

(総 説)

## アレルギーの原因となる花粉に含まれるプロテアーゼ

永田 寛幸・矢田絵都子・野口 幸紀・小寺 洋・  
西村 裕之・稲田 祐二・松島 (二見) 瑞子桐蔭横浜大学工学部医用工学科・桐蔭人間科学工学センター  
〒225-8502 横浜市青葉区鉄町 1614  
(2003年9月24日 受付, 2003年11月13日 受理)

## Proteases from allergy-associated pollens

Hiroyuki NAGATA, Etsuko YADA, Yukinori NOGUCHI, Yoh KODERA,  
Hiroyuki NISHIMURA, Yuji INADA and Ayako MATSUSHIMA (FUTAMI)Department of Biomedical Engineering, Toin University of Yokohama,  
Toin Human Science and Technology Center  
1614, Kurogane-cho, Aoba-ku, Yokohama, 225-8502, Japan

## はじめに

近年, 花粉症, 喘息あるいはアトピー性皮膚炎といったアレルギー性疾患が飛躍的に増加し, その原因の解明及び治療法の開発が強く望まれている. アレルギーは従来, 浮遊粉塵 (ハウスダスト) 中のダニや花粉あるいは食物に含まれるタンパク質が原因物質 (アレルゲン) となり免疫系を活性化し, 産生された IgE によって引き起こされると考えられている (I 型アレルギー). 一方プロテアーゼ活性とアレルギー等の病態発症との間に深い関係があることも報告されるようになってきている<sup>(1, 2)</sup>. 外来の微生物由来酵素が生体内のバランスを乱すことで諸症状の悪化や新たな病態の発症をもたらすといった報告も見受けられる<sup>(3)</sup>.

筆者らはダニ (コナヒョウヒダニ, *Dermatophagoides farinae*) より単離した血液凝固 XIIa 因子様の酵素 (Df-プロテアーゼ) が, 血液中の凝固系<sup>(4)</sup>, 線溶系<sup>(5)</sup>, カリクレイン-キニン系<sup>(6)</sup> を活性化する事を見出した. また, ダニアレルギー患者がダニを吸入した際, 鼻粘膜や気道で集束された Df-プロテアーゼがキニンを増加させ (あるいは炎症阻害物質に作用しその機能を消失させ) ることによって, アレルギー様症状を悪化させる可能性を示唆してきた<sup>(7-9)</sup>. さらに, Df-プロテアーゼの阻害剤の探索を行い, 本酵素が誘起するアレルギー様症状の軽減に有効な薬剤を見出した<sup>(10-13)</sup>.

ダニの場合同様, アレルギーの原因となる花粉の中にも様々な酵素が存在し, その一部は花粉症の発症や

悪化に関与しているといった報告も見受けられるようになってきた<sup>(2, 14-20)</sup>. ここではブタクサやスギ等花粉症の原因となる花粉に含まれる酵素 (プロテアーゼ, ペプチダーゼ<sup>(1E)</sup>) と, それらの生体に及ぼす影響について紹介する.

(注): ここではペプチドのアミノ末端から加水分解する酵素をアミノペプチダーゼ, ペプチドを末端以外で加水分解する酵素をエンドペプチダーゼ, エンドペプチダーゼの中でタンパク質を加水分解する活性をも有するものをプロテアーゼと定義した.

## 花粉プロテアーゼ

## 1. ブタクサ花粉中のペプチダーゼ

ブタクサ (Ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*) 花粉は, アメリカ・カナダにおいて花粉症の主要な原因物質の一つである. Bagarozzi ら<sup>(14, 15)</sup> はブタクサ花粉中に芳香族アミノ酸等疎水性アミノ酸を認識するキモトリプシン様セリン酵素と, 塩基性アミノ酸を認識するトリプシン様酵素の 2 種類のエンドペプチダーゼを見出し, それぞれ単離精製に成功している.

キモトリプシン様酵素<sup>(11)</sup> は分子量 82 kDa, 至適 pH 9.0 のセリン酵素で, N 末端のアミノ酸配列からは他の酵素との相同性は確認されていない. *p*-ニトロアニリド (*p*NA) を含む合成基質を用いた基質特異性検討によって, Suc-Phe-Val-Phe-*p*NA のように P<sub>1</sub> 位及び P<sub>3</sub> 位にフェニルアラニン残基を, また Suc-

表 1. メスキート花粉中のキモトリプシン様酵素による生活活性ペプチドの加水分解位置.

ペプチド	アミノ酸配列
Angiotensin I	D-R-V-Y-I-H-P-F-H-L
Angiotensin II	D-R-V-Y-I-H-P-F
Vasoactive intestinal peptide	H-S-D-A-V-F-T-D-N-Y-T-R-L-R-K -Q-M-A-V-K-K-Y-L-N-N-S-I-L-N
Substance P	R-P-K-P-Q-Q-F-F-G-L-M
Peptide 1	F-G-L-M

Matheson et al. (1998)<sup>(18)</sup> より改編.

↓は加水分解位置を示す.

Phe-Pro-Leu-*p*NA のように P<sub>2</sub> 位にプロリン残基を有する合成基質を効率よく加水分解することを見出している. さらに P<sub>1</sub> 及び P<sub>3</sub> 位にフェニルアラニン残基を含むペプチジルクロロメチルケトンが優れた阻害効果を示す事より, 疎水性アミノ酸に特異性の高い酵素であると考えている. また一般的セリン酵素の阻害剤である DFP (diisopropyl fluorophosphate) 及びキモトリプシン阻害剤である TPCK (*N*-*p*-tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone) で完全に阻害されることからキモトリプシン様セリン酵素と報告している.

この酵素の生体に対する影響として, VIP (vasoactive intestinal peptide) や P 物質 (substance P) といった肺機能の正常化に関与している神経ペプチドを加水分解することを見出している. 従って, 花粉粒子中のアレルゲンなどとの共同作用によって, アレルギー性喘息や花粉暴露による肺の生理機能変化等に悪影響を及ぼすものと推測している. さらに好中球中のエラスターゼ作用を阻害する  $\alpha$ -1-protease inhibitor を分解する事より, 好中球による花粉の貪食を遅らせ, 免疫応答に影響を及ぼす可能性をも示唆している.

トリプシン様酵素<sup>(15)</sup> は分子量 80 kDa, 至適 pH 9.0, 活性発現及び酵素の安定化に Ca<sup>2+</sup> が必要である. アミノ末端がブロックされているためアミノ酸配列は検討されていない. Bz-Arg-*p*NA 等 P<sub>1</sub> 位にアルギニン残基を含む合成基質を加水分解すること, 及び Z-Gly-Arg-*p*NA 等のように P<sub>2</sub> 位にグリシン残基やアルギニン残基を含む合成基質はさらによく加水分解することから基質特異性の高いトリプシン様酵素といえよう. トリプシン様の活性を有しながら同じ塩基性のアミノ酸であるリジン残基を認識, 加水分解せず, アルギニン残基に特異的であることも非常に興味深い. P<sub>1</sub> 位にアルギニン残基を含むペプチジルクロロメチルケトン, DFP 及びトリプシン阻害剤の TLCK (*N*<sup>α</sup>-tosyl-

L-lysyl chloromethyl ketone) では完全に阻害されるが, TPCK, ロイペプチン (leupeptin) 等他の阻害剤では阻害されない.

天然のタンパク質は本酵素により加水分解を受けないが, 肺機能の正常化に関与する心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide) やアンギオテンシン II (angiotensin II) など, 数種の生理活性ペプチドは加水分解される. 血中には血圧を制御しているカリクレイン-キニン系及びレニン-アンギオテンシン系といった酵素系が存在しているが, 本酵素の生体内への侵入に伴ってそのバランスが崩れ, キニン活性が増加<sup>(21)</sup>, その結果気道や鼻腔道の炎症に影響を与える可能性があることを指摘している.

以上の様に, Bagarozzi らはこれらブタクサに含まれるエンドペプチダーゼは花粉症発症時に, 生体制御に関与する生理活性ペプチドを分解し, 情報伝達や酵素系の作用を抑制もしくは活性化することで生体の微妙なバランスを崩してさらに症状を悪化させる可能性を示唆している.

## 2. メスキート花粉中のプロテアーゼ

豆科植物メスキート (*Mesquite*, *Prosopis velutina*) は, 他のアレルギー原因物質と異なり, 産地が米国南西部に限られているためにアレルゲンとして著名ではないものの, その花粉は産地住民に深刻なアレルギーをもたらすことが知られている<sup>(22)</sup>. Matheson 及び Travis ら<sup>(16-18)</sup> は, メスキート花粉中からアルギニン残基に特異的なトリプシン様エンドペプチダーゼ (peptidase I<sub>mes</sub>) と, 疎水性残基を認識するペプチダーゼ (peptidase II<sub>mes</sub>) を発見している.

Peptidase I<sub>mes</sub><sup>(16, 17)</sup> は分子量 84 kDa, 至適 pH は中性からアルカリ性で, Ca<sup>2+</sup> 存在下で安定化する. DFP や TLCK などで阻害されることからアルギニン残基特異的なトリプシン様エンドペプチダーゼである



としている。タンパク質は分解しないが、心房性ナトリウム利尿ペプチドやアンギオテンシン II などの生理活性ペプチドを加水分解する。また、本酵素はヒト血漿プロテアーゼ阻害剤 (human plasma protease inhibitor) をはじめ、植物・動物由来プロテアーゼ阻害剤では阻害されないことから生体内に侵入した場合、重大な影響を及ぼすことが予想される。このように peptidase I<sub>mes</sub> は生理活性ペプチドを分解し不活化することにより、ブタクサの場合と同様に、喘息などの悪化に繋がると考えられている。

Peptidase II<sub>mes</sub><sup>(16)</sup> は分子量 92 kDa で、DFP や TPCK 等のキモトリプシン阻害剤やベスタチン等アミノペプチダーゼ阻害剤で阻害される。アミノ酸及びペプチドの pNA を合成基質として用い、H-Ala-pNA を最もよく分解する事を見出している。pNA を含まないペプチドではアミノ末端の Leu や Phe も認識し加水分解することから疎水性残基を認識するペプチダーゼとしている。キレート剤やモノヨド酢酸、TLCK 等では阻害されない。また、血液中に存在する各種プロテアーゼ阻害剤はじめ  $\alpha$ -アンチキモトリプシン ( $\alpha$ -antichymotrypsin) 等他のタンパク質阻害剤では阻害されないので peptidase I<sub>mes</sub> と同様、生体に及ぼす影響が考えられる。Matheson ら<sup>(16)</sup> によれば、peptidase II<sub>mes</sub> の最も興味ある点は、生理活性ペプチドのアンギオテンシン I, II や神経ペプチドの VIP をすばやく (エンドペプチダーゼとして) 加水分解することだという (表 1)。確かに、1つの酵素でエキソペプチダーゼとエンドペプチダーゼの両作用を有する酵素は珍しい。ただし、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動的には完全に単一ではないため他の酵素の混入も否定できないように思う。Travis ら<sup>(17)</sup> は、これら生理活性ペプチドがアレルギー性喘息の際の炎症に関わっている事より、peptidase II<sub>mes</sub> が花粉に由来するアレルギー反応に深く関わっている可能性を示唆している。

### 3. スギ花粉中のプロテアーゼ

スギ (Japanese cedar, *Cryptomeria japonica*) 花粉は、日本における花粉症の主要原因とされている。スギ花粉には Cry j 1 及び Cry j 2 の 2 種類の主アレルゲンが存在し<sup>(23, 24)</sup>、それぞれ Cry j 1 はペクテートリナーゼ活性<sup>(25)</sup> を Cry j 2 はポリメチルガラクトナーゼ活性<sup>(26)</sup> を有しているとの報告がある。筆者らはスギ花粉中にエンドペプチダーゼとエキソペプチダーゼ (アミノペプチダーゼ) の 2 種類の酵素を発見、それぞれ前者を Jc-protease、後者を Jc-peptidase と命名し、酵素学的研究及び生体への影響について検討を行った<sup>(19, 20)</sup>。

表 2. Jc-peptidase の基質特異性と阻害剤。

基質	$K_m$	相対活性
<i>monoamino acid</i>		
<b>Phe-MCA</b> *	$5 \times 10^{-5}$ (M)	100 (%)
Tyr-MCA	$7 \times 10^{-4}$	55
Leu-MCA	$1 \times 10^{-3}$	22
Met-MCA	$1 \times 10^{-3}$	19
Cys(Bzl)-MCA		4
Arg-MCA		0
Glu-MCA		0
Pyr-MCA		0
<i>oligopeptide</i>		
Gly-Phe-MCA		0
Ala-Ala-Phe-MCA		0
Glt-Ala-Ala-Phe-MCA		0
阻害剤	$K_i$	相対活性
阻害剤なし		100 (%)
phebestin	$5 \times 10^{-5}$ (M)	27
bestatin	$1 \times 10^{-4}$	39
leuhistin		91
EDTA		100
TLCK		100

Noguchi et al. (2002)<sup>(19)</sup> より改編。

\*MCA: 4-methyl-coumaryl-7-amide

### Jc-peptidase<sup>(19)</sup>

2002 年、筆者らはアミノ末端のフェニルアラニン残基を認識し、加水分解する新規なアミノペプチダーゼをスギ花粉中に発見し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動的に単一な精製品を得た。この酵素は分子量 43 kDa、至適 pH 及び至適温度は、それぞれ 7.3、40°C である。N 末端がマスクされているため、他酵素とのアミノ酸配列の相同性の比較検討はされていない。

合成基質を用いた基質特異性の検討から (表 2)、N 末端が疎水性のアミノ酸の基質に対して高い活性を有し、特に芳香族アミノ酸の Phe-MCA を最もよく加水分解する。N 末端がアスパラギン酸残基やアルギニン残基等、酸性や塩基性のアミノ酸残基の場合は全く加水分解されない。これまでに疎水性アミノ酸を認識するアミノペプチダーゼは多数報告されているが、フェニルアラニンに特異性が最も高い酵素は報告がない。さらに、本酵素は生理活性ペプチドに対しても合成基質の場合と同様の基質特異性を示し<sup>(27)</sup>、アンギオテンシン等はまったく加水分解せず、エンドペプチダーゼ作用を有するメスキート由来のペプチダーゼと大きく

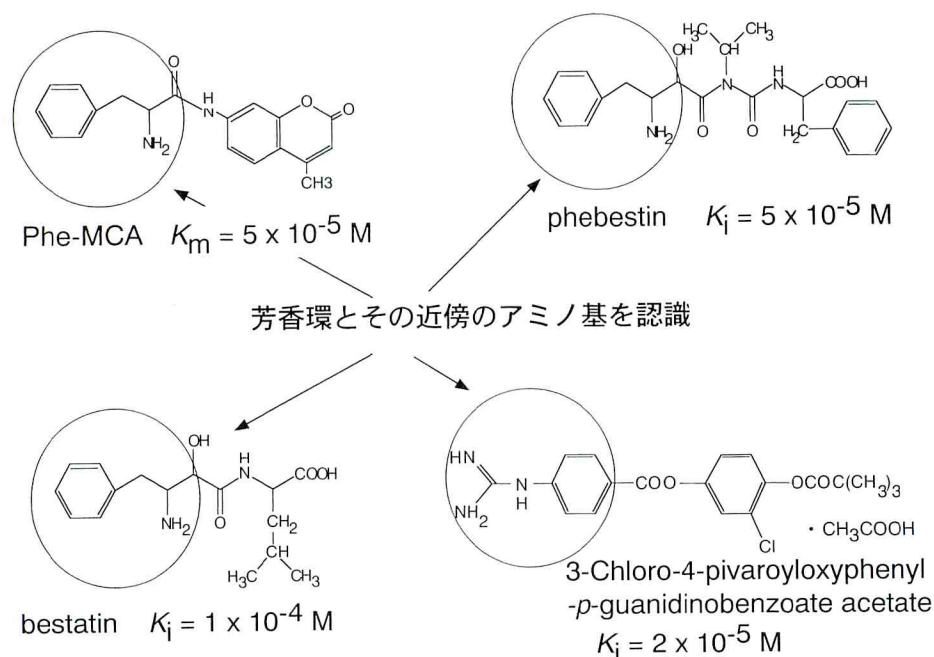


図1. 基質又は阻害剤の Jc-peptidase による認識部位.

異なる<sup>(18)</sup>.

また、アミノペプチダーゼの阻害剤であるフェベスチン (phebestin) とベスタチン (bestatin) に阻害が見られる (表2)。興味あることにトリプシンの阻害剤 3-クロロ-4-ピバロイルオキシフェニル-*p*-グアニドベンゾエート ( $K_i = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) (小野薬品工業製) によっても阻害されている。これらの阻害剤は図1に示したように芳香環とその近傍にアミノ基を持つ構造であり、合成基質 Phe-MCA の特徴とも一致する。活性を完全に抑制する阻害剤が確認されていないことからこれまで確認されているアミノペプチダーゼとは異なり、活性中心近傍に芳香環とアミノ基を認識する、新規のアミノペプチダーゼと考えられている。

この酵素の花粉中の役割や、アレルギーとの関連については現在検討中である。

#### Jc-protease<sup>(20)</sup>

Phe-agarose の代わりに *p*-aminobenzamidine agarose を用いた以外は Jc-peptidase<sup>(19)</sup> とほぼ同様工程にて精製した Jc-protease は、分子量 50 kDa、至適 pH 及び至適温度それぞれ pH 8.3 及び 40°C のエンドペプチダーゼである。

合成基質による基質特異性の検討から、アルギニン残基を認識するトリプシン様酵素であり、中でもプラスミノノーゲンアクチベーター (PA) 用合成基質 (Pyr-Gly-Arg-MCA) に強い活性を示している ( $K_m = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ )。また、血液凝固 XIIa 因子 (Boc-Gln-Gly-Arg-MCA,  $K_m = 4 \times 10^{-5} \text{ M}$ )、血液凝固 Xa 因子 (Z-

Pyr-Gly-Arg-MCA)、ウロキナーゼ (Glt-Gly-Arg-MCA) 用基質等、血液凝固系や線溶系関連基質を加水分解するという興味深い結果を得ている。他モトリプシンやエラスターゼの合成基質は加水分解しない。

TLCK, メシル酸カモスタット (camostat mesilate,  $K_i = 1.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ )、ロイペプチン (leupeptin,  $K_i = 4.5 \times 10^{-7} \text{ M}$ )、アプロチニン (aprotinin,  $K_i = 3.3 \times 10^{-6} \text{ M}$ ) 等低分子のトリプシン阻害剤により酵素活性は完全に阻害されるが、大豆トリプシンインヒビター (BBI, Kunitz) やリマビーントリプシンインヒビターなどの高分子トリプシン阻害剤では阻害されない。

一般に血管が損傷すると血液凝固因子 (I~XIII) の共同作用によって不溶性のフィブリンゲルを形成する事により止血する。止血が完了し不要となったフィブリンゲルは線溶系酵素プラスミンによって溶解するが、通常プラスミンは不活性なプラスミノノーゲンとして血中に存在し、必要に応じてプラスミノノーゲンアクチベーターにより活性化されることが知られている。これらの概念図を図2に示す。

図3は人工的に作成したフィブリンゲルの中央に Jc-protease 溶液を添加し、48 時間後に観察したものである。プラスミノノーゲン共存下にて作成したフィブリンゲルは Jc-protease の添加量の増大に伴い、ゲルの溶解面積 (図では黒く見える) も増大しているが、プラスミノノーゲン無添加のフィブリンゲルの溶解はごく少量である。従って、Jc-protease はプラスミノノーゲンを限定分解して活性型プラスミンに変換する PA 活性を有しており、生成したプラスミンによりフィブリ



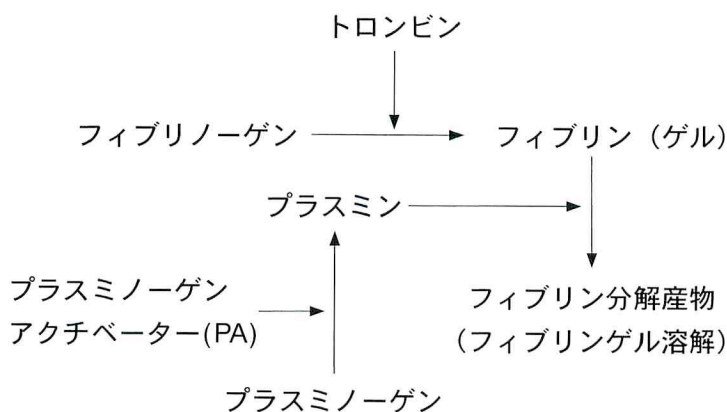


図2. 線溶系の概念図.

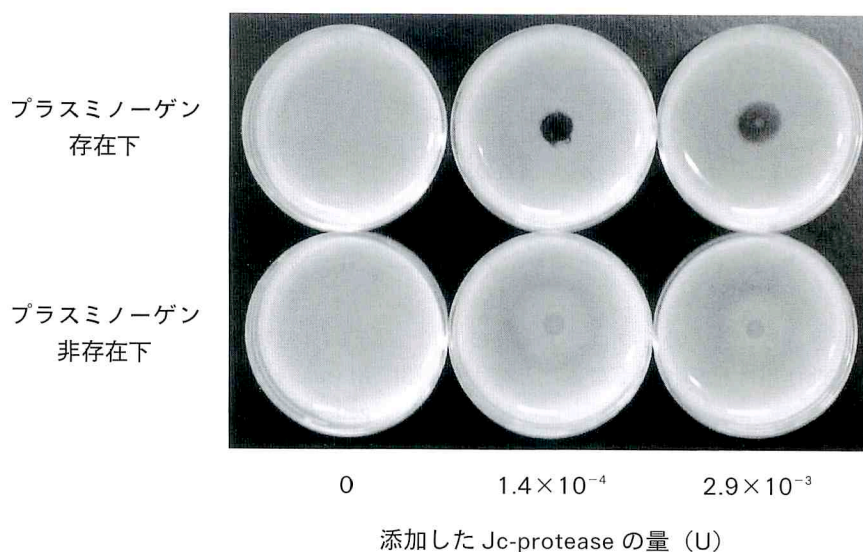


図3. Jc-proteaseによるフィブリンゲルの溶解。  
(1U:1分間に1 $\mu$ モルのPhe-MCAを分解する酵素量)

ンゲルが溶解したことを示している。PAは生体内では、血管壁、組織、尿中に存在することが知られている。線溶系の亢進は炎症の悪化や組織の破壊につながる可能性があり<sup>(28)</sup>、花粉症発症時に本酵素が体内に侵入するとその症状が重症化する可能性がある。また、予備実験において、本酵素はアンギオテンシン等生理活性ペプチドを加水分解する結果を得ており(未発表)、ブタクサやメスキート花粉の場合同様生体内のバランスを崩し病態悪化に繋がる可能性も否定できない。

## おわりに

以上、花粉症の原因となる花粉に含まれる酵素について紹介してきた。受精という限定された機能を有し、かつ微細な粒子である花粉の中にこれだけ様々な酵素が存在していることは驚きである。アレルギーの発症

については依然として免疫系を介した経路が一般的であるが、10数年前から外来性微生物やアレルゲンに含まれるプロテアーゼによってアレルギー様症状が悪化する現象が知られており、またプロテアーゼ阻害剤の投与によって症状が軽減する事も知られるようになってきた。筆者らもアレルギー症状を惹起した喘息モデルのラットにプロテアーゼ阻害剤を投与する事で肺への好酸球の浸潤を抑制する現象を確認している。

最近 Kheradmand ら<sup>(2)</sup> は卵白アルブミン (OVA) をモデルアレルゲンとし、そこにブタクサ等種々の外来性プロテアーゼを共存させた場合、肺胞洗浄液中の好酸球の量が増大することを報告している。好酸球は炎症局所において症状の悪化に関与するといわれており、アレルギー症状の悪化にも関与していると考えられる。さらに Kheradman らは微生物プロテアーゼの共存により OVA に対する抗 IgE 抗体や抗 IgG1 抗体



- kininogens. *J. Biol. Chem.* 268, 17711-17715 (1993).
- (9) 松島瑞子・前田浩・稲田祐二：家ダニプロテアーゼとアレルギー。蛋白質核酸酵素 38, 2734-2739 (1993).
- (10) Matsushima, A., Kodera, Y., Ozawa, S., Kobayashi, M., Maeda, H. and Inada, Y.: Inhibition of mite protease (Df-protease) with protease inhibitors. *Biochemistry Int.* 28, 717-723 (1992).
- (11) Matsushima, A., Shioya, K., Kobayashi, M., Noguchi, Y., Nakai, H., Kodera, Y. and Inada, Y.: Inhibition of a mite protease (Df-protease) by synthetic inhibitors. *Biomedical Res.* 15, 55-58 (1994).
- (12) Noguchi, Y., Matsushima, A., Ohmura, R., Ichinose, T., Nakai, H., Kodera, Y. and Inada, Y.: Inhibition of Df-protease-induced kinin release by synthetic inhibitors. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 37, 935-941 (1995).
- (13) 野口幸紀・小寺洋・松島瑞子・稲田祐二：ダニプロテアーゼ (Df-プロテアーゼ) の凝固——キニン系亢進作用その阻害剤。日本血栓止血学会誌 5, 205-210 (1994).
- (14) Bagarozzi, D. A., Jr., Pike, R., Potempa, J. and Travis, J.: Purification and characterization of a novel endopeptidase in Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen. *J. Biol. Chem.* 271, 26227-26232 (1996).
- (15) Bagarozzi, D. A. Jr., Potempa, J. and Travis, J.: Purification and characterization of an agrinine-specific peptidase from Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 18, 363-369 (1998).
- (16) Matheson, N., Schmidt, J. and Travis, J.: Isolation and properties of an angiotensin II-cleaving peptidase from mesquite pollen. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 12, 441-448 (1995).
- (17) Travis, J., Whitworth, T., Matheson, N. and Bagarozzi, D.A. Jr.: Proteinases from pollen and pests. *Acta Biochimica Polonica* 43, 411-418 (1996).
- (18) Matheson, N. R. and Travis, J.: Purification and characterization of a novel peptidase (II<sub>mes</sub>) from Mesquite (*Prosopis velutina*) pollen. *J. Biol. Chem.* 273, 16771-16777 (1998).
- (19) Noguchi, Y., Nagata, H., Koganei, H., Kodera, Y., Hiroto, M., Nishimura, H., Inada, Y. and Matsushima, A.: Isolation and characterization of aminopeptidase (Jc-peptidase) from Japanese cedar pollen (*Cryptomeria japonica*). *J. Agric. Food Chem.* 50, 3540-3543 (2002).
- (20) 永田寛幸・矢田絵都子・野口幸紀・武居努・松下哲也・小寺洋・廣戸三佐雄・西村裕之・稲田祐二・松島瑞子：スギ花粉中のトリプシン様酵素の単離及び性質。生化学 74, 995 (2002).
- (21) Baylis, P.H.: Water and electrolyte metabolism. In D. J. Weatherall et al. (eds.), *Oxford Textbook of Medicine*. Oxford University Press, Oxford, pp. 3116-3126 (1996).
- (22) Wodehouse, R. P.: *Hayfever Plants*; 2<sup>nd</sup> ed. Hafnet, New York (1971).
- (23) Yasueda, H., Yui, Y., Shimizu, T. and Shida, T.: Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 77-86 (1983).
- (24) Sakaguchi, M., Inouye, S., Taniai, M., Ando, S., Usui, M. and Matuhasi, T.: Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy* 45, 309-312 (1990).
- (25) Taniguchi, Y., Ono, A., Sawatani, M., Nanba, M., Kohno, K., Usui, M., Kurimoto, M. and Matuhasi, T.: Cry j I, a major allergen of Japanese cedar pollen, has pectate lyase enzyme activity. *Allergy* 50, 90-93 (1995).
- (26) Ohtsuki, T., Taniguchi, Y., Kohno, K., Fukuda, S., Usui, M. and Kurimoto, M.: Cry j 2, a major allergen of Japanese cedar pollen, shows polymethylgalacturonase activity. *Allergy* 50, 483-488 (1995).
- (27) Nagata, H., Yada, E., Takei, T., Sugizaki, T., Kojima, R., Kodera, Y., Nishimura, H., Matsushima, A. and Inada, Y.: Physicochemical properties of aminopeptidase, Jc-peptidase, in Japanese cedar pollen. *Seikagaku* 75, 932 (2003).
- (28) Maeda, H.: Role of microbial proteases in pathogenesis. *Microbiol. Immunol.* 40, 685-699 (1996).

