OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Phospholipase A2 (PLA2) and Its Receptor : Structure and Function
Author(s)	石崎, 順
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39457
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

【 48 】

氏名	石崎 順（いしざき じゅん）
博士の専攻分野の名称	博士（工学）
学位記番号	第 12061 号
学位授与年月日	平成7年8月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Phospholipase A_2 (PLA_2) and Its Receptor : Structure and Function （ホスホリパーゼA_2とそのレセプターに関する研究）
論文審査委員	（主査） 教授 二井 將光 教授 今中忠行　教授 山田 靖宙　教授 大嶋 泰治

論文内容の要旨

ホスホリパーゼA_2（PLA_2）は生体内で炎症反応にかかわる重要な酵素である。本論文では，炎症により深く関与すると考えられる新しいタイプのPLA_2およびPLA_2と特異的に結合し様々な作用を引き起こすPLA_2レセプターに関して分子生物学的な解析を行なっている。

第1章では，本研究の背景，目的，意義について述べるとともに，本研究の概略を示している。

第2章においては，ラット脾臓の膜画分から精製した膜結合性PLA_2の部分アミノ酸配列をもとにcDNAクローニングを行ない，決定した一次構造からこのPLA_2がこれまでに知られていた脾臓由来のPLA_2（I型PLA_2）とは異なり分類上II型PLA_2に属するものであること，さらにこのII型PLA_2が分泌タンパク質の特徴を持つことを明らかにしている。

第3章においては，培養血管平滑筋細胞を用いた解析から，II型PLA_2の発現がインターロイキン－1やTumor necrosis factor 等の炎症性のサイトカイン刺激によって増大することを明らかにしている。さらに発現調節機構の解析を行なうために，5' 上流部染色体遺伝子を単離し，プロモータ領域に Tumor necrosis factor に応答すると予想される塩基配列を検出している。また新たに開発した高感度法によって転写開始点を決定している。

第4章においては，脾臓由来のI型PLA_2と特異的に結合するPLA_2レセプターの実体を明らかにするためにcDNAクローニングし，このレセプターがマンノースレセプターに似た多ドメイン構造を持つことを明らかにしている。

第5章においては，クローニングしたPLA_2レセプターcDNAを用いたDeletion解析を行ない，レセプター分子内に8個ある Carbohydrate－recognition domain に似たdomainのうちアミノ末端側から3番目～5番目の3つがPLA_2結合能を持つことを明らかにしている。

第6章においては，PLA_2の持つ加水分解活性とレセプターへの結合能の相互関係を明らかにするために，アミノ酸置換を導入した変異PLA_2を酵母を用いて産出させている。変異PLA_2は加水分解能を失っていたがレセプターに対する結合能は保持したままであったことから，PLA_2の持つ加水分解活性とレセプターへの結合能は独立したものであることを明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

本論文では，炎症に深く関与すると考えられる新しいタイプのPLA_2（Ⅱ型PLA_2）およびPLA_2と特異的に結合し様々な作用を引き起こすPLA_2レセプターに関して分子生物学的な解析を行ない，cDNA構造，プロモーター領域の構造を明らかにすると共に部位特異的変異体を用いた研究から，それら新規タンパク質の機能に関して考察を加えている。主な研究結果は以下の通りである。

(1) ラット脾臓の膜画分から精製した膜結合性PLA_2の部分アミノ酸配列からcDNAを分離し，全一次構造を決定している。その結果から，このPLA_2がこれまでに知られていた脾臓由来のⅠ型PLA_2とアミノ酸レベルで約35％のホモロジーを持つ分子量約14,000の蛋白質（Ⅱ型PLA_2）であることを明らかにしている。また，炎症との関連を調べるため，培養血管平滑筋細胞におけるPLA_2の発現が炎症性のサイトカイン刺激によってどのような影響を受けるかを検討し，インターロイキン－1や Tumor necrosis factor によってⅡ型PLA_2の発現が著しく増大することを明らかにしている。さらにⅡ型PLA_2の発現調節機構の解析を行なうために遺伝子5' 上流よりプロモーター活性を持つ領域を単離し，転写開始点の約180base上流に転写因子 NF－kB が結合すると予想される配列を認めている。

(2) 脾臓由来のⅠ型PLA_2はこれまで消化作用のみを持つと考えられてきたものであるが，本論文ではⅠ型PLA_2にプロスタグランジン産出促進等のこれまで知られていなかった生理作用があること，その新規作用が細胞膜上のレセプター（PLA_2レセプター）を介して引き起こされることを見いだしている。PLA_2レセプターの構造を明らかにする目的で，ウシ黄体より精製したレセプター蛋白質のアミノ末端の配列をもとにcDNAのクローニングを行ない，このレセプターが膜貫通領域を1つ持ち，分子の大部分が細胞外に露出した構造を持つことを明らかにしている。細胞外領域は10個のDomainから形成されており，そのうちの8つは哺乳動物のレクチンに見られる Carbohydrate－recognition domain（CRD）に類似したDomain（CRD－like domain）の繰り返し構造からなっている。クローニングしたPLA_2レセプターcDNAを用いたDeletion解析からPLA_2結合能は CRD－like domain にあり，特に8個ある CRD－like domain のうちアミノ末端側から3～5番目の3つのみでもPLA_2結合能を持つことを明らかにしている。さらにPLA_2の持つ加水分解活性とレセプターへの結合能の相互関係を明らかにするため変異PLA_2を用いた解析を行ない，PLA_2の持つ加水分解活性とレセプターへの結合能は独立したものであることを証明している。

以上のように本論文ではPLA_2の酵素分子の多様性，またその機能の多様性に関して，分子レベルで明らかにすることを目指した解析を行なっている。これらの研究結果は，広範囲かつ意義深いものであり，分子生物学の発展に貢献するところが大きい。よって，本論文は博士論文として価値あるものと認める。