

学位授与番号	甲第 1853 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 22 日
氏 名	竹本 圭
学位論文題目	Biochemical Characterization of Reactive Nitrogen Species by Eosinophil Peroxidase in Tyrosine Nitration (好酸球ペルオキシダーゼによるチロシンのニトロ化に関わる活性窒素種の生化学的検討)
論文審査委員	主 査 教 授 中村 裕之 副 査 教 授 山本 博 中尾 眞二

内容の要旨及び審査の結果の要旨

好酸球は、生体防御に重要な役割を果たしているが、喘息などの様々な疾患における組織傷害への関与も示唆されている。その原因として、好酸球によるニトロチロシン生成が考えられてきた。これまでに、好酸球によるチロシンのニトロ化に関しては、詳細な検討がなされていない。

そこで本研究では、ラット胃粘膜組織を用いて、組織常在型の好酸球におけるニトロチロシン生成能を検討した。さらに、好酸球によるニトロチロシン生成機構を検討するために、ウマ血清の腹腔内投与により誘導した浸潤好酸球を用いてニトロチロシンの生成機構を生化学的、組織生化学的に解析し、以下の結果を得た。

1. 胃粘膜常在型好酸球は、phorbol myristate acetate (PMA)刺激によりほぼ全ての細胞がチロシンのニトロ化能を示した。
2. 胃粘膜凍結切片を過酸化水素、亜硝酸イオン共存下でインキュベートしたところ、好酸球に強いニトロチロシン生成が認められ、好酸球ペルオキシダーゼ(EPO)によるチロシンのニトロ化の関与を示唆した。
3. 腹腔浸潤好酸球を用いてチロシンのニトロ化について調べたところ、過酸化水素、亜硝酸イオン共存下でニトロチロシンが生成した。
4. PMA 刺激した腹腔浸潤好酸球による遊離チロシンのニトロ化を検討したところ、好酸球は好中球の 4 倍以上のニトロ化活性を示した。また、過酸化水素と亜硝酸イオンを添加した場合にも、好酸球は強い遊離チロシンのニトロ化能を示した。
5. 好酸球に PMA、亜硝酸イオンを添加する反応系に SOD やカタラーゼを加えたところ、遊離チロシンのニトロ化は SOD で促進され、カタラーゼで強く抑制された。
6. ウェスタンブロッティング法により、PMA 刺激によりチロシンニトロ化蛋白が認められ、ニトロ化は SOD で促進し、カタラーゼで強く抑制された。
7. 好酸球の NO 産生能は、非常に低かった。

以上より、好酸球によるチロシンのニトロ化は、主に過酸化水素と EPO による亜硝酸イオンの酸化により引き起こされたと考えられる。アレルギー性疾患において、浸潤好酸球から分泌された EPO は、二酸化窒素ラジカル生成による組織障害を及ぼす可能性が示された。以上、本研究は、好酸球におけるニトロチロシン生成機構を生化学的に明らかにした点、アレルギー医学のみならず環境予防医学に寄与する価値ある論文として評価された。