたが, 発症機序における補体系の関与については, なおほとんど解明されていない。今回著者は, 気管支喘息の発症病態の一端を解明する目的で, 補体成分 C3 ($\beta_{1C/1A}$), C4 (β_{1E}) の気管支喘息における変動について検討を加え, その病態との関連について若干の知見を得たので報告する。

対象と方法

1. 対象

対象は岡山大学第 2 内科及び関連病院へ入院中または外来通院中の気管支喘息患者 105 例 (男 52 例, 女 53 例, 平均年齢 46.5 歳) である。また対照としてはアレルギー素因のみられない健康人 23 名 (男 15 名, 女 8 名, 平均年齢 30.8 歳) を選んだ。

2. 方法

測定方法は, C3, C4 とも Mancini の一元免

疫平板拡散法¹⁰⁾による M-Partigen Plate (Behringwerke) を使用して測定した。採血は原則として早朝空腹時に行ない, 血清を分離し, 測定まで -20°C に凍結保存した。測定は採血後 2 週間以内に行ない, 溶血のみられた検体や, 凍結融解を 2 回以上繰り返した検体は使用しなかった。まず既知量の両蛋白を含有する標準血清を三段階に希釈し, また被検血清は室温で融解し, 0.85% の食塩水で C3, C4 とも 2 倍に希釈して用いた。検体を $2\mu\text{l}$ ずつ $10\mu\text{l}$ 容量のマイクロシリンジを用いて, M-Partigen Plate の小孔に注入し, 室温下で水平面上に 48 時間静置した後に, 沈降輪の直径を 0.1mm 目盛りのスケールで計測した。各濃度の標準血清から得られた値より標準直線を作成し, 各被検血清の値を算出した。気管支喘息例は原則として非発作期に測定した。

結 果

1. 健康人における血清 C3, C4 値

健康人 23 名の C3, C4 値を測定した結果, C3 は $80.8 \pm 14.5\text{mg/dl}$, C4 は $32.5 \pm 9.2\text{mg/dl}$ (Mean \pm SD) であった (図 1, 2)。男女別に分けて検討してみると, 男 (15 名, 平均年齢 31.9 歳) では C3 は $82.3 \pm 13.9\text{mg/dl}$, C4 は $31.1 \pm 9.3\text{mg/dl}$, 女 (8 名, 平均年齢 28.9 歳) では, C3 は $78.0 \pm 16.3\text{mg/dl}$, C4 は $31.4 \pm 9.4\text{mg/dl}$ であり, C3 と C4 とも男女間に有意差はみられなかった (図 3)。

2. 気管支喘息患者における C3, C4 値

1) 全症例における C3, C4 値

気管支喘息患者105例のC3の平均値は $86.4 \pm 18.9 \text{mg/dl}$, C4は $35.8 \pm 8.3 \text{mg/dl}$ で、健康人と比べて有意差は認められなかった(図1, 2). また, C3とC4との間の相関は $r=0.374$ で、相関関係は認められなかった.

2) 年齢別による検討

気管支喘息患者全症例を年齢別に, 0~19歳(6例), 20~29歳(10例), 30~39歳(10例),

40~49歳(34例), 50~59歳(22例), 60歳以上(23例)に分けて検討した結果, C3は図1に示す如くであり, 健康人と比較して有意差は認められなかった. C4は図2に示す如くで, 健康人と比較して60歳以上で有意の高値($P<0.01$)が認められたが, 他の年齢層には健康人との間に有意差は認められなかった.

3) 性別による検討

男女別に分けて検討してみると, C3は男 $90.4 \pm 22.4 \text{mg/dl}$, 女 $82.6 \pm 13.9 \text{mg/dl}$ で男性は女性に

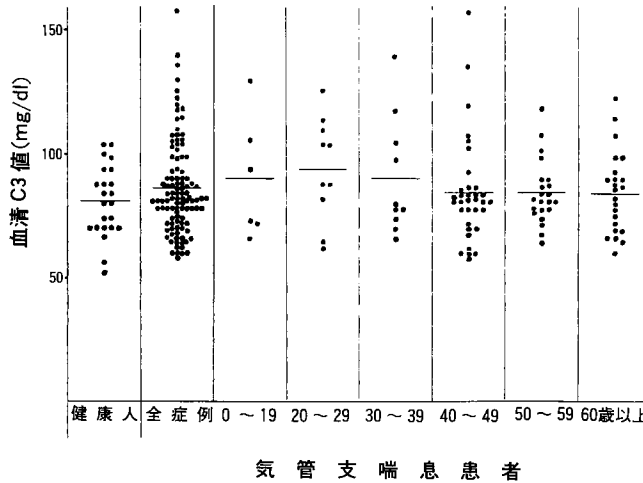


図1 健康人及び気管支喘息患者(年齢別)の血清C3値

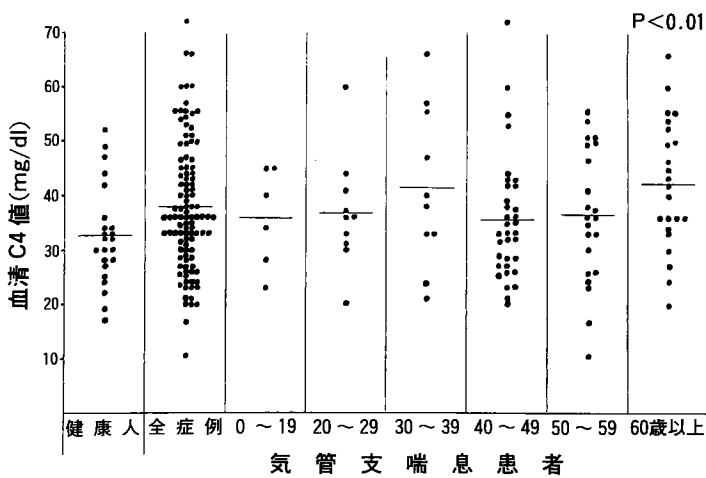


図2 健康人及び気管支喘息患者(年齢別)の血清C4値

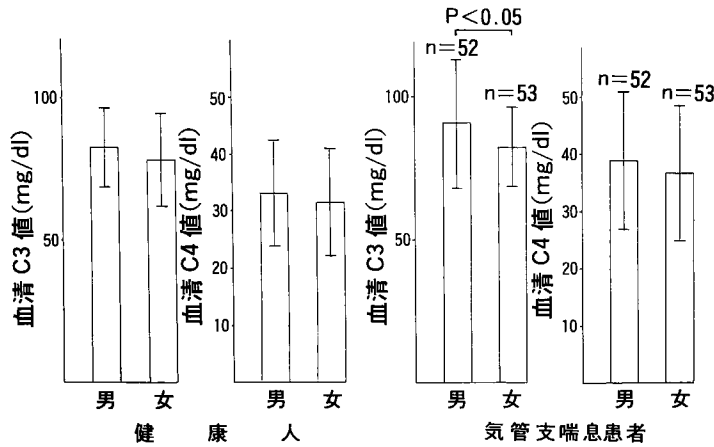


図3 健康人及び気管支喘息患者の男女別血清 C3, C4 値

比して有意に高値(P<0.05)が認められた。C4は男 $39.0 \pm 12.1 \text{ mg/dl}$ 、女 $36.8 \pm 11.8 \text{ mg/dl}$ と両者間に有意差は認められなかった(図3)。

4) 気管支喘息の病型別(アトピー型, 混合型, 感染型)による検討

Swinfordの分類¹¹⁾により, アトピー型(18例, 平均年齢28.1歳), 混合型(20例, 平均年齢49.1歳), 感染型(12例, 平均52.4歳)に分類し検討した結果は図4に示す如くで, 健康人と比較して, いずれにも有意差は認められなかったが, C3とC4の相関関係で, 混合型において $r = 0.515$, 感染型において $r = 0.773$ とそれぞれ有意の相関(P<0.01)が認められた(図5, 6)。しかしアトピー型においては $r = 0.382$ で有意の相関は認められなかった。

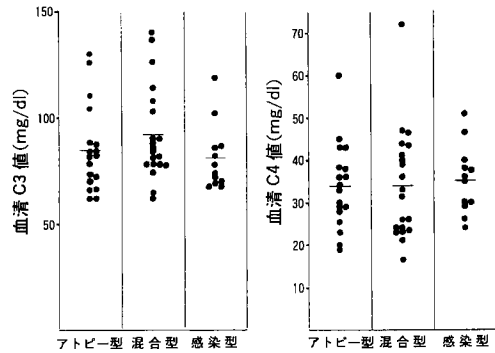


図4 病型別(アトピー型, 混合型, 感染型)の血清 C3, C4 値

5) 血清 IgE 値による検討

血清 IgE 値を400IU/ml以下, 401~1000IU/ml, 100IU/ml以上の三群に分けて検討してみると, 図7に示す如くであり, 健康人と比較すると, 3群において, C3, C4ともいずれも有意差がみられなかった。またこの3群の群間で比較してみたが, 有意差はみられなかった。また血清 IgE 値とC3, C4値との間に相関関係は認められなかった。

6) 喘息発作と血清 C3, C4 値

(1) 重症度との検討

日本アレルギー学会重症度判定委員会案¹²⁾に

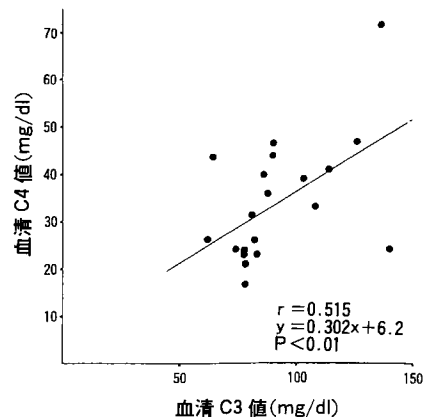


図5 混合型の非発作期における C3 と C4 の関係

もつぎ、気管支喘息患者を軽症（17例，平均年齢40.5歳），中等症（11例，平均年齢49.5歳），重症（19例，平均年齢43.2歳）に分類して検討してみると図8に示す如くであり，健康人と比較すると，C3，C4ともいずれにも有意差は認められなかった．3群でそれぞれのC3とC4の相関を検討してみると，軽症例で $r=0.534$ と有意な相関（ $P<0.05$ ）が認められ（図9），また重症例でも $r=0.587$ と有意な相関（ $P<0.01$ ）が認められた（図10）が，中等症例では相関はみられなかった．

(2) 発作の有無での検討

気管支喘息の発作期にC3，C4を測定して，各病型別，重症度別，ステロイド薬使用の有無等に分けて，その非発作期と同一例で比較検討した．

図11，12に示す如く，アトピー型，混合型においてはC3，C4ともにその発作期，非発作期との間に有意差は認められなかったが，感染型（7例，平均年齢49.0歳）では，非発作期のC3 $79.9 \pm 12.7 \text{ mg/dl}$ ，C4 $33.9 \pm 9.5 \text{ mg/dl}$ から，発作期にC3 $101.6 \pm 17.4 \text{ mg/dl}$ ，C4 $49.9 \pm 6.5 \text{ mg/dl}$ と上昇がみられ，推計学的にC3，C4ともに発作期で有意な上昇（ $P<0.05$ ）が認められた．

重症度別で検討すると，図13，14に示す如くであり，軽度と中等症では，C3，C4ともに非発作期と発作期との間には有意差は認められなかったが，重症（15例，平均年齢41.4歳）では，非発作期のC3 $86.4 \pm 18.3 \text{ mg/dl}$ ，C4 $28.1 \pm 6.8 \text{ mg/dl}$ から，発作期にC3 $104.9 \pm 25.2 \text{ mg/dl}$ ，C4

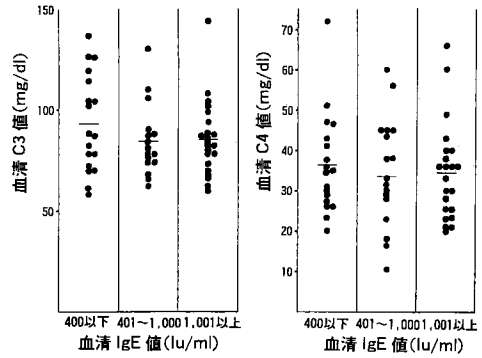


図7 血清 IgE 値と気管支喘息患者の血清 C3，C4 値

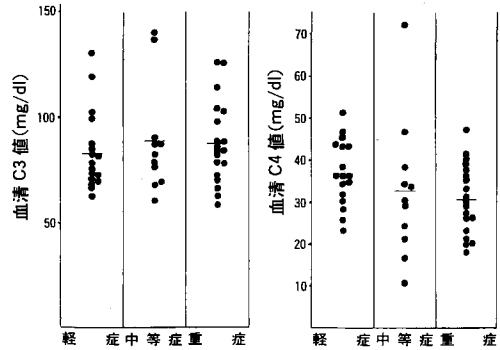


図8 気管支喘息患者の重症度と血清 C3，C4 値

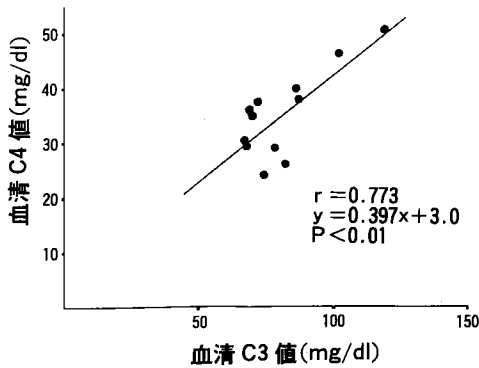


図6 感染型の非発作期における C3 と C4 の関係

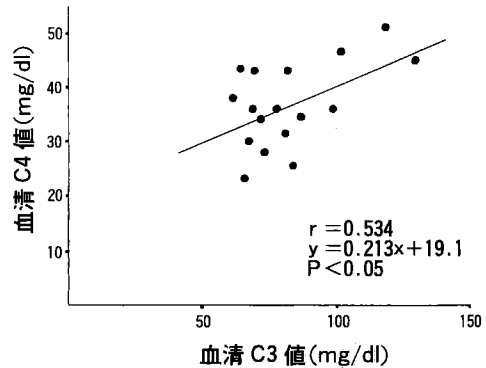


図9 軽症の非発作期における C3 と C4 の関係

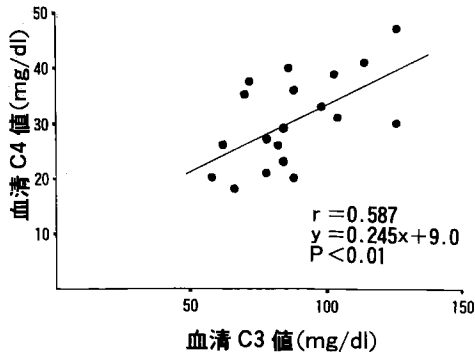


図10 重症の非発作期における C3 と C4 の関係

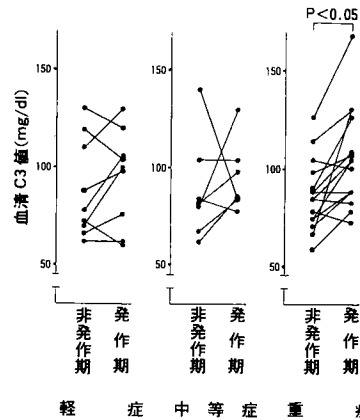


図13 気管支喘息患者の重症度別の非発作期と発作期における C3 値

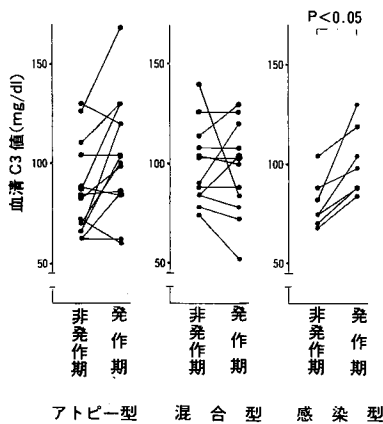


図11 気管支喘息患者の病型別（アトピー型、混合型、感染型）の非発作期と発作期における血清 C3 値

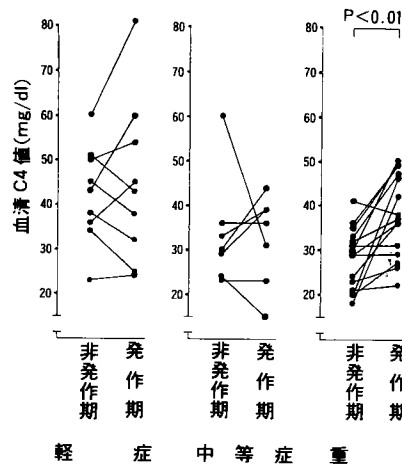


図14 気管支喘息患者の重症度別の非発作期と発作期における血清 C4 値

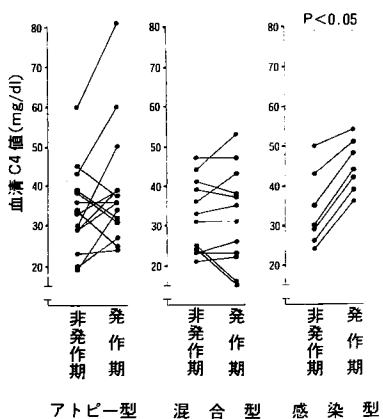


図12 気管支喘息患者の病型別（アトピー型、混合型、感染型）の非発作期と発作期における血清 C4 値

37.5±9.1mg/dlと上昇し、C3でP<0.05、C4でP<0.01の有意な上昇が認められた。

ステロイド薬非使用例と使用例について、その発作期と非発作期について検討してみると、図15、16に示す如く、ステロイド薬非使用例では、C3、C4ともに非発作期と発作期との間に有意差は認められなかったが、ステロイド薬使用例（14例、平均年齢43.4歳）では非発作期のC3 85.5±18.1mg/dl、C4 30.1±7.7mg/dlから発作期にC3 103.1±25.2mg/dl、C4 39.1±8.1mg/dlと上昇し、C3でP<0.05、C4でP<0.01

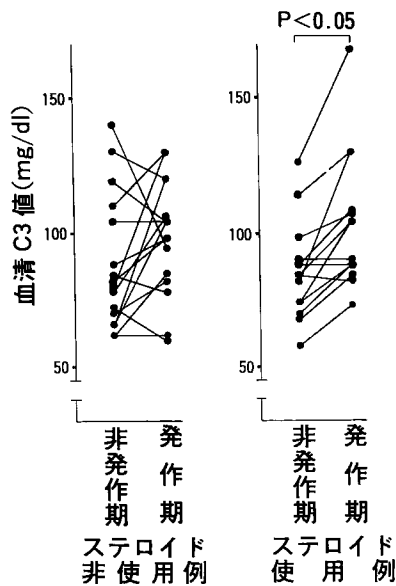


図15 気管支喘息患者のステロイド薬使用の有無における非発作期、発作期の血清 C3 値

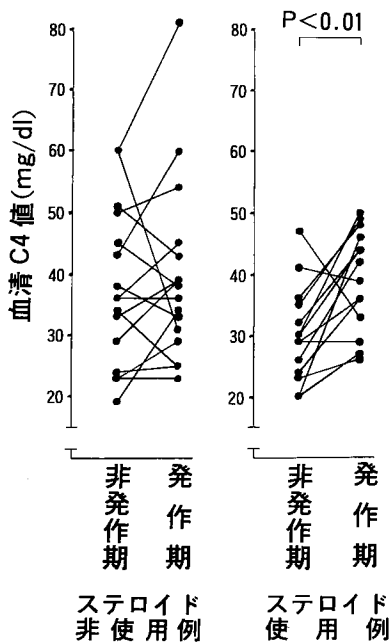


図16 気管支喘息患者のステロイド薬使用の有無における非発作期、発作期の血清 C4 値

の有意の上昇が認められた。

考 察

気管支喘息の発症機序としては、I型アレルギー反応、すなわちIgE抗体による反応系の存在が明らかにされており、IgE抗体のFc部分はMast cellやBasophileに付着し、抗原と反応することにより、HistamineやSerotonineやSRS-A(LTC₄, LTD₄, LTE₄)などのchemical mediatorを放出し、それによって気管支の攣縮が起こると考えられている。この反応には補体系は関与しないとされており、補体面からの検討はあまりなされてなかった。しかし、補体系は、補体そのものの直接作用、classicalないしalternative pathwayを通じての作用により、気管支喘息の発症機序に関与している可能性も考えられる。1968年、JorisuがC3 inactivatorによりP-K反応が一部抑制されたと報告¹³⁾している。また、C3のフラグメントであるC3aにはBasophilやMast cellに作用してHistamineを遊離させ、平滑筋攣縮や毛細血管透過性を増加させたりするanaphylatoxin活性¹⁴⁾や、好中球遊走因子¹⁵⁾が認められている。さらに1971年にはMalleyが、C3 inactivatorや、抗C3血清によりレアギンで感作したサル肺組織からのHistamine遊離が抑制されたと報告¹⁶⁾、翌1972年にはIshizakaらにより、IgE骨髄腫蛋白を重合させ反応させると、明らかに補体を結合し、その場合、C1, C4, C3, の低下はみられず、C3~C9の活性の低下が認められたとの報告がなされ⁷⁾、IgEはalternative pathwayを活性化することが考えられた。又、Kayらは、1974年、93名の喘息患者の補体を測定し、成人の気管支喘息患者ではC4値は低くなると報告し¹⁷⁾、気管支喘息へのclassical pathwayの関与が示唆された。

I型アレルギーとclassical pathwayの関連としては、永木らのIgE骨髄腫患者のIgEが人血清のclassical pathwayを活性化するという報告¹⁸⁾があり、I型アレルギーとalternative pathwayに関しては、井上らによる気管支喘息患者のalternative pathway活性とproperdin値についての研究報告⁸⁾や、Bostoffらの、気管

支喘息患者における IgE 免疫複合体による alternative pathway 活性化の報告⁹⁾があり、I 型アレルギーと classical, alternative 両 pathway の関与があるとする Bhat らの喘息患者における吸入誘発試験での報告¹⁹⁾も認められる。また、補体と III 型アレルギーの関与についての報告としては、Callera らの気管支喘息患者の気管支に補体成分や免疫複合体の沈着がみられたという報告¹⁾や、Pepys らの、気管支肺アスペルギルス症における研究報告²⁾がみられる。そのほか、補体成分のフラグメントである C5a 刺激による肺からのロイコトリエン (LTC₄, D₄, E₄) の遊離²⁰⁾²¹⁾と、Histamine の遊離²¹⁾²²⁾が報告されており、それによると、C5a 刺激によりヒト好塩基球は含有 Histamine の 70% までを放出するとのべている。また、C5a の気管支収縮作用は Histamine を介さないでも起こると報告²³⁾もみられる。

このように種々の報告がみられ、補体と気管支喘息の発症に関して一致した見解はないが、補体と気管支喘息は何らかの機序で関係があると思われる。

今回の気管支喘息患者の C3, C4 を年齢別に検討した結果では、C3 は年齢別に有意差はみられなかったが、C4 では 60 歳以上で高値を示した。late onset asthma で C4 が上昇するという報告²⁴⁾があり、60 歳以上は late onset が多く、一致する所見と思われる。性別による検討では、C3 で男性は女性より有意に高値が認められたが、C4 では男女間に差はみられなかった。

喘息の病型別での C3, C4 の検討では、どの病型にも健康人と差はみられなかったが、感染型においては、その発作期に、非発作期に比べて有意の上昇が認められた。アトピー型と混合型には、発作期に変動はみられなかった。C3, C4 は acute phase reactant としての一面もみられ²⁵⁾、また、CRP が classical pathway を活性化することが報告²⁶⁾されており、感染により CRP が上昇し、classical pathway が活性化され、その後の反応性の補体の産生増加で、C3, C4 が上昇したとも考えられる。

重症度による検討では、非発作期には、いずれも健康人と差はみられなかった。非発作期と

発作期を比べてみると、軽症と中等症には差は認められなかったが、重症例では、非発作期に比べて発作期で、C3, C4 とも有意の高値が認められた。重症例では感染性の素因が多く、その影響を受けているのか、また、手術等のストレスで補体の上昇が報告されている²⁵⁾²⁶⁾ので、重症発作のストレスによる影響かも知れない。

ステロイド薬非使用例と使用例についての検討では、C3, C4 とも非発作期には変化はみられなかったが、ステロイド薬使用例の発作期には、C3, C4 とも有意に高値が認められた。ステロイド薬使用例は、重症例がほとんどで、感染型も多くふくまれ、重症例、感染型の発作期の C3, C4 の上昇とも一致するところである。

以上、総合的に考えると、C3, C4 の変化は、いずれも感染型、重症、ステロイド薬使用例の発作期において高値が認められ、補体の活性化された後の産生の増加をとらえているとすれば、C3, C4 とも変化しているので classical pathway の活性化が考えられる。しかし、IgE 高値群とアトピー型で C3, C4 の変動がみられないところより、IgE による補体の活性化はないと考えられる。

補体活性化による補体の消費は早く、持続的な活性化がなければ、その消費をとらえることは困難である。補体成分の低値を気管支喘息患者においてとらえた報告は少ない²⁴⁾²⁸⁾。変化がなかったとする報告²⁹⁾³⁰⁾や、上昇が認められたとする報告³¹⁾³²⁾がみられる。また、抗原投与による気管支喘息の誘発試験で、補体の活性化をとらえた報告³³⁾³⁴⁾や、反対に、誘発試験で補体の活性化はみられなかったとする報告³⁵⁾³⁶⁾も認められる。このようにさまざまな結果となる原因は不明であるが、一つには、血清補体成分の値は、主に合成と分解消費の結果を反映した値をみており、補体の活性化による消費と、その後の反応的合成亢進の時期と、CRP 等による刺激による変化と、ストレスによる産生増加等の影響を受けて、さまざまに変動すると考えられる。従って、なお一層、種々の影響する因子を一定にそろえて研究する必要があると思われる。

結 論

気管支喘息患者において、血清 C3, C4 値の病態生理学的意義について検討を行ない、下記の結論をえた。

1. 気管支喘息患者において、C4 は60歳以上で高値を示した。
2. C3 は、男性患者が女性よりも高値を示した。
3. C3, C4 ともに、感染型、重症、ステロイド薬使用群の非発作期で正常範囲にあったが、発作期では有意に上昇が認められた。
4. 混合型、感染型、軽症、重症のそれぞれの非発作期において、C3 と C4 には有意の相

関が認められた。

以上により、気管支喘息患者の、血清 C3, C4 値を測定することは、その病態生理を把握する上で有用と考えられた。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表するとともに、終始御懇篤なる御指導を賜った三朝分院内科谷崎勝朗教授に深謝いたします。

なお本論文の要旨は、第26回日本アレルギー学会総会、第63回日本内科学会中国地方会において発表した。

文 献

- 1) Callerame ML, Condemni JJ, Bohrod MG et al. : Immunologic reactions of bronchial tissue in asthma. *N Eng J Med* (1971) **284**, 459.
- 2) McCarthy DS and Pepys J : Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Clinical immunology : 2 akin, nasal and bronchial tests. *Clinical Allergy* (1971) **1**, 415.
- 3) Popa V et al. : Bronchial asthma and asthmatic bronchitis determined by simple chemicals. *Dis Chest* (1969) **56**, 395.
- 4) Kabe J et al. : Relationship of dermal and pulmonary sensitivity to extract of candida albicans. *Amer Rev Resp Dis* (1971) **104**, 348.
- 5) Bryant D et al. : *Br Med J* (1973) **4**, 589.
- 6) 木村郁郎, 他 : アレルギー (1976) **25**, 70.
- 7) Ishizaka T : Complement Firation by Aggregated IgE through Alternative Pathway. *J Immunology* (1972) **108**, 848.
- 8) 井上貞久, 手嶋秀毅 : 気管支喘息の補体系 — 特に Alternative pathway について —. 第15回補体シンポジウム抄録集 (1978) 71.
- 9) Bostoff J, Carin C, Wraith DG et al. : productive of IgE complex by allergen challenge in atopic patients and the effects of sodium cromoglycate. *Lancet* (1979) **i**, 1268.
- 10) Mancini G, Carbonara AO and Herenans JF : Immunochemical quantitation of antigens by single radial Immunodifusion. *Immunochemistry* (1965) **2**, 235—254.
- 11) Swineford OT : *Asthma and Hay Fever*, Charles C Thomas Publischer, Springfield, Illinois (1971) .
- 12) 北澤俊一, 田村昌士 : 重症度とその対処のしかた. *medical practice* (1986) **5**, 835—837.
- 13) Torisu M : *J Immunology* (1986) **101**, 1095.
- 14) Lichtenstein L et al. : Interaction of the complement system with endotoxin lipopolysaccharides : the generation of an anaphylaxin. *Immunol* (1969) **16**, 327.
- 15) Ward PA and Hill JH : C5 chemotactic fragments produced by an enzyme in lysosomal granules of neutrophils. *J Immunol* (1970) **104**, 535.
- 16) Molley A : The Role of Complement in Allergen-Reagen Mediated Histamine Release from Monkey Lung Tissue. *Proc Soc Exp Med* (1941) **136**, 341.

- 17) Kay AB et al. : Complement Component and IgE in Bronchial Asthma. *Lancet* (1974) **19**, 916.
- 18) 永木和義 : Alternative pathway ; 補体学, 稲井真彌ほか編, 医歯薬出版 (1982) pp 36—57.
- 19) Bhat KN : Histamine and complement changes in plasma during provoked bronchospasm in asthmatic patient. *Clin Res* (1975) **23**, 345.
- 20) Stimler NP, Bach MK, Bloor CM et al. : Release of leucotriens from guinea pig lung stimulated by C5a des Arg anaphylatoxin. *J Immunol* (1982) **128**, 2247.
- 21) Stimler-Gerard NP : Immunopharmacology of anaphylatoxin-induced bronchoconstrictor responses. *Complement* (1986) **3**, 137—151.
- 22) Damerou B : Biological activities of complement-derived peptides. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* (1987) **108**, 151—206.
- 23) Regal JF, Eastman AY and Pickering RT : C5a induced tracheal contraction : A histamine independent mechanism. *J Immunol* (1980) **124**, 2876—2878.
- 24) Srivastava N, Srivastava LM and Gupta SP : Studies on serum complement and IgE in bronchial asthma. *Clin Allergy* (1982) **12**, 569—576.
- 25) 右田俊介, 松島細治, 橋本 茂 : 炎症と血漿蛋白質 ; 炎症の化学伝達 (1), 高田明和ほか編, メディカルリサーチセンター (1983) pp 5—11.
- 26) Volanakis JE and Kaplan MH : Interaction of c-reactive protein complexes with the complement system. II, consumption of guinea pig complement by CRP complexes ; Requirement for human Clq. *J Immunol* (1974) **113**, 9.
- 27) Hashimoto S and Migita S : Changes of 39 serum protein components after surgical stress. Interaction with elastase, cortisol and neutrophil. *Acta Haemat Tap* in press (1979)
- 28) Weemaes CMR, Stoop JW and Benens L : Inactivation of hemolytic complement by house dust allergen in the serum of children with atopic disease. *Clinical Allergy* (1977) **7**, 75.
- 29) Delaney JC and Kay AB : Complement components and IgE in patients with asthma an aspirin indiosyncrasy. *Thorax* (1976) **31**, 425.
- 30) Godfrey RC and Hawkesley MR : C4 levels and classification of bronchial asthma. *Lancet* (1975) **22**, 464.
- 31) Trindate JC, Palma-Carlos ML, Palama-Carlos AG, Fereira NG, César-Ramos JM and Ribeiro L : Serial Study of the complement fraction C3, C4 and C3PA in allergic children (1). *Allergol Immunopathol* (1982) **10**(1), 43—52.
- 32) Castellota MC, Durán N, Barberá G and Jorralba A : Levels of complement fraction and immunoglobulins in asthmatic children undergoing hyposensitization. *Allergol Immunopathol* (1984) **12**(4), 259—266.
- 33) Arroyave CM, Stevenson DO, Vaughan JH and Jan EM : Plasma complement changes during bronchospasm provoked in asthmatic patients. *Clin Allergy* (1977) **7**, 173—182.
- 34) Hutchcroft BT and Guz A : Levels of complement components during allergen-induced asthma. *Clin Allergy* (1978) **8**, 59—64.
- 35) Alam R, Rozniecki J, Swatko A and Kuzminska B : Complement in allergen-induced bronchospasm in house-dust RAST negative asthmatic patients. *Allergol Immunopathol* (1983) **11**, 431—433.
- 36) Stalenheim G and Machado L : Late allergic bronchial reactions and the effect of allergen provocation on the complement system. *J Allergy Clin Immunol* (1985) **75**(4), 508—512.

**Clinical studies on serum factors in patients
with bronchial asthma**
**Part 2. Changes in serum levels of complement factors,
C3 ($\beta_{1C/1A}$), & C4 (β_{1E}) in patients with bronchial asthma**

Ken ISHIBASHI

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

Serum C3 and C4 levels were measured in 23 healthy subjects and 105 patients with bronchial asthma, by an immunodiffusion method using M-Partigen Plates.

The serum levels of C4 were significantly increased in patients over 60 years old compared to the healthy subjects.

The levels of C3 were significantly higher in male cases than in female cases with bronchial asthma. The serum levels of C3 and C4 in asthma patients with infectious type, in severe cases and in cases with steroid therapy were within the normal limits during non-attack periods, but significantly increased during attack periods.

In asthmatic patients with mixed and infectious type, and in mild and severe cases, a significant correlation was observed between the serum levels of C3 and C4 during their non-attack periods.