九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

血清アルブミンとヘモグロビンによるLPSの物理化学的性状および生物活性の変化

小松，俊也

https://hdl.handle.net/2324/1500647

出版情報：九州大学，2014，博士（歯学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

KYUSHU UNIVERSITY

（様式３）

氏　　名　：　小松　俊也

論 文 名　：　血清アルブミンとヘモグロビンによるLPSの物理化学的性状および生物活性の変化

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

好中球などの食細胞による細菌リポポリサッカライド（lipopolysaccharide、LPS）の認識には、LPS binding protein（LBP）、CD（cluster of differentiation）14、Toll-like receptor 4、MD-2との相互作用が必須である事は良く知られている。LPSの認識において、LBPがCD14とLPSの結合を仲介することは示されているが、その際にLPSのdisaggregationが必要であるかどうかは不明のままである。そこで本研究では、この点を明らかにするためにゲル濾過クロマトグラフィーによる分子サイズの推定や電気泳動法などを用いてalbuminまたはhemoglobin（Hb）添加によるdisaggregationについて多面的に解析した。実験によって、以下の結果を得た。① albumin または Hb は、温度依存性および LPS：タンパク質の比依存性に LPS の disaggregation を起こした。② bovine serum albumin（BSA）処理したLPSを固相化anti-BSA antibodyと反応させると、LPSはBSAと一緒に固相に結合したことからLPSとBSAは複合体を形成することが明らかとなり、結合したLPS-BSA複合体からはTriton X-100添加によってLPSのみが解離したため、複合体形成は疎水結合によることが示唆された。③ Outer core を欠く変異株 Rd mutant LPS は、BSA による disaggregation も BSA との複合体形成も起こさなかったが、LPS 可溶化剤である triethylamine 添加によって、BSAによる disaggregation および複合体形成を示すようになり、disaggregationと複合体形成の関係が示唆された。④ LPS とタンパク質の複合体が polymyxin B と複合体を形成することを利用して、ゲル濾過により LPS-タンパク質複合体を単離し、複合体中の LPS およびタンパク質の定量からそれぞれの分子比（11~14:1）を明らかにした。⑤LPSは、好中球のホルミルペプチド刺激による活性酸素の産生を、血漿依存性に増強した。この応答はanti-LBP antibodyによって抑制された。また、このLPS応答はLBP単独では認められず、LPSをBSAまたはHbと作用させた後に、LBPと共添加した時にのみ認められた。これらの結果から、albuminやHbなどのタンパク質によってdisaggregationされたLPSが、LBPを介したLPSセンシング系のリガンドとして好中球に作用することが明らかとなった。