再発性アフタ患者におけるプロテアーゼ・インヒビターについて

木村 享・篠原 玲子・原 徹・筒井 重行
倉地 洋一・南雲 正男

Protease inhibitors in patients with recurrent
aphthous ulceration

Toru KIMURA・Reiko SHINOHARA・Toru HARA・Shigeyuki TSUTSUI
Yoichi KURACHI・Masao NAGUMO

緒 言

ペーチェット病および再発性アフタの病因は依然として不明である。近年、ペーチェット病において好中球機能の亢進が報告され、好中球とペーチェット病との関連が注目されている。すなわち、ペーチェット病では好中球遊走能および貪食能の亢進が報告されている^{1,2)}。さらに、疾患の発生に好中球から放出されるライソゾーム酵素^{3,4)}あるいは活性酸素⁵⁾が関与していることが示唆されている。われわれも再発性アフタにおいて、口腔常在菌と好中球との interaction で放出されるライソゾーム酵素が病変の発生に重要であることを推測してきた^{6,7,8)}。

一方、ヒト血中には種々のプロテアーゼ・インヒビターが存在しており、これらは炎症あるいは悪性腫瘍などで変動がみられることから、これらの疾患の発生あるいは経過に関係していることが推測されている^{9,10)}。好中球から放出されるライソゾーム酵素もこれらのプロテアーゼ・インヒビターによって制御されていると考えられる。そこで、今回われわれは再発性アフタにおける好中球ライソゾーム酵素の関与を検討する目的で血中プロテアーゼ・インヒビターを測定し、若干の知見を得たので報告する。

対 象

再発性アフタ患者19名を対象とした。また、同じ口腔粘膜の炎症性疾患としてわれわれが比較的診療する機会

表 1 健常人平均値

年齢	n	α_1 AT	α_2 M	I α I	α_1 X	Ath Ⅲ	ClI NH
20～30	31	235	305	32	44	20	27
30～40	22	261	287	55	47	20	23
40～50	20	319	281	51	44	21	28
50～60	13	356	265	61	51	19	22
60～	14	406	241	53	52	20	26
平均値	100	296	282	48	49	20	25

の多い扁平苔癬患者 13 名および 20～70 歳までの健常人 100 名をコントロールとして測定した。なお、疾患群ではいずれも口腔に病変が存在する時期に検体を採取した。

測 定 方 法

既報^{11,12)}のとおりに行った。すなわち、末梢静脈血を採血後血清を分離し、 α_1 -antitrypsin (α_1 AT), α_2 -macrogloblin (α_2 M), α_1 -antichymotrypsin (α_1 X), inter- α -trypsin inhibitor (I α I), antithrombin Ⅲ (Ath Ⅲ), および Cl esterase inhibitor (Cl INH) の 6 種類のプロテアーゼ・インヒビターを一次元免疫拡散法 (Single radial immunodiffusion 法) で測定した。抗血清は Behringwerke 社のものを用い、1.2%アガロースを支持体として平板を作り、径 2.5 mm のゲルパンチャーで well を作成し、1 well あたり血清を 5 ml ずつ注入した。その後湿温箱に 48 時間放置後、アミドブラック 10 で染色、沈降輪を測定して蛋白量に換算した。測定値は mg/dl の単位で表示した。

結 果

表 1 は健常人 100 名の血中プロテアーゼ・インヒビタ

昭和大学歯学部第 2 口腔外科学教室
(主任：南雲正男教授)
The Second Department of Oral Surgery, School
of Dentistry, Showa University (Chief: Prof. Masao
Nagumo)
受付日：昭和 58 年 5 月 11 日

図 1 α_1 -アンチトリプシン 図 2 α_2 -マクログロブリン

の測定結果を示したものである。各プロテアーゼ・インヒビターの平均値は、 α_1 AT で 296.3 ± 106.3 (平均値 ± 1 SD, 以下同様に示す), α_2 M で 282.0 ± 103.5 , α_1 X で 49.3 ± 16.7 , I α I で 47.5 ± 19.8 , Ath III で 19.7 ± 4.7 , および CI INH で 25.5 ± 8.1 であった。表 1 のように各年代別で若干の差がみられるものもあったが、今回は 20~70 歳までの平均値をもって疾患患者群と比較した。

再発性アフタ患者の血中プロテアーゼ・インヒビターの平均値は、 α_1 AT (図 1) で 246.2 ± 57.4 , α_2 M (図 2) で 259.0 ± 83.3 , α_1 X (図 3) で 39.1 ± 8.9 , I α I (図 4) で 55.1 ± 14.9 , Ath III (図 5) で 18.5 ± 2.9 , および CI INH (図 6) で 28.0 ± 6.9 であった。これを健常人と比較すると、 α_1 AT ($P < 0.05$) および α_1 X ($P < 0.05$) で有意の低値を示していた。また、有意差は認められなかったが、I α I および CI INH では反対に高値を示す傾向が認められた。なお、病期による変動については検討した症例が少ないためデータに示さなかったが、 α_1 AT でアフタ発現時に低値をとり、治癒時には上昇

することが認められた。

扁平苔癬患者の平均値は α_1 AT で 271.7 ± 64.0 , α_2 M で 341.5 ± 76.3 , α_1 X で 43.9 ± 5.0 , I α I で 78.4 ± 20.6 , Ath III で 18.1 ± 1.7 , および CI INH で 33.2 ± 7.2 であった。健常人との比較では、 α_2 M ($P < 0.05$), I α I ($P < 0.001$) および CI INH ($P < 0.01$) で有意に高値を示していた。

考 察

再発性アフタ患者の血中プロテアーゼ・インヒビターのうち、 α_1 AT および α_1 X が低値をとることが示された。

α_1 AT はトリプシン阻害活性をもつことから、血清中のトリプシン・インヒビターとして多くの研究がなされてきた。白血球のエラスターゼ^{13,14)}および中性プロテアーゼ^{13,15)}に対しても強い阻害作用を示し、かつ血中のモル濃度が高いことから、血液中ではこれらのプロテア

図 3 α_1 -アンチキモトリプシン 図 4 インター α -トリプシンインヒビター

ーゼに対するインヒビターとして主に働いていると考えられている⁹⁾。また、 α_1 AT は種々の急性炎症時に血中濃度がすみやかに上昇する一種の acute phase reactant であるといわれている。Kawachi-Takahashi らは¹⁶⁾ α_1 AT と同じように acute phase reactant と考えられる補体成分 C9 がベーチェット病で上昇すること、また、Adinolfi ら¹⁷⁾もベーチェット病および再発性アフタで C9 および c-reactive protein が高値をとることを報告している。さらに、彼らは α_1 AT も再発性アフタで、有意差はみられないものの高値をとるとしている。したがって、再発性アフタ患者では α_1 AT が上昇することが予想されたわけであるが、われわれの成績では逆に低値をとった。Adinolfi ら¹⁷⁾とわれわれの測定結果が異なった理由として、彼らの対象とした健常人が 8 例のみであること、表 1 に示したように各年代によって α_1 AT の値が異なっていることから、健常人の年齢構成がわれわ

れの場合と異なるなどのことが考えられるが詳細は不明である。いずれにしても、われわれの成績では α_1 AT は再発性アフタ患者で低値を示したわけであるが、この理由として α_1 AT が白血球のプロテアーゼのインヒビターの作用をもつことから、次のように推測している。すなわち、何らかの刺激で好中球から放出されたプロテアーゼによってアフタが生じる。そして、このプロテアーゼを阻害するべく α_1 AT が血中から病変部に拡散してくるため、血中 α_1 AT が低下するのではないかと考えている。事実、 α_1 AT は分子量が小さくすみやかに血管外腔に拡散し、炎症反応に直接関与しているらしいことが報告されている^{9,10)}。また、Hochstraßer ら¹⁸⁾は上気道炎において、分泌液中にプロテアーゼと結合した α_1 AT が検出され、その結合 α_1 AT と遊離 α_1 AT の割合が炎症過程のよい指標になると報告している。われわれはアフタ病変部でプロテアーゼと結合した α_1 AT の

図 5 アンチトロンビンⅢ

存在を直接証明したわけではないので、このように考えるのは短絡的であるかもしれないが、 α_1 AT の低値を説明できる1つの理由と考えている。これは、アフタが治癒すると α_1 AT も上昇するという結果からも裏付けられると思われる。

α_1 X が再発性アフタ患者で低値をとるという理由についても同様に考えている。すなわち、 α_1 AT はキモトリプシンを特異的に阻害すること、白血球のプロテアーゼにキモトリプシン様作用をもつカテプシンGなどが存在することから¹⁹⁾、 α_1 AT 同様消費によって低値を示した可能性がある。

扁平苔癬患者では、 α_2 M、IaI、および Cl INH が有意に高値をとった。これは、再発性アフタ患者と比較すると、 α_2 M 以外は程度の差はみられるものの一致した傾向が認められた。扁平苔癬も再発性アフタと同じ炎症性疾患と考えられているにもかかわらず、 α_2 M で全く相反する結果が得られたことは、これらの疾患を考え

図 6 C1 エステラーゼインヒビター

るうえでまことに興味深い。しかし、その理由については全く不明であり、今後の検討を要する。なお、James ら²⁰⁾によって atopic dermatitis で α_2 M が著明に高値を示すことが報告されていることから、扁平苔癬との関連性が注目される。

扁平苔癬患者における IaI の高値については、このプロテアーゼ・インヒビターの作用が全く判明していないことと相俟って、その理由は明らかではない。Cl INH については、扁平苔癬の口腔粘膜病変の基底膜に補体成分 C3 の沈着が比較的高率にみられることから^{21,22)}補体の活性化に反応して、それを阻害するために²³⁾上昇した可能性が考えられる。

以上のように、われわれは主として再発性アフタ患者の血中プロテアーゼ・インヒビターを白血球のプロテアーゼとの関連性から検討したわけであるが、これはプロテアーゼ・インヒビターの生体における役割の一面を述べたにすぎないかもしれない。したがって、プロテアー

ゼ・インヒビターが別の機序で再発性アフタの病因にかかわっている可能性も否定できない。今後、病期によるプロテアーゼ・インヒビターの変動、あるいは病変局所における動態などの点について検討を加えたい。

結 語

主として再発性アフタ患者の血中プロテアーゼ・インヒビターについて SRID 法で測定し次のような結果を得た。

1. 再発性アフタ患者では健常人と比較して、 α_1 AT および α_1 X で有意の低値をとることが示された。
2. 扁平苔癬患者では、 α_2 M, α_1 I および C1INH で有意の高値をとることが示された。
3. 再発性アフタ患者では α_2 M が低値をとったのに対し、扁平苔癬患では逆に高値を示した。

引用文献

- 1) Sobel, J.D., et al: Polymorphonuclear leukocyte function in Behçet's disease. J. Clin. Path 30: 250 1977.
- 2) Lehner, T. et al: Behçet's syndrome. In "Clinical and immunological features" London, Academic press, 1979, P 55.
- 3) Masuda, K., et al: Lysosomal enzymes in loyocytes from patients with Behçet's disease. In "BEHÇETS DISEASE" Tokyo, University of Tokyo press, 1982, P 259.
- 4) Yamada, M., et al: Neutrophil lysosome enzyme activities in patients with Behçet's disease. In "BEHÇETS DISEASE" Tokyo, University of Tokyo press, 1982, P 279.
- 5) Niwa, Y.: Auto-oxidative damage in Behçets disease: Endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated-neutrophils. In "BEHÇETS DISEASE" Tokyo, University of Tokyo press, 1982, P 301.
- 6) 林 洋紀, 他: 白血球ライソゾーム酵素放出に及ぼす緑連菌の効果—I. 基礎的検討と代謝阻害剤およびコルヒチンの効果——. 日口外誌 25: 750 1979.
- 7) 角田左武郎, 他: 白血球ライソゾーム酵素放出に及ぼす緑連菌の効果Ⅱ報血清処理緑連菌および緑連菌処理血清の効果. 日口外誌 26: 877 1980.
- 8) Nagumo, M., et al: The interaction of leukocytes and oral bacteria in the pathogenesis of recurrent aphthous ulcerations. In "BEHÇETS DISEASE" Tokyo, University of Tokyo press, 1982 P 291.
- 9) 青木 延, 他: 生体内蛋白分解酵素阻害物質——その生物学的・臨床的意義—— 代謝 14: 1099 1977.
- 10) Davis, P.: Plasma proteinase inhibitors. In "Structure and function of plasma protein" Vol. 2, New York, Plenum press, 1976, P 189.
- 11) 木村 享, 他: 口腔癌患者におけるプロテアーゼ・インヒビターについて. 日口外誌 27: 1566 1981.
- 12) Nagumo, M., et al: Immunological studies on angioneurotic edema. J. Oral Med 37: 3 1982.
- 13) Ohlsson, K.: Neutral leukocyte proteases and elastase inhibited by plasma alpha-antitrypsin. Scand J Clin Lab Invest 28: 251 1971.
- 14) Baugh, R.J., et al.: Human leukocyte granule elastase: Rapid isolation and characterization. Biochemistry 15: 836 1976.
- 15) Ohlsson, K., et al: The neutral protease of human granulocytes. Isolation and partial characterization of granulocytes elastases. Eur J Biochem 42: 519 1974.
- 16) Kawachi-Takahashi, S., et al: Elevation of serum C9 level associated with Behçet disease. Japan J Exp Med 44: 485 1974.
- 17) Adinolfi, M. et al: Acute phase proteins and C9 in patients with Behçets syndrome and aphthous ulcers. Clin exp Immunol 25: 36 1976.
- 18) Hochstraßer, K., et al: Nachweis und quantitative bestimmung von komplexen zwischen leukozyten proteasen und α_1 -antitrypsin in korpersekreten und korperflussigkeiten. Hoppe-Seylers Z Physikal Chem 353: 1120 1972.
- 19) 青木洋祐, 他: 顆粒球のプロテアーゼ, 蛋白質・核酸・酵素 25: 463 1980.
- 20) James, K., et al.: The quantitative estimation of α_2 -macroglobulin in normal, Pathological and cord sera. Clin Chim Acta 14: 207 1966.
- 21) Daniel, T.E., et al: Direct immunofluorescence in oral mucosal disease: A diagnostic analysis of 130 cases. Oral Surg 51: 38 1981.
- 22) Schiodt, M., et al: Deposit of immunoglobulins, compliment, and fibrinogen in oral lups erythematous, lichen planus, and leukoplakia. Oral Surg 51: 603 1981.
- 23) Fanrk, M.M., et al: Hereditary angioedema: the clinical syndrome and it's management. Ann Int Med 84: 580 1976.