

ウリナスタチンの多臓器不全に対する作用機序 ：特に、白血球との関連において

持田製薬株式会社 富士中央研究所
加藤 克明

ウリナスタチン（ミラクリッド®）は肺炎および種々の原因によるショック，ならびにそれらに伴う多臓器不全（MOF）の治療薬として用いられている。ここではウリナスタチンのMOFに対する作用機序を特に白血球との関連において考察してみたい。

1. ウリナスタチンの物性

ウリナスタチンはヒト尿中より抽出・精製された分子量67000の酸性糖タンパクであり，トリプシンをはじめ α キモトリプシン，プラスミン，白血球エラスターゼ等のプロテアーゼに強力な阻害作用を示すほか，ヒアルロニダーゼのようなグリコサミノグリカン分解酵素にも阻害作用を示す。糖鎖にはN-アセチルガラクトサミンやウロン酸が多く含まれ一種のプロテオグリカンとも考えられる分子形態を有しており¹⁾，また，N末端からのアミノ酸配列の類似性から血中に存在するインター α トリプシンインヒビターとの関連性も示唆されている²⁾。

2. ウリナスタチンと侵襲

ヒト尿中にトリプシン阻害物質が存在することは既に今世紀初頭より報告があるが，その産生機序あるいは生理的意義等については未だ十分明らかにはなっていない。しかしながら，尿中のトリプシン阻害活性は手術，妊婦，癌，感染等の際に上昇すると云われており（図1）³⁾，また，我々は手術侵襲を与えたマウスにウリナスタチンを投与したところ，手術群（対照群）では非手術群に比べ免疫能，腎機能等の低下あるいは腫瘍増殖の促進等が見られたがウリナスタチン投与群ではそれらの変化が抑制されていた（図2）ことなどから⁴⁾，ウリナスタチンは侵襲に対する生体の反応と密接な関連性を有する物質であるものと推察される。

各種病態時の尿中トリプシン阻害活性

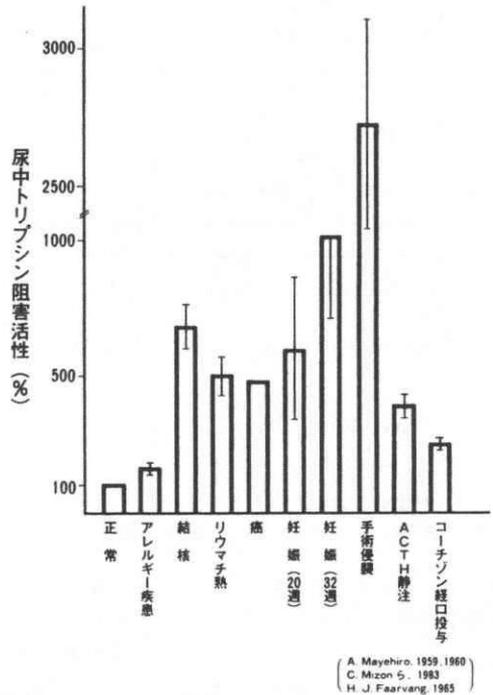


図1 各種病態時の尿中トリプシン阻害活性

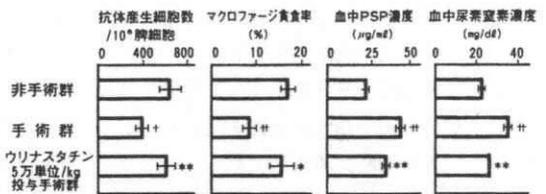


図2 手術侵襲マウスに及ぼすウリナスタチンの影響

3. 侵襲と白血球

生体に手術，感染，外傷あるいは毒性物質などの侵襲が加わったときに，白血球はプロテアーゼならびに活性酸素等を放出して一時的な防御を担う一方，サイトカインを動員して種々の免疫細胞群に防御体制を作らせる。しかし，これらの本来は生体防御と考えられる反応も過剰

に起れば生体に障害をもたらし、それが重篤な場合は全身性に重要臓器に障害が及び各種ショックひいては多臓器不全(MOF)を招来する可能性が考えられる(図3)。従って、このような侵襲に対する白血球の過剰反応を抑制することが各種ショック、さらにはショックに伴うMOFの発症防止につながるものと思われる。

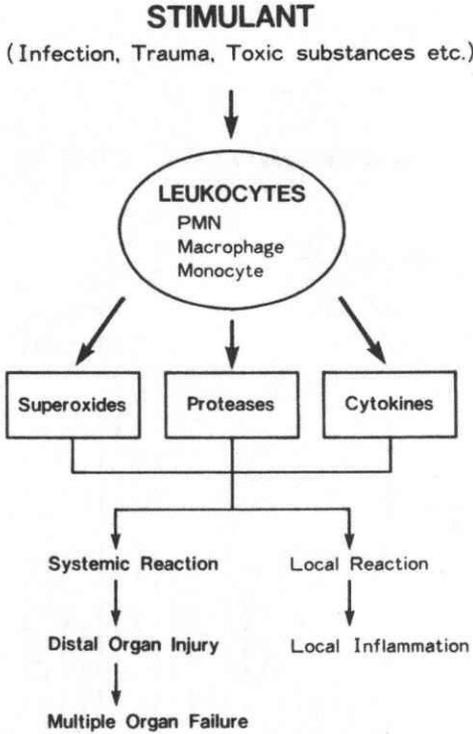


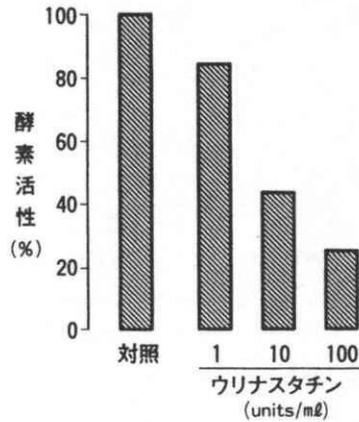
図3 多臓器不全の発症における白血球の関与

4. ウリナスタチンと白血球プロテアーゼ

侵襲刺激を受けた白血球からは種々のプロテアーゼが放出されるが、なかでもエラスターゼはエラスチン、コラーゲン、フィブロネクチン等のマトリックス構築タンパクを広く分解し、最も障害性の強いものの一つである⁵⁾。ウリナスタチンは、図4に示すようにヒト白血球エラスターゼ活性を強力に阻害した。また、ヒト末梢白血球に大腸菌LPSを添加して培養すると上清中に著明なエラスターゼ活性の上昇が見られたが、ここでウリナスタチンを同時に添加しておくとエラスターゼ活性の上昇は強く抑制され、しかも培養後にウリナスタチンを添加するよりもあらかじめウリナスタチンを添加したほうが抑制効果が強く認められたことから(図5)、ウリナスタチンは白血球エラスターゼに対する直接阻害作用に加え、大腸菌LPS刺激による白血球エラスターゼの遊離をも抑制することが示唆された。一方、血中に存在するエラスターゼ阻害物質である α 1-アンチトリプシンは、ミクロペルオキシダーゼにより酸化的失活を受ける

のに対し、ウリナスタチンは影響を受けなかった⁶⁾。

ウリナスタチンのヒト白血球エラスターゼ阻害作用



基質:CBZ-Ala-pNP (Dubin et al. Biochemical J. 1976)

図4 ウリナスタチンのヒト白血球エラスターゼ阻害作用

Effect of ulinastatin on endotoxin-induced release of elastase-like activity from human leukocytes

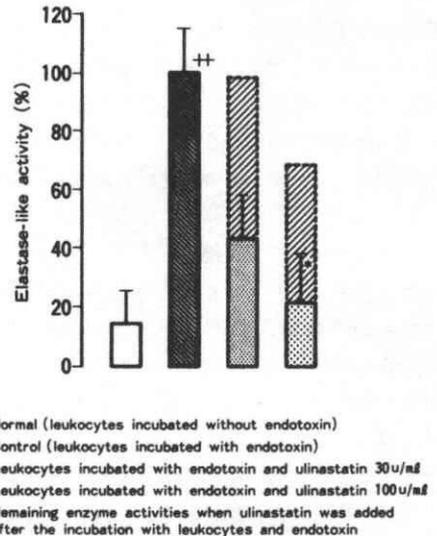
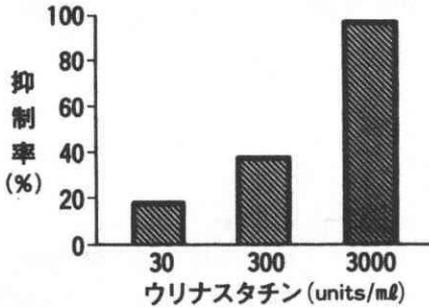


図5 大腸菌LPS刺激によるヒト白血球からのエラスターゼ遊離に及ぼすウリナスタチンの影響

5. ウリナスタチンと活性酸素

白血球の産生する活性酸素は前述のようにプロテアーゼインヒビターを失活させてプロテアーゼの作用を強めるのみならずそれ自体強力な組織障害性を有しているが⁵⁾、ウリナスタチンは図6に示すように、ウサギ白血球にin vitroでサイトカラシンEおよびコンカナバリンAを添加して刺激した際の活性酸素の放出を抑制した⁷⁾。

ウサギ白血球の活性酸素(O₂⁻)産生に及ぼすウリナスタチンの影響



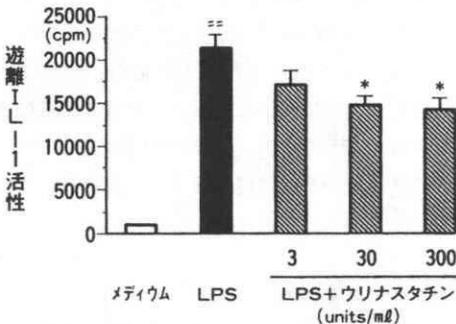
刺激剤：サイトカラシンEおよびコンカナバリンA
測定法：チトクロームC還元法(OD550nm)

図6 ウサギ白血球の活性酸素(O₂⁻)産生に及ぼすウリナスタチンの影響

6. ウリナスタチンとサイトカイン

IL-1をはじめとするサイトカインは広範な生理活性を有しており、もちろん免疫系の種々の細胞群を活性化し生体を異物の侵入から守るという重要な役割もある反面、細胞機能の低下や臓器障害の惹起因子の一つでもある。ウリナスタチンは図7に示すようにウサギ単球を *in vitro* にて大腸菌LPSで刺激した際のIL-1活性の遊離を抑制した。また、ヒト末梢血単球を用いた同様の実験においてもIL-1βの遊離を抑制した(図8)⁷⁾。さらに、胃ガン患者に胃切除術を施行した後経時的に末梢血単球を採取しそのIL-1およびTNF産生能を見た上尾らの検討では、手術後これらのサイトカイン産生は著しく増加するのに対し術中ウリナスタチン投与群ではこれらの変化が強く抑制されていた⁸⁾。

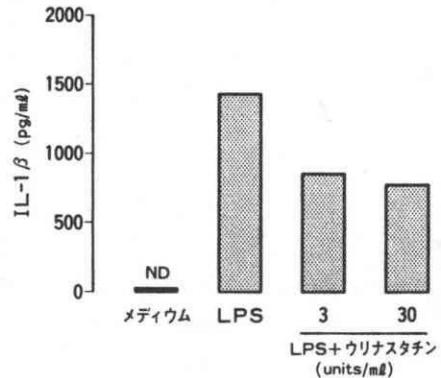
LPS刺激によるウサギ単球からのIL-1遊離に及ぼすウリナスタチンの影響



IL-1活性はC3H/HeJマウス胸腺細胞への³H-thymidine取り込み促進作用にて測定

図7 大腸菌LPS刺激によるウサギ単球からのIL-1遊離に及ぼすウリナスタチンの影響

LPS刺激によるヒト単球からのIL-1β遊離に及ぼすウリナスタチンの影響



IL-1βはEIA法で測定

ND: 検出限界以下

図8 大腸菌LPS刺激によるヒト単球からのIL-1β遊離に及ぼすウリナスタチンの影響

7. まとめ

白血球が産出するプロテアーゼ、活性酸素ならびにサイトカインは、各々単独で作用するのみならず互いに他の因子の産出を促進あるいは作用を増強し合うことが知られており、相乗的に組織障害を増幅し得るものと考えられる。ウリナスタチンはこれらの因子の阻害あるいは産生抑制作用を有することから、組織障害が進展する悪循環を多面的に抑制することにより臨床的有用性を発揮することが期待される。

文献

- Balduyck M, Mizon C, Loutfi H et al.: Eur. J. Biochem. 158, 417-422(1986)
- Hochstrasser K, Schonberger oL, Rossmanith I et al.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 362, 1357-1362(1981)
- Faarvang, HJ: Scand. J. Clin Lab. Invest. 17 Suppl.83, 1-73(1965)
- 大西治夫, 矢野 崇, 加藤克明, 稲場 均, 小雀浩司: 日薬理誌 85, 1-6(1985)
- Stephen JW: New Engl. J. Med. 320, 365-375 (1989)
- 堀内健太郎, 金山尚裕: 薬理と治療 16, 2007-2012 (1988)
- 江田兼弘, 加藤克明, 長尾祐二, 岡 哲雄: 日薬理誌 99:93-107(1992)
- 上尾裕昭, 松岡秀夫, 有永信哉, 渡辺大介, 阿部良二, 井上 裕, 秋吉 毅: 日外会誌 92, 231(1991)