



Title	Induction of β -defensin 3 in keratinocytes stimulated by bacterial lipopeptides through toll-like receptor 2
Author(s)	澄川, 靖之
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47383
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	すみ 澄 かわ 川 やす 靖 ゆき 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 0 6 4 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 8 月 18 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学 位 論 文 名	Induction of β -defensin 3 in keratinocytes stimulated by bacterial lipopeptides through toll-like receptor 2 (細菌由来リポペプチドは toll-like receptor 2 を介してマウスケラチノサイトに β -defensin 3 を誘導する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 片山 一朗 (副査) 教 授 細川 互 教 授 竹田 潤二

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

全てのほ乳類の表面を覆う表皮は病原菌に対する防御の最前線を担っており、自然免疫反応の起こる重要な部位である。多様な抗菌作用を持つ分子は単球だけではなく上皮細胞にも発現している。 β -defensin は抗菌ペプチドの一つであり、ケラチノサイトを含む上皮細胞で産生されている。しかし、ケラチノサイトにおける β -defensin の誘導経路については完全には明らかになっていない。われわれはケラチノサイトにおいて自然免疫で重要な役割を果たしている TLR-MyD88 の経路を介して微生物を構成する成分により β -defensin が誘導されるのではないかと考えた。

〔 方法ならびに成績 〕

ケラチノサイトで TLR が機能しているかどうかを調べるために、TLR2,4 のリガンドとされる lipopolysaccharide (LPS)、bacterial lipopeptide (BLP) で刺激したケラチノサイト培養上清中 TNF- α 、IL-1 α 量の測定を行った。wild type (WT) のマウス由来培養ケラチノサイトに LPS、BLP をそれぞれ加え、上清を ELISA 法で測定した。非刺激群では感度以下であったが、刺激群では 24 時間後に上昇が見られた。一方 TLR2KO、TLR4KO マウスケラチノサイトではそれぞれ BLP、LPS の刺激でほとんど上昇が見られなかった。以上からマウスケラチノサイトにおいても菌体成分である LPS、BLP が TLR2,4 で認識されていると考えられた。次に human β -defensin 2 と相同と言われている mouse β -defensin 3 (mBD3) の産生を WT、TLR2KO、TLR4KO マウスケラチノサイトを用いて解析した。WT のマウス由来培養ケラチノサイトに LPS また BLP を加え、RT-PCR 法を用いて mBD3 の mRNA 量を G3PDH と比較した。BLP 刺激では、6 時間後に著明な mRNA の増加が見られた。一方 LPS 刺激ではほとんど増加しなかった。一方 TLR2KO ケラチノサイトでは BLP 刺激による mBD3 の上昇は抑制された。生体でケラチノサイトの TLRs が機能を果たしているかを評価するため、TLR2KO マウス尾部の皮膚を WT マウスの背部に植皮し、同部に黄色ブドウ球菌を接種した。TLR2KO マウス由来の植皮片では腐爛を生じたが、WT ではほとんど変化を認めなかった。また接種部の菌量をコロニー法で測定したところ、WT に比べ TLR2KO 由来の植皮片の方が約 3 倍多く菌が検出された。同様に MyD88KO マウス由来の植皮片にも接種を行ったところ、深い潰瘍を形成した。また mBD3 は WT の表皮上層のケラチノサイトで発現が認められたが、MyD88KO の表皮では認められなかった。

〔 総 括 〕

ケラチノサイトにおいて TLR が発現しているのと同時に細菌由来の LPS、BLP にたいし反応することが TNF- α 、IL-1- α の産生で明らかになった。一方 mBD3 は BLP に対しては産生されるものの LPS では産生されず、TLR2 と TLR4 の機能的な違いが示唆された。また in vivo においても TLR2-MyD の経路を阻害する事により mBD3 の産生が行われず、ブドウ球菌の繁殖と塗布面の潰瘍化を呈した。以上の結果よりケラチノサイトにおける TLR2-MyD88 の経路を介した mBD3 の産生が生体においてブドウ球菌の感染防御に寄与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

全てのほ乳類の表面を覆う表皮は病原菌に対する防御の最前線を担っておりそのメカニズムは未だ不明である。近年、上皮系に発現する TLR は自然免疫反応を起こす重要なレセプターであることが分かってきた。申請者はケラチノサイト (KC) において自然免疫で重要な役割を果たしている TLR-MyD88 の経路を介して微生物を構成する成分による β -defensin の誘導を予想した。LPS、bacterial lipopeptide 刺激による TNF- α と IL-1 α の産生はそれぞれ TLR4 または 2 ノックアウト (KO) KC において抑制された。野生型 (WT) の KC では bacterial lipopeptide 刺激で mouse β -defensin3 (mBD3) の発現が上昇したが、TLR2KO では抑制された。次に TLR2KO マウスの皮膚を WT マウスの背部に植皮し、同部に黄色ブドウ球菌を接種した。TLR2KO マウス由来の植皮片では糜爛を生じたが、WT ではほとんど変化を認めなかった。また接種部の菌量を測定したところ、WT に比べ TLR2KO 由来の植皮片の方が約 3 倍多く菌が検出された。これらの結果から TLR2-MyD88 の経路を介した mBD3 の産生が生体においてもブドウ球菌の感染防御に寄与していることを示した。表皮における感染メカニズムは未だ解明されておらず、本研究によりその一端が明らかになった。これからの医学のみならず医療にも貢献できる価値ある研究であり、博士の学位授与に値するものと考えられる。