



Title	Behcet病患者好中球におけるLysosome酵素活性と活性酸素産生能
Author(s)	山田, 光則
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33693
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	やま 山	だ 田	みつ 光	のり 則
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6 1 8 8	号	
学位授与の日付	昭 和 58 年 10 月 1 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学位論文題目	Behçet 病患者好中球における Lysosome 酵素活性と活性酸素産生能			
論文審査委員	(主査)			
	教 授 眞鍋 禮三			
	(副査)			
	教 授 木谷 照夫	教 授 山野 俊雄		

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

Behçet 病は重篤なブドウ膜炎を伴う全身性疾患であり、その真の病因はいまだ不詳であるが、本症における諸病変の病理組織学的検索では、前房蓄膿と同様な一過性の好中球浸潤がみられるとされ、種々の方面から本症患者の好中球機能の検討が行われている。本報では、この好中球の lysosome 酵素のうち、加水分解酵素として β -glucuronidase、蛋白分解酵素として collagenase、酸化還元酵素として myeloperoxidase (MPO) をとりあげ、Behçet 病患者、他の内因性ブドウ膜炎患者および健常者について、各酵素活性を比較検討し、特に MPO については本症における NBT 還元能亢進の病態解明のため、好中球の活性酸素産生能を superoxide radical (O_2^-) を用いて測定した。次に、好中球 lysosome 酵素活性に作用する患者血清中因子について検索し、更に、本症患者の治療に用いられる colchicine に関して lysosome 酵素活性や活性酸素産生能を指標として検討を加えてみた。

(方法ならびに成績)

対象は完全型および眼病変を有する不全型の Behçet 病患者 61 例、他のブドウ膜炎患者 26 例、健常者 30 例 (平均年令 37.8 才) とし、steroid 内服患者や糖尿病のある者は除いた。病期分類については眼病変のみでなく眼外病変も含め、検体採取時一つでも主症状があれば発作期とし、特に眼病変については視力低下をきたす程度以上のものを眼発作とし、その前後一週間内外をそれぞれ発作前期、発作後期とした。好中球は heparine 処理静脈血より Böyum の方法に準じ Ficoll-Conray を用いて分離した。 β -glucuronidase 活性は triton 処理後、p-nitrophenyl- β -D-glucuronide を基質として測定した (μg p-nitrophenol/hr, PMLS), collagenase 活性は Potter-Elvehjem homogenizer にて処

理後、凍結融解、Berman らの capillary gel assay 法 (mmlysis /hr), ならびに [^{14}C]-Glycine 標識モルモット皮膚より抽出した collagen を用いる RI 法にて測定した (μg collagen/hr, PMLS), さらに高い collagen 分解活性を示した発作期患者好中球からの酵素液を collodion bag で濃縮し, 0.05 M tris HCl buffer で平衡化した sephadex G-200 の column で gel 濾過し, 各 fraction の酵素活性を RI 法で測定し, 溶出液量から Andrews の方法により酵素蛋白の分子量を測定し, neutrophil collagenase であることを同定した。MPO 活性は cetyl trimethyl ammonium bromide で処理後, o-dianisidine を用いて測定した (n-mole H_2O_2 /min, PMLS), O_2^- 産生能は ferricytochrome C を混和後, ConA と cytochalasine E を添加し, 二波長分光光度計にて測定した (n mole cyt. C/min, PMLS)。その結果, β -glucuronidase 活性, collagenase 活性および O_2^- 産生能は発作期にある Behçet 病患者で, 緩解期にある患者, 他のブドウ膜炎患者および健常者に較べて, Welch の t 検定で有意に高値を示したが, 発作後期と緩解期との間にはすでに有意差はなく, また MPO 活性については発作期においても高値を示さなかった。次に, Behçet 病患者血清の好中球 lysosome 酵素活性への影響を β -glucuronidase を指標として調べた結果, 非働化処理しない発作期患者血清を作用させた健常者好中球で酵素活性が高値を示し, さらに, 発作期患者血清を sephadox G-200 column chromatography で, Fr. I~III に分け, 各々 Lowry 法で蛋白量を調整したうえで健常者好中球と incubate させると albumin に近い分画を作用させた場合に高い酵素活性を示した。また, Behçet 病患者を colchicine 内服患者とその他の療法患者に分け, 各々, 発作期と緩解期について再検討した結果, colchicine を投与している患者は, 発作期においても β -glucuronidase 活性, collagenase 活性および O_2^- 産生能が低い傾向にあった。

(総括)

Behçet 病は neutrophil irritable syndrome とも称されるように, 発作期にある患者好中球ではその遊走能, 貪食能, 殺菌能が共に亢進しているとされている。そして 1) 好中球の lysosome 酵素のうち, 代表的な加水分解酵素である β -glucuronidase 活性が発作期において一過性に亢進することは, 好中球自体の heterophagy や autophagy 機能という点から, いわゆる細胞内 turn over のすみやかなる亢進と消退を示唆するものであり, また, 主に血管基底膜や関節組織の分解に関与するとされる neutral protease である collagenase 活性の高値は, 本症患者にみられる特有の血管炎を呈する病態との関連が推定され, さらに本症患者好中球における殺菌系では MPO 系よりむしろ, おそらく膜の transmethylation と並行して活性酵素の生成が亢進しており, しいては細胞外にもれた活性酸素や lysosome 酵素が本症の組織障害をひきおこしている可能性が考えられる。2) 発作期にある Behçet 病患者の血清中に, 好中球 lysosome 酵素活性を上昇させる因子が存在し, この因子は易熱性で分子量の小さい血清分画に含まれていた。3) colchicine 投与患者では発作期においても好中球の β -glucuronidase 活性, collagenase 活性および活性酸素産生能が低い傾向にあり, colchicine の好中球に対する直接的, または, 血清因子を介する間接的作用が示唆された。

論文の審査結果の要旨

Behçet 病は重篤な眼内炎を伴う全身性疾患でありその真の病因は不詳であるが、諸病変の病理組織学的検索では前房蓄膿と同様な一過性の好中球浸潤がみられるとされる。本論文は本症患者におけるこの好中球の機能を好中球 lysosome 酵素活性や活性酸素産生能の変動の面から他の内因性ぶどう膜炎患者と比較検討し、さらに、それらに対する患者血清中の因子や薬物による影響を調べたものである。その結果、加水分解酵素や neutral protease の一過性の活性亢進により、細胞内 turn over の亢進や血管炎との関連性を、また、殺菌系では myeloperoxidase 系よりむしろ活性酸素系の亢進があることを証明している。次に、好中球 lysosome 酵素活性を上昇せしむる易熱性因子が発作期患者血清の分子量の小さい分画に含まれていること、および colchicine 投与患者で lysosome 酵素活性や活性酸素産生能が低いことを見出している。これは本症の病態解明上あるいは治療上極めて意義深いものである。