白血球と活性酸素

金ヶ崎 士 朗

東京大学医科学研究所 細菌感染研究部

港区白金台 4-6-1 〒108

〔受付：8 月 14 日, 1992 年〕

はじめに

1. 食細胞の異物識別—活性酸素産生能を指標とした解析
2. 白血球の産生する活性酸素—食細胞における役割
3. 白血球の O_2^- 産生に關与する蛋白質—シトクロムと細胞質蛋白質
4. 白血球の O_2^- 産生系の活性化とその機構
5. 食細胞の O_2^- 産生の欠損と易感染性

おわりに

はじめに

わが国においては、細菌による急性の伝染病がほぼ制圧されるに至って久しく、また抗生物質を基盤とする化学療法の進歩と相まって、一般にはあたかも細菌感染症のすべてが容易に制御可能であるかのような誤解を生んだ。しかし周知のように新たな問題として浮かび上がってきたのが、いわゆる平素無害菌による感染症である。元来われわれの身体の表面には、消化管や呼吸器を含め数多くの微生物が密着棲息しているが、これが感染症に発展しないのは、生体の防御機構が正常に機能し、微生物による損傷を最低限度に抑え込んでいるからにほかならない。したがってその防御機構に何らかの欠損を生じた場合には、そのバランスは容易に崩れ発病することになるのは当然のことなのである。化学療法剤はこれら生体防御機構の土台の上に立って、初めて有効に機能することが認識されなければならないし、実際そのような理解が進むようになってきている。

体表はそれ自身強固な物理的なバリアーを形成

しているばかりでなく、常に新生脱落を繰り返して微生物の侵入を排除し、粘膜上皮などは各種の分泌物により化学的にも防御されている。また繊毛や肺胞のマクロファージによる異物排除のような生物学的な防御も行われている。しかしこれらのバリアーを通り抜けて組織内に侵入してきた細菌に対しては、体液性、細胞性の防御因子がこれに対処する。

この中で最初に動員されるのは、強力なエフェクター細胞である好中球である。この細胞は侵入異物を貪食するとともに、本稿で中心的に取り上げる活性酸素と顆粒成分を用いて殺菌に当たるが、そのもっとも大きな役割は局所における感染源の封じ込めにある。続いて出てくるマクロファージは、組織修復のための病巣の浄化と生体制御をその第一の役割とすると考えられるが、好中球の排除できなかった侵入源に対処し、これを貪食分解する。そして、その産物を抗原-MHCclass II 複合体として細胞表層に提示して T リンパ球へその情報を伝えるとともに、メディエーター（モノカイン）を放出してリンパ球を活性化する。

一方、活性化したTリンパ球などから出てくるメディエーター（ γ インターフェロンなどのリンフォカイン）は逆に好中球、マクロファージを活性化し、これらの細胞により大きな殺菌力を付与する。またこれとともに、リンパ球間の相互作用により活性化されたBリンパ球すなわちプラズマ細胞から生ずる抗体は、補体との共同作用により直接殺菌にあずかるばかりでなく、オプソニンとして食細胞による異物の識別を容易にする働きを担っている。一方細胞内にエスケープした病原体に対しては、活性化されたリンパ球と食細胞の共同作戦が必要である。なお、食細胞などから生ずる活性酸素はコラゲナーゼを活性化し、またエラスターゼの阻害物質を分解するので、組織の障害や治癒にも深いかかわり合いを持っている。ちなみに活性酸素を産生出来ない食細胞を持つ慢性肉芽腫症（CGD）の患者では、創傷治癒の遅延が認められている。

食細胞はこのように異物侵入の初期防御に働いているばかりでなく、細菌の侵入から炎症を経て修復に至るすべての過程の中で常に鍵となる役割を果たしている。また観点を換え系統発生的に見た場合にも、食細胞による生体防御機構はもっとも基本的なものであることがわかる。食細胞という強力なエフェクター細胞の協力があって初めてリンパ球による防御（いわゆる免疫）が効力を発揮する。したがって感染論の立場から言えば、リンパ球による防御機構は、特定の侵入異物に対して食細胞機能を効率よく発揮させ、一方食細胞による生体の損傷をできる限り軽減するために発達してきた機構であると言うこともできよう。

このような観点からすると、高齢者や各種の基礎疾患を有する患者においても、好中球機能がかなり最後まで維持されていること²⁵⁾は納得できる。一方その数や機能に異常を生じた場合には、直ちに細菌に対する戦いが重大な局面を迎えることになる。その典型的な例が食細胞機能に異常があるため、生体に易感染性をもたらす幾つかの遺伝性の疾患である¹⁸⁾。この中で、後に本稿で詳しく取り上げるCGDの患者では、当該する細胞が活性酸素を産生出来ないため、重篤な易感染性を引き起こすことが明らかにされている。一方物理的バリアーが破壊された上、オプソニン活性が低

下し、このため食細胞の機能が十分発揮されない熱傷患者もその典型的なモデルの一つである。本稿では、これらの疾患を念頭において、食細胞の活性酸素産生機能について論を進めたいと思う。

1. 食細胞の異物識別一活性酸素産生能を指標とした解析

細菌感染に際し動員された食細胞は、感染異物を識別し、これを貪食破壊する。食細胞の異物識別、特にその自他の識別がどのように機能しているかについては不明な点も多いが、侵入異物の識別に関しては多くの場合体液性の成分がこれを効率よく補助している。例えば食細胞には補体の第三成分（C3b）や免疫グロブリン（IgG）に対する受容体が存在し、IgM-C3bやIgGの結合した異物を容易に貪食する。このほか多くの体液性蛋白質がオプソニンとしての作用を持つ。このオプソニン効果が減弱すると、好中球など食細胞の感染防御効果も低下する。このことを如実に示す例が熱傷患者の感染症の経過である。

後で詳しく述べるように食細胞は異物貪食に伴って急激に酸素を消費し、殺菌に重要な働きをする活性酸素を産生する。末梢血好中球のこの機能は、ルミノールを加えた希釈血液そのものを直接刺激することにより化学発光としてモニターできる。この場合可溶性の刺激剤を使うと、好中球の数と個々の活性を反映した測定値が、粒子性の刺激剤を使うとさらに血液中のオプソニン活性を反映した測定値が得られる。入院時の熱傷患者の血液をPMAで刺激した場合、正常より遥かに高い値を示すのに、細菌で刺激した場合にはその関係は逆になる。このことは、熱傷患者では好中球数、およびその活性は亢進しているにもかかわらず、オプソニン活性が低下しているため、好中球機能が十分発揮できない状態であることを示している。

実際、熱傷患者では血清中の総蛋白質、補体（C3, C4）、IgG、IgM、フィブロネクチンなどが著明に低下しており、また入院後感染症で死亡した症例では回復した症例より粒子に対する刺激応答が低かった²⁶⁾。これらの知見を元に通常の熱傷に対する処置に加えて、化学発光によるモニタリングを行い、新鮮凍結血漿、免疫グロブリン製剤を補填するなどすると、重症熱傷患者の救命率が

向上させることができる²⁷⁾。なお、このモニター法は簡便で、好中球に起因する患者の易感染性の状態やその治療効果を知るのにきわめて有用である。

食細胞の異物識別においてオプソニンと並んで重要なのは、細菌と食細胞の接触の仕方である。すなわち、食細胞が異物を効率良く識別するためには両者が一定の力以上で接触する必要がある。通常の培養液中でのマクロファージと細菌の関係では、この力は5G以上と計算されている³⁶⁾。この力は食細胞の種類やオプソニンの有無、その種類などとはまったく独立し、これらのいずれの組み合わせの場合でも必要とされる。オプソニンの有無やその種類などはその効率を左右し、その絶対値に影響する。なおこの現象は、食細胞による異物識別をルミノール依存化学発光としてモニター中に見いだされたものである。in vitro の実験では、サルモネラや大腸菌などのような運動性のある菌では、必要とされる力の十倍以上の力で食細胞と接触するので、菌の生死や変異による運動性の有無により、食細胞の応答に格段の違いが生ずる³⁵⁾。

2. 白血球の産生する活性酸素—食細胞における役割

酸素分子は完全に還元されると水になるが、その中間体である、スーパーオキシドアニオン (O_2^-)、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロオキシラジカル ($\cdot OH$) と、これに励起された状態の酸素分子である一重項酸素 (1O_2) を加えて、通常これらを活性酸素と呼んでいる。この内、 O_2^- および $\cdot OH$ は不対電子を持つラジカルである。 O_2^- は非酵素的 ($10^5/M/sec$)、または酵素的不均化反応 (SOD の働き $\sim 10^9/M/sec$) により H_2O_2 に変化する。一方、二価の鉄イオンが存在すると H_2O_2 から $\cdot OH$ が生ずることが示されている。このようにして生じた活性酸素はそれ自身次々に反応し変化する上、種々の有機物とも反応する。

細菌を貪食中の食細胞が急激に酸素を消費することは1933年にすでに報告された³⁾。50年代後半に至って、これがいわゆるミトコンドリアによる呼吸と異なりCN耐性で、ペントースリン酸回路によるブドウ糖の代謝を伴うことが明らかにさ

れた¹⁴⁾。後にこの代謝は、酸素分子を還元するための電子供与体であるNADPH供給のために必要であることが示されている。60年代になるとこの酸素代謝の産物として H_2O_2 が提案され¹⁰⁾、これを基質とするミエロペルオキシダーゼ (MPO) の殺菌における役割が明らかにされるにおよび¹⁵⁾、食細胞の産生する活性酸素は殺菌に使われるとの考えがクローズアップされた。さらにこの考えは、重篤な感染をもたらす遺伝的疾患CGD患者の食細胞がこの機能を欠いており、異物貪食時に急激な酸素代謝の変化がおきないことが発見されるにおよび、一層支持されることになった⁶⁾。食細胞によるこの特殊な酸素代謝はrespiratory burstと呼ばれ、好中球、好酸球、単球およびマクロファージ系細胞に共通して見られるが、後述する様にBリンパ球にも同じ代謝系のあることが最近明らかになっている^{11,17)}。

さて、1973年には、好中球刺激時のシトクロムcの還元がSODで阻害されることを利用して、この細胞からは O_2^- も産生されることが示された²⁾。 H_2O_2 は O_2^- の不均化反応により非酵素的にも生じ得ることから、この発見の後は O_2^- が最初に産生される活性酸素種と記す論文が多くなった。一方、比較的最近では $\cdot OH$ が生ずるという報告も多数出されている。しかし食細胞が直接産生する活性酸素の分子種は何であり、それがどのような変化を受けていくかについては推定の域を越えていなかったのである。これは O_2^- 以外の分子種は食細胞から直接的にも、間接的 (二次的、三次的) にも生じうる可能性があるために、従来の方法では確認できなかったからである。

われわれは好中球が直接産生する酸素代謝物をトラップすることにより、二次的な反応が生じることがないように条件を設定し、2つの方法を用いてその同定を試みた。第一の方法はペルオキシダーゼを使う方法である¹²⁾。これは、この酵素が O_2^- や H_2O_2 と反応すると、それぞれ固有のスペクトルを示す反応中間体となることを利用したものである。これらの中間体から他の分子種は生じない。そこでこれらの中間体のスペクトル変化を観察すると、どちらの分子種が生じたか、または両者が生じたかを決定することができる。第二の方法は、産生されるであろう酸素ラジカル (O_2^- や

・OH) を DMPO にトラップさせる方法で、反応生成物は ESR 法により同時に同定することができる³⁸⁾。

その結果、可溶性の刺激剤で刺激したヒトやブタの好中球は O_2^- のみを生成し、 H_2O_2 や $\cdot OH$ を単独、もしくは O_2^- と同時に產生することがないことが初めて明確になった^{19, 39)}。さらに、 O_2^- との安定な反応中間体が得られるヘム置換人工ペルオキシダーゼを用い、消費した酸素と生成した O_2^- との間の化学量論的關係を決定することに成功し、好中球が消費した酸素はすべて O_2^- となり細胞外に (ファゴゾーム内も細胞外と考えることができる) 放出されることを確証した^{19, 32)}。

また異物貪食時に產生された O_2^- は、ファゴゾーム中で非酵素的の不均化反応により H_2O_2 に変わり、この分子種は脱顆粒により大量に粒子に向けて放出された MPO の基質になって消費されるため (HClO になり殺菌に使われる) 細胞外には回収されないが、 NaN_3 で MPO の活性を阻害しておくと、最初に O_2^- が產生され、これが (ファゴゾーム形成に際して) H_2O_2 に変わっていくことを明らかにした (図 1)。これらの結果は食細胞の活性酸素產生系が O_2^- のみを產生してこれをすべて

細胞外 (ファゴゾーム内を含む) に放出し、ここで殺菌性のより強い分子種に変換されることを意味している。產生された O_2^- や ClO^- は陰性に荷電しているため、通常細胞質に侵入していくことなく殺菌に関係でき、その結果これらの活性酸素による細胞の傷害は最小に食い止めることができる。さわめて合目的々にできた活性酸素產生系であると言えよう。

食細胞により產生される O_2^- そのものが殺菌に関与しているという証拠は少ない。 O_2^- から不均化反応により生じた H_2O_2 は酸素のように膜を自由に透過する。この分子種は細菌に直接働くほかに、細菌細胞内でより活性の強い分子種に変わってから反応している可能性が強い。前述のように H_2O_2 は脱顆粒により顆粒から放出され、細菌に吸着した MPO の基質になり塩素イオンの存在下で HClO を生ずる。大腸菌の形質膜に存在する、こはく酸から酸素への電子伝達系 (呼吸系、こはく酸酸化酵素) は HClO により影響を受けることが示されている²⁸⁾。

3. 白血球の O_2^- 產生に関与する蛋白質—シトクロムと細胞質蛋白質

好中球を可溶性の刺激物で刺激した場合、酸素分子が一電子還元された O_2^- のみが生じ、これがすべて細胞質外で回収されることから予測されるように、食細胞や B リンパ球が直接產生する活性酵素は O_2^- であり、その產生は形質膜にある一種の電子伝達系で行われる。前述のように電子はブドウ糖のペントスリン酸回路による分解で生じる NADPH より供給されるので、電子は細胞質中の NADPH から、形質膜を通して、その表層の酸素分子に渡されると考えられる。

形質膜に存在し O_2^- 產生に関与することが明らかになっている唯一の蛋白質は、558nm に α バンドをもつ b 型のシトクロム (シトクローム b_{558}) である (図 2)。顆粒球にこの種のシトクロムが存在することは、すでに 1961 年に日本の研究者によって示されていたが、英国の Segal らはこのシトクロムが O_2^- 產生系に関与していることを最初に提唱した。ただ彼等がこのシトクロムを酸素に直接電子を渡すターミナルオキシダーゼであると考えた根拠である CO スペクトルの存在は、わ

Fig. 1 Oxygen is stoichiometrically converted to O_2^- , which is released to the outside of the cells. Other active oxygen species are formed secondarily in phagosomes.

Fig. 2 Topology of cytochrome b558 in neutrophil membrane.

Binding sites for various antibodies and papain sensitive sites are indicated by arrows.

れわれが好中球を用いて行った低温絶対スペクトルの観察の結果から否定されており⁷⁾、一般にはこれが支持されている。

しかしこのシトクロムの酸化還元電位は他のb型のシトクロムに比較して非常に低く⁵⁾、またわれわれの超低温における好中球のESRスペクトルの研究結果は、酸素に電子を直接渡しても矛盾がないことを示している⁴⁰⁾。一方ピリジンなどニトロソ化合物が、好中球の O_2^- 産生を可逆的に阻害し、これに伴ってシトクロムの吸収変化、ESRのスペクトル変化が見られることなどが明らかになっている⁸⁾。しかし、現在のところこれがターミナルオキシダーゼである直接の証拠はない。

このシトクロムは大小二つのサブユニットからなることが明らかにされている。大鎖は糖蛋白質で、分子量65kDaのポリペプチド(アミノ酸569個)に糖鎖が結合したもので、電気泳動したポリアクリルアミドゲル上では70-90kDaに幅広いバンドとして確認される。また小鎖は22-23kDa(アミノ酸195個)の蛋白質である。ヘムは大小鎖の間に存在している可能性が高い⁴⁰⁾。いずれの蛋白質のcDNAもクローニングされており、大鎖はX染色体上に(Xp21.1)、小鎖は第16染色体上に(16q24)コードされている³¹⁾。

われわれはまた、このシトクロムの単クローン抗体を用いてこれが形質膜上に存在することを初

めて実証するとともに²²⁾、このシトクロムの大鎖および小鎖の特定部位のアミノ酸配列を識別する数個の抗体を作成しその膜上でのトポロジーを決定した⁹⁾。後述するようにいずれのカルボキシル末端も細胞質に伸長していることが明らかになり、この部分が系の活性化に役立っている。

このシトクロム以外に、活性化され O_2^- を産生するようになった形質膜に存在が推定されているのは、細胞質のNADPHから電子を受け取るフラビン蛋白質である。この蛋白質の分離同定は長い間試みられてきたが実態はいまだ不明である。最近、再構成の実験とそのcDNAを元にしたアミノ酸配列のホモロジーなどから、このシトクロム自体がフラビン蛋白質の役割を兼ねており、FADとNADPHの結合部位を持っているという提案がなされている²⁹⁾。

これら形質膜の構成要素に加え、無刺激状態では細胞質に存在すると考えられる少なくとも三種類の蛋白質の関与が明らかになっている。これらは低分子GTP結合蛋白質(rac 1またはrac 2といわれる^{1,16,20)})と分子量47, 65kDaの2種の蛋白質である^{24,41)}。47kDa蛋白質には燐酸化可能な部位がカルボキシル末端付近に4箇所あり、燐酸化の部位はセリンであることが明らかにされている。これらの蛋白質の関与は、後述のように O_2^- 産生系を無細胞下で活性化できるようになって初めて進展した。

精製した47, 65kDaの2種の蛋白質にはヘム、フラビンなどのprosthetic groupは認められず、これらの蛋白質は系の活性化およびその制御に関係すると考えられる³³⁾。これらの蛋白質のcDNAはクローニングされ、それぞれ第7(7q11.23)および第1染色体(1q25)にコードされていることが明らかになっている。それぞれアミノ酸373個および526個からなる蛋白質である。なおこれらの O_2^- 産生に関与するシトクロムや47, 65kDaの細胞質蛋白質は好中球、好酸球、単球・マクロファージ系細胞以外にBリンパ球にも見いだされた^{11,17)}。

4. 白血球の O_2^- 産生系の活性化とその機構

好中球やマクロファージでは食作用時以外にも種々の可溶性の物質により刺激を受けて O_2^- 産生系が活性化される。これらは形質膜上の特定の受

容体に依存した刺激とそれ以外の刺激に大別される。前者の代表としてはC5aや走化性因子、後者の代表としてはPMAや脂肪酸がある。なお、細菌毒素が食細胞を刺激して O_2^- 産生系を活性化すると知見は、細菌と生体の関係を理解する上でも重要であろう^{13,37)}。Bリンパ球でも表面抗原を架橋した場合およびPMAで刺激すると O_2^- 産生が見られる。

従来 O_2^- 産生系の解析はあらかじめ刺激した細胞から形質膜を分離し、NADPHに依存した活性を測定することにより行われてきた。無細胞系でも O_2^- 産生系が再構成できることを明らかにしたのはPickら⁴⁾などである。彼等はマクロファージの膜画分に可溶性画分を加え、アラキドン酸などシス型の不飽和脂肪酸で刺激するとNADPHに依存した O_2^- の産生が起きるを見出した。好中球を材料とした研究でもこの方法は適応可能であり、多くの研究者がこれに取り組んだ。われわれはこの活性化が、不飽和脂肪酸のシス、トランスに関係ないばかりでなく、飽和脂肪酸でも起こしうることを明らかにした。不飽和脂肪酸やモノ不飽和脂肪酸を用いると使用された酸素のほとんどが O_2^- として回収される³⁴⁾。これに対してアラキドン酸など高度不飽和脂肪酸では吸収された酸素の半分以上、脂肪酸によってはその3/4が O_2^- の産生以外に使われる。

どのような情報伝達によりこの系が活性化されるかについてはまだ最終的な結論は得られていないが、先の細胞質の47, 65kDa蛋白などが形質膜に移動し、シトクロムと結合することにより電子伝達系を構成することが考えられている。また刺激時には特殊顆粒膜に存在するシトクロムも脱顆粒とともに形質膜に移動し、系の活性化を持続するとの考えも出されている。先のシトクロムの形質膜上のトポロジを基盤として、われわれはこのシトクロム大小鎖のカルボキシル末端部分（実際にはそのアミノ酸組成に相当するペプチド）が、刺激により47kDa蛋白質と結合することを見出した²¹⁾。47kDa蛋白質が膜に移動して初めて65kDa蛋白の膜への移動の可能なことが再構成から示されている。これらのことは47kDa蛋白質がGTP結合蛋白質とともに活性化を制御している可能性を示している。この蛋白質と先のシトク

ロムは燐酸化部位を持っているがその役割はまだ不明である。

5. 食細胞の O_2^- 産生の欠損と易感染性

CGDはもっとも頻度が高く見られる食細胞機能異常に伴う易感染性の遺伝性疾患である。1957年に米国で最初の報告があるが、この疾患が食細胞の活性酸素産生と密接に関係があることが明らかとなったのは1967年のことである⁶⁾。この疾患患者の食細胞は刺激しても O_2^- を産生できず、易感染性の原因は食細胞の殺菌能の欠如が原因と考えられている。乳児期からカタラーゼ産生菌である黄色ブドウ球菌、腸内細菌、緑膿菌、真菌などの重篤な全身性の感染を繰り返す。初発部位としてはリンパ節、肺、開口部周縁などが上げられており、肝膿瘍、肛門周囲膿瘍も特徴とされている。表在性リンパ節の肥大や化膿が高頻度で見られる。本邦においては現在まで100人を超える患者が登録されている。

CGD患者の食細胞には、これらの細胞に特徴的なb型のシトクロムが欠けていることがSegalらによって示されたが³⁰⁾、後にこれ以外の病型もあることが明らかにされている。なお、われわれはシトクロムの抗体を用いたCGDの出生前診断法を開発している²³⁾。その後、正常人と常染色体性のCGD患者の顆粒球の燐酸化のパターンを比較することから、一部のCGD患者の顆粒球には44-48kDa付近の蛋白質の燐酸化がないと報告されたが、後にこれは47kDa蛋白質の欠損であることが明らかにされた。一方CGD顆粒球から得られる細胞質画分を用いたin vitroの相補性試験などを基本に47および65kDa欠損のCGD患者の存在と、これらの蛋白質の O_2^- 産生系への関与が明らかになった^{24,41)}。

以上のように、CGDには現在まで少なくとも4種のポリペプチド欠損のあることが認められている。いずれが欠けても刺激時の O_2^- の産生が見られない。CGDでもっとも頻度が高く見られるのはシトクロム大鎖の欠損である。大鎖は前述のようにX染色体にコードされているため伴性遺伝し、患児の母親はヘテロサイゴートである。母親にはシトクロムを持ち O_2^- を産生できる食細胞とこれを持たず O_2^- を産生できない食細胞が共存する。

現在までの調査によると、本邦では89%がb型シトクロムの異常で、このうちの80%以上がその大鎖の欠損である。47, 65kDa蛋白質の欠損はそれぞれ5%づつしか発見されていない。なお、CGDにおけるこれらの蛋白質の欠損は、Bリンパ球でも認められる¹⁷⁾。

おわりに

食細胞から酵素的、非酵素的に生じる活性酸素は、必ずしも標的である細菌に向かって放出される訳ではなく、炎症により惹起される血管障害にも深く関わり合いを持っている。鉄イオンの存在下では、 O_2^- と H_2O_2 から $\cdot OH$ が生成する。この分子種は O_2^- や H_2O_2 より遥かに反応性が強く、単独でも蛋白質のトリプトファンやチロシン残基に変化を与えこれを凝集させる。このような変化を受けた蛋白質は蛋白分解酵素に対し感受性が強くなることが知られている。 $\cdot OH$ は O_2^- と共同して蛋白質の切断も起こす。一方この分子種はDNAのグアノシン残基を修飾し、また蛋白質のチロシン残基とDNAのチミン残基の架橋を起こすことも報告されている。

さらに $\cdot OH$ は不飽和脂肪酸と反応して過酸化脂質を形成させたり、蛋白質との複合体の形成を促すことも知られている。糖質も感受性が高い。好中球を初めとする食細胞から生ずる活性酸素は、このように両刃の剣であり、自己も傷害するのでリンパ球の助けにより、相手が特定できることは生体にとって望ましいことである。しかしそれにもかかわらず、その傷害性を完全には取り除くことができず、多くの場合過剰な反応を惹起することになる。将来的にはこの面での制御を可能にする必要があろう。

一方、われわれは好中球のb型シトクロムに対する単クローン抗体を用いて、末梢血や骨髓のBリンパ球の形質膜にもこのシトクロムが存在することを見出し報告した¹⁷⁾。Bリンパ球細胞表面でのこのシトクロムは、成熟Bリンパ球になって初めて見られ、プラズマ細胞になると再び見られなくなる。またBリンパ球には、47, 65kDaの両蛋白質が存在することも明らかにした。これに対してTリンパ球やNK細胞にはこれらの蛋白質が見られなかった¹¹⁾。また、リンフォーマの細胞を

使っても同様な結果が得られている。成熟Bリンパ球は抗体などの刺激により少量ながら O_2^- を産生するがTリンパ球やNK細胞にはその活性が見られなかった。表面抗原を架橋すると O_2^- が産生されることからBリンパ球では抗原の処理もしくはT細胞への情報伝達に関与するなど、殺菌のため多量に産生される場合とは異なり、別の役割を持っているものと推定される。

以上、本総説では、白血球の活性酸素の産生をめぐって、生成する活性酸素種とその産生機構解析についての現状について述べるとともに、Bリンパ球における発現など活性酸素の新たな意義などについても言及した。

本稿を終えるにあたり、下記の共同研究者（所属は当時）に深謝したい。

中村三千男、大海 忍、上野郁子、小林園子、土屋輝昌、中田宗宏、菊池彦彦、栗林 太、落合弘和、桃井和久、時田健司、中西 啓、藤縄 琢、富田敏夫、加藤 巖、野田公俊（以上東大・医科研）、石村 巽、牧野 龍、田中寅彦、飯塚哲太郎（以上慶応大・医）、大矢博昭、藤井敏司（以上京大・理）、国井乙彦、斧 康夫（以上帝京大・医）。

文 献

枚数の制限から引用文献については、我々の研究業績を中心にし、それ以外のものについては特に重要なものを除いて省いた。

- 1) Abo, A., Pick, E., Hall, A., Totty, N., Teahan, C.G., and Segal, A.W. (1991): *Nature* **353**, 668-670.
- 2) Babior, B.M., Kipnes, R.S., and Cunniffe, J. T. (1973): *J. Clin. Invest.* **52**, 741-744.
- 3) Balldridge, C.W. and Gerard, R.W. (1933): *Am. J. Physiol.* **103**, 235-236.
- 4) Bromberg, V. and Pick, E. (1984): *Cell. Immunol.* **88**, 213-221.
- 5) Cross, A.R., Jones, O.T.G., Harper, A.M., and Segal, A.W. (1981): *Biochem. J.* **194**, 599-606.
- 6) Holmes, B., Page, A.R., and Good, R.A. (1967): *J. Clin. Invest.* **46**, 1422-1432.
- 7) Iizuka, T., Kanegasaki, S., Makino, R., Tanaka, T., and Ishimura, Y. (1985): *J. Biol. Chem.* **260**, 12049-12053.

- 8) Iizuka, T., Kanegasaki, S., Makino, R., Tanaka, T., and Ishimura, Y. (1985) : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **130**, 621-626.
- 9) Imajoh-Ohmi, S., Tokita, K., Ochiai, H., Nakamura, M., and Kanegasaki, S. (1991) : *J. Biol. Chem.* **266**, 180-184.
- 10) Iyer, G.Y.N., Islam, D.M.F., and Quastel, J.H. (1961) : *Nature* **192**, 535-541.
- 11) Kanegasaki, S., Kobayashi, S., Kuribayashi, F., Nakamura, M., and Imajoh-Ohmi, S. (1992) : *Proc. 5th Internat. Cong. Oxy. Red.* in press.
- 12) 金ヶ崎士朗, 中村三千男 (1989) : *新生化学講座* **8**, 361-372.
- 13) Kanegasaki, S., Tomita, T., Momoi, K., Noda, M., and Kato, I. (1983) : *Toxicon* **21**, 203-206.
- 14) Karnovsky, M.L. (1962) : *Physiol. Rev.* **42**, 143-168.
- 15) Klebanoff, S.J., Clem, W.H., and Luebke, R.G. (1966) : *Biochem. Biophys. Acta* **117**, 63-72.
- 16) Knaus, U.G., Heyworth, P.G., Evans, T., Curnutte, J.T., and Bokoch, G.M. (1992) : *Science* **254**, 1512-1515.
- 17) Kobayashi, S., Imajoh-Ohmi, S., Nakamura, M., and Kanegasaki, S. (1990) : *Blood* **75**, 458-461.
- 18) Lomax, K.J., Malech, M.L., and Gallin, J. I. (1989) : *Blood Reviews* **3**, 94-104.
- 19) Makino, R., Tanaka, T., Iizuka, T., Ishimura, Y., and Kanegasaki, S. (1986) : *J. Biol. Chem.* **261**, 11444-11447.
- 20) Mizuno, T., Kaibuchi, K., Ando, S., Musha, T., Hiraoka, K., Takaishi, K., Asada, M., Nunoi, H., Matsuda, I., and Takai, Y. (1992) : *J. Biol. Chem.* **267**, 10215-10218.
- 21) Nakanishi, A., Imajoh-Ohmi, S., Fujinawa, T., Kikuchi, H., and Kanegasaki, S. (1992) : *J. Biol. Chem.* **264**,
- 22) Nakamura, M., Sendo, S., van Zwieten, R., Koga, T., Roos, D., and Kanegasaki, S. (1988) : *Blood* **72**, 1550-1552.
- 23) Nakamura, M., Imajoh-Ohmi, S., Kanegasaki, S., Kurozumi, H., Sato, K., Kato, S., and Miyazaki, Y. (1990) : *Lancet* **336**, 118-119.
- 24) Nunoi, H., Rotrosen, D., Gallin, J.I., and Malech, H.L. (1988) : *Science* **242**, 1298-1301.
- 25) 斧 康男, 国井乙彦, 金ヶ崎士朗 (1992) : 投稿準備中.
- 26) 斧 康男, 国井乙彦, 阿部浩一郎, 鈴木宏昌, 小林国男, 金ヶ崎士朗 (1991) : *化学療法の領域* **7**, 502-509.
- 27) Ono, Y., Kunii, O., and Kanegasaki, S. (1991) : *Antibiotics and Chemotherapy* **44**, 115-119.
- 28) Rikita, R.M., Michel, B.R., and Rosen, H. (1989) : *Biochem. J.* **261**, 3031-3035.
- 29) Rotrosen, D., Yeung, C.L., Leto, T.L., Malech, H.L., and Kwong, C.H. (1992) : *Science* **256**, 1459-1462.
- 30) Segal, A.W., Cross, A.R., Garcia, R.C., Borregaard, N., Valerius, N., Soothill, J.F., and Jones, O.T.G. (1978) : *Lancet* **ii**, 446-449.
- 31) Smith, R.M. and Cunnutte, J.T. (1991) : *Blood* **77**, 673-686.
- 32) Tanaka, T., Kanegasaki, S., Makino, R., Iizuka, T., and Ishimura, Y. (1987) : *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **144**, 606-612.
- 33) Tanaka, T., Imajoh-Ohmi, S., Kanegasaki, S., Takagi, Y., Makino, R., and Ishimura, Y. (1990) : *J. Biol. Chem.* **265**, 18717-18720.
- 34) Tanaka, T., Makino, R., Iizuka, T., Ishimura, Y., and Kanegasaki, S. (1988) : *J. Biol. Chem.* **263**, 13670-13676.
- 35) Tomita, T., Blumenstock, E., and Kanegasaki, S. (1981) : *Infect. Immun.* **32**, 1242-1248.
- 36) Tomita, T. and Kanegasaki, S. (1982) : *Infect. Immun.* **38**, 865-870.
- 37) Tomita, T., Momoi, K., and Kanegasaki, S. (1984) : *Toxicon* **22**, 957-965.
- 38) 上野郁子, 金ヶ崎士朗 (1990) : *日細菌誌* **45**, 653-663.
- 39) Ueno, I., Kohno, M., Mitsuta, K., Mizuta, Y., and Kanegasaki, S. (1989) : *J. Biochem.* **105**, 905-910.
- 40) Ueno, I., Fujii, S., Ohya-Nishiguchi, H., Iizuka, T., and Kanegasaki, S. (1990) : *FEBS Letters* **281**, 130-132.
- 41) Volpp, B.D., Nauseef, W.M., and Clark, R. A. (1988) : *Science* **242**, 1295-1297.