

好中球

好中球遊走能に対するマクロライドの影響

榎本冬樹 金 隆澤 片岡丈士 山崎陽子 杉田 玄 藤森正登 池田勝久

はじめに

我々は、エリスロマイシン (EM) 投与によりラット末梢血好中球の接着分子, LセレクトインとMac-1の発現が影響を受けることを報告した。この影響は好中球の炎症局所へ浸潤を抑制する方向に作用していた。この接着分子の変化はマクロライド長期投与中のヒト慢性副鼻腔炎患者の末梢血好中球にも認められた。また, マクロライドが好中球機能である遊走能に対しても影響を与えていることを報告した。今回われわれはラット好中球の遊走能に対してケモカインGRO (growth-related gene product), 保体 (C5a) がどのように影響しているか検討した。

対象と方法

モデル対象はSD系のオスラット (200g) をもちいた。EMは10mg/kgを1日1回腹腔内に投与した。投与期間は14日間・21日間・28日間とした。対象として生理食塩水を7日間腹腔投与した群についても検討を行った。採血はベントバルビタールの腹腔投与による麻酔後に、ヘパリン添加注射器にて心臓から採血した。得られた末梢血より好中球を分離回収した。得られた好中球は純度98%以上でトリパンブルー染色によるviabilityは95%以上であった。

得られた好中球の遊走能をボイデンチャンバー法にて検討した。ボイデンチャンバー法による好中球遊走能は、上室に好中球浮遊液、正常ラット血清を、フィルターはセルロースフィルターを用い、下室に血清、サイモザン活性化補体C5a, GROを各種濃度で添加したものをを用いた。37℃, 30分間培養した後、フィルターを取り出し、400倍の光学顕微鏡にて遊走した細胞数をカウントした。

結果

1. 遊走能にたいするGRO, C5aの影響: ラット好中球遊走能はGRO, C5aともに濃度依存的に上昇することがわかった。(Fig. 1) 図には示さないが, GROによる遊走能の上昇は, 抗GROポリクローナル抗体により抑制されることがわかった。
2. 遊走能に対するEM投与の影響: EMをあらかじめ2~4週間投与したラット好中球遊走能はEM非投与群で認められていたGROによる遊走能上昇が抑制されていた。これに対してGROによる遊走能上昇は, EMをあらかじめ2週間投与したラット群でも, EM非投与群でも同様に認められた。(Fig. 2, 3)

考察

我々は以前, ラット実験中耳炎において, 14員環マクロライド剤が中耳に滲出する好中球を有意に抑制していることを報告した¹⁾。また, 好中球の接着分子であるMac-1のIL-8による発現増強がEM投与により抑制されていることを報告している²⁾。EMは好中球の機能に影響を与え, 炎症局所に浸潤するのを抑制していることが示唆しているものと考えた。そこで今回われわれは, 好中球機能の一つで, 炎症局所への浸潤にかかわる遊走能についてEMがどのような影響を与えるか, 遊走能刺激物質であるケモカインGRO (growth-related gene product), 保体 (C5a) がどのように関与しているかについて検討を行った。その結果, ラット好中球遊走能はGRO, C5aにより濃度依存的に上昇することが示された。この遊走能の上昇はGROと抗GRO抗体を用いた実験で抑制されていることからGROが好中球の遊走能を上昇させていることが確認された。

Fig. 1. Chemotactic activity of GRO added to the lower chamber.

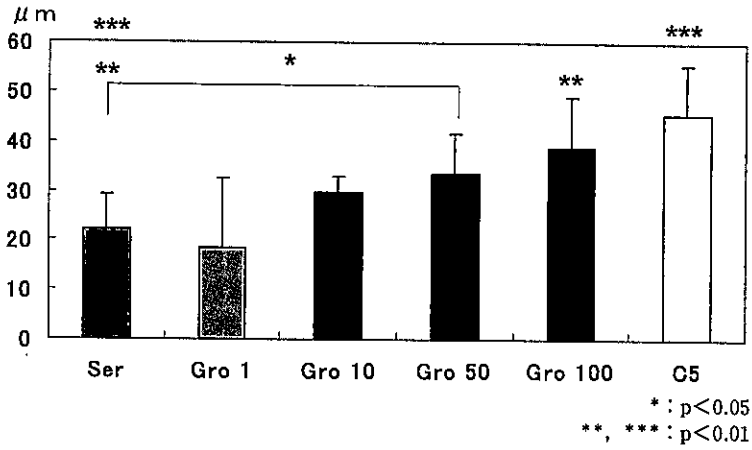


Fig. 2. Suppression chemotactic activity of C5 on EM treated group.

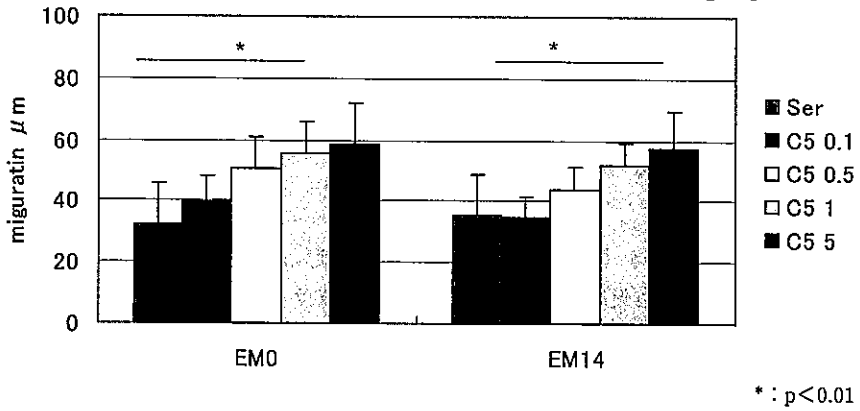
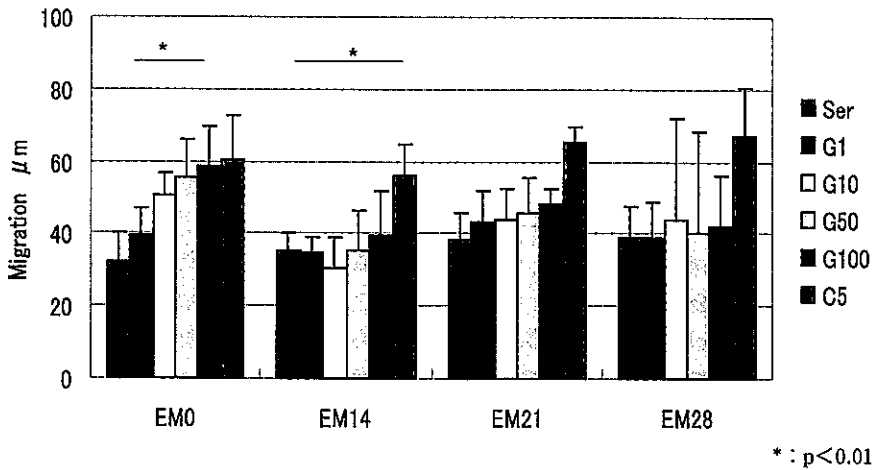


Fig. 3. Suppression chemotactic activity of C5 on EM treated group.



これに対し、GROによる遊走能上昇はEMをあらかじめ2～4週間投与したラット好中球遊走能はEM非投与群で認められていたにもかかわらず上昇しなかった。あたかもGROの刺激がキャンセルされた状態であるかのようであった。一方、補体成分C5aによる遊走能上昇はEM投与、非投与に関係なく濃度依存的に上昇し、C5aによる刺激は有効であった。これらのことは好中球が刺激物質に対する反応性がEMにより影響を受けた可能性を示している。好中球のGROレセプターはCXC chemokine receptorであり、C5aはロドプシンスーパーファミリーレセプターに属していてそれぞれ別個に存在している。しかし、これらのレセプターはC5aによりあらかじめ前処理した好中球のGROに対する反応が減弱する事が報告されている³⁾。これらのことは好中球が生体内において各種刺激に対して微妙に調節を受け、生体防御にかかわ

ていることが予想される。EMは好中球のGRO, C5aに対する作用に影響を与えることにより、炎症効果を有する可能性があると思われた。

文 献

- 1) ENOMOTO F., ICHIKAWA G., NAGAOKA I. & YAMASHITA T. : Evaluation of arachidonic acid metabolites in experimental rat otitis media with effusion. *Nippon Jibiinkouka Gakai Zasshi (in Japanese)* 98:959~967, 1998
- 2) ENOMOTO F., ICHIKAWA G., NAGAOKA I. & YAMASHITA T. : Effect of Erythromycin on Otitis Media with Effusion in Experimental Rat Model. *Acta Otolaryngol. Sup.* 539 : 57~60, 1998
- 3) RICHARDSON R. M., HARIBABU B., ALI H. & SNYDERMAN R. : Cross-desensitization among receptors for platelet activating factor and peptide chemoattractants. Evidence for independent regulatory pathways. *J. Biol. Chem.* 271 : 28717~28724, 1995