

Title	Pancreatic-type Phospholipase A2 Induces Group II Phospholipase A2 Expression and Prostaglandin Biosynthesis in Rat Mesangial Cells
Author(s)	岸野, 淳二
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40316
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"〉 大阪大学の博士論文について <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	岸 野 淳 二
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 8 3 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 3 月 18 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	Pancreatic-type Phospholipase A ₂ Induces Group II Phospholipase A ₂ Expression and Prostaglandin Biosynthesis in Rat Mesangial Cells (ラット腎メサンギウム細胞における膵型ホスホリパーゼ A ₂ による II 型ホスホリパーゼ A ₂ の発現誘導とプロスタグランジン産生亢進)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 本 光 弘 (副査) 教 授 高 井 義 美 教 授 三 木 直 正

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

グループ I 型に属する膵型ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂-I) は従来より主に膵液中に含まれる消化酵素の一つとしての役割が考えられていたが、近年になり、腎臓をはじめとした肺、胃、脾臓などの膵臓以外の臓器や組織においても PLA₂-I の存在が証明され、その生理学的意義が問題となっている。我々は近年ヒトを含む哺乳類の各種臓器および細胞の膜画分に PLA₂-I を特異的に認識する高親和性結合蛋白質 (PLA₂ レセプター) の存在を見出し、さらに PLA₂-I の新規生理作用として結合蛋白質を介した細胞増殖能やプロスタノイド産生亢進作用を明らかにしてきた。本研究においては PLA₂-I の腎臓における病態生理学的研究の一環として、腎臓の糸球体やメサンギウム細胞に焦点をあて、メサンギウム細胞における PLA₂-I の作用解析を行った。

[方法ならびに成績]

ラット腎メサンギウム細胞は、ラット腎臓から単離した糸球体より常法に従って調製し、10%仔牛血清含有 RPMI1640 培地中で培養した。¹²⁵I 標識 PLA₂-I をリガンドとして用いた結果実験より、ラット培養腎メサンギウム細胞において PLA₂-I 特異的高親和性単一結合サイトの存在 (Kd=1.6±0.1 nM, Bmax=10.1±0.6 fmol/10⁶ cells) を見出した。この結合サイトは他の細胞や組織で認められるものと同様に哺乳類由来の mature 型 PLA₂-I のみを特異的に認識し、II 型 PLA₂ (PLA₂-II)、前駆体の proPLA₂-I やヘビ毒およびハチ毒 PLA₂ は認識しなかった。

PLA₂-I により惹起される生理反応を検討したところ、PLA₂-I 刺激による濃度依存的なプロスタグランジン (PG) E₂ 産生亢進が認められた。この PGE₂ 産生は PLA₂-I 添加後 16 時間で惹起され 24 時間後には無刺激と比較して約 10 倍量に達した。PGE₂ 産生亢進は mature 型 PLA₂-I に特異的であり、結合認識特異性と一致したことから、本結合サイトを介したものであると考えられた。さらに、アクチノマイシン D やシクロヘキシミド処理で PGE₂ 産生の抑制が認められたことから、mRNA の誘導および蛋白合成を介する作用であることが示唆された。

PLA₂-I による PGE₂ 産生亢進の作用メカニズムを解析するために、PG 合成関連酵素として PLA₂ とシクロオキシ

シグナーゼに注目し、PLA₂-I 刺激による両酵素への影響を検討した。まずシクロオキシゲナーゼに関しては、PLA₂-I 刺激によって若干の酵素活性上昇が認められたがその経時変化は PGE₂ 産生の経時変化とは一致せず、しかもラット腎メサンギウム細胞は無刺激状態でも高活性を有していたことから、シクロオキシゲナーゼが PG 産生の律速酵素である可能性は低くむしろその基質であるアラキドン酸の供給が律速段階であると考えられた。さらに [³H] アラキドン酸でプレラベルした細胞を PLA₂-I で刺激すると有意な [³H] アラキドン酸の遊離が認められ、この遊離の経時変化は PG 産生と類似していたことから、PLA₂-I 刺激によってアラキドン酸遊離に関わる PLA₂ の活性化が生じ、その結果 PG 産生が亢進するものと考えられた。

そこで PG 産生に関与する PLA₂ として、まずはじめにアラキドン酸高親和性 85kDa 細胞質型 PLA₂ (cPLA₂) に及ぼす影響について検討したところ、PLA₂-I 刺激によって cPLA₂ 活性の上昇は全く認められず、また抗 cPLA₂ 抗体を用いたイムノプロット分析でも刺激による量的変化は検出されなかった。次に従来より PLA₂-II によるアラキドン酸遊離促進の可能性が報告されていることから、PLA₂-I 刺激による PLA₂-II mRNA の発現量を RNase protection assay により調べた結果、16時間以後に PLA₂-II mRNA 発現の有意な上昇が認められた。この PLA₂-II mRNA 発現上昇作用は PGE₂ 産生と同様に mature 型 PLA₂-I によって特異的な誘導をうけることから、本結合サイトを介した反応であることが示唆された。さらにイムノプロット分析より細胞外に放出された PLA₂-II を検出したところ、mRNA 発現と同様の結果が得られた。この PLA₂-II 発現分泌の経時変化は PGE₂ 産生の経時変化とほぼ一致し、さらにグルココルチコイドは両作用を同じ濃度依存的に抑制することから、PLA₂-II の発現誘導と PGE₂ 産生との密接な関連性が示唆された。これらの結果より、PLA₂-I 刺激による PGE₂ 産生亢進作用において、発現誘導した PLA₂-II が PG 産生に関与する可能性を示したものである。またラット腎メサンギウム細胞では炎症性サイトカイン刺激により PG 産生の亢進と共に PLA₂-II が発現誘導することから、PLA₂-I の新規生理作用として炎症反応との関連が示唆された。

[総括]

ラット腎メサンギウム細胞において隣型ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂-I) を特異的に認識する高親和性単一結合サイト (PLA₂ レセプター) を見出し、PLA₂-I によるレセプターを介した II 型 PLA₂ の発現誘導およびプロスタグランジン E₂ 産生亢進作用を初めて明らかにした。特に、PLA₂-I による II 型 PLA₂ 発現誘導は I 型および II 型 PLA₂ のクロストークとして新規な生理作用であり、本現象は炎症反応をはじめとした病態との関連性を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

隣型 (I 型) ホスホリパーゼ A₂ の新規生理作用として、ラット腎メサンギウム細胞において I 型ホスホリパーゼ A₂ を特異的に認識する結合サイト (レセプター) の存在、I 型ホスホリパーゼ A₂ によるレセプターを介したプロスタグランジン産生亢進作用、および II 型ホスホリパーゼ A₂ の発現誘導を初めて明らかにしたものである。特に、II 型ホスホリパーゼ A₂ の発現誘導は I 型および II 型ホスホリパーゼ A₂ のクロストークとして、I 型ホスホリパーゼ A₂ の炎症反応等病態との関連を示唆するものである。従来から知られる I 型ホスホリパーゼ A₂ の酵素としての作用以外に、情報伝達を担うリガンド分子としての機能を有することを生化学的解析から初めて提唱したものである。I 型ホスホリパーゼ A₂ に関する生化学的研究に新たな展開をもたらすと共に、本酵素のレセプターを介した生体内での未知の生理作用の解明に関心を集めている。よって、本研究は学位の授与に値するものとする。