



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Pseudomonas aeruginosa elastase causes transient disruption of tight junctions and downregulation of PAR-2 in human nasal epithelial cells (緑膿菌エラスターゼはヒト鼻粘膜上皮細胞においてタイト結合の経時的な破壊と PAR-2 の機能低下をもたらす)
Author(s) 著者	野村, 一顕
Degree number 学位記番号	甲第 2760 号
Degree name 学位の種類	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2014-03-31
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲第 2760 号	氏 名	野村 一顕
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> elastase causes transient disruption of tight junctions and downregulation of PAR-2 in human nasal epithelial cells</p> <p>(緑膿菌エラスターゼはヒト鼻粘膜上皮細胞においてタイト結合の経時的な破壊と PAR-2 の機能低下をもたらす)</p> <p>研究目的</p> <p>緑膿菌はグラム陰性桿菌でシュードモナス属に属しており、典型的な日和見病原体で、健康人を侵すことは稀だが、局所的または全身的に抵抗力の低下した個体にしばしば感染を起こし、重篤になることも少なくない。緑膿菌は慢性副鼻腔炎の難治化の原因となる原因となる。緑膿菌は色素やムコイド、外毒素など、本菌特有の多種類の物質を産生するが、これらの物質の中でもエラスターゼは、菌が宿主細胞に侵入し定着する際に作用すると考えられている。気道上皮細胞では緑膿菌が産生するエラスターゼによりタイト結合の破壊が起こり、上皮細胞間隙の透過性の増加や上皮バリア機能の低下を導くと考えられている。</p> <p>しかし、ヒト鼻粘膜上皮細胞ではその影響及び機序は不明である。</p> <p>今回私はヒト鼻粘膜上皮細胞を用い、タイト結合におけるエラスターゼによるバリア機能への影響の検討を行うことを目的とした。</p> <p>研究方法</p> <p>細胞は手術で摘出したヒト鼻粘膜組織から分離培養したものに、延命化させるテロメラーゼ遺伝子導入を行ったヒト鼻粘膜細胞を用いた。緑膿菌エラスターゼの他に内因性の好中球エラスターゼも使い、タイト結合分子の発現の変化を検討した。緑膿菌エラスターゼは PAR (protease activated receptor) -2、各種シグナル伝達経路を介してタイト結合タンパクの変化をもたらすとの報告があることから、シグナル伝達経路阻害薬、PAR-2 アゴニストを添加して実験を行った。さら</p>			

に siRNA を用い鼻粘膜上皮細胞で PAR-2 をノックダウンさせたのちに同様の処置を行い、検討を行った。

研究成績

正常鼻粘膜細胞において、緑膿菌エラスターゼ処置によりタイト結合蛋白である Claudin-1、4、Occludin、Tricellulin の蛋白において 30 分、1 時間で発現の低下がみられ、4 時間までに回復している。TER (経上皮電気抵抗) ではエラスターゼ投与後一時的にタイト結合機能の低下が認められるが、数時間後には回復している。各種シグナル経路阻害剤を用い検討を行うと

PKC、MAPK、PI3K、JNK、NFκB を介しているのではないかと考えられた。

PAR-2 をノックダウンさせることにより、タイト結合タンパクの発現低下を認めたことから、PAR-2 がタイト結合タンパクの発現調節をしていると考えられた。PAR-2 をノックダウンさせても緑膿菌エラスターゼの処置によりタイト結合タンパクの低下が認められることから、PAR-2 を介していない経路があることが示唆される。

PAR-2 アゴニストで PAR-2 を活性化させることによりタイト結合発現低下は抑制されたことから、PAR-2 刺激によりタイト結合発現の亢進が起こると考えられる。

考察・結論

緑膿菌から産生されたエラスターゼは PKC、MAPK、PI3K、JNK を介し、核内移行シグナルである NFκB を介し核内に入り、この機序でタイト結合タンパクのリン酸化を引き起こしタイト結合分子の発現低下をもたらす、また、タイト結合の発現調節をしている PAR-2 を不活性化し発現低下をもたらす、エラスターゼが直接的にタイト結合を破壊する。これらの 3 つが考えられ細胞間隙の透過性の上昇をもたらすのではないかと考えられる。

緑膿菌などによりタイト結合機能が一時的に低下した時に細菌やカビが体内に侵入し、さらなる感染がおこるのではないかと考えられる。また、drug delivery system としての応用も期待できる。

論文審査の要旨及び担当者

平成 25 年 12 月 12 日提出

(平成 26 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 2760 号	氏名	野村 一顕
論文審査 担当者	主査 氷見 徹夫	副査 澤田 典均	
	委員 小島 隆	委員 横田 伸一	

論文題名	<p>Pseudomonas aeruginosa elastase causes transient disruption of tight junctions and downregulation of PAR-2 in human nasal epithelial cells (緑膿菌エラスターゼはヒト鼻粘膜上皮細胞においてタイト結合の経時的な破壊と PAR-2 の機能低下をもたらす)</p>
------	---

結果の要旨

本研究ではヒト鼻粘膜上皮において、緑膿菌から産生されたエラスターゼは 3 つの働きにより細胞間隙の透過性を増加させることが示唆された。直接的にタイト結合のタンパク分解を起こす、シグナル伝達経路を介し、タイト結合タンパクのリン酸化を引き起こしタイト結合分子の発現低下をもたらす、また、PAR-2 を不活性化しタイト結合タンパクの発現低下をもたらす、これらの 3 つが考えられ細胞間隙の透過性の増加をもたらすのではないかと考えられる。慢性的な緑膿菌感染によってタイト結合機能が一時的に低下した時に細菌やカビがさらに体内に浸入し、2 次的な感染がおこるのではないかと考えられる。