

免疫担当細胞の機能における estrogen の影響

坂崎文俊、堀井美弥子、山元秀一、上野 仁、中室克彦
(摂南大学薬学部 環境衛生学研究室)

【目的】性ホルモンは胸腺や骨髄におけるリンパ球の分化・成熟や、脾臓・胸腺重量、各種サイトカイン分泌、抗体産生能など多くの免疫機能の恒常性維持に関わっており、免疫系に重要な働きを有することが知られている。骨髄 B 細胞には ER α および ER β が、胸腺上皮細胞には ER α が存在すると報告されている。そこで内分泌攪乱化学物質の免疫修飾作用について脾臓リンパ球での作用を明らかにするため、マウス脾臓リンパ球における ER α の存在を RT-PCR 法により検討し、さらに concanavalin A および lipopolysaccharide などのマイトジェン刺激によるマリンパ球幼若化反応に対する estrogen および内分泌攪乱化学物質の影響を検討した。

【方法】BALB/c マウスの脾臓リンパ球より RNA を抽出して cDNA を作成し、ER α 遺伝子についてステップダウン PCR を行った。条件は変性 94°C 30sec、アニール 30sec、伸長 72°C 30sec とし、4 サイクルごとにアニール温度を 64°C から 52°C まで 4°C ずつ降下させ、さらにアニール温度 48°C で 15 サイクル行った。続いて PCR 産物を 2% アガロースゲルで電気泳動し、ethidium bromide 染色により検出した。

T 細胞と B 細胞の幼若化反応には 6 週齢、雄性の BALB/c と C3H/He マウスをそれぞれ用いた。脾臓からフラッシング法により細胞を RPMI-1640 培地中に分散させ、96 穴マイクロプレートに 1×10^5 cells/0.2ml/well となるように調製した。Mitogen として T 細胞には concanavalin A (2 μ g/ml) を、B 細胞には lipopolysaccharide (100 μ g/ml) を加え、内分泌攪乱化学物質は最終濃度 0.1nM $\sim$ 10 μ M の 5 段階で曝露した。4 日間培養後、Ethidium bromide 蛍光法で求めた総 DNA 量を指標として細胞増殖率を算出した。

【結果】マウス脾臓リンパ球において ER α の存在することが明らかとなり、Estrogen および内分泌攪乱化学物質が ER α を介してリンパ球の機能に影響する可能性が考えられた。

B 細胞の幼若化に対する 17 β -estradiol の EC₅₀ は 10⁻⁸M、T 細胞の幼若化に対する EC₅₀ は 10⁻⁶M であった。Diethylstilbestrol、*p*-nonylphenol、bisphenol A、di-2-ethylhexyl phthalate の EC₅₀ は 10⁻⁶~10⁻⁵M であった。以上の結果から、内分泌攪乱化学物質が ER α を介してリンパ球の免疫応答を抑制する可能性が示唆された。

Effects of estrogen on immune cell function

Humitoshi Sakazaki, Miyako Horii, Shuichi Yamamoto, Hitoshi Ueno, Katsuhiko Nakamuro

Division of Environmental Health, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Japan

To elucidate relevance of estrogens to immune responses, we investigated whether estrogen receptor α (ER α) exists in mouse splenic B cells and T cells and the effect of 17 β -estradiol and endocrine disrupting chemicals (EDCs) on lymphocyte mitogenesis. ER α was identified in both male and female mouse splenic cells using RT-PCR. Crude splenic cells were stained with anti-ER antibody, and the distribution of ER α in the splenic B cells and part of the splenic T cells was confirmed by flow cytometry. 17 β -Estradiol inhibited B cell mitogenesis at the concentration of 10⁻⁸ M and T cell mitogenesis at the concentration of 10⁻⁶ M. Some EDCs, diethylstilbestrol, bisphenol A, *p*-nonylphenol and di-2-ethylhexylphthalate, suppressed lymphocyte mitogenesis at the concentration of 10⁻⁶ – 10⁻⁵ M. We therefore suggest that estrogen may suppress lymphocyte mitogenesis through ER α in B and T cells.