

## 敗血症や重症肺炎患者の好中球における起原菌に依存する LPS (リポ多糖) と LTA (リポテイコ酸) 刺激によるシグナル伝達活性化の相違

<sup>1</sup> 帝京大学医学部微生物学講座

○越尾 修<sup>1</sup>、小瀬 陽司<sup>1</sup>、丹生 茂<sup>1</sup>、祖母井 庸之<sup>1</sup>、菊地 弘敏<sup>1</sup>、上田 たかね<sup>1</sup>、斧 康雄<sup>1</sup>

【目的】敗血症や重症肺炎では、感染病巣の病原菌だけでなく血液などの体液中に、これらに由来する菌体成分が存在し、免疫担当細胞を活性化して、感染防御に留まらず、時には組織傷害を惹起することがある。その場合の起原菌がグラム陽性菌かグラム陰性菌かで特に好中球の活性化が異なるか否かを探るため、それぞれの菌体成分の好中球の機能に対する影響のひとつとして MAPK の燐酸化を血清の有無で検討した。

【方法】健常人及び敗血症と重症肺炎の患者の末梢血より調製した好中球を、1.5ml の Eppendorf tube (1×10<sup>6</sup> cells/ml)、37°C の水槽で 30～60 分間静置後、*E. coli* の LPS (リポ多糖) や *S. aureus* 或いは *S. pyogenes* の LTA (リポテイコ酸) にて 30 分間刺激した。直ちに遠心・洗浄・凍結し、whole cell を電気泳動した後、各 MAPK (ERK1/2 および p38) の燐酸化部位に特異的な抗体を用いた Western blotting を行い、HRP-結合二次抗体の化学発光にて燐酸化を評価した。【成績】*E. coli* 由来 LPS は、血清の存在下でのみ p38 MAPK を有意に燐酸化した。しかし LTA では血清依存性はあるが、燐酸化能は弱かった。グラム陰性菌を起原菌とする患者の好中球の場合、別種のグラム陰性菌の LPS による刺激でも p38 の燐酸化が抑制された。しかし、グラム陽性菌が起原菌の場合では、別種の LTA による p38 の燐酸化は抑制されなかった。

【考察】これらの現象は、LPS の構造よりも LTA の構造の方が種による差異が大きいことによる可能性がある。LPS は Toll 様受容体 (TLR)-4 に、LTA は TLR-2 にと、それぞれ異なる TLR に結合するが、両方に見られる p38 MAPK 燐酸化に対する血清依存性はどちらも TLR への結合には LPB (LPS binding protein) と CD14 を必要とする知見と合致する。【結論】グラム陰性菌や陽性菌を起原菌とする重症感染症患者由来の好中球の p38 燐酸化は、down-regulation を呈したが、グラム陰性菌よりもグラム陽性菌の方が種間の差異を反映することが示唆された。

## 光線力学療法 (PDT) の局所細菌感染症への応用：マウス MRSA 膝関節炎に対する PDT の好中球集積効果を介した治療および予防

<sup>1</sup> 防衛医科大学校 整形外科学講座、<sup>2</sup> 防衛医科大学校 分子生体制御学講座、<sup>3</sup> 防衛医科大学校 免疫・微生物学講座、<sup>4</sup> マサチューセッツ総合病院

○田中 優砂光<sup>1,4</sup>、守本 祐司<sup>2</sup>、木下 学<sup>3</sup>

整形外科領域の術後感染はきわめて難治性であり、特にメチシリン耐性ブドウ球菌 (MRSA) などの多剤耐性菌による感染は長期間の抗生物質投与と侵襲的治療を要し、患者の QOL が著しく低下するため、新たな治療法の開発が望まれている。我々はそのひとつとして光線力学療法 (Photodynamic therapy, PDT) に着目し、局所細菌感染症の治療に応用するための各種の検討を行ってきた。PDT は *in vitro* においては直接的な殺細菌作用を有するが、*in vivo* においては直接的な殺細菌作用よりもむしろ、PDT によって賦活化される生体防御能によってはじめて感染を治癒に導き得る。今回、新たに人工材料およびルシフェラーゼ発現発光 MRSA を用いた難治性マウス MRSA 膝関節炎モデルを作製し、メチレンブルーを用いた PDT (MB-PDT) の効果を *in vivo* imaging により検討した。結果、PDT 後から徐々に MRSA 生菌数が減少して、6 日後に測定限界以下まで低下した。抗マウス好中球抗体 (抗 GR-1 抗体) を用いて末梢血好中球数を減少させるとこの治療効果は失われた。このことより、MB-PDT の強力な治療効果は、感染局所への好中球の遊走・集積効果を介したものであることがわかった。さらに、MB-PDT は感染を予防する効果も併せ持つことを明らかにした。すなわち、マウス膝に MB-PDT を実施したのち MRSA を関節内投与しても、MRSA 生菌数は減少し、感染は成立しなかった。

*In vivo* における細菌感染症に対する PDT は、直接的な殺細菌効果ではなく、好中球の感染局所への遊走・集積効果により感染を治癒させる。菌種を問わず、外傷に伴う感染症の治療や、骨・関節手術における術後感染の予防などに広く応用できる可能性がある。