

論文内容要旨

論文題目

Gly80Ser polymorphism of secretory phospholipase A2-IIID is associated with cytokine inducibility in the lung cells

(肺細胞における分泌型ホスホリパーゼ A2-IIID の第 80 番目のアミノ酸多型とサイトカイン誘導能との関係)

責任講座：器官病態統御学講座 循環・呼吸・腎臓内科学分野

氏 名：五十嵐 朗

【内容要旨】

【背景】慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者の原因不明の体重減少は独立した予後規定因子である。COPD 患者の体重減少と血中の tumor necrosis factor (TNF)-alpha や Interleukin (IL)-6 などの炎症性サイトカインは関係していることが知られている。我々は以前、*PLA2G2D* 遺伝子多型と COPD 患者の体重減少との関連について検討し、その遺伝子内の一塩基多型 (NCBI SNP reference: rs584367) と COPD 患者の BMI 値の低下との間に統計的有意性を示した。すなわち *PLA2G2D* の第 80 番目のアミノ酸がグリシンからセリンに置換された群では体重減少が著明であることを報告した。分泌型ホスホリパーゼ A2 はリン脂質を分解する作用だけでなく、様々な細胞において炎症反応を調節する働きがある。

【目的】本研究では *PLA2G2D* の第 80 番目のアミノ酸がグリシンからセリンに置換されることにより誘導される COPD 患者の体重減少のメカニズムについて検討する。

【方法】ヒト肺上皮細胞株 A549 に 2 種類の *PLA2G2D* (グリシン型、セリン型) プラスミドベクターにて遺伝子導入を行った。そして RT-PCR、ウエスタンブロット、免疫染色で *PLA2G2D* の安定発現を確認した。グリシン型、セリン型 *PLA2G2D* 発現細胞の上清中のホスホリパーゼ活性を測定後、*PLA2G2D* の蛋白量で補正しそれぞれの酵素活性を比較した。グリシン型、セリン型 *PLA2G2D* 発現細胞を TNF-alpha と H₂O₂ にて刺激し、炎症性サイトカインの発現について ELISA 法にて比較した。

【結果】グリシン型、セリン型 *PLA2G2D* 発現細胞における上清中の *PLA2G2D* のホスホリパーゼ活性には有意差はなかった。無刺激下ではセリン型 *PLA2G2D* 発現細胞の IL-6、IL-8 の発現はグリシン型 *PLA2G2D* 発現細胞に比べ有意に亢進していた。さらに TNF-alpha の刺激後では、セリン型 *PLA2G2D* 発現細胞において IL-6、IL-8 の発現がグリシン型 *PLA2G2D* 発現細胞に比べ有意に亢進していた。H₂O₂ 刺激でも、セリン型 *PLA2G2D* 発現細胞において IL-8 の発現がグリシン型 *PLA2G2D* 発現細胞に比べ有意に亢進していた。

【考察】グリシン型の *PLA2G2D* と比べて、セリン型の *PLA2G2D* は炎症性サイトカイン (IL-6、IL-8) の発現を亢進させた。この結果からセリン型 *PLA2G2D* による炎症性サイトカインの発現亢進は COPD 患者の体重減少に関係している可能性が示唆された。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 五十嵐 朗

論文題目： Gly80Ser polymorphism of secretory phospholipase A2-II D is associated with cytokine inducibility in the lung cells

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信

副審査委員 早 二 三 (下)

副審査委員 本郷 誠治



審査終了日：平成 20 年 1 月 18 日

【 論文審査結果要旨 】

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者数は近年増加し、世界中で死因の上位を占めるようになってい
る。原因不明の体重減少が COPD の予後規定因子であることが知られており、その原因究明が重要な
課題である。申請者の所属研究室ではこれまでの疫学研究から、COPD 患者の体重減少と分泌型ホス
ホリパーゼ A2-II D (PLA2G2D) 遺伝子一塩基多型との間に統計的有意性があることを示してい
る。すなわち一塩基多型により PLA2G2D の 80 番目のグリシンがセリンに置換された COPD 患者群で
は体重減少 (BMI 低下) が著明であった。分泌型ホスホリパーゼ A2 の他のファミリー分子では炎症
性サイトカイン産生を誘導することが報告されており、このサイトカインによる炎症の持続が体重減
少を引き起こしている可能性が考えられる。

本研究では、セリン型 PLA2G2D による体重減少メカニズムの解明のため、グリシン型とセリン型
PLA2G2D のホスホリパーゼ活性やサイトカイン産生誘導能に差があるのかどうかを検討した。

それぞれの発現ベクターをヒト肺上皮細胞株 A549 に導入し、グリシン型及びセリン型 PLA2G2D 安
定発現細胞株を樹立し以下の結果を得た。

1) それぞれの細胞から分泌される培養上清中のグリシン型及びセリン型 PLA2G2D のホスホリパー
ゼ活性を 1,2-dithio analog of diheptanoyl phosphatidylcholine を基質として測定したところ、そ
れぞれの活性に有意差を認めなかった。

2) それぞれの細胞から産生される IL-6 や IL-8 について、そのメッセージや蛋白量を RT-PCR 法や
ELISA 法を用いて測定したところ、セリン型 PLA2G2D 発現細胞株で A549 親細胞やグリシン型
PLA2G2D 発現細胞株に比べて有意に上昇していることが示された。また、それぞれの細胞を TNF- α
や H₂O₂ で刺激したときのサイトカイン産生誘導能についても、セリン型 PLA2G2D 発現細胞株で
有意に亢進していることが分かった。

以上の結果から、セリン型 PLA2G2D を持つ COPD 患者の体重減少は、ホスホリパーゼ活性そのも
のとは関係がなく、PLA2G2D によるサイトカイン産生誘導能の亢進が原因である可能性が示唆され
た。今後グリシン型及びセリン型 PLA2G2D によるサイトカイン産生誘導の差が、その受容体と考え
られる M タイプレセプターを介するものであるのかなど、研究が大きく発展してゆくことが期待され
る。関連する事項についての質疑応答も的確であり、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与
に値するものであると判定した。

(1, 200 字以内)