

## 401 ループスアンチコアグラントのアポトーシス誘導活性

大阪大保健学科, 大阪府立母子センター母性内科\*, 大阪大第2生理\*\*

中村紀彦, 木戸口公一\*, 藤田富雄\*, 細野剛良\*\*, 山地建二

[目的] 我々はEBvirusを用いてヒトのモノクローナルなlupus anticoagulant (LAC) 産生株 (IgMが2種類、IgGが3種類) を世界で初めて樹立し、昨年度の本学会で発表した。これらの精製LACを用いて、LAC患者の病態生理を明らかにするため細胞生物学的なアプローチを行い、新知見を得たので報告する。[方法] 今回は主にヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。培養液は5% fetal bovine serum 加MCDB 104 (他に、5  $\mu$ g/mlの血管内皮細胞増子:ECGF 10  $\mu$ g/mlのヘパリンを添加) である。上記5種類の精製LACをそれぞれ単独で、種々の濃度で添加した。[成績] モノクローナルなヒトLACは5種類すべてが単独添加 (10  $\mu$ g/ml以上) で、6時間後よりHUVECにアポトーシスを誘導した。アポトーシスであることは電顕的観察 DNA fragmentation assayで証明した。さらに、LAC産生株を作製するにあたって血液の提供を受けた患者および多数例のLAC患者の10%血しょう添加でアポトーシスが誘導された。コントロールの抗体、血しょうあるいは線維芽細胞を用いた実験ではアポトーシスは誘導されなかった。また、アポトーシス誘導活性はECGFの除去で著明に増強され、cycloheximideの添加で阻害されることも証明した。[結論] LACはHUVECに対してアポトーシスを誘導することを証明した。ヒトの自己免疫疾患でアポトーシス誘導活性があるものを同定したのは世界で我々が初めてである。この研究成果はLAC患者の病態生理をより明らかにする契機となるものであり、今後広く細胞生物学的な立場からの検索を続けたい。

## 402 マグネシウム(Mg)イオンによるエンドセリン I (ET-1)産生抑制の細胞内作用機序と妊婦血清の影響

京府医大

竹川 僚一、加藤 俊、柏木 宣人、上島 典子  
藤原葉一郎、保田 仁介、岡田 弘二

[目的] 我々は、Mgイオンが培養血管内皮細胞からのET-1放出を抑制し、中毒症妊婦血清で培養された細胞では、この抑制が著明であることを報告した。今回、Mgによる抑制の作用点と中毒症妊婦血清添加の影響について、細胞内情報伝達系と細胞内イオン濃度に着目し検討した。[方法] ET-1産生に関わる細胞内情報伝達系であるPI応答の経路につき、アンジオテンシン(Ang) IIとMgの同時添加による影響を検討した。内皮細胞内のイノシトール3リン酸(IP<sub>3</sub>)、Cキナーゼ(PKC)、カルシウムイオン濃度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>)について、RIAまたはfura 2を用い、Ang IIとMg同時添加の影響を比較した。またbig ET-1と内皮細胞 homogenate を培養し、big ET-1からET-1への変換活性に対するMgの影響を検討した。また血清添加による[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>、IP<sub>3</sub>、[Mg<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の変化を測定した。[成績] Ang IIの添加により、IP<sub>3</sub>は15秒後をピークとして増加し、PKC活性は時間依存性に漸次上昇した。しかし同時に添加したMgによる影響は見られなかった。Ang IIによる[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の一過性の上昇は、細胞外Caに依存しない細胞内小器官からのCa<sup>2+</sup>放出であった。Mgはこの上昇を抑制した。big ET-1からET-1への変換に対してもMgの影響は認められなかった。妊婦血清の添加により、IP<sub>3</sub>、[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>は上昇し、中毒症血清で著明であった。中毒症血清は[Mg<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>の減少をきたし、血清培養後の細胞では細胞外Mg添加により容易に[Mg<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇を認めた。[結論] MgによるET-1抑制は、小胞体からのCa<sup>2+</sup>放出に対する抑制であった。また中毒症血清は内皮細胞の[Mg<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>を減少させるため、Mg添加による[Mg<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇とET-1放出抑制が著明になると考えられた。