

|              |  |
|--------------|--|
| 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          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/39038">https://hdl.handle.net/11094/39038</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>〉</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         | 小松原 孝 則   |
| 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<br>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)<br>教授 岡本 光弘<br><br>(副査)<br>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 は炎症メディエー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  $\beta$ , IL-6, TNF  $\alpha$  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  $\pm$  1 SE) は、対照群, LES 群, MES 群においてそれぞれ、 $2.0 \pm 0.6$ ,  $32.1 \pm 47.7$ ,  $80.2 \pm 51.9$  nmol/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、 $2.7 \pm 0.9$ ,  $28.2 \pm 43.5$ ,  $75.2 \pm 44.2$  ng/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、 $7.9 \pm 1.9 \text{ nmol/min/ml}$ 、術後 1 日目には  $15.3 \pm 4.5 \text{ nmol/min/ml}$ 、4 日目には  $17.8 \pm 2.8 \text{ nmol/min/ml}$ 、7 日目には  $17.6 \pm 3.0 \text{ nmol/min/ml}$  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  $8.1 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$ 、術後 1 日目、4 日目、7 日目には、それぞれ  $21.9 \pm 9.5$ 、 $30.1 \pm 6.7$ 、 $30.0 \pm 7.5 \text{ ng/ml}$  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のであった。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、炎症反応場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。