

学位研究紹介

好中球エラスターゼによる上皮成長因子受容体の分解は、肺胞上皮の修復を遅延させる

Neutrophil elastase degrades epidermal growth factor receptors and delays lung epithelial repair

新潟大学大学院医歯学総合研究科 微生物感染症学分野
磯野 俊仁

Department of Microbiology and Infectious Diseases, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Toshihito Isono

【背景および目的】

歯科領域とも密接な関係がある誤嚥性肺炎を含めた肺炎により、日本では年間約13万人が死亡している。肺炎の主たる起因細菌は肺炎球菌である。宿主に感染した肺炎球菌は、好中球から内在性のタンパク質分解酵素であるエラスターゼ(neutrophil elastase, NE)を漏出させ、NEが宿主の様々なタンパク質を分解することにより、肺組織を傷害する。予備実験により、肺炎球菌感染マウスの肺胞洗浄液から、宿主タンパク質である上皮成長因子受容体(epidermal growth factor receptor, EGFR)の断片を多量に検出した。EGFRは組織の修復にはたらく膜タンパク質であり、通常は細胞外に遊離しない。そ

こで、NEが肺胞上皮細胞に発現したEGFRを分解し、リガンドの上皮成長因子(EGF)とEGFRが結合できなくなることで、肺胞上皮の修復が阻害され、肺炎が重症化するという仮説を立て、解析を行った。

【方法】

EGFR細胞外ドメインの組換え体にNEを添加し、SDS-PAGEによりEGFRの分解の有無を観察した。次に、肺胞上皮細胞株A549を用いて、細胞に発現したEGFRに及ぼすNEの影響をWestern blottingおよびリアルタイムPCRにより解析した。また、NEを添加したA549細胞にEGFを添加し、EGFRおよび下流シグナル分子の活性化ならびに細胞増殖能について、それぞれWestern blottingとスクラッチアッセイにより解析した。さらに、NEによるEGFRの分解について*in vivo*解析を行った。肺炎球菌感染マウスにNE阻害剤を投与し、肺組織中のEGFR量をWestern blottingにより解析した。また、肺組織切片中のKi67(細胞増殖マーカー)を蛍光免疫染色し、肺組織のKi67陽性細胞の割合を算出した。

【結果および考察】

NEはEGFR細胞外ドメインの組換え体を分解した。NEを添加したA549細胞では、非添加の細胞と比較して、EGFR量が有意に少なかった。NEとともにNE阻害剤を添加した細胞では、NEのみを添加した細胞と比

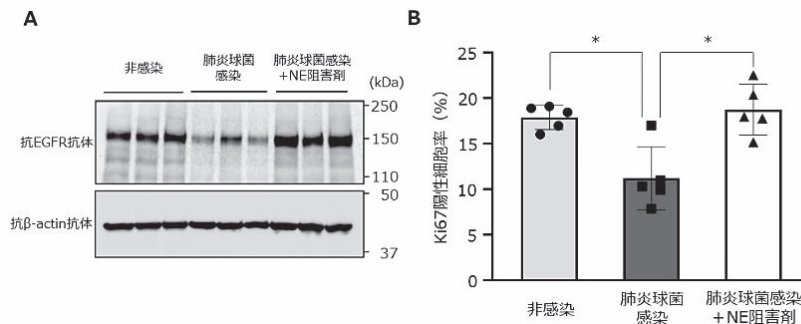


図1 肺炎球菌感染マウスにおいてNEは肺組織のEGFRを分解し、細胞増殖を阻害する。(A) マウスの肺組織溶解液よりEGFRをWestern blottingで検出した。(B) マウスの肺組織切片中のKi67を蛍光免疫染色により検出し、Ki67陽性細胞の割合を算出した。平均値±SD (n=5), * P <0.05で有意差あり(Tukey's multiple comparisons test)。図は参考文献より改変した。