

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2002.06) 20巻2号:200~201.

シラカンバ花粉症における抗原提示細胞の検討

柳内充, 佐藤啓介, 安部裕介, 今田正信, 林達哉, 野中聡,
原渕保明

85. シラカンバ花粉症における抗原提示細胞の検討

○柳内 充¹⁾, 佐藤啓介²⁾, 安部裕介¹⁾, 今田正信¹⁾, 林 達哉¹⁾, 野中 聡¹⁾, 原測保明¹⁾

1) 旭川医科大学耳鼻咽喉科 2) 旭川医科大学第2病理

Chemokine Production Analysis From Dendritic Cells in Birch Pollinosis

Yanai M¹⁾, Sato K²⁾, Abe Y¹⁾, Imada M¹⁾, Hayashi T¹⁾, Nonaka S¹⁾, Harabuchi Y¹⁾

1) Dept. of Otolaryngology, Asahikawa Medical College

2) Dept. of Pathology, Asahikawa Medical College

(はじめに)

北海道、北米、ヨーロッパにおいてはシラカンバ花粉症はアレルギー性鼻炎の原因として最も重要なものの一つであるが、抗原提示細胞についてはあまり報告がなかった。我々は抗原提示細胞としての樹状細胞に注目して検討を行った。樹状細胞に花粉抗原抽出液を添加して得られた mRNA で cDNA アレイを行ったところ、種々の遺伝子の発現に差を認めた(図1)。とりわけ、Macrophage Derived Chemokine (MDC) は患者群と健常者群で比較して約30倍の発現の差を認めた。MDC は、CC ケモカインの一種であり、最初マクロファージから産生されるケモカインとして報告された¹⁾。その後、Vulcano ら²⁾により、主に樹状細胞から産生されることが報告されている。MDC は Th2 細胞表面に発現するケモカインレセプター、CCR4 と結合することから、Th2 細胞の関与が疑われている疾患、中でも I 型アレルギー性疾患との関連が考えられており、アトピー性皮膚炎の患部に発現していること³⁾、Th2 細胞を選択的に遊走させること⁴⁾、喘息モデルマウスに対し、MDC 中和抗体を投与すると気道過敏性を改善させること⁵⁾が報告されている。そこで今回我々は樹状細胞の MDC

産生について検討を加えたので報告する。

(対象)

シラカンバ花粉症患者4名と健常成人4名の末梢血を用いた。シラカンバ花粉症の診断は、花粉飛散時期と一致して鼻汁、鼻閉、くしゃみなどの症状があり、鼻汁スメア陽性でかつ RAST でも陽性のものとした。今回の実験で対象となった4名の RAST スコアは3-6であった。健常成人は問診上アトピー素因が無く、症状のない4名とした。

(方法)

1. シラカンバ花粉可溶性抗原液(花粉液)の作製

北海道林産試験場より供与された、北海道内に自生するシラカンバから花粉を採取し、1gをPBS 100mlに混和した。4℃で4時間静置した後に上清を回収し、花粉液とした。花粉液はBCAアッセイによって、蛋白量を測定しそのあとの実験に用いた。

2. 樹状細胞の培養

末梢血から比重遠心法にて末梢血単核球を分離した後MACS抗CD14磁気ビーズ(Miltenyi Biotec社製)を用いてCD14陽性細胞を分離した。分離した細胞をRPMI-10%FBSにGM-CSF、IL-4(Peprotech社製)をそれぞれ50ng/ml添加した培地で1週間培養し樹状細胞とした。

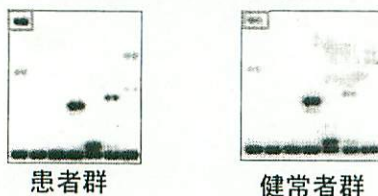
3. 抗原による刺激

培養した樹状細胞を 1×10^6 /mlとなるようにシプレートにまき、ポジティブコントロールとしてLPSを20ng/ml、ネガティブコントロールとしてPBSを10ul、花粉液を20μg/mlとなるようにそれぞれに添加し樹状細胞を刺激した。その後、6時間、12時間、24時間、48時間ごとに形態を観察、上清を回収した。

4. MDC量の測定

回収した上清は、Duoset MDC ELISA Kit

花粉抗原刺激樹状細胞による cDNAアレイの結果



MDC (macrophage derived chemokine)のmRNAが患者群と健常者群で約30倍の発現差を認めた

図1

(R&D systems 社製) をもちいて ELISA 法にて MDC 量を測定した。PBS 添加による未刺激の MDC 量をバックグラウンドとして産生量を補正し比較検討した。

(結果)

1. 樹状細胞の形態学的変化

24時間後の樹状細胞の形態学的変化を図2に示した。患者由来樹状細胞では、PBS 添加のものに比べて LPS 刺激のものでは凝集がおこっていた。花粉液で刺激したものでは、LPS よりも更に大きい凝集がおこっていた。それに対し健常者のものでは、PBS 添加時と比べると凝集はおこっていたが、LPS 添加のものとは花粉液添加の違いがあまり認められなかった。

2. MDC 量の測定

結果を図3に示した。患者群では、LPS、花粉液添加いずれも24時間後まで時間依存的に MDC の産生は増大していた。その後48時間後ではあまり変化は認められなかった。健常者群では12時間後までは患者群とほぼ同様の結果が得られたが、

その後は産生量は横ばいであった。それぞれの時間につき患者群の MDC 産生量と健常者群の MDC 産生量を比較すると、24時間後では LPS 刺激、花粉液刺激ともに患者群で有意に産生が上昇していた。以上の結果から、アレルギー患者由来の樹状細胞では、花粉可溶液添加後 MDC の mRNA の発現上昇により MDC の産生が増加し、アレルギー性炎症を引き起こす可能性が示唆された。

(考察)

今回の検討で樹状細胞は花粉抗原刺激により MDC を産生し、それにより Th2 リンパ球の遊走を活性化させアレルギー炎症を引き起こす可能性が示された。しかしながら MDC の産生だけでアレルギー性炎症を説明できるわけではなく、今後、他のケモカインやサイトカイン分泌などからシラカンバ花粉症における樹状細胞の役割を詳細に検討したいと考えている。

(参考文献)

- 1) Godiska, R., et al.: Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *J Exp Med*, 1997. 185(9): p.1595-604.
- 2) Vulcano, M., et al.: Dendritic cells as a major source of macrophage-derived chemokine/CCL22 in vitro and in vivo. *Eur J Immunol*, 2001. 31(3): p.812-22.
- 3) Vestergaard, C., et al.: Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions. *J Clin Invest*, 1999. 104(8): p.1097-105.
- 4) Imai, T., et al.: Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine. *Int Immunol*, 1999. 11(1): p.81-8.
- 5) Gonzalo, J.A., et al.: Mouse monocyte-derived chemokine is involved in airway hyper-reactivity and lung inflammation. *J Immunol*, 1999. 163(1): p.403-11.

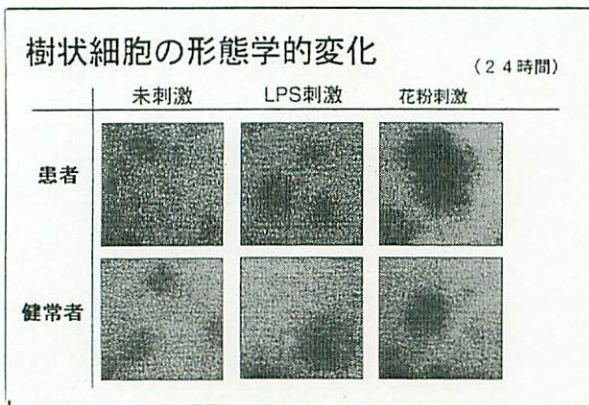


図 2

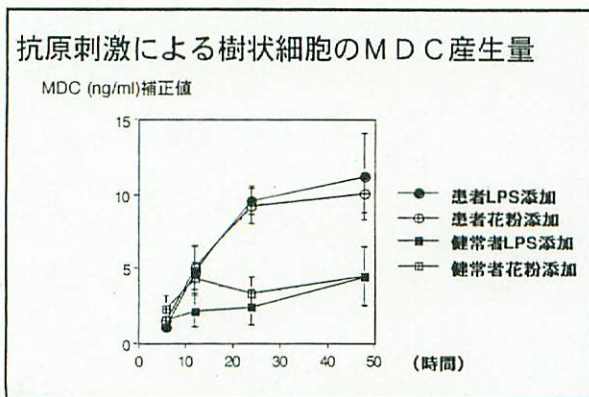


図 3