

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)

研究目的

昨年度の本研究において、マスト細胞が Co-PCB 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報告した。しかしながら、多くの報告では、Co-PCB が免疫系に影響を及ぼすことが実証されている。マスト細胞は自然免疫を担う TLR を発現し、その細胞内伝達系により種々のメディエーターを放出することにより免疫系を調節している。その活性経路は多く分けて最終的には2つの経路すなわち AP-1 および NF- κ B の活性化に依存し、種々のメディエーターの調整を行っている。もう一つはダイオシン、コプラナー PCB がリガンドとなるシグナル伝達系で代表的な cyp1A の誘導を示している。最終的には AhR-リガンド-ARNT 複合体が XRE に付き、転写活性が促進され、CYP1A が誘導される経路である。この全く異なる系の cross-interaction を検討した。もしこの結果のトランスクリプションレベルでのクロストークがあるならば、AhR リガンドで処理した細胞では TLR のシグナル伝達が影響を受ける可能性がある。

材料と方法

マスト細胞は、Balb/c マウス (6-8 週令) の骨髓由来培養マスト細胞 (Bone Marrow Mast Cell, BMMC) を使用した。BMMC を PCB126 (10nM) で 24-48 時間処理した後、LPS (1 μ g/ml) で 24 時間刺激し、RNeasy (Qiagen) を用いて Total RNA を分離した後、Expand High Fidelity PCR System (Roche) を用いて cDNA を作製した。TNF α , NF- κ B, AhR, CYP1A の mRNA の発現を real-time PCR により定量した。

結果と考察

LPS で刺激された BMMC における TNF α および NF- κ B mRNA の発現は、PCB126 前処理により発現抑制が見られたが、同 BMMC の AhR および CYP1A1 mRNA の発現は LPS による発現抑制は認められなかった (図1)。これらの結果は、少なくとも CYP1A1 による TNF α の転写抑制が起こっていることを示唆している。このことは両者の核内転写活性部位が非常に近いことからクロストークの可能性を示唆している。今後はそのメカニズムを解析するとともに、ここには示していないが、各種サイトカインの変動が PCB の影響で見られることからそれらのメカニズムについても検討する予定である。さらに DNA マイクロアレイによる網羅的な PCB による遺伝子の変動を今年度検討するし、そのうちのいくつかの遺伝子について詳細な検討を加える予定である。

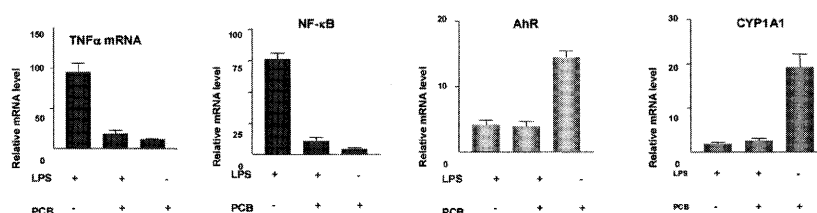


Fig.1. TNF α , NF κ B, AhR, CYP1A1 mRNA expression after stimulating BMMCs in response to LPS and co-PCB.

要 約

PCBの免疫系に及ぼす影響のメカニズムには異なるシグナル伝達系の間でのクロストークがその一つの要因である可能性が強く示唆された。

Research Group 5

“The effects of Co-PCB in allergic disorder: Analyses of mast cell functions in response to Co-PCB.”

Teruo Ikeda, Masayuki Funaba (School of Veterinary Medicine)

Abstract: In our previous report, we showed that Co-PCB does not involve directly immune-response through both degranulation and TNF- α release in mast cells. However the influences of immune system due to Co-PCBs are well-known. Therefore we examined the effect of co-PCB in innate immunity which is thought important rule as immune response in mast cell.

BMMC pre-treated with co-PCB did not expressed TNF α mRNA, although BMMCs stimulated with LPS or co-PCB were expressed TNF α and CYP1A1 mRNA, respectively.

Our result suggests that one of functions as immune-suppression by co-PCB is cross-talking between the differential signaling.