Induction of myeloperoxidase and nitrotyrosine formation in a human eosinophilic leukemia cell line, EoL-1

著者	Kodama Norio
著者別名	児玉, 典央
journal or publication title	博士学位論文要旨 論文内容の要旨および論文審査結果の要旨 / 金沢大学大学院医学研究科
volume	平成16年7月
page range	4-4
year	2004-07-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/15808

学位授与番号	甲第 1584 号
学位授与年月日	平成 15 年 6 月 30 日
氏 名	児 玉 典 央
学位論文題目	Induction of myeloperoxidase and nitrotyrosine formation in a human eosinophilic leukemia cell line, EoL-1 (好酸球性白血病細胞 EoL-1 におけるミエロペルオキシダーゼの誘導とニトロチロシンの生成)
論文審査委員	主 査 教 授 西 條 清 史 副 査 教 授 中 尾 眞 二 教 授 小 泉 晶 一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

種々の疾患において活性窒素種の生成とその生物学的マーカーとしてのニトロチロシンの産生が報告されている。ニトロチロシンは従来一酸化窒素とスーパーオキシドより生成するペルオキシナイトライトにより生じるとされてきたが、近年、亜硝酸イオン (NO_2^-) と過酸化水素 (H_2O_2) の存在下において好酸球ペルオキシダーゼ (EPO) やミエロペルオキシダーゼ (MPO) などのペルオキシダーゼ酵素作用により生成する二酸化窒素によっても産生されることが指摘されている。ヒト及び動物モデルの喘息において EPO によりニトロチロシンが産生することが知られている。本研究では、酪酸により分化誘導したヒト好酸球性白血病細胞 EoL-1 が、ペルオキシダーゼ依存性のチロシンニトロ化機構を研究する上での好酸球モデルとして利用できるかを検討した。得られた結果は以下のように要約される。

1. 酪酸誘導により EoL-1 細胞は培養期間に伴った増殖阻害を受け、培養 9 日目では好酸球顆粒の形成が見られた。
2. 酪酸誘導により EoL-1 細胞においてペルオキシダーゼ依存性のニトロチロシン産生が見られ、その産生能は好中球の 6 倍で、好酸球と同等の強さであった。
3. 酪酸誘導細胞を H_2O_2 非存在下で NO_2^- と反応させると一部の細胞にニトロチロシン産生が見られた。
4. NADPH オキシダーゼの構成タンパク質 ($\text{p}22^{\text{phox}}$, $\text{p}47^{\text{phox}}$, $\text{p}67^{\text{phox}}$, $\text{gp}91^{\text{phox}}$) は検出されず、フォルボールエステル刺激に伴うスーパーオキシド産生も見られなかった。
5. 逆転写 PCR 反応、ノーザンブロット及び免疫蛍光染色による解析から、酪酸により誘導されるペルオキシダーゼは EPO ではなく MPO であることが分かった。

以上の結果より、酪酸により EoL-1 細胞には特異的に MPO 依存性のチロシンニトロ化機構が誘導されることを示す一方、好酸球様の形態変化を受けるにも関わらず好酸球とは異なる性質を持つ細胞へと変化することが明らかとなり、この細胞を用いた研究を行う場合には注意を要すると考えられた。

以上、本研究は、培養細胞における分化誘導の困難さを示すと同時に、フリーラジカル学、アレルギー学の両面からペルオキシダーゼ依存性のチロシンニトロ化機構を証明したものである。活性窒素種の関与する疾患に対する予防医学の発展に寄与する価値のある業績であり、学位論文に値すると判定された。