

# 배양 인체 질 편평상피세포에서 17 $\beta$ -Estradiol과 Progesterone에 의한 Human $\beta$ -defensin-1, -2의 발현 변화

## Modulation of the Host Antimicrobial Peptide (Human $\beta$ -defensin-1, -2) Expression of Vaginal Squamous Epithelial Cells with using 17 $\beta$ -Estradiol and Progesterone

Min Su Kim, Yu Chan Kim, Sang Chul Kim, Soon Chul Myung

From the Department of Urology, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

**Purpose:** In mammals,  $\alpha$  and  $\beta$ -defensins are antimicrobial peptides that are expressed in various epithelial and phagocytic cells. Human  $\beta$ -defensin-1 and -2 (hBD-1, hBD-2) have recently been shown to be expressed in various epithelial cells. Vaginal mucosa can be a target of vaginitis and the site of uropathogens' colonization that precedes urinary tract infections. Therefore, innate host defense mediators like antimicrobial peptides in the vaginal mucosa are important. Estrogen and progesterone receptors have been shown to be expressed in the vaginal squamous epithelium. Sex hormones like estrogen and progesterone may cause vaginal atrophy or susceptibility to uropathogens. So, we performed this study to investigate the expression patterns of hBD-1 and -2 mRNA in vaginal squamous epithelium (VSE) with using lipopolysaccharide (LPS), 17  $\beta$ -estradiol and progesterone. **Materials and Methods:** Normal VSE cells that were retrieved from vaginal tissue during vaginoplasty were primarily cultured in keratinocyte growth medium and they were allowed to undergo their 3rd passage. Modulation of the expressions of hBD-1 and -2 mRNA by various stimuli (LPS 0.5  $\mu$ g/ml, E2 2nM, P 1  $\mu$ M) was measured by semiquantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Results:** HBD-1 and -2 were constitutively expressed in the normal VSE cell lines, but the hBD-2 expression was not significant. A marked increase of the constitutive expression of hBD-2 mRNA was observed upon stimulation with LPS, but not upon stimulation with E2. A moderate decrease of the constitutive expression of hBD-2 mRNA upon stimulation with LPS was observed with administering progesterone.

**Conclusions:** These expressions of hBD-2 mRNA may have important roles in the innate host defense of the urogenital area. Artificial intake of progesterone may lead to susceptibility via a decrease of defensins. (Korean J Urol 2007;48:439-443)

**Key Words:** Vagina, Epithelial cells, Defensins

대한비뇨기과학회지  
제 48 권 제 4 호 2007

중앙대학교 의과대학 비뇨기과학교실

김민수 · 김유찬 · 김상철 · 명순철

접수일자 : 2006년 12월 15일  
채택일자 : 2007년 2월 22일

교신저자: 명순철  
중앙대학교병원 비뇨기과  
서울시 동작구 흑석동 224-1  
☎ 156-861  
TEL: 02-6299-1808  
FAX: 02-6294-1406  
E-mail: uromyung@yahoo.co.kr

이 논문은 2005년도 중앙대학교 학술연구비 지원에 의한 것임.

### 서론

인체는 바이러스, 박테리아, 곰팡이 등의 다양한 종류의 병원균에 항상 노출되어 있지만 건강한 사람에서 병원균이 항상 임상적 감염을 야기하는 것은 아니다. 이는 포유동물

의 진화과정에서도 보존되어 온 선천면역계의 한 요소인 항생단백 (antimicrobial peptides)의 항균 효과가 관여했을 것으로 추정된다.<sup>1-3</sup> 식세포와 다양한 기관의 상피세포에서  $\alpha$ -defensin과  $\beta$ -defensin 같은 다양한 항생단백이 발현되며, human  $\beta$ -defensin (hBD) 중 hBD-1 (human  $\beta$ -defensin-1)과 hBD-2 (human  $\beta$ -defensin-2)가 많이 알려져 있다.<sup>4-10</sup> hBD-1

은 대장, 소장, 호흡기, 유선, 피부, 이자, 신장에서 지속발현 (constitutive expression)되며,<sup>4,7</sup> hBD-2는 위장관, 이자, 폐 등에서 interleukin-1  $\beta$  (IL-1  $\beta$ ) 또는 tumor necrotic factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )와 같은 염증성 전자극 (proinflammatory stimulus)에 의해 유도된다.<sup>4,5,8,9</sup>

상피세포로 구성된 질점막은 질염의 표적이 될 수도 있고 요로감염 원인균의 집락 형성 부위가 될 수 있어 이러한 자발적 방어작용의 생리가 중요하다고 볼 수 있다.<sup>11-13</sup> 또한 질 상피세포에는 에스트로겐과 프로게스테론의 수용체가 존재하는데 에스트로겐은 질위축 방지와 낮은 산도를 유지하고 프로게스테론은 질위축 및 면역억제를 유발한다고 알려져 있다.<sup>14-16</sup> 역학적으로는 폐경 후 호르몬의 변화에 의해 요로감염이 증가한다는 보고도 있으며<sup>17,18</sup> 별 영향을 받지 않는다는 보고도 있다.<sup>19,20</sup> 이는 성호르몬이 자연 방어기전인 defensins의 발현에 영향을 미칠 개연성을 시사한다. 하지만 질 편평상피세포에서는 이런 선천면역을 담당하는 hBD에 대한 연구가 적다. 이에 저자들은 인체 질 편평상피세포를 배양하여 대장균의 염증반응유발인자인 lipopolysaccharide (LPS)에 의한 hBD-1, hBD-2의 발현 변화와 성호르몬인 17  $\beta$ -estradiol (E2), progesterone (P)이 이들의 발현에 미치는 영향에 대해 알아보았다.

## 대상 및 방법

### 1. 세포 배양

질벽성형술 시 획득한 질점막을  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -free Hank's balanced salt solution (HBSS)로 3회 세척한 후 0.05% Trypsin-0.025% EDTA solution을 이용해 4시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양조에서 세포를 소화시킨 후 HBSS로 3회 세척 후 조직을 1mm 두께로 잘게 썰어 1,500rpm에서 3분간 원심 분리하여 얻어진 세포를 100mm 배양조에 부유하였다. 기본 배지는 serum-free human keratinocyte growth medium (Gibco, Carlsbad, USA)에 성장인자 recombinant human epidermal growth factor, bovine pituitary extract를 첨가하여 사용하였고, 배양 용기는 5% CO<sub>2</sub>와 95% 공기가 공급되고 적절한 습도와 37°C의 온도가 유지되도록 하여 일차 편평상피세포를 배양하였고, 본 실험에는 3세대 세포를 이용하였다.

### 2. 실험방법

1) 세포 준비: 배양한 질 편평상피세포를  $5 \times 10^5$ 의 세포로 keratinocyte growth medium에 부유시켜 6well 배양조에서 배양하였다. 24시간 배양 후 keratinocyte growth medium에 0.5  $\mu\text{g/ml}$  *Escherichia coli* 055:B5 LPS (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), 2nM 17  $\beta$ -Estradiol (Sigma), 1  $\mu\text{M}$  cyclodex-

trin-encapsulated progesterone (Progesteron<sup>®</sup> Sigma) 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양조에서 배양한 세포주로부터 12시간 후 세포 pellet를 얻었다. 또한 0.5  $\mu\text{g/ml}$  LPS와 2nM 17  $\beta$ -estradiol, 1  $\mu\text{M}$  progesterone를 함께 처리하고 12시간 배양하여 질 편평상피 세포의 pellet을 모아 배지를 완전히 제거한 후 총 RNA를 분리하는 데 이용하였다. 대조군으로 질 편평상피세포를 keratinocyte growth medium에 배양한 세포 pellet을 사용하였다.

2) RNA 분리: 배양된 질 편평상피세포로부터 RNA는 RNeasy<sup>®</sup> Mini kit (QIAGEN Inc., Valencia, USA)를 이용하여 제조사의 방법에 따라 총 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 260nm와 280nm에서 흡광도를 측정하여 RNA의 양과 순도를 확인하여 cDNA 합성에 사용하였다.

3) cDNA 합성: 추출한 RNA 1  $\mu\text{g}$ 으로부터 cDNA 합성은 reverse transcriptase AMV kit (Roche Applied Science, Penzberg, Germany)를 이용하여 10x reaction buffer (100mM Tris, 500mM KCl, pH 8.3) 4  $\mu\text{l}$ , 25mM MgCl<sub>2</sub> 8  $\mu\text{l}$ , dNTP mix (dATP, dCTP, dTTP, dGTP, 10mM each) 4  $\mu\text{l}$ , oligo-p (dT)<sub>15</sub> primer 4  $\mu\text{l}$ , RNase inhibitor 2  $\mu\text{l}$ , AMV reverse transcriptase 1.6  $\mu\text{l}$ 에 DEPC-처리된 멸균 증류수를 첨가하여 총 40  $\mu\text{l}$ 로 만들었다. 역전사 반응은 자동온도조절기 (GeneAmp<sup>®</sup> PCR system 9700, Applied Biosystems, Foster city, USA)에서 25°C에서 10분, 42°C에서 60분간 반응시키고 역전사 효소의 불활성화를 위해 99°C에서 5분간 반응시켰다.

Table 1. Primer

Gene	Primer sequence (5'→3')	Product size (bp)	Annealing temperature (°C)
hBD-1*	Sense CGGAATTCATGAGACTTCCTACC	207	50
	Antisense CGGGATCCTCACTTGCAGCACTTG		
hBD-2 <sup>†</sup>	Sense TCCCCCGGGATGAGGGTCTTGAT	195	68
	Antisense GCTCTAGATCATGGCTTTTTCAG		
GAPDH <sup>‡</sup>	Sense GAAGGTGAAGGTCGAGTC	228	52
	Antisense GAAGATGGTGATGGATTTC		

\*hBD-1: human  $\beta$ -defensin-1, <sup>†</sup>hBD-2: human  $\beta$ -defensin-2,

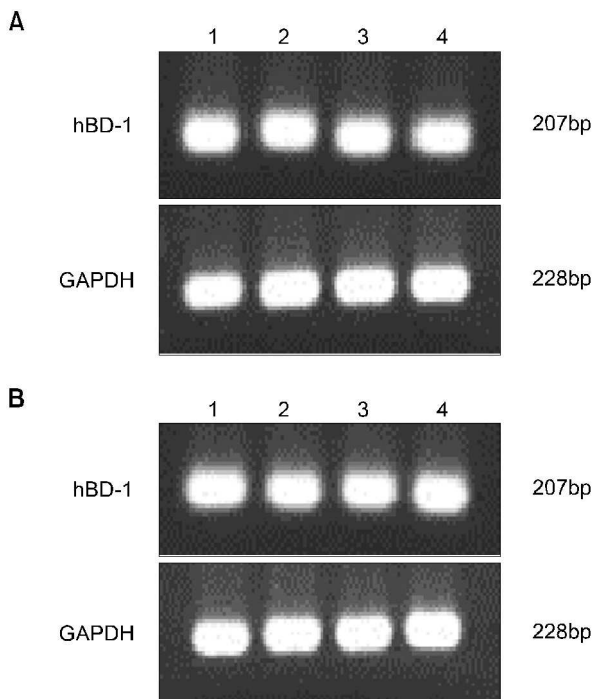
<sup>‡</sup>GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

4) Polymerase chain reaction (PCR)을 이용한 mRNA의 발현: 위의 방법에 의해 합성한 질 편평상피 세포의 cDNA를 template로 하여 Table 1의 시발체를 사용하여 중합 연쇄 반응법으로 hBD-1, hBD-2 각각의 유전자를 증폭시켰다. 즉, 반응은 최종농도가 10mM Tris-Cl (pH 8.3), 2mM  $MgCl_2$ , 200mM dNTP, 10pM의 각 primer, 0.5 unit Taq polymerase, cDNA 1  $\mu$ l을 가하여 반응액 20  $\mu$ l로 조절하여 수행하였다. GeneAmp PCR system 9700을 사용하여 각각의 조건에 따라 증폭횟수를 30회 반응시킨 후 증폭된 유전자 산물을 2% agarose gel에 전기영동하여 mRNA 발현 정도를 확인하였다 (Table 1).

## 결 과

### 1. 17 $\beta$ -estradiol 처리 후 hBD-1 mRNA의 발현 변화 (Fig. 1A)

hBD-1은 지속발현형으로 존재하며 대조군, LPS 처리군,



**Fig. 1.** Expression of human  $\beta$ -defensin-1 mRNA. (A) RT-PCR analysis in the presence of the control (1), and 17  $\beta$ -estradiol 2nM (2), LPS 0.5  $\mu$ g/ml (3), 17  $\beta$ -estradiol 2nM + LPS 0.5  $\mu$ g/ml (4) after incubation for 12 hours in the vaginal squamous epithelial cells: the expression of hBD-1 mRNA was constitutive, but it showed no difference from (1)-(4). RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction, LPS: lipopolysaccharide. (B) RT-PCR analysis in the presence of the control (1), and Progesterone 1  $\mu$ M (2), LPS 0.5  $\mu$ g/ml (3) and Progesterone 1  $\mu$ M + LPS 0.5  $\mu$ g/ml (4) after incubation for 12 hours in vaginal squamous epithelial cells: the expression of hBD-1 mRNA shown no difference from (1)-(4).

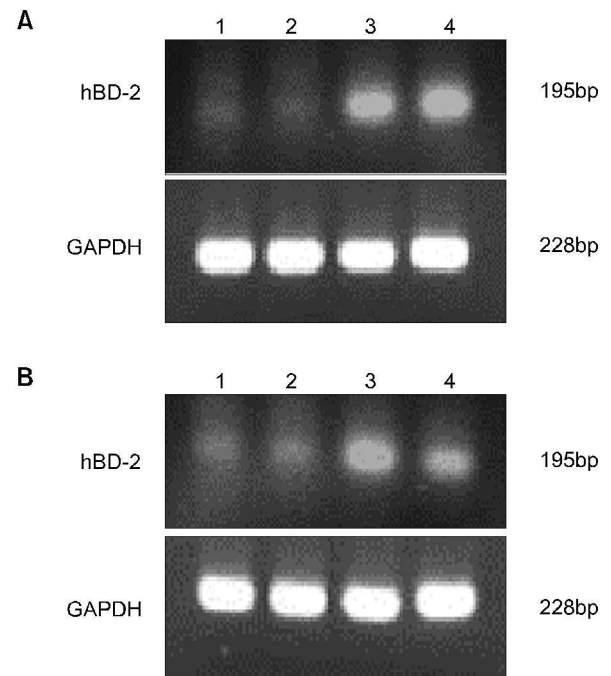
E2 처리군, LPS와 E2 처리군 사이에 발현의 차이는 없었다. 따라서 hBD-1 mRNA의 발현은 LPS 및 E2의 영향을 받지 않았다.

### 2. Progesterone 처리 후 hBD-1 mRNA의 발현변화 (Fig. 1B)

대조군, LPS 처리군, progesterone 처리군, LPS와 progesterone 처리군 사이에 발현의 차이는 없었다. 따라서 hBD-1 mRNA의 발현은 progesterone에 영향을 받지 않았다.

### 3. 17 $\beta$ -estradiol 처리 후 hBD-2 mRNA의 발현 변화 (Fig. 2A)

hBD-2은 미계비하지만 지속발현형으로 존재하며 LPS 처리 시에는 발현이 현저히 증가하지만 E2 투여로 발현의 증가나 감소는 없었다. 또한 E2 처리군과 대조군은 발현의 차



**Fig. 2.** Expression in human  $\beta$ -defensin-2 mRNA. (A) RT-PCR analysis of the presence of control (1) and 17  $\beta$ -estradiol 2nM (2), LPS 0.5  $\mu$ g/ml (3) and 17  $\beta$ -estradiol 2nM + LPS 0.5  $\mu$ g/ml (4) after incubation for 12 hours in the vaginal squamous epithelial cells: the constitutive expression of hBD-2 mRNA was insignificant and it showed a marked increase in (2), and there was no difference between (3) and (4). RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction, LPS: lipopolysaccharide. (B) RT-PCR analysis in the presence of the control (1), and Progesterone 1  $\mu$ M (2), LPS 0.5  $\mu$ g/ml (3) and Progesterone 1  $\mu$ M + LPS 0.5  $\mu$ g/ml (4) after incubation for 12 hours in the vaginal squamous epithelial cells: the expression of hBD-2 mRNA in (4) was less than in (3).

이가 없었다. 따라서 hBD-2 mRNA의 발현은 LPS에 의해 증가되며 E2에 영향을 받지 않았다.

#### 4. Progesterone 처리 후 hBD-2 mRNA의 발현변화 (Fig. 2B)

Progesterone 처리군과 대조군의 발현의 차이는 없었으며, LPS 처리에 의해 증가된 hBD-2 mRNA의 발현은 progesterone 처리로 억제되었다.

### 고 찰

여성의 요로감염은 혈액과 림프액을 따라서 침범할 수도 있으나 가장 흔한 침범경로는 요도로부터의 상행성 감염이다. 질 내 집락의 형성은 여성 요로감염의 초기 과정으로 병원균이 질점막에 부착되어 시작되며 실제 요로감염이 호 발하는 사람은 질과 구강점막의 요로감염균주와의 부착성이 더 높다.<sup>11-13,21</sup> 또한 질점막은 성관계를 통한 손상에 빈번하게 노출되며, 임상감염 또는 불현성 감염의 위험에도 항상 노출되어 있다. 피부 상피세포와 마찬가지로 손상을 받으면 항생단백의 발현이 증가하여 질점막을 보호하는 작용을 하게 된다.

항생단백의 대표적 물질의 하나인 defensins는 광범위한 항균범위를 갖는 선천면역 매개물질이자, 후천적 면역세포에 대한 매개 물질로 작용한다고 알려져 있다.<sup>15</sup> 현재까지 알려진 defensins는 사람의 염색체 8번의 1Mb 내에 군집되어 있으며,  $\alpha$ -defensin,  $\beta$ -defensin의 차이는 이중황화결합으로 결합된 시스테인 결합의 상이함에 기인한다는 것이 증명되었다.<sup>5,22-24</sup> 인간에서  $\alpha$ -defensin는 호중구 살균과립에 풍부한 human neutrophil peptides (HNP-1), HNP-2, HNP-3 HNP-4와 소장의 Paneth 세포에서 발현되는 human defensin-5 (HD-5), HD-6 등의 6종류가 알려져 있다.<sup>4,25</sup> 또한 현재 알려진  $\beta$ -defensin은 human  $\beta$ -defensin-1 (hBD-1), hBD-2, hBD-3, hBD-4 등의 4종류가 있고, hBD-1은 혈액 투석액의 분석과정에서 첫 발견된 후 호흡기, 신장, 여성 생식기 상피세포에서도 관찰되며,<sup>4,7</sup> hBD-2와 hBD-3는 건선환자의 각질에서 처음 분리되었고, 피부 각질세포, 호흡기 상피세포에서 관찰되며,<sup>4,8-10</sup> hBD-4는 열불활성 녹농균에 의해 발현되는 것으로 보고되었다.<sup>26</sup>

비뇨생식기 조직에서 hBD-1 mRNA의 발현은 신장의 헨리고리와 원위세뇨관, 집합관의 상피세포와 여성생식기인 질, 자궁경부, 자궁, 나팔관의 상피세포에서 높게 나타나는 것으로 알려져 있는데<sup>7</sup> 본 연구에서도 배양 질 편평상피세포에서 hBD-1 mRNA가 지속 발현되었다.

hBD-2 mRNA의 발현은 LPS나 미생물에 노출되었을 때

상피세포의 CD-14/TLR.NF- $\kappa$ B를 매개로 하여 직접적으로 증가되며, 대식세포에서 유래한 IL-1  $\alpha/\beta$ 의 자극에 의해 상피세포에서 간접적으로 증가된다. 이처럼 hBD-2은 정상 상태에서는 발현되지 않고 유도형으로 존재한다.<sup>4,27,28</sup> 본 연구에서는 배양 질 편평상피세포에서 hBD-2가 지속 발현되었는데 배양세포를 대상으로 실험했다는 제한점 때문으로 추정된다. 한편 LPS를 처리한 뒤 hBD-2만이 발현이 증가된 것을 보면 미생물이나 염증성 전자극이 hBD-2의 발현을 유도하는 것으로 추정할 수 있다.

폐경기 여성의 경우 Raz<sup>17</sup>는 에스트로겐 투여로 질의 위축을 막고 질산도를 유지함으로써 요도나 질에 정상 균주인 젖산균을 유지해 요로감염을 예방할 수 있다고 보고하고 있다. 그러나 Kjaergaard 등<sup>19</sup>은 요로감염에 별 영향을 주지 않는다고 보고하기도 하여 논란의 여지가 있다. 본 연구에서 항생단백 발현에 에스트로겐이 관여하는지 관찰한 바 hBD-1, hBD-2 발현에 영향을 주지 않았으며, LPS와 에스트로겐을 동시에 처리한 군에서도 hBD-2의 발현증가는 LPS로만 처리한 군에 비해 차이가 없었다. 따라서 에스트로겐은 hBD-1, hBD-2과 같은 항생단백에 특별한 영향을 미치지 않을 것으로 추정된다.

Progesterone은 질벽의 위축을 가져오고, 요로감염을 증가시킨다고 보고되었으며 프로게스테론 제제인 피임제 복용시 성병의 증가는 프로게스테론에 의해 면역을 담당하는 중성백혈구와 NK 세포의 약화 때문으로 설명되기도 한다.<sup>15</sup> 본 연구에서는 progesterone 투여 시 LPS에 의해 증가된 hBD-2의 발현을 억제함이 관찰되었다. 이 소견은 progesterone이 질상피세포에서 hBD-2의 발현을 약화시킴으로써 자연면역체계를 약화시켜 질염이나 하부요로감염의 배경이 될 가능성이 있음을 시사한다.

### 결 론

배양 질 편평상피세포는 hBD-1, hBD-2 모두 지속발현형으로 존재하지만 hBD-2는 발현이 미약하였다. hBD-1, hBD-2의 발현은 에스트로겐 의존성이 없었으나 hBD-2는 LPS에 의해 발현이 현저히 증가되고 이 발현 증가는 프로게스테론에 의해 억제되었다. 따라서 질의 세균에 대한 자연방어 기전에 hBD-2 mRNA가 중요한 역할을 할 것으로 추정되며 인위인 프로게스테론의 투여는 세균에 대한 질의 자연방어 기전을 억제할 가능성이 있는 것으로 생각한다.

### REFERENCES

1. Radtke AL, O'Riordan MX. Intracellular innate resistance to

- bacterial pathogens. *Cell Microbiol* 2006;8:1720-9
2. Tan BH, Meinken C, Bastian M, Bruns H, Leqaspi A, Ochoa MT, et al. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens. *J Immunol* 2006;177:1864-71
3. Schonwetter BS, Stolzenberg ED, Zasleff MA. Epithelial antibiotics induced at sites of inflammation. *Science* 1995;267:1645-8
4. Ganz T. Antimicrobial polypeptides. *J Leukoc Biol* 2004;75:34-8
5. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM. A peptide antibiotic from human skin. *Nature* 1997;387:861
6. Bensch KW, Raida M, Magert HJ, Schulz-Knappe P, Forssmann WG. hBD-1: a novel beta-defensin from human plasma. *FEBS Lett* 1995;368:331-5
7. Valore EV, Park CH, Quayle AJ, Wiles KR, McCray PB Jr, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J Clin Invest* 1998;101:1633-42
8. Schroder JM, Harder J. Human beta-defensin-2. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31:645-51
9. Abiko Y, Suraweera AK, Nishimura M, Arakawa T, Takuma T, Mizoguchi I, et al. Differential expression of human beta-defensin 2 in keratinized and non-keratinized oral epithelial lesions: immunohistochemistry and in situ hybridization. *Virchows Arch* 2001;438:248-53
10. Kim YJ, Hong CK, Seo SJ. Regulation of human beta-defensin 3 in human keratinocyte cell lines. *Ann Dermatol* 2003;15:1-7
11. Cho YH. Introduction to urinary tract infections. *Korean J Urol* 2006;47:559-67
12. Fowler JE Jr, Latta R, Stamey TA. Studies of introital colonization in women with recurrent urinary infections. VIII. The role of bacterial interference. *J Urol* 1977;118:296-8
13. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002;113(Suppl 1A):S5-13
14. Kaushic CF, Zhou AD, Murdin AD, Wira CR. Effects of estradiol and progesterone on susceptibility and immune response to *Chlamydia trachomatis* infection in the female reproductive tract. *Infect Immun* 2000;68:4207-16
15. Marx PA, Spira AI, Gettie A, Dailey PJ, Veazey RS, Lackner AA, et al. Progesterone implants enhance SIV vaginal transmission and early virus load. *Nat Med* 1996;2:1084-9
16. Brunelli R, Frasca D, Perrone G, Pioli C, Fattorossi A, Zichella L, et al. Hormone replacement therapy affects various immune cell subsets and natural cytotoxicity. *Gynecol Obstet Invest* 1996;41:128-31
17. Raz R. Hormone replacement therapy or prophylaxis in post-menopausal women with recurrent urinary tract infection. *J Infect Dis* 2001;183(Suppl 1):S74-6
18. Iosif CS, Bekassy Z. Prevalence of genito-urinary symptoms in the last menopause. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984;63:257-60
19. Kjaergaard B, Walter S, Knudsen A, Johansen B, Barlebo H. Treatment with low-dose vaginal estradiol in post-menopausal women. A double blind controlled trial. *Ugeskr Laeger* 1990;152:658-9
20. Cardozo L, Benness C, Abbott D. Low dose oestrogen prophylaxis for recurrent urinary tract infections in elderly women. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:403-7
21. Schaeffer AJ, Jones JM, Dunn JK. Association of vitro *Escherichia coli* adherence to vaginal and buccal epithelial cells with susceptibility of women to recurrent urinary-tract infections. *N Engl J Med* 1981;304:1062-6
22. Linzmeier R, Ho CH, Hoang BV, Ganz T. A 450kb contig of defensin genes on human chromosome 8p23. *Gene* 1999;33:205-11
23. Kaiser V, Diamond G. Expression of mammalian defensin genes. *J Leukoc Biol* 2000;68:779-84
24. Lehrer RI, Lichtenstein AK, Ganz T. Defensins: antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Annu Rev Immunol* 1993;11:105-28
25. Jones DF, Bevins CL. Defensin-6 mRNA in human Paneth cells: implications for antimicrobial peptides in host defense of human bowel. *FEBS Lett* 1993;315:187-92
26. Garcia JR, Krause A, Schulz S, Rodriguez-Jimenez FJ, Kluver E, Adermann K, et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J* 2001;15:1819-21
27. Singh PK, Jia HP, Wiles K, Hesselberth J, Liu L, Consay BA, et al. Production of  $\beta$ -defensins by human airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14961-6
28. Becker MN, Diamond G, Verghese MW, Randell SH. CD14-dependent lipopolysaccharide-induced beta-defensin-2 expression in human tracheobronchial epithelium. *J Biol Chem* 2000;275:29731-6