

Title	Preferential distribution of group II – like phospholipase A2 in mononuclear phagocytic cells in rat spleen and liver
Author(s)	稲田, 正己
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37402">https://hdl.handle.net/11094/37402</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	稲 田 正 己
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 9 5 5 8 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 5 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	Preferential distribution of group II - like phospholipase A <sub>2</sub> in mononuclear phagocytic cells in rat spleen and liver (ラット脾臓および肝臓におけるⅡ群ホスホリパーゼA <sub>2</sub> 含有細胞の同定)
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 鎌田 武信 教授 岡本 光弘

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

ホスホリパーゼA<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>; EC 3. 1. 1. 4) はグリセロー3-リン脂質の2位のアシル基を水解する酵素であり, 細胞膜リン脂質代謝回転, アラキドン酸の遊離を介するエイコサノイド合成, 血小板活性化因子の合成などに関与するとされている。哺乳動物のPLA<sub>2</sub>はその一次構造上の特徴から, 臍型であるⅠ群と, マムシ/クサリヘビ蛇毒型であるⅡ群とに分類される。Ⅱ群PLA<sub>2</sub>は, その組織内含量が少なく, この酵素の局在や生理機能については, 炎症反応との関係を示唆する報告があるものの, 未だ不明な点が多い。岡本らは最近, ラット脾臓の膜分画より膜結合性PLA<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>M) を精製し, この酵素がⅡ群に属する酵素であること明らかにした。Ⅱ群PLA<sub>2</sub>に対する抗体は臍PLA<sub>2</sub>を認識せず, したがってⅡ群PLA<sub>2</sub>抗体により, 組織中のⅡ群PLA<sub>2</sub>の局在を知ることが可能である。本研究は, Ⅱ群PLA<sub>2</sub>の生理機能を明かにすることを目的に, 抗PLA<sub>2</sub>M抗体を用いて, ラット脾臓および肝臓におけるⅡ群PLA<sub>2</sub>の細胞局在を検討した。

#### (方法ならびに成績)

既報の方法により精製したPLA<sub>2</sub>Mおよび臍PLA<sub>2</sub>を家兎に免疫し, 抗PLA<sub>2</sub>M抗体および抗臍PLA<sub>2</sub>抗体を得た。PLA<sub>2</sub>活性は1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylglycerolを基質とし, 遊離した脂肪酸を9-anthryldiazomethaneでラベル後, 高速液体クロマトグラフィーで分離定量することにより求めた。ラット脾臓組織および肝臓組織におけるⅡ群PLA<sub>2</sub>の同定は, 特異抗体を用いた活性阻害試験, イムノブロット法, および酵素抗体法による免疫組織学的検討によった。

#### 1. ラット脾臓におけるⅡ群PLA<sub>2</sub>の細胞局在

ラット脾臓組織を常法により分散脾細胞とし、セプラセルMNを用いた密度勾配遠心法により、単球系細胞、リンパ球、赤血球成分に分離した。単位細胞あたりの $PLA_2$ 活性は、単球系細胞で最も高く、 $1.28 \pm 0.35 \text{ nmol/min/}10^6 \text{ cells}$ であり、リンパ球ではその約 $\frac{1}{3}$ にすぎず、赤血球成分には活性をほとんど検出し得なかった。単球系細胞およびリンパ球の $PLA_2$ 活性のほとんどは抗 $PLA_2$ M抗体で阻害され、抗 $PLA_2$ 抗体では阻害を受けず、II群 $PLA_2$ に属していた。抗 $PLA_2$ M抗体を用いたイムノプロット法でも単球系成分にII群 $PLA_2$ 蛋白が比較的多く存在しており、免疫組織学的検討でも一部の単球系細胞が抗 $PLA_2$ M抗体に対して、強く染色された。

## 2. ラット肝臓におけるII群 $PLA_2$ の細胞局在

ラット肝臓をコラゲナーゼ灌流法と低速遠心分離法により、肝実質細胞と非実質細胞に分離し、さらに非実質細胞群から plastic dish への粘着性を利用して Kupffer 細胞分画を得た。単位細胞あたりの $PLA_2$ 活性は Kupffer 細胞で高く、 $0.92 \pm 0.22 \text{ nmol/min/}10^6 \text{ cells}$ であり、肝実質細胞では $0.26 \pm 0.06$ であった。両細胞群の $PLA_2$ 活性のほとんどが抗 $PLA_2$ M抗体で阻害された。抗 $PLA_2$ M抗体を用いたイムノプロット法および免疫組織学的検討でも、Kupffer 細胞分画にII群 $PLA_2$ が比較的多量に存在していた。

### (総括)

単離脾臓細胞の単位細胞当りの $PLA_2$ 活性は、単球系細胞で最も高く、リンパ球はその約 $\frac{1}{3}$ にすぎず、赤血球成分にはほとんど活性を検出し得なかった。単離肝細胞では、Kupffer 細胞で高く、肝実質細胞の約3倍あった。抗 $PLA_2$ M抗体を用いたイムノプロット法および免疫組織学的検討でも、脾臓単球系細胞および Kupffer 細胞にII群 $PLA_2$ が比較的多く存在していた。

以上の結果より、ラット脾臓および肝臓において、単核食細胞 (mononuclear phagocytic cells) にII群 $PLA_2$ が比較的多量に存在することが明らかになった。生体防禦、免疫反応、炎症反応などに深く関与しているこれらの単核食細胞に、II群 $PLA_2$ が多く存在するという今回の結果は、炎症巣においてII群 $PLA_2$ が細胞障害に直接関与するという最近の報告と対応するものと思われ、II群 $PLA_2$ の生理機能を考察する上で興味ある事実と考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

最近、いくつかの炎症巣においてII群ホスホリパーゼ $A_2$  ( $PLA_2$ ) が多量に存在することが観察され、本酵素と炎症反応との関連が示唆されている。しかしながら、本酵素の組織内局在などの基礎的な検討は未だ充分ではない。本研究は、ラット脾臓からII群 $PLA_2$ を精製し、この酵素に対する特異抗体を用いて、脾臓および肝臓におけるII群 $PLA_2$ の組織内局在を検討したものである。その結果、脾臓マクロファージや肝 Kupffer 細胞などの単核食細胞に比較的多量にII群 $PLA_2$ が存在することを明らかにした。このことは、本酵素の生理機能を解明する上で、有力な手掛かりを提供するものであり、本研究は学位に値するものと評価される。