

抗原特異的なリンパ節細胞の増殖反応を調べると、BALB/c マウスの CLN 細胞は DE 暴露群、あるいは Gas 暴露群由来のもので有意な増加がみられた (図 2 a, *P<0.05; **P<0.01)。C57BL/6J マウスでは Gas 暴露群由来のもののみで増加がみられた (図 2 b, *P<0.05)。In vitro での SBP 刺激による CLN 細胞からのサイトカイン産生においては、IL-4 と IFN- γ においては産生がみられなかった。48 時間後の IL-5 産生では、C57BL/6J マウスの -SBP の Gas 暴露群で有意な増加がみられた (図 3, P<0.05)。BALB/c マウスでは、+SBP の Gas 暴露群で増加が認められた (P<0.05)。DE 暴露群ではいずれも有意な IL-5 産生の増加はみられなかった。

ケモカイン産生に関して、BALB/c マウスの CLN における MCP-1 産生は 24 時間後では SBP 刺激した DE 暴露群、Gas 暴露群で有意な増加が認められた (図 4 a, **P<0.01)。48 時間後では、-SBP の DE 暴露群、Gas 暴露群と +SBP の DE 暴露群で有意な増加がみられた (図 4 b, *P<0.05; **P<0.01)。一方、C57BL/6J マウスの CLN における 48 時間後の MCP-1 産生は SBP 抗原刺激の有無にかかわらず DE 暴露群、Gas 暴露群で対照群と比べ差はなかった (図 5)。MIP-1 α 産生では、BALB/c マウスの場合、24 時間後では +SBP の Gas 暴露群で有意な増加がみられ (図 6 a, *P<0.05)、48 時間後では -SBP の DE 暴露群と Gas 暴露群とで有意に増加した (図 6 b, **P<0.01)。48 時間後の +SBP の Gas 暴露群でも増加傾向はみられた。C57BL/6J マウスの MIP-1 α 産生では、48 時間後の Gas 暴露群で -SBP と +SBP でともに有意な増加が認められた (図 7, *P<0.05)。

D. 考察

一昨年、昨年とスギ花粉そのものを点鼻する実験系で低濃度 DE 暴露、あるいは NO₂ 暴露のマウスの上気道での免疫系への影響を検索した。しかしながら、抗原特異的反応の誘導が弱いために汚染物質暴露による影響はほとんど観察できなかった可能性が考えられた。また、新たな評価手法の検討の必要性も示唆された。そこで、本年度は、抗原としてスギ花粉そのものより外来蛋白としてより生体で認識が可能な花粉抽出液を用いた。また、サイトカインとともに炎症性細胞の誘導や細胞間での情報伝達にも関与しているケモカインの産生について検討した。さらに、DE 暴露の影響に関して感受性要因についても検討するために、IgE 反応性の高い BALB/c マウスと低い C57BL/6J マウスを用いて比較した。

1 mg/m³ の DE 暴露により肺胞洗浄液中への炎症性細胞の顕著な浸潤が認められ、Gas 暴露群と比較すると DE 暴露群の方が増加が著しかった。BALB/c マウスと C57BL/6J マウスでの DE 暴露、Gas 暴露に対する反応性の比較では、Gas 暴露に対する反応性に違いがみられた。BALB/c マウスのほうではマクロファージ以外にも好中球、リンパ球が増加したが、C57BL/6J ではマクロファージのみであった。肺胞洗浄液中のサイトカイン・ケモカイン産生では、両マウス間で暴露に対する反応の差はみられなかった。

次に、抗原が生体内に侵入するときに重要な防御を担っている局所の免疫反応への影響を調べるためにリンパ節でのリンパ球集団の動きや機能について検討した。その結果、SBP 抗原に対する増殖反応では、BALB/c マウスでは DE 暴露と Gas 暴露で増加がみられたが、C57BL/6J マウスでは Gas 暴露でのみ増加がみられ系統間差が認められた。In vitro でのサイトカイン産生では、好酸球の誘引や活性化に関与する IL-5 産生が Gas 暴露で有意に増加する結果が得られた。一方、ケモカイン産生においては、BALB/c マウスで MCP-1 産生は DE 暴露の方が Gas 暴露に比べより増加する傾向がみられた。C57BL/6J マウスでは MCP-1 産生に差はみられなかった。MIP-1 α 産生では、両系統のマウスで DE 暴露に比べより Gas 暴露で増加する傾向がみられた。これまでに、ディーゼル排気粒子や排気ガス暴露したマウスでサイトカインレベルでは、IgE 産生の亢進に関与する Th2 タイプの IL-4 や IL-5 産生が増加し、反対に IgE 産生に抑制的に働く Th1 タイプの IFN- γ 産生は抑制されるか変化がみられないことが報告されている。最近になって、炎症性細胞の誘導に関与するケモカインにおいても、MCP-1 は Th2 タイプの反応を増強させ、MIP-1 α は Th1 タイプの反応の増強に関与することが報告されている。今回のリンパ節細胞でのケモカイン産生の結果は、DE 暴露では MCP-1 産生が促進され、Gas 暴露では MIP-1 α 産生が促進される傾向を示唆するものであり、DE 暴露による花粉抗原に対するアレルギー性炎症反応への影響を評価する上で、また、DE 暴露に含まれる粒子状物質とガス状物質の役割を明らかにする上でも重要な知見と思われる。

E. 結論

低濃度 DE 暴露とスギ花粉抗原である SBP の点鼻投与により肺への炎症性細胞の浸潤、及び局所のリンパ節での細胞増殖の促進、ケモカイン産生の亢進がみられた。また、粒子を除いた Gas 暴露でも同様な傾向がみられたが、ケモカインの種類やマウスの系統の違いにより増強作用の程度は異なっていた。

F. 研究発表

1) 論文発表

- 1-1 藤巻秀和：アレルギーと環境。ファルマシア 2000；36：207-210.
- 1-2 藤巻秀和：大気汚染物質の免疫系への影響。アレルギー・免疫 2000；7：70-76.
- 1-3 藤巻秀和：ディーゼル排気微粒子と Th1/Th2 バランス。臨床免疫 2000；34：747-751.
- 1-4 藤巻秀和：スギ花粉による感作と環境因子。アレルギー科 2001；11：103-108.
- 1-5 Fujimaki H, Ui N, Ushio H, Nohara K, Endo T: Roles of CD4⁺ and CD8⁺ T-cells in adjuvant activity of diesel exhaust particles in mice. Int Arch Allergy Immunol 2001(in press)
- 1-6 Fujimaki H, Ushio H, Nohara K, Ui N: Induction of the imbalance of helper T-