

# ラット末梢血好中球 L-セレクチンの測定

榎本冬樹 金隆鐸 片岡丈史  
藤森正登 市川銀一郎

順天堂大学医学部耳鼻咽喉科

## Evaluation of L-selectin in Rat Experimental Otitis Media with Macrolide Treatment:

Fuyuki ENOMOTO. MD<sup>1</sup>, Ryutaku KIM, MD<sup>1</sup>, Takeshi KATAOKA MD<sup>1</sup>,  
Masato FUZIMORI. MD and Ginichirou ICHIKAWA, MD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Otorhinolaryngology

Junntendo University School of Medicine.

2-1-1 Hongou Bunkyou-ku, Tokyo 113-8421, Japan

Our previous experiment using rat otitis media models demonstrated the down-regulation of L-selectins following the administration of macrolide consisting of a 14-membered ring. We reported the possibility that the effects of macrolide on the adhesion molecules might result in the inhibition of the infiltration of neutrophils into the middle ear. In the present study, in order to follow up the transition of the expression of L-selectins as adhesion molecules, we attempted to measure the changes in L-selectin expression over time. Although a week of treatment with erythromycin induced no changes in L-selectin expression, two weeks achieved down-regulation. Neutrophils exuding into the middle ear had L-selectins that were down regulated more significantly than those observed in the peripheral blood. Consequently, L-selectins appear to be affected by erythromycin treatment over time.

### はじめに

われわれはラット実験中耳炎において L-セレクチンは 14 員環系マクロライド剤投与によってダウンレギュレーションされることを報告した。マクロライド剤はこれらの接着分子へ影響することにより好中球の中耳腔への浸潤が抑制されている可能性があることを報告した<sup>1)</sup>。そこで今回我々は接着分子 L-セレクチンの発現の変化を検討するために L-セレクチン発現の経時変化の測定を試みた<sup>2)</sup>。

### 対象と方法

対象として雄の SD ラット（体重約 200g）を用いた。ラットにエリスロマイシンを 10mg/kg 一週間・二週間投与した群とエリスロマイシンを投与しなかった群にてラット好中球の L-セレクチンを測定し比較した。また、ラット鼓室内に LPS を注入し実験中耳炎を作成し、滲出した滲出液と滲出細胞を回収した。ラット好中球の L-セレクチンは心腔採血後、FITC ラベルの抗 L-セレクチン抗体を反応させ、赤血

球を溶血後に FACS スキャンにて解析した。中耳滲出液中の L-セレクトリンは滲出細胞を回収し同様に L-セレクトリンを検討した<sup>1)</sup>。また、好中球を各濃度 (50ng/ml, 5ng/ml) の PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) にて刺激し、L-セレクトリンの発現の変化も検討した。

結 果

末梢血中のラット好中球 L-セレクトリンは未刺激の状態での発現が PMA 刺激により従来いわれていたように速やかにダウンレギュレーションされていた。末梢血中のラット好中球 L-セレクトリンはエリスロマイシン 1 週間投与では変化を認めなかったが、2 週間投与では有意に発現が抑制 (ダウンレギュレーション) された。エリスロマイシン 2 週間投与の末梢血中のラット好中球 L-セレクトリンも PMA 刺激によりダウンレギュレーションされていた。(Fig. 1)

中耳滲出液中の L-セレクトリンは末梢血 L-セレクトリンに比較して有意にダウンレギュレーションしていることが分かった。(Fig. 2)

考 察

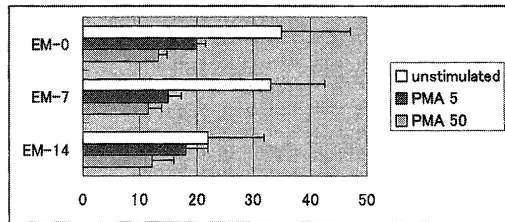


Fig. 1 Time course of L-selectin expression on rat peripheral blood neutrophil

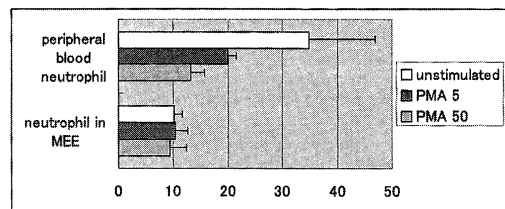


Fig. 2 L-selectin expression of rat neutrophil in MEE

ラット末梢血好中球の L-セレクトリンはエリスロマイシンの 2 週間投与により発現がダウンレギュレーションされていることが今回の実験でも示された。エリスロマイシン 2 週間投与によっても PMA 刺激によりダウンレギュレーションされていることから L-セレクトリンの反応は保たれているものと考えた。さらに L-セレクトリンの時間的経過を検討するためにエリスロマイシンの 1 週間投与での発現を検討した。しかし、エリスロマイシンの 1 週間投与では L-セレクトリンの発現は変化が認められなかった。これらセレクトリンの時間的变化はセレクトリンがエリスロマイシン投与により発現に影響を受け好中球の表面から脱落し、さらにエリスロマイシンを投与することにより 2 週間の時点では発現がダウンレギュレーションされたと思われた。また、中耳滲出液中の L-セレクトリンは末梢血よりウンレギュレーションされたことから中耳に滲出した好中球は強い刺激を受けたために L-セレクトリン発現がダウンレギュレーションしたものと考えられた。従って、中耳内に滲出した好中球は強くアクチベートされているためその機能はより一層強調され、局所の炎症をより増強しているものと推測された。今後は L-セレクトリンの細胞内からの動員、細胞内シグナルの変化のさらなる検討が必要と思われた。

参 考 文 献

1. Enomoto F, Ichikawa G. Et al.: Effect of Erythromycin on Otitis Media with Effusion in Experimental Rat Model. Acta Otolaryngol (Stockh) Supple 539:57-60. 1998.
2. Tamatani T., Kitamura T. Et al.: Characterization of rat LECAM-1 (L-selectin) by the use of monoclonal antibodies and evidence for the presence of soluble LECAM-1 in rat sera. Eur. J. Immunol. 23: 2128-2188. 1993.

連絡先：榎本冬樹  
〒113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1  
順天堂大学耳鼻咽喉科  
TEL 03-3816-3111