

学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	酒井 克也
[論文題名] Human liver-expressed antimicrobial peptide 2 elevation in the cerebrospinal fluid in bacterial meningitis. 細菌性髄膜炎における脳脊髄液中 Liver-expressed antimicrobial peptide-2 の上昇 Brain Behav. 2021 May;11(5): e02111. DOI: 10.1002/brb3.2111			
[要 旨] Liver-expressed antimicrobial peptide 2 (LEAP2) は、2003年に2つのジスルフィド結合を含む40個のアミノ酸からなる塩基性ペプチドとして、ヒト血液から単離された。LEAP2の主要な生物学的役割は長い間不明だったが、2018年にLEAP2は生理活性ペプチドであるグレリンの受容体である成長ホルモン分泌促進因子受容体1a (GHSR1a)の内因性アンタゴニストとして機能することが示された。グレリンは食物摂取と成長ホルモンの放出を刺激するホルモンとして機能する。LEAP2は動物実験によりグレリンを介した成長ホルモン放出と摂食を抑制し、LEAP2中和抗体はグレリンの成長ホルモン分泌作用を増強した。LEAP2はBMI、体脂肪率、血糖値、血清トリグリセリド、内臓脂肪、肝脂肪含有量などの代謝機能障害の臨床パラメーターと正に相関した。代謝系でのグレリンとLEAP2の連関が示されるなかで、グレリンの免疫細胞や内皮細胞に作用して炎症性サイトカインの産生を抑制する免疫調節作用に対するLEAP2の役割については明らかになっていない。GHSR1aは脈絡叢、海馬、視床下部弓状核、視床下部正中隆起、室傍核、孤束核、最後野、腹側被蓋野などマウス脳の様々な領域で高度に発現し、LEAP2 mRNAは大脳皮質、視床下部、海馬、嗅球、小脳、中脳、延髄を含むラット脳で、発現量は低値ながらも広範囲に発現していることが示されたが、LEAP2が中枢神経系に存在しているかどうか、中枢神経疾患や免疫介在性疾患に関与しているかどうかは未知である。 この研究では、腰椎穿刺によって得られたヒト脳脊髄液を、逆相高速液体クロマトグラフィー (RT-HPLC) により分取した。得られた HPLC 分画は、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) によって定量した。ヒト脳脊髄液 LEAP2 のピークの溶出時間は、合成したヒト LEAP2 ペプチドの溶出時間と一致した。これにより、ヒト脳脊髄液中の LEAP2 ペプチドの存在を特定した。次に、神経疾患患者 35 例の脳脊髄液中の LEAP2 濃度を ELISA によって定量した。患者は、2014年4月から2020年3月に宮崎大学医学部附属病院脳神経内科に入院し、入院直後に腰椎穿刺を施行した細菌性髄膜炎5例、無菌性髄膜炎9例（ウイルス性髄膜炎5例、クリプトコッカス髄膜炎4例）、			

免疫介在性末梢神経障害 10 例（慢性炎症性脱髄性多発神経炎 5 例、ギラン・バレー症候群 5 例）、免疫介在性中枢神経障害（多発性硬化症）5 例、脳脊髄液一般所見が正常な菌血症患者 1 例、対照として併存疾患のない解離性障害 5 例を含む。細菌性髄膜炎群の脳脊髄液 LEAP2 濃度（平均 \pm SD、 9.32 ± 3.76 ng/mL）は、他の 4 群（解離性障害、 0.56 ± 0.15 ng/mL、免疫介在性末梢神経障害、 1.00 ± 0.60 ng/mL；多発性硬化症、 0.62 ± 0.30 ng/mL；無菌性髄膜炎、 1.59 ± 0.69 ng/mL）よりも有意に上昇していた。細菌性髄膜炎のうちリステリア髄膜炎患者の脳脊髄液中 LEAP2 は治癒後に低下した。5 つの群すべての患者の脳脊髄液中 LEAP2 濃度は、炎症性パラメーターである脳脊髄液タンパク質濃度、細胞数、および血清 CRP 濃度と正の相関を示した。脳脊髄液 LEAP2 は血清グルコースと相関したが、代謝性パラメーターである BMI とは相関を示さなかった。血液中の LEAP2 について、12 人の健常ボランティアの血清 LEAP2 濃度は、6.89 ng/ml から 28.84 ng/ml の範囲にあった（平均 \pm SD、 18.35 ± 7.15 ng/mL）。リステリア髄膜炎患者の血清 LEAP2 濃度（13.47 ng/mL）もこの範囲内に含まれたが、菌血症患者の血清 LEAP2 濃度は高値を示した（31.40 ng/mL）。脳脊髄液では、菌血症患者の LEAP2 濃度は、細菌性髄膜炎 5 例（4.51 ng–13.40ng/dL；平均 \pm SD、 9.32 ± 3.76 ng/mL）よりも低値を示した（2.53 ng/mL）。

脳脊髄液 LEAP2 濃度の上昇は、中枢神経系における細菌感染による急性期炎症状態を反映していると考えられる。臨床ガイドラインでは、細菌性髄膜炎が疑われる場合、脳脊髄液検査と中枢神経の画像検査を施行する前に、抗菌薬による経験的治療を開始することが推奨されている。一旦、抗菌薬が投与されると、脳脊髄液中の細胞数と細胞種類の所見が無菌性髄膜炎を模倣し区別が困難となり、さらに細胞培養検査の結果が陰性になることがある。脳脊髄液中 LEAP2 レベルの上昇が細菌性髄膜炎に特異的であることを考えると、LEAP2 測定は補助的な診断手段として役立つ可能性がある。LEAP2 が有する GHSR1a のアンタゴニストとしての機能を考慮すると、細菌性髄膜炎における脳脊髄液中 LEAP2 濃度の上昇は、LEAP2 が局所的な細菌感染または急性炎症に対して作用する可能性があることを示唆している。これは、脳脊髄液中のヒト LEAP2 の存在を確認した最初の研究である。脳脊髄液における LEAP2 の存在は、中枢神経系におけるペプチド作動性自然免疫系の存在を示唆している可能性がある。この研究は、細菌性髄膜炎における宿主防御の理解を深めるのに役立つ。（1832 字）

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度