Osaka University Knowledge Archive

Title	炎症における血清II群 phospholipase A2の臨床的意義
Author(s)	小松原, 孝則
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39038
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【9】

氏　　名	小松原　孝則（こまつばら　たかのり）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　11761　号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	**炎症における血清Ⅱ群 phospholipase A 2 の臨床的意義**
論文審査委員	（主査） 教　授　岡本　光弘 （副査） 教　授　越智　隆弘　　教　授　網野　信行

論文内容の要旨

【目的】

Phospholipase A 2（PLA 2）は立体特異的に sn-グリセロリン脂質の2位アシル基を切断する酵素である。哺乳類においては，現在までにその構造上の特徴により少なくとも3種類のカルシウム依存性 PLA 2 の存在が確認されている。それらのうち，Ⅱ群 PLA 2 は炎症メディエイターの産生に関与し，敗血症や潰瘍性大腸炎・クローン病，歯周病などの炎症性疾患の病態に関与していることが報告されている。本研究では，このⅡ群 PLA 2 に焦点を当て，慢性炎症として慢性関節リウマチ（RA）患者血清及び関節液を，また急性炎症として原発性肝癌（HCC）の肝動脈塞栓術（TAE）施術前後の血清を用いてⅡ群 PLA 2 の臨床的意義について考察した。

【方法】

PLA 2 酵素活性及び蛋白量の測定方法：PLA 2 により水解され生じた脂肪酸を 9 -anthryldiazomethane により誘導体化し HPLC にて分離・定量した。免疫活性Ⅱ群 PLA 2（Immunoreactive Group II PLA 2 ；IR-II PLA 2）濃度はⅡ群 PLA 2 に特異的なモノクローナル抗体を用いたラジオイムノアッセイ法（RIA）により測定した。

対象：1）RA 患者：健常人35名（対照群）と RA 患者37例（21-79歳，平均年齢54.0歳）を対象とし，RA 患者は関節破壊の程度に基づいて，軽症型（Least Erosive Subset ；LES）27例，重症型（More Erosive Subset ；MES）10例に分類した。これらの血清 PLA 2 レベル（酵素活性，蛋白濃度）の測定を行い，さらに他の炎症マーカーと比較検討した。また，RA 関節液は，採取後，可能な限り速やかに，ヒアルロニダーゼ処理・遠心分離を行い細胞成分を除き実験に用いた。

2）TAE 施術前後の HCC 患者血清：HCC と診断され TAE を受けた男性患者6名（54-68歳，平均年齢61.5歳）についてTAE の当日（前値），1日後，4日後，7日後の早朝空腹時に採血し血清を得て，PLA 2 レベル及び酵素抗体法により IL-1 β，IL-6，TNF α の測定を行った。

【成績と考察】

1）RA 患者血清の PLA 2 活性（平均値±1 SE）は，対照群，LES 群，MES 群においてそれぞれ，2.0±0.6，32.1±47.7，80.2±51.9nmol／min／mlであり，対照群とLES 群，対照群とMES 群，LES 群とMES 群との間にそれぞれ有意差が認められた。また，IR-II PLA 2 レベルでは，対照群，LES 群，MES 群においてそれぞれ，2.7±0.9，28.2±43.5，75.2±44.2ng／mlであり，PLA 2 活性と同様に，対照群とLES 群，対照群とMES 群，LES 群とMES 群との間

にそれぞれ有意差が認められた。RA患者血清におけるPLA 2活性とIR-II PLA 2の間には，強い相関関係（r＝0.921）が認められ，血清PLA 2活性の増加にII群PLA 2が重要であることを示唆している。また，炎症マーカーのうち，CRPと血清PLA 2レベルの間に強い相関が認められ，血清PLA 2は炎症の良い指標の一つとして利用できる可能性が示唆された。

2）TAE施術前後の血清PLA 2酵素活性は術前には，7.9±1.9nmol／min／ml，術後1日目には15.3±4.5nmol／min／ml，4日目には17.8±2.8nmol／min／ml，7日目には17.6±3.0nmol／min／mlと術後に上昇し，術前と比較して術後1日目，4日目，7日目にそれぞれ有意差が認められた。また，II群PLA 2の蛋白量は，術前には8.1±3.6ng／ml，術後1日目，4日目，7日目には，それぞれ21.9±9.5，30.1±6.7，30.0±7.5ng／mlとPLA 2酵素活性と同様に各術後病日で有意に高値を示した。RA患者血清と同様に，TAE施術後の血清中のPLA 2酵素活性の上昇は主にII群PLA 2蛋白量の増加によるもであった。血清IL-6濃度はTAE施術前と比較して術後1日目，4日目，7日目にそれぞれ有意に上昇した。この結果より血清PLA 2レベルはIL-6と同様の変動を示し，II群PLA 2が急性相蛋白質であることが示唆された。

3）ヒアルロニダーゼ処理を行った関節液をS-Sepharose（Fast Flow）カラムにかけて素通りする分画と吸着分画（II群PLA 2）に分離した。さらに，非吸着分画をDEAE Cellulofine A-500にアプライし塩濃度勾配をかけて溶出すると，PLA 2酵素活性は2つのピークに分離した（ピークAとB)。ピークAのPLA 2活性はコール酸あるいはデオキシコール酸で阻害されるが，ピークBでは精製II群PLA 2と同様にPLA 2酵素活性の上昇が認められた。両ピークPLA 2とも抗ヒトII群PLA 2と交差した。以上の結果より従来より知られているII群PLA 2とは酵素化学的な性質の異なるII群PLA 2分子種（ピークA）が存在することが示された。

【総括】

1）PLA 2酵素活性およびIR-II PLA 2は，RAにおける病態に関係し，RAの炎症の評価に利用できることが示唆された。

2）血清PLA 2酵素活性及びIR-II PLA 2は，TAE施術前と比較して，術後4日目，7日目に有意に上昇した。この変化は，血清IL-6レベルの変化と類似しており，II群PLA 2は一種の急性相蛋白質であることが示唆された。

3）RA関節液中には，従来より知られているII群PLA 2とは，酵素化学的な性質の異なるII群PLA 2の分子種が存在することが示された。

論文審査の結果の要旨

II群Phospholipase A 2（PLA 2）は，立体特異的にsn-グリセロリン脂質の2位アシル基を加水分解する酵素であり，炎症反応巣における組織障害などに関与すると考えられている。本研究では，このII群PLA 2の病態時の変動に焦点を当て，慢性炎症として慢性関節リウマチ（Rheumatoid Arthritis；RA)，急性炎症として原発性肝癌（Hepatocellular Carcinoma；HCC）における肝動脈塞栓術（Transcatheter Arterial Embolization；TAE）の施行前後の血清PLA 2レベルの変動を追跡した。さらに，II群PLA 2が多量に存在するRA関節液を用いてこの酵素の分子多様性について検討を行った。

RA患者血清のPLA 2酵素活性及び蛋白濃度を測定し以下の結果を得た。1）PLA 2酵素活性とII群PLA 2蛋白濃度の間に相関関係が存在したことから酵素活性の上昇はII群PLA 2蛋白の増加によることがわかった。2）PLA 2レベルは血清CRP値によく相関していたがより鋭敏な炎症マーカーと考えられた。3）RA重症型のPLA 2レベルは軽症型，対照群と比較して有意に上昇していた。さらに，HCCにおけるTAE施行後に血清PLA 2レベルがインターロイキン6と共に上昇した。以上の結果から血清PLA 2は急性相蛋白質と考えられ，炎症の良い指標となることが示唆された。また，酵素化学的に性質が異なる2種のII群PLA 2がRA関節液中に存在することが示唆された。

本研究では血清PLA 2酵素活性およびII群PLA 2蛋白濃度と炎症性疾患の病態に密接な関係があることを示したものであり，学位論文として十分値すると認められる。