

研究サブ・グループ5

マスト細胞活性化機構の解析を中心としたアレルギー疾患に及ぼす コプラナーPCBsの影響

池田輝雄（獣医学部）

舟場正幸（獣医学部）

目 的

免疫担当細胞としても最近注目されているマスト細胞（アレルギー疾患の成立に中心的な役割を担っている細胞）に対するコプラナーPCBsの影響を初代培養細胞あるいは細胞株を用いて、脱顆粒、サイトカイン産生能、ヒスタミンなどのメディエーター放出を中心とした細胞特異的機能発現、AhRへのリガンド結合を中心とした生化学的変化および最近報告されているNF- κ B経路拮抗によるTLRとAhR/ARNTの相互作用および関連が疑われているMAPKシグナリング経路などを分子生物学的に検討し、新知見を得ることを目的に実験を計画した。

材料と方法

マスト細胞の細胞株であるRBL-2H3, P815, IC-2, MC-9, およびマスト細胞初代培養であるBMCMCsなどを用いてCo-PCBs添加によるマスト細胞の機能に及ぼす影響を検討する。

はじめに、マスト細胞がCo-PCBsのターゲット細胞になりうるかを調べるため、AhRおよびAhR関連分子のmRNA発現を検討した。さらにCo-PCBsの添加量および作用時間によるマスト細胞の主要biological markerである脱顆粒、TNF- α 放出を検討した。

結果と考察

Co-PCBのターゲットとしてレセプターではAhR, シグナリングのtransfectantとしてARNTをRT-PCRにより検討したところ、マスト細胞初代培養細胞およびマスト細胞株において、発現あるいは非発現細胞を確認した。同様に、代表的な発現ベクターのレシピエント細胞、レポーターアッセイのレシピエント細胞についても、両遺伝子の発現を検討した結果、発現あるいは非発現細胞を確認した。以上の結果はマスト細胞がCo-PCBsのターゲット細胞と成り得る事およびCo-PCBsの機能解析に応用可能であることを示唆している。また、各濃度のCo-PCBsで前処理されたマスト細胞では、脱顆粒およびTNF- α の産生を阻害せず、Co-PCBsによるそれらの機能発現の誘導も認められなかった。

要 約

マスト細胞におけるAhRシグナリング関連分子のmRNAの発現とCo-PCBsの影響を検討した。マスト細胞株のうちRBL-2H3とIC-2, 初代培養マスト細胞（BMCMCs）がAhRとARNTのmRNAを発現していた。またレポーターアッセイのレシピエントとしてよく知られているRaw294およびCHO-K1はいずれのmRNAも発現していなかった。陽性対照として使用したTCDDおよびCo-PCBsのいずれの濃度でもマスト細胞の脱顆粒およびTNF- α の放出に影響しなかった。

これらの結果は、マスト細胞がCo-PCBsのターゲット細胞ではあるが、脱顆粒およびTNF- α の放出が介在した免疫反応には直接影響しないことを示唆している。

*Research Group 5**“The effects of Co-PCBs in allergic disorder: Analyses of mast cell functions in response to Co-PCBs.”*

Teruo Ikeda, Masayuki Funaba (School of Veterinary Medicine)

Abstract: In this study, we examined the gene expression of molecules involved in AhR signaling and the effects of Co-PCBs in mast cell. The mRNA expression of AhR and ARNT was detected in RBL-2H3, IC-2 and Bone marrow derived cultured mast cell (BMCMCs). Raw 294 and CHO-K1 known as recipient cell in reporter assay, were not expressed both mRNAs. Any concentrations of Co-PCBs and TCDD as control did not affected degranulation and TNF- α release in both of RBL-2H3 and BMCMCs. These results suggest that mast cells are the targets of Co-PCBs, but Co-PCBs does not involved directly immune-response through both degranulation and TNA- α release in mast cells.