プロテアーゼ・インヒビターの抗炎症作用 ——白血球浸潤および血管透過性に対する抑制作用——

渡辺一義・中川秀夫・小嶋文良・栗原 篤・鶴藤 丞*

Anti-inflammatory effect of protease inhibitors——suppressive effect on PMN infiltration and vascular permeability

Kazuyoshi Watanabe・Hideo Nakagawa・Humiyoshi Kojima・Atsushi Kurihara・Susumu Tsurufuji

炎症時の組織障害因子としては、食食細胞由来のプロテアーゼが重要視されている。また、炎症局所への白血球浸潤や、種々の化学伝介因子の活性化などにプロテアーゼの関与が推測されている。したがってプロテアーゼ・インヒビター(PI)の抗炎症作用を解析することは、炎症反応に関与するプロテアーゼの種類を知るうえで重要である。われわれは白血球浸潤および血管透過性に対する影響を指標にして、各種 PI の抗炎症作用を検討した。

方 法

(1) 材 料

ラットのカラゲニン 空気嚢炎症 モデルを用いた。前日、ラット背部に空気 7 ml を皮下注射することにより作製した空気嚢内に、2%カラゲニン溶液 4 ml を注入し炎症を惹起した。その直後各種 PI を嚢内に投与し、その3、6および9時間後に嚢内の滲出液 0.1 ml を注射筒により抜き取り、白血球数の測定を行った。用いた PI とその投与量は以下に示すとおりである。leupeptin (20, 40, 70 および 140 mg/kg), TPCK (7, 20 および 50 mg/kg), cystamine (20, 50 および 100 mg/kg), EDTA (20 および 70 mg/kg), o-phenanthroline (20 および 40 mg/kg), aprotinin (100 trypsin inhibitor units/kg), tranexamic acid (120 mg/kg), また antipain, chymostatin, pepstatin および elastatinal はいずれも 70 mg/kg を投与した。

(2) 測定方法

カラゲニンと PI の同時投与の一定時間後に、¹²⁵I-標識ヒト血清アルブミンまたは fluorescein-標識ウシ血清アルブミンを静注し、その30分後における嚢内滲出液中の放射活性または蛍光を測定し、血管透過性の指標とした。

結果と考察

嚢内への白血球浸潤に対し、セリンおよびチオール PI である TPCK および leupeptin は、いずれの投与量においても強い抑制を示した。しかし TPCK は、カラゲニン刺激後9時間まで用量依存的な抑制を示すのに対し、leupeptin は3時間の時点でしか用量依存性が認められず、6および9時間では用量依存性が消失した。

この現象は、TPCK と leupeptin では白血球浸潤抑制の作用機序が異なることを示唆するものと考えられる。すなわち、TPCK は白血球のキモトリプシン様酵素を阻害することにより白血球遊走を直接抑制することが、Boyden 法を用いた *in vitro* 実験で報告されている¹⁾。したがって、本 *in vivo* 実験においても TPCK は、白血球に直接作用して白血球遊走を抑制している可能性が考えられる。一方、leupeptin は白血球に対する直接作用ではなく、たとえば補体系の活性化を阻止することにより化学遊走因子の産生を抑えた結果²⁾、嚢内への白血球浸潤を leupeptin が抑制するものと考えられる。

TPCK および leupeptin 以外の PI のうち、白血球浸潤に対する抑制能が認められたものは、チオール PI である cystamine の高濃度 (100 mg/kg) およびメタロ PI である o-phenanthroline の高濃度 (40 mg/kg) の投与だけであり、その抑制率は TPCK および leupeptin よりかなり弱いものであった。抑制能が認められた cystamine と o-phenanthroline の投与量は、嚢内の最高モル濃度に換算すると、leupeptin が抑制能を示す場合 (20 mg/kg) のそれぞれ約 9、19 倍という高い濃度である。

cystamine と同じくチオール PI である antipain、また o-phenanthroline と同じメタロ PI である EDTA や、カルボキシル PI である pepstatin ではすべて無効であった。したがって、カラゲニン空気嚢炎症における白血球浸潤にはチオール、メタロおよびカルボキシル・プロテアーゼは重要ではなく、TPCK および leupeptin で阻害されるセリン・プロテアーゼが重要であると考えられる。

また、白血球浸潤に対し強い抑制能を示した leupeptin と非常によく似たプロテアーゼ群を阻害する antipain は、同じセリン PI でありながら無効であった。この両者の相違点としては、leupeptin のほうがプラスミンお

* Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Science, Tohoku University 東北大学薬学部生化学教室

よびカリクレインに対し強い阻害能を有することがあげられる³⁾。しかしカリクレインのインヒビターである aprotinin が無効なことより、カリクレインの関与の可能性は少ないと考えられる。

プラスミン様酵素の関与については、セリン PI であるがプラスミン阻害能をもたない chymostatin および elastatinal が白血球浸潤を抑制しないこと、またすでにわれわれが報告しているプラスミン・インヒビターのε-アミノカプロン酸 n-ヘキシルエステルが白血球浸潤を抑制することより⁴⁾、カラゲニン炎症における白血球浸潤にはプラスミン様酵素の関与の可能性が大きいと考えられる。

抗線維素溶解剤の trarexamic acid が無効であるのは、tranexamic acid はプラスミノゲン・アクチベーターのインヒビターであり⁵⁾、プラスミンを直接阻害することができないためによると考えられる。

次に、白血球浸潤抑制能をもつ TPCK および leupeptin が、炎症の急性期における血管透過性に対しどのような作用をもつのかについて検討した。その結果、カラゲニンと PI の同時投与後2.5~3.0時間の時期の血管透過性を TPCK は有意に増強したが、leupeptin は無効であった。しかし5.0~5.5時間の時期の血管透過性に対しては TPCK の増強作用は消失し、逆に leupeptin が有意な抑制作用を示した。

このように、炎症の時期により PI の血管透過性に対する作用が異なるのは、カラゲニン炎症における血管透過性に主役を演じている化学仲介因子が時期によって異なり、それらに対する PI の直接あるいは間接の作用が、それぞれの PI において異なっているためであると推測される。

以上のように、カラゲニン炎症の急性期における白血球浸潤を抑制する PI が、必ずしも同じ時期の血管透過性を抑制しないことから、カラゲニン炎症における血管透過性と白血球浸潤は、異なったプロテアーゼが重要な役割を果たしている、おのおの独立した現象であることが示された。そして白血球浸潤ではセリン・プロテアーゼが重要であることが示唆された。

文 献

- 1) Goetzl, E.J.: Immunol 29: 163, 1975.
- 2) Takahashi, K. Tamoto, K. Koyama, J.: J. Antibio XXIX: 983, 1976.
- 3) Sudo, H. Aoyagi, T. Hamada, M., Takeuchi, T. Umezawa, H.: J. Antibio. XXV: 263, 1972.
- 4) Nakagawa, H. Shuto, K. Isaji, M. Watanabe K., Tsurufuji, S.: J. Pharm. Dyn. 4: 429, 1981.
- 5) Okamoto, S. Oshiba, S. Mihara H., Okamoto, U.: Ann. New York Acad. Sci. 146: 414, 1968.