

平成27年2月

岡田健作 学位論文審査要旨

主 査 富 田 修 平
副主査 清 水 英 治
同 千 酌 浩 樹

主論文

Effect of clarithromycin on the expression of UL16-Binding Protein 2 in human cells

(クラリスロマイシンのヒト細胞におけるUL16-Binding Protein 2発現への影響)

(著者：岡田健作、千酌浩樹、高田美也子、山口耕介、牧野晴彦、北浦剛、中本成紀、
山崎章、井岸正、鰐岡直人、清水英治)

平成27年 Yonago Acta medica 掲載予定

参考論文

1. A new rapid method for detecting epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer

(非小細胞肺癌における上皮成長因子受容体変異の新たな迅速検出法)

(著者：高田美也子、千酌浩樹、松波馨士、小谷昌広、阪本智宏、橋本和宏、
中本成紀、岡田健作、北浦剛、松本慎吾、倉井淳、山崎章、井岸正、
鰐岡直人、清水英治)

平成27年 Oncology Reports 33巻 1040頁～1048頁

学 位 論 文 要 旨

Effect of clarithromycin on the expression of UL16-Binding Protein 2 in human cells

(クラリスロマイシンのヒト細胞におけるUL16-Binding Protein 2発現への影響)

クラリスロマイシンは抗炎症および免疫調整作用をもつマクロライド系抗菌薬として知られ、びまん性汎細気管支炎と嚢胞性線維症患者に対して、その有効性が報告されている。これらの疾患を含む慢性炎症性肺疾患においては緑膿菌感染が患者の予後に関わる問題であり、マクロライド系抗菌薬が肺からの緑膿菌除去を促進することが報告されているが、その詳細な機序は明らかとなっていない。最近、肺からの緑膿菌除去に宿主のNKT細胞が中心的な役割を果たしていることが示され、NKT細胞は、その活性をNKG2D-NKG2Dリガンド系によって厳密に制御されていることが明らかとなっている。そこで、今回の研究では、クラリスロマイシンが肺における重要なNKG2DリガンドであるUL16-Binding Protein 2 (ULBP2)と、その切断酵素であるa disintegrin and metalloproteinase domain 10 (ADAM10)、ADAM17へ及ぼす影響について検討した。

方 法

ULBP2を低発現するA549とULBP2を高発現するLCSC #2の2種類のヒト細胞株を用い実験を行った。クラリスロマイシンを24時間添加培養した後、total RNAを抽出し、ULBP2およびその切断酵素であるADAM10とADAM17の遺伝子発現をreal-time PCR法を用いて測定した。細胞表面のULBP2発現量はクラリスロマイシンもしくはADAM17阻害薬であるTAPI-2を24時間添加培養した後、flow cytometry法によって測定した。細胞培養液上清中の可溶性ULBP2濃度はクラリスロマイシンを24時間もしくは72時間添加培養した後、ELISA法によって測定した。ADAM17の活性はクラリスロマイシンを24時間添加培養した後、活性測定キットを用いて測定した。

結 果

クラリスロマイシンは、A549およびLCSC #2細胞の両方においてULBP2とADAM17の遺伝子発現を有意に誘導したが、ADAM10の遺伝子発現に関しては有意な変化を及ぼさなかった。細胞表面のULBP2発現は、A549細胞ではクラリスロマイシンおよびTAPI-2の添加培養を行っても有意な変化は認めなかったが、LCSC #2細胞ではクラリスロマイシンとTAPI-2共に著明

にULBP2発現を亢進させた。一方で細胞培養液上清中の可溶性ULBP2濃度は、クラリスロマイシンを72時間添加培養することでA549およびLCSC #2細胞の両方において有意に減少した。さらに、ULBP2を切断し可溶化するADAM17の活性がクラリスロマイシンの添加培養によって低下することも明らかとなった。

考 察

クラリスロマイシンはULBP2発現を誘導するほか、可溶性ULBP2濃度を減少させることが示され、ADAM17の活性がクラリスロマイシンにより阻害されることでこの現象が生じている可能性が示唆された。また以前の検討では、緑膿菌はクオラムセンシング分子であるホモセリンラクトンを分泌することで、細胞表面に発現するULBP2を減少させ、同時に可溶性ULBP2を増加させることが明らかとなっている。この作用はNKG2Dを介したNKT細胞などの宿主免疫反応を減弱しヒトの肺での緑膿菌の生存に寄与していると考えられるが、今回明らかとなったクラリスロマイシンのULBP2発現増加、可溶性ULBP2減少作用は、この緑膿菌ホモセリンラクトンの作用に拮抗するものであり、慢性肺疾患患者における緑膿菌感染へのクラリスロマイシンの有効性を説明しうる機序の一つである可能性が考えられた。

結 論

クラリスロマイシンはULBP2発現を誘導するほか、主要なULBP2切断酵素であるADAM17の活性を阻害することで可溶性ULBP2濃度を減少させる可能性が示された。ULBP2発現亢進および可溶性ULBP2濃度の減少はNKT細胞を活性化するため、この知見は慢性呼吸器疾患においてクラリスロマイシンが宿主のNKT細胞活性化を通して緑膿菌除去を亢進させる新たな機序の可能性がある。