

綜 説

アレルギーと酵素

(蛋白分解酵素を中心として)

長崎大学医学部皮膚科教室 (主任: 野北通夫教授)

矢 村 卓 三

(受付: 7月11日, 1963)

1. まえがき

生体の細胞は動的平衡 (dynamic equilibrium) を保ち生命現象を維持している。その過程の多くが酵素作用により営まれていることは現在何人も疑わない。

生体内には無数の酵素系が存在しているが、その体系ははなはだ複雑で容易にその端緒が見出されなかつたが、最近の生化学分野の著しい進歩とともに次第に解明の兆が見えてきている。

アレルギー学の歴史のはじめに既に酵素学的仮説はあるが、はなはだ幼稚なもので、現在正しいと考えられるものは殆んどない。しかし今この問題を明解に説明しようとすることは遺憾ながら現在の医学の知識でははなはだ困難である。

アレルギー反応は抗原刺激により感作個体でおこる反応の総和であるが、物理的アレルギー、あるいはアナフィラキシー様現象においては抗体は不必要である。またアレルギーの重要な問題の中には感作、抗体形成の問題もあるが、アレルギー現象の全鎖 (Whole chain) の最終相がアレルギー反応である。

アレルギー病変は抗原-抗体反応により直接おこるのではなく、抗原-抗体反応により細胞あるいは体液からある化学物質 (mediators) の遊離によつておこってくる。この中最もよく知られているものにヒスタミンがあるが、現在多くの研究者はアレルギー病変の病理に他の mediators の関与していることを知っている。最近発見された 5-hydroxytryptamine (セロトニン) のほかに多くのペプチド (bradykinin, Kallidin, leukotaxin, など) がある。これらは通常結合型あるいは不活性型として存在し、アレルギー刺激によつて活性化され、アレルギー病変をおこしてくる。これら機序について Ungar および矢村は図 1 及び図 2 C の如く考え実験を行つてい

る。

図 1

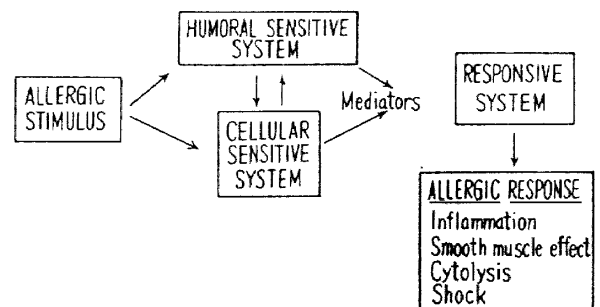
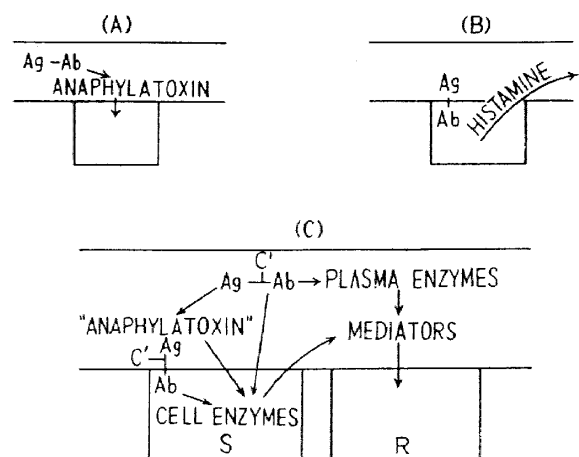


図 2 アレルギー反応発現機序の考えの変遷



A—1909年 Friedberger による血清中のアナフィラトキシン説

B—1922年 Dale による血清アナフィラトキシン説から細胞説に移行

C—このような考えで実験している。

Ag—抗原, Ab—抗体, C'—補体, S—感作

R—反応

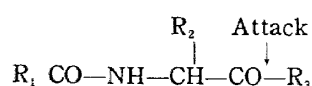
以下蛋白分解酵素系を中心として眺めてみたい。

2. 蛋白分解酵素 (Proteases, proteolytic enzymes)

protease あるいは proteolytic enzyme は一般にペプチド結合を加水分解する酵素の総称で消化性蛋白分解酵素トリプシン、キモトリプシンをはじめ、窒素源として蛋白質を利用出来るすべての動植物および微生物に広く分布している。

蛋白質、ポリペプチドに対し、そのペプチドを遊離しつつ大きく切断するものをさらにエンドペプチダーゼ (endopeptidase) と呼び、アミノ基又はカルボキシル基末端からアミノ酸を遊離しつつ逐次分解を進めてゆくものをエキソペプチダーゼ (exopectidase) と呼んでいる。一般にエンドペプチダーゼおよび2, 3のエキソペプチダーゼによって加水分解される基質はつぎの一般式をもっている (図3 ↓印が切断個所)。

図 3



生体内の蛋白分解酵素は大別して2種類となる。一つは細胞に起因する細胞性蛋白分解酵素 (cellular proteases) で、他は血清あるいは血漿中に存在する circulating proteases である。後者の中最もよく知られているものにプラスミン (plasmin) あるいは線維素溶解酵素 (fibrinolysin) がある。プラスミンは血清あるいは血漿中において一定の体型を保って存在している (プラスミンについては既に記載した¹⁾ のでここでは割愛する)。

細胞では古くから酸性で活性化するかテプシン (cathepsins) と呼ばれる蛋白分解酵素が知られている。カテプシンは元来自家融解酵素で細胞の死後 pH がその有効域に落ちると活性化してくると信じられていた。しかし最近組織蛋白分解酵素の多くが生理学的 pH 域値で活性化することがわかってきた。これらの酵素はしばしばカテプシン C (cathepsin C) と呼ばれている。

血漿蛋白分解酵素あるいはトリプシン、パパインなどの細胞外蛋白分解酵素が如何にして生体細胞に働くかは不明であるが、最近の見解によるとこれらの酵素は細胞内に入らないで細胞膜に働き、細胞内蛋白分解酵素を活性化し、ヒスタミンを遊離した他の変化をおこしてくると信じられている。

蛋白分解酵素の研究においてさらに困惑をきたすことは生体反応としてその蛋白分解酵素の活性化と同時にその抑制物質が出現してくることである。一般に蛋白分解

酵素抑制物質は2つの異った方法で働いている。一つは酵素と化学量論的結合 (stoichiometric combination) によつてその複合体を作っている。

この好例は膵臓性トリプシン抑制物質で酵素—抑制物質複合体は可逆的あるいは不可逆的結合をする。他の抑制物質は酵素自体で蛋白分解酵素を加水分解することにより不活性化する。

皮膚の蛋白分解酵素は1917年 Sexmith および Peterson²⁾ により報告され、最近 Beloff および Peters³⁾, Fruton⁴⁾, Zamecrik など⁵⁾, Wells および Babcock⁶⁾, Cullumbine など⁷⁾, Martin および Axelrod⁸⁻¹²⁾, 林など^{13) 14)} および矢村など^{15) 16) 17)} により報告されている。又数種の蛋白分解酵素^{2) 6) 8) 9) 10) 11) 12) 15) 16)} が皮膚から分離されている。

3. 抗原—抗体反応と酵素

Mongar および Schild¹⁸⁻²²⁾ は抗原に対する細胞反応は酵素によつていていることを示した。すなわち感作組織からの抗原によるヒスタミン遊離はシアン化物をはじめとする多くの代謝毒により抑制され、また一定の温度、一定の pH 内でのみおこることを明にした。すなわちヒスタミン遊離は20~42°C内でのみおこり、至適 pH は 7.4 ~ 7.6 で 6.5以下あるいは 8.5以上ではおこらない。

これに反し合成ヒスタミン遊離物質によるヒスタミン遊離は酸素欠乏あるいはシアン化物によつて増大し、又 42°C以上でも温度の上昇と共にその遊離は増加してくる。

又細胞のアレルギー反応は Ca を必要とし、chelating agent である ethylene diamine tetraacetic acid により完全に抑制される。

以上の実験結果より抗原による感作組織からのヒスタミン遊離は酵素学的機序によつていていると解釈した (図4)。Humphrey²³⁾ はこれをやゝ改良して図5の如き仮

図 4

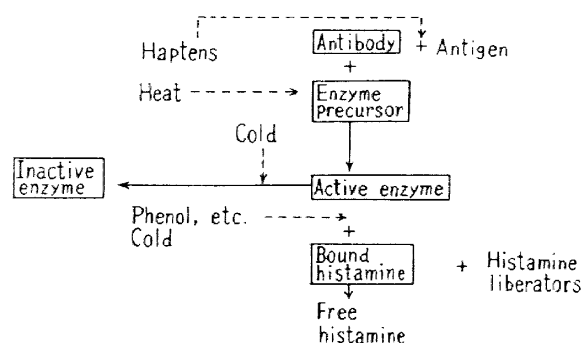
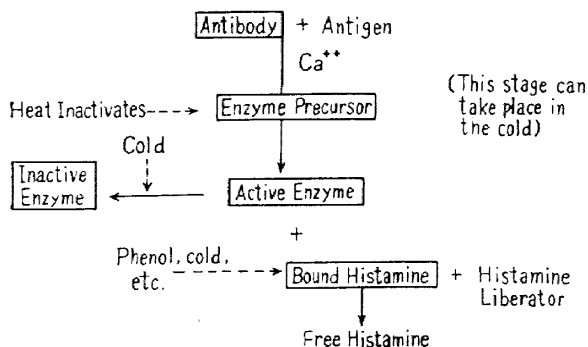


図 5



説をたてている。抗原と抗体の結合はヒスタミン遊離をはじめとし、アレルギー反応を触媒するある酵素系の活性をきたすが、活性化した酵素は短命でアレルギー反応中急速に不活性化されると彼等は述べている。

Richet²⁴⁾はアナフィラキシー・ショックは全身麻酔下で抑制されるかあるいは減弱されることを観察した。すでに述べた如く合成ヒスタミン遊離物質はシアン化物の存在下でも細胞からヒスタミン遊離をおこしてくる。これに反し抗原-抗体反応は酸素のないところあるいは代謝抑制物質のあるところでもおこるが細胞からのヒスタミン遊離をおこしてこない。これらの事実は感作細胞は形態学的に、代謝的に完全でない限り抗原刺激に反応しない。すなわちその細胞の興奮性 (excitability) を維持出来る生きた細胞、しかも正常代謝機能を有する完全な細胞でのみおこることを意味している。

アレルギー反応においては抗原-抗体反応により、その細胞の興奮の結果、mediators (ヒスタミン、セロトニンなど) が遊離し、アレルギー反応がおこつてくると考えられる。

アレルギー反応における蛋白分解酵素の活性化を証明した最初の人 *Ungar*²⁵⁾ は1947年感作モルモットの肺、肝、腎切片に抗原を加えその活性化をみている。*林*^{14) 25)} はウサギ皮膚における Arthus 現象において炎症の最盛期に局所皮膚のオイグロブリン分層に著明な蛋白分解酵素があることを認めた。この皮膚の蛋白分解酵素は24時間でその最高に達し、2日後に減少し、3日目は消失するばかりでなく、蛋白分解酵素の抑制物質を含有していることを観察した。

さらに *Ungar* および *矢村* など¹⁵⁾ はモルモットを感作し、感作1日目より48日目に至るモルモット血清および肺組織で抗原-抗体反応をおこない。その蛋白分解酵素力価は感作度に比例して上昇することを見出し、又 *矢村*¹⁷⁾ はうし皮膚炎患者と健康人皮膚について抗原-抗体

反応をおこない。前者にのみ蛋白分解酵素力価の上昇をみている。

以上のほか、抗原-抗体反応による蛋白分解酵素力価の上昇を見ている多くの報告^{26) 27) 28)} がある。

酵素学的用語でアレルギーを説明せんとする道を開いたのは *Rocha e Silva*²⁹⁾ である。すなわちトリプシンの注射によってアナフィラキシー様現象をおこしたのは1940年である。それ以来トリプシンおよびババインによりモルモット肺、ウサギ血球および血小板からヒスタミン遊離が示された。不思議にプラスミンによるモルモット肺からのヒスタミン遊離は低い³⁰⁾。

蛋白分解酵素の活性化はアレルギー反応に特有なものではない。すなわちそれは外傷、熱傷および放射線傷害、細菌毒の如き組織侵襲のすべてにみられる。すなわち蛋白分解酵素の活性は生体の homeostatic balance を障害するすべての刺激に対する基本的な細胞および体液反応である。その機序の最後においてはアレルギー反応は傷害に対する細胞および体液反応と同じである。この唯一の相違は抗原刺激に対する個体の感作能である。

しかし細胞は抗原刺激に反応する方法と物理的あるいは化学的侵襲に反応する方向との間に差があることは考えられる。かかる相違の1つは抗原-抗体反応は形態学的、機能的に正常な細胞を必要とする。火傷の如き強い刺激はアレルギー反応で活性化されない酵素学的機序を含んでいるかも知れない。

4. Kinins (Bradykinin, Kallidin)

正常血清をいろいろと処理すると血管拡張、透過性亢進および滑平筋収縮作用を有する活性物質がおこつてくると言う多くの観察がある。実際すべてこれらの物質は酵素作用過程で作られるかあるいは酵素あるいは酵素を活性化するものそれ自体である。この内の、2つの非常に活性を有するポリペプチドである bradykinin および kallidin は正常血清ではその前段階物質の bradykininogen および kallidinogen として存在している。*Beraldo*(1950)³¹⁾ はイヌのアナフィラキシー・ショック時に血中に bradykininogen の出現することを観察した。bradykininogen は蛋白分解酵素により活性化され、また soybean trypsin inhibitor によって抑制されるから bradykinin の形成は蛋白分解酵素の活性化によつておこると思われる。

Kallidinogen の活性は末梢血管障害に治療的に用いられている kallikrein の名前で知られている蛋白分解酵素により活性化される。この kallikrein は特異的に kallidinogen に働きこれを活性化する。この bradykinin

および kallidin はキモトリプシンによつて破壊され、
 又あるペプチダーゼによつて破壊される。

Lewis³²⁾ は多くの性質を有しているポリペプチドの
 中血管拡張および滑平筋収縮をおこすポリペプチドに
 kinin という総称の名前を提唱した。Bradykinin およ
 び kallidin はその薬理学的作用では区別出来ない。

Kallikrein は流血中ではその前段階物質である kal
 likreinogen として存在している。プラスミンおよび皮
 膚蛋白分解酵素は in vitro で bradykinin 形成¹⁷⁾³⁰⁾を
 おこしてくる。

この bradykinin は1960年 Boissonnas³³⁾ などにより
 合成され、その構造式も決定されたが、その主な薬理
 作用は Lewis³²⁾ によると滑平筋刺激作用、血管拡張作
 用、末梢血管透過亢進作用、疼痛発生作用および白血球
 の集積作用および遊走作用である。この bradykinin は
 最も強い血管拡張剤でヒスタミン、アセチルコリン、セ
 ロトニンなどよりもさらに強く、その 0.1% の少量でさ
 え人の上腕動脈に注射するとその全前膊に強い血管拡張
 をおこしてくると言われている。

Kallidin, bradykinin および Menkin 物質³⁴⁾ は蛋白
 分解酵素作用により遊離されることは疑う余地がない。
 この問題は、蛋白と加水分解出来る結合物を作ることが
 知られていないヒスタミンあるいはセロトニンと異つて
 いる。

5. 臨床上の 2.3 の問題と酵素

アレルギー性皮膚疾患の多く、あるいは一部は痒痒お
 よび小水疱を伴うが、これらの問題を酵素学的機序から
 眺めてみよう。

1) 痒痒と酵素

アレルギーにおける蛋白分解酵素の役割でまた興味あ
 る観察はこれらの酵素の起痒作用である。Arthur およ
 び Shelley^{35,36)} はある蛋白分解酵素の少量を皮内注射
 すると皮膚に見るべき変化がなくて痒痒をおこしてくるこ
 とを見出している。これは常に明瞭な蕁麻疹反応を伴う
 ヒスタミンの起痒性と対照的である。トリプシン、キモト
 リプシン、プラスミン、パペインおよび他の植物性蛋白
 分解酵素は起痒性を有している。ペプシン, carboxypep
 tidase および leucine-aminopeptidase にはない。彼
 等は痒痒は神経末端における酵素の直接作用によつてお
 こると信じ、又体内で活性化する蛋白分解酵素を痒痒の
 chemical mediators と考えている。勿論これはこれらの
 蛋白分解酵素が種々の痒痒刺激によつて活性化される
 ことを意味している。Cormia など³⁷⁾ は痒痒は皮膚から

抽出した蛋白分解酵素などによりおこることを立証して
 いる。矢村³⁸⁾ は kallikrein などの起痒性を検し、ヒス
 タミンによる著明な蕁麻疹反応を伴う痒痒と異り kalli
 krein 注射においては膨疹および発赤を認めずしてその
 強い起痒性を観察している。これに反し bradykinin は
 紅斑、疼痛をおこすが痒痒がおこらない。蛋白分解酵素
 による起痒性については伯川³⁸⁾、大川³⁸⁾ が更に論じてい
 る。

2) 水疱と酵素

Stoughton⁴⁰⁾ は皮膚水疱形成に関する一連の実験から
 皮膚に存在する蛋白分解酵素が何らかの刺激により強く
 活性化されることにより表皮内水疱が形成されることを
 推論した。すなわち彼は表皮内水疱では細胞間橋の離
 断が主な要因であり、一方表皮一真皮間の解離は基底膜
 の変化に負うところが大きであろうとしている。人皮膚細
 胞間橋の S-S 結合を解離すると言われている尿素溶液
 に侵しておくことにより棘細胞の離断をおこし、又潰
 瘍性大腸炎患者の大便から分離した蛋白分解酵素および
 植物性蛋白分解酵素パペインの皮内注射で表皮内水疱形
 成をみている⁴¹⁾。又切除皮膚を温熱処理することにより
 同様な所見を認め、これは本来表皮中にある一種の蛋白
 分解酵素が活性化されることにより細胞間橋が破壊され
 るためであろうと推察した。lewisite による水疱形成^{42~44)}
 および mustards⁴⁵⁾ による水疱形成はそれぞれ
 pyruvic oxidase および hexokinase を抑制すること
 によりおこるとされている。

Burbach⁴⁶⁾ は多くの薬剤による水疱形成の実験結果
 より、これら薬剤による皮膚水疱形成は生きた皮膚すな
 わち細胞の代謝活性のある皮膚でのみおこり、又これら
 薬剤による表皮下水疱形成は薬剤により細胞のエネルギ
 ー供給を防ぎ、TCA サークルの障害をはじめとし、A
 TP 合成の障害により蛋白分解酵素の活性化をきたして
 おこると推論している。

矢村および凌⁴⁷⁾ は真菌類の aspergillus oryzae から
 とつた蛋白分解酵素により in vitro, in vivo で典型的
 な水疱形成を観察している。

6. 結 論

抗原-抗体反応により血清あるいは細胞内で蛋白分解
 酵素の活性がみられる。皮膚アレルギー反応にしばしば
 みられる痒痒および水疱形成の問題にも一部論及した。

アレルギー反応におけるこれらの酵素の活性化はアレ
 ルギーの諸問題の一面のみを現わしているにすぎない。
 これらがアレルギー機序の中樞を支配しないかあるいは

単に附带的意義しか有しないかは今後の研究によつてい
る。すなわち将来の進歩は蛋白質構造およびその生物学
的意義の解明によつて更に一段と飛躍するであろう。

文 献

- 1) 北村精一, 矢村卓三: 皮膚科の臨床, 3, 797, 昭36.
- 2) Sexmith, E. and Peterson, W.F.: J. Exp. Med., 27, 273, 1917.
- 3) Beloff, A. and Peters, R.A.: J. Physiol., 103, 461, 1945.
- 4) Fruton, J.S.: J. Biol. Chem., 166, 721, 1946.
- 5) Zamecnik, P.C., et al.: J. Biol. Chem., 158, 135, 1945.
- 6) Wells, G.C. and Babcock, C.: J. Invest. Dermat., 21, 459, 1953.
- 7) Cullumbine, H. et al.: Brit. J. Exp. Path., 27, 33, 1946.
- 8) Martin, C.J. and Axelrod, A.E.: J. Biol. Chem., 224, 309, 1957.
- 9) Martin, C.J. and Axelrod, A.E.: Biochim. Biophys. Acta, 26, 490, 1957.
- 10) Martin, C.J. and Axelrod, A.E.: Biochim. Biophys. Acta, 27, 52, 1958.
- 11) Martin, C.J. and Axelrod, A.E.: Biochim. Biophys. Acta, 27, 532, 1958.
- 12) Martin, C.J. and Axelrod, A.E.: Biochim. Biophys. Acta, 30, 79, 1958.
- 13) Hayashi, H.: Mie Med. J., 9, 201, 1950.
- 14) Hayashi, H. et al.: Mie Med. J., 8, 329, 1958.
- 15) Ungar, G. et al.: J. Exp. Med. 113, 359, 1961.
- 16) Yamura, T. and Cormia, F.E.: J. Invest. Dermat., 37, 121, 1961.
- 17) 矢村卓三: アレルギー, 12, 42, 1963.
- 18) Mongar, J.L. and Schild, H.O.: J. Physiol., 118, 461, 1952.
- 19) Mongar, J.L. and Schild, H.O.: J. Physiol., 131, 207, 1956.
- 20) Mongar, J.L. and Schild, H.O.: J. Physiol., 135, 301, 1957.
- 21) Mongar, J.L. and Schild, H.O.: J. Physiol., 135, 320, 1957.
- 22) Mongar, J.L. and Schild, H.O.: J. Physiol., 140, 272, 1958.
- 23) Humphrey, J.H.: Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states, edited by Lawrence, H.S., New York, A Hoeber-Harper Book, 1959, p. 14.
- 24) Richet, C.: L'anaphylaxie. Paris. Alcan, 1930.
- 25) Hayashi, H.: Mie Med. J., 6, 195, 1956.
- 26) Ungar, G. and Damgaard, E.: J. Exp. Med., 101, 1, 1955.
- 27) Humphrey, J.H. and Jaques, R.: J. Physiol., 128, 9, 1955.
- 28) Ungar, G., Damgaard, E. and Hummel, F.P.: J. Exp. Med., 98, 291, 1953.
- 29) Rocha e Silva, M. and Andrade, S.O.: J. Biol. Chem., 149, 9, 1943.
- 30) 矢村卓三: アレルギー, 10: 51, 昭36.
- 31) Beraldo, W.T.: Am. J. Physiol., 163, 283, 1950.
- 32) Lewis, G.P.: J. Physiol., 140, 285, 1958.
- 33) Boissonnas, R.A. et al.: Experientia. 16, 326, 1960.
- 34) Menkin, V.: Biochemical mechanisms in inflammation, Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1956.
- 35) Arthur, R. and Shelley, W.: Nature, 175, 901, 1955.
- 36) Arthur, R. and Shelley, W.: J. Invest. Dermat., 25, 341, 1955.
- 37) Cormia, F.E. et al.: J. Invest. Dermat., 28, 425, 1957.
- 38) 伯川貞雄: 日皮会誌, 69, 1753, 昭34.
- 39) 大川章: 北関東医学, 11, 161, 1961.
- 40) Stoughton, R.B.: Arch. of Dermat., 76, 584, 1957.
- 41) Stoughton, R.B.: Science, 116, 37, 1952.
- 42) Peters, R.A. et al.: Nature, 156, 616, 1945.
- 43) Stocken, L.A. and Thompson, R.H.S.: Biochem. J., 40, 529, 1946.
- 44) Thompson, R.H.S.: Biochem. J., 40, 525, 1946.
- 45) Dixon, M. and Needham, D.M.: Nature, 158, 432, 1946.
- 46) Burbach, J.P.E.: Dermatologica, 122, 120, 1961.
- 47) 矢村卓三, 凌俊朗: 臨床支泌, 17, 95, 昭38.

Abstract of Review

Allergy and Enzyme, Particularly in Protease

Takuso Yamura

Dept. of Dermatology (Director: Prof. Michio Nogita), Nagasaki
University, School of Medicine

Allergic lesions do not develop immediately after by antigen-antibody reaction, but mediate by release of mediators from cells and serum as a result of antigen antibody reaction.

In the release process enzyme may concern. The terms of protease or proteolytic enzyme designate all enzymes capable of hydrolyzing peptide bonds and also activates in allergic reaction. The activation of protease is the fundamental cellular and humoral reaction to the all stimuli which disturb the body's homeostatic balance.

Itching and blister formation in various type of allergic skin diseases were explained on the situation of protease.

Abstracts of Originals

Studies on Host Defences against Cancer

1. Determination of the Bacteriophage Neutralizing Activity of Sera

Morimasa Sekiguchi

Dept. of Surgery (Chief: Prof. Y. Ishibashi)
Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo

In an attempt to evaluate the natural defense mechanisms against cancer in humans, the bacteriophage neutralizing activity of sera was assayed in 53 patients with malignant neoplasms, and the values were compared with those in 25 normal healthy subjects, in 30 patients with tuberculosis and 25 patients with miscellaneous diseases. The cancer sera showed the same distribution and range of the activities as the normal and other pathological sera. The neutralizing activity of a serum against T3 phage was always higher than that against T2, but the two values were not always proportional. There was no correlation between the phage neutralizing activity and the positive reaction to C-reactive protein antiserum. A limited number of cancer sera showed a tendency to negative correlation between the phage neutralizing activity and amounts of serum γ -globulin, but this was not conclusive. The administration of a large dose of Mitomycin-C during a few days for the treatment of cancer resulted in a remarkable fall in the neutralizing activity, but a medium dose of the drug given once a week hardly influenced the activity. No parallelism could not be established between the phage neutralizing activity and the zymosan units of properdin.

The phage neutralization technique was originally described as a method for assaying serum properdin. Recently, evidences have increased to indicate that the properdin is a family of natural antibodies present in sera which cross-react widely with various polysaccharides of bacterial and animal origin and also with several kinds of viruses, including bacteriophages. Therefore, the present study indicates that one of these natural antibodies remains even in the advanced stage of malignant diseases without defensive effect against tumors.