

石本裕士 論文内容の要旨

主 論 文

Identification of hBD-3 in respiratory tract and serum
: the increase in pneumonia
(和訳: 気道および血清中におけるヒト デフェンシン-3(hBD-3)の同定
: 肺炎における hBD-3 の増加)

石本 裕士, 迎 寛, 伊達 紫, 新原 琢也, Muhtashan S. Mondal,
芦谷 淳一, 平塚 雄聡, 久保 茂, 河野 茂, 中里 雅光

(European Respiratory Journal 27 巻 253-260 頁 2006 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系 専攻
(主任指導教員: 河野 茂 教授)

緒 言

気道は多くの感染症の侵入門戸であり、気道上皮は感染防御において重要な役割を担っている。咳嗽反射や繊毛運動に加えて、気道粘膜被覆液に含まれるライソゾームやラクトフェリン、デフェンシンは、抗菌活性を示す分子であり、自然免疫の一翼を担っている。デフェンシンは、分子上の特性から デフェンシンと デフェンシンに大別される。 デフェンシンは、好中球アズール顆粒、および小腸パネート細胞に存在し、 デフェンシンは主に上皮細胞に存在する事が知られている。 デフェンシン-3(hBD-3)は、新たに乾癬患者の皮膚から同定された抗菌ペプチドである。本検討の目的は、 hBD-3 の抗菌活性の特性を検討すること、 気道における hBD-3 の存在を確認すること、 hBD-3 に対するラジオイムノアッセイを確立し、呼吸器感染症における臨床検体を測定することで hBD-3 の病態生理学的意義を検討することである。

対象と方法

- 1, hBD-3 を合成し、大腸菌に対する発育阻止作用を検討した。また、高塩濃度もしくは低塩濃度の条件におけるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌、大腸菌、緑膿菌に対するコロニー減少率を検討した。
- 2, 合成ペプチドを家兔に免疫し抗血清を得て、ヒト肺組織における免疫染色を行った。
- 3, 得られた抗血清を用いて、hBD-3 に対する特異的なラジオイムノアッセイを作成した。高速液体クロマトグラフィーによって分取したヒト肺抽出液を、hBD-3 に対す

るラジオイムノアッセイを実施することで、ヒト肺組織中における hBD-3 の存在を検討した。また、ウエスタンブロットィング法においても同様の検討を行った。

4 ,ラジオイムノアッセイを用いて、ヒト血清中の hBD-3 量を検討し、肺炎患者における治療前後の血中 hBD-3 濃度変化を検討した。

結 果

1 ,hBD-3 による大腸菌に対する抗菌力は、hBD-2 と同等の強い活性を示した。また、グラム陽性菌、陰性菌に対して hBD-3 は強い抗菌活性を示した。さらに、hBD-2 の抗菌活性が減弱する高塩濃度の環境においても、hBD-3 の抗菌活性は保持された。

2 ,免疫染色において、肺胞領域での陽性細胞は認められなかったが、細気管支上皮細胞に hBD-3 陽性細胞が認められた。

3 ,高速液体クロマトグラフィーにて合成 hBD-3 が分取される分画から分取した肺抽出液中にラジオイムノアッセイにて hBD-3 が確認された。また、ウエスタンブロットィング法においても、ヒト肺抽出液中に hBD-3 の存在を確認することができた。

4 ,血清中の hBD-3 濃度は、健常人において 142.9 ± 10.6 pg/ml (平均 \pm 標準誤差) であったが、肺炎の急性期においては 246.8 ± 25.4 pg/ml と上昇していた。また、肺炎の治療により hBD-3 濃度は低下した。

考 察

デフェンシンは、分子種によって、その存在部位や抗菌力が異なり、気道上皮に存在する hBD-1 や hBD-2 は主にグラム陰性菌に対する抗菌力が強いことが知られている。

本検討において、hBD-3 はグラム陽性菌に対しても強い抗菌力があることを確認することができた。デフェンシンの抗菌活性は、その陽性荷電により、陰性に荷電する病原微生物の膜における電位を変化させることによると考えられている。他のデフェンシンに比べて高い陽性荷電を持つ hBD-3 は、高塩濃度においても高い抗菌活性を示すものと考えられた。

免疫染色により、細気管支上皮細胞に hBD-3 の発現が認められ、hBD-2 が主に存在する肺胞上皮細胞での発現は認められなかった。気道における自然免疫としての役割がおのこのデフェンシンによって異なる可能性があると考えられた。

作成した hBD-3 に対するラジオイムノアッセイは、特異的かつ高感度であることが高速液体クロマトグラフィーを用いた検討で示すことができ、ヒト血清において hBD-3 を測定することが可能となった。健常人に比べて肺炎患者では hBD-3 血中濃度が高値となり、抗菌薬による治療によって hBD-3 血中濃度が減少することが示された。肺炎における hBD3 血中濃度の変化は、ヒト好中球ペプチド-1(HNP-1)および hBD-2 と同様の推移を示しており、hBD-3 が肺炎の活動性を反映することを示していると考えられた。

hBD-3 が肺組織において存在することと、肺炎患者において血中 hBD-3 濃度が病勢を反映して変化することから、hBD-3 は呼吸器感染症において自然免疫の一端を担っている可能性があると考えられた。また、hBD-3 に対するラジオイムノアッセイを用いた高感度で特異的な測定方法を確立できたことは、hBD-3 の病態生理学的意義を解明する一助となるものと考えた。