

## 研究サブ・グループ4 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

自然免疫を中心に適応免疫への関与も知られつつあるマスト細胞に対するコプラナーPCBの影響が、一部のサイトカインに見られることおよびその発現経路が他の発現経路とクロストークすることをこれまで報告してきた。先の研究結果より転写因子にコプラナーPCBへ影響を及ぼすことから、多岐にわたる遺伝子群への影響が推察される。そこで本実験ではマスト細胞へのコプラナーPCBの遺伝子レベルでの影響を網羅的に解析することを目的にDNAマイクロアレイを検討した。

### 方 法

#### マスト細胞の培養

マスト細胞は骨髓由来培養マスト細胞 bone marrow derived cultured mast cells (BMCMCS) を使用した。

#### コプラナーPCB (PCB126) 処理マスト細胞およびRNA抽出

$2 \times 10^6$  cells/ml の BMCMCS は 10 nM の PCB126 で 24 時間処理された。Total RNA は 10  $\mu$ g 以上、OD260/280:1.8 ~ 2.1 のものを使用した。

#### DNA マイクロアレイ解析

マイクロアレイは最大 34,000 個の遺伝子をスクリーニングできる Agilent のマウスオリゴマイクロアレイを使用し、ハイブリダイゼーション後、解析ソフトにより網羅的な解析を実施した。

### 結果と考察

#### PCB126 処理により発現が増幅されたマスト細胞遺伝子群

無処置マスト細胞と比較して発現が2倍以上上昇した遺伝子群は、Mus musculus lysozyme (Lyzs) (NM\_017372), Mus musculus complement component 1, q subcomponent, alpha polypeptide (C1qa) (NM\_007572), Mus musculus cathepsin S (Ctss) (NM\_021281), Mus musculus keratocan (Kera) (NM\_008438), Mus musculus RAB27A, member RAS oncogene family (Rab27a) (NM\_023635), Mus musculus crp-ductin (Crpd) (NM\_007769) の6遺伝子のみであった(表1)。いずれの遺伝子も抗原処理などの中心となるlysozyme関連遺伝子あるいは炎症関連遺伝子であり、直接マスト細胞固有の化学媒介物質あるいは種々のサイトカインに関連する遺伝子の誘導は認められなかった。上記の結果からPCB126の直接的なマスト細胞への作用としてはPCBの分解等に関連する遺伝子発現が誘導されることにより何らかの形でPCB126の分解に携わっている可能性が示唆される。しかしながら、免疫関連遺伝子群への誘導はコプラナーPCB単独での誘導では認められなかった。以前の結果からもコプラナーPCBの免疫関連遺伝子への影響は直接的な作用ではなく、クロストークなどを含めた間接的な影響によりもたらされることが示唆された。

Table1. UP-regulated expression genes in bone marrow derived cultured mast cells pretreated with PCB126.

GeneName	Description	Fold Change
NM_017372	Mus musculus lysozyme (Lyzs), mRNA	3.30E + 00
NM_007572	Mus musculus complement component 1, q subcomponent, alpha polypeptide (C1qa), mRNA	2.36E + 00
NM_021281	Mus musculus cathepsin S (Ctss), mRNA	2.08E + 00
NM_008438	Mus musculus keratocan (Kera), mRNA	2.04E + 00
NM_023635	Mus musculus RAB27A, member RAS oncogene family (Rab27a), mRNA	2.03E + 00
NM_007769	Mus musculus crp-ductin (Crpd), mRNA	2.01E + 00

Table2. Down-regulated expression genes in bone marrow derived cultured mast cells pretreated with PCB126.

GeneName	Description	Fold Change
NM_010268	Mus musculus ganglioside-induced differentiation-associated-protein 10 (Gdap10), mRNA	1.67E + 00
AK086587	similar to SIMILAR TO FUSION, DERIVED FROM T(12,16) MALIGNANT LIPOSARCOMA [Mus musculus]	1.57E + 00
BC004722	Mus musculus, clone IMAGE:3582796, mRNA	1.56E + 00
AK038845	hypothetical protein	1.56E + 00
AK035704	LIMKAIN B1 (FRAGMENT) homolog [Homo sapiens]	1.53E + 00

#### PCB126 処理により発現が増幅されたマスト細胞遺伝子群

無処置マスト細胞と比較して発現が2倍以上減少した遺伝子群はなく、1.5倍から2倍までの間の遺伝子は、Mus musculus ganglioside-induced differentiation-associated-protein 10 (Gdap10) (NM\_010268), SIMILAR TO FUSION, DERIVED FROM T (12,16) MALIGNANT LIPOSARCOMA (AK086587), Mus musculus, clone IMAGE:3582796 (BC004722), hypothetical protein (AK038845), LIMKAIN B1 (FRAGMENT) homolog [Homo sapiens] (AK035704) の5遺伝子のみであった(表2)。これらの遺伝子のいずれも直接免疫反応に関連する遺伝子はないことから、コプラナーPCBによる直接的な免疫反応への負の誘導はないことが示唆された。

#### 文 献

- 1) Funaba M, Ikeda T, Ogawa K, Murakami M, Abe M. J Leukoc Biol. 2003 Jun; 73(6): 793-801.
- 2) Ikeda T, Funaba M. 2003. Immunol Lett. Jul 3; 88(1): 21-6.
- 3) Funaba M, Ikeda T, Murakami M, Ogawa K, Tsuchida K, Sugino H, Abe M. J Biol Chem. 2003 Oct 2
- 4) Murakami M, Ikeda T., Ogawa K. and Funaba M. 2003 Biochem. Biophys. Res. Commun. 311, 4-10.
- 5) Malaviya, R., Ikeda, T., Abraham, SN., Malaviya, R. 2003. Immunol Lett. 15; 91(2-3): 103-111.
- 6) Ikeda T, Murakami M, Funaba M. 2004. Clin Diagn Lab Immunol. Nov;11(6): 1189-91.

#### 要 約

DNA マイクロアレイを用いて、コプラナーPCBによって影響を受けるマスト細胞の遺伝子群の網羅的な解析を行った。コプラナーPCBの一つであるPCB126によって発現が上昇した遺伝子は6遺伝子あり、主な遺伝子はライソザイム関連遺伝子であり、免疫関連遺伝子は認められなかった。一方、PCB126によって発現が減少した遺伝子はほとんどなく、免疫関連遺伝子は認められなかった。以上の結果より、コプラナーPCBによるマスト細胞の免疫関連遺伝子への直接的な影響は認められず、以前の結果から示唆されるようにPCBの免疫系への影響はクロストークなどを含めた間接的な作用による可能性が示唆された。

*Research Group 4*

*“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:** Using DNA micro array, mast cell gene profiles which is caused by the influenced of coplanar PCB was exhaustively examined. Up-regulated mRNAs in mast cell treated with PCB126, one of coplanar PCB congeners, were six genes. Almost all were lysozyme-associating genes, but not immune-associating. On the other hand, down-regulated genes in the treated mast cell were a few and immune associating gene was none. Our findings suggest that the influence of coplanar PCB in the immune-associating genes of mast cell is indirectly effect, such as cross-talking et al.