

サイトカインノックアウトマウスにおける免疫反応と ストレス応答を指標とする皮膚機能の解析

吉田 武美

昭和大学薬学部毒物学教室

アレルギー性接触皮膚炎は、皮膚に存在するランゲルハンス細胞(LC)が抗原を局所リンパ節に提示することが発症メカニズムの第一段階であると言われているが、このランゲルハンス細胞の遊走及び成熟にIL-1やTNFが大きく関与していることが、それぞれのサイトカインに対する抗体を用いた研究などで報告されている。しかしながら、その詳細については不明な点もあり、サイトカイン遺伝子欠損動物モデルを用いた研究によりその役割に関する情報が得られると予想される。そこで本研究ではIL-1ノックアウトマウス(IL-1KOマウス)およびTNFノックアウトマウス(TNF KO)を用いてアレルギー性接触皮膚炎や感作の成立過程におけるサイトカインの役割を検討した。

また、UVによる細胞障害や数々の毒性反応はよく知られているが、UVAに関する報告は比較的少なく、UVAは活性酸素を産生することから活性酸素により発現するストレス応答タンパク質に影響を及ぼすのではないかと考え、皮膚におけるストレス応答タンパク質、特にメタロチオネイン(MT)やオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の遺伝子発現にどのように影響しているかについてCD-1マウスを用いて検討した。

【結果および考察】

1) IL-1KOマウスを用いたアレルギー性接触皮膚炎の研究

- ・ ear swelling testの結果、IL-1KOマウスの耳厚差はWildマウスの約80%と僅かに減少した
- ・ LC遊走の検討の結果、IL-1KOマウスがもともと持っているLC数はWildマウスより多い傾向にあった。TNCB処置によりLCはWild,IL-1KO共に溶媒処置に比較して約20%減少した。これらのことはIL-1が存在しなくともLCは発現し、ハプテンの刺激にも反応して遊走することを示している。
- ・ LNC増殖反応を0.05%~3%TNCBで検討した結果、0.1%TNCBの場合はIL-1KOマウスでのLNC増殖反応はWildより弱くなるが、高濃度TNCBでは同等の増殖反応が起きていることが明らかになった。

IL-1が不在でもLCの遊走や感作は正常動物と同程度に生じ、IL-1を介さないLC遊走や感作成立の系が存在することが示唆された。

2) その他のサイトカインKOマウスを用いた研究

- ・ TNF KOマウスを用いて1)と同様の検討の結果、LCに異常が発生している。更に正常動物よりは弱いながらもアレルギー性接触皮膚炎の成立が確認された。

3) UVAによるストレス応答タンパク質の遺伝子発現への影響

・UVAはMTmRNAを照射直後にすでに著しく増加させ、照射4時間後には、対照の約6倍のMTmRNAが認められた。その後徐々に減少し、24時間後にはコントロールレベルに回復した。UVAはマウス表皮におけるODC遺伝子発現に影響しなかった。

・ α -トコフェロール、DABCOをUVA照射30分前に処置した結果、 α -トコフェロールはUVAによるMTmRNA誘導を20%、DABCOは40%阻害した。UVAによるMTmRNA誘導は部分的にUVA照射により生じた活性酸素、特に一重項酸素が関与していることが示唆された。活性酸素以外の要因としてはIL-6が考えられる。

・UVA照射は皮膚発ガンプロモーターTPAによるODCmRNA誘導をさらに増加する傾向が認められたのみであった。しかし、ODC活性誘導はUVA照射により顕著に増強され、TPA単独処置の約1.7倍の活性を示した。又、TPAによるMTmRNA誘導はUVA照射により著し増幅し、TPA単独処置の約2倍になった。さらに、 α -トコフェロールをTPA塗布直前に処置したところ、UVA照射によるmRNA増幅作用には殆ど影響を与えなかったが、UVA照射により増幅したODC活性をTPA単独処置による誘導レベルに回復した。

・ターメリックの主要黄色素成分であるクルクミンの前処置はTPAによるODC及びMTmRNA誘導をほぼ完全に阻害しただけでなく、UVA照射によるこれらの増強作用も阻害した。