

マクロライド投与によるラットの 中耳腔滲出液中の好中球遊走能の検討

榎本冬樹¹⁾ 金隆澤²⁾ 片岡丈志²⁾ 山崎陽子¹⁾
横井秀格¹⁾ 藤森正登²⁾ 池田勝久¹⁾

1 順天堂大学医学部耳鼻咽喉科学教室

2 順天堂大学医学部附属伊豆長岡病院耳鼻咽喉科

The Effects of Macrolide Treatment on the Chemotaxis of Neutrophils in the Exudate of the Otitis Media in Rats

Fuyuki ENOMOTO¹⁾, Ryutaku KIN²⁾, Takeshi KATAOKA²⁾, Yoko SAKAI¹⁾
Hidenori YOKOI¹⁾, Masato FUJIMORI¹⁾, Katsuhisa IKEDA¹⁾

1 Department of Otorhinolaryngology, School of Medicine, Juntendo University

2 Department of Otorhinolaryngology, Juntendo University Izunagaoka Hospital

We investigated the effects of macrolide on the chemotaxis of neutrophils that exude in the otitis media in rats with experimentally induced otitis media. The rats were treated with erythromycin (EM) for 2 weeks beforehand. In the EM-treated rats, an elevation in the chemotaxis of neutrophils in peripheral blood, which is induced by the growth-related gene product (GRO), was significantly inhibited. In untreated rats, neutrophils in the exudate of the otitis media had elevated chemotaxis. Such elevation of the chemotaxis of neutrophils in the exudate of the otitis media was not inhibited by the 2 weeks of EM treatment. Macrolide treatment for 2 weeks inhibited the GRO-induced elevation of the chemotaxis of neutrophils in the peripheral blood, but did not inhibit the elevation of the chemotaxis of neutrophils in the exudate of the otitis media. The above results suggest that macrolides may inhibit the chemotaxis of neutrophils in the peripheral blood.

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),

補体 (C5a) がどのように影響しているか検討した。また、実験的中耳炎を作成し、中耳滲出液中の好中球の遊走能がエリスロマイシンによる影響を検討した。

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。採血はペ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。実験中耳炎の作成は従来の報告のごとくLPS 50 $\mu\text{g/ml}$ をラットの鼓室に注入して作成した。中耳炎作成24時間後に中耳内の滲出液、滲出細胞を回収した。

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用いた。37°C, 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. 遊走能に対する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, 2) 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

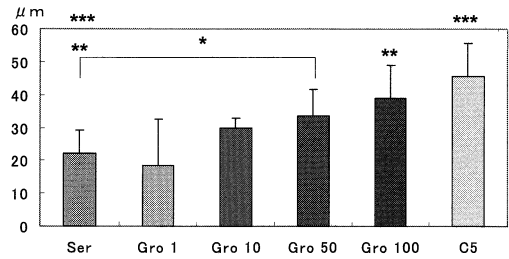


Fig. 1 Chemotactic activity of GRO added to the lower chamber

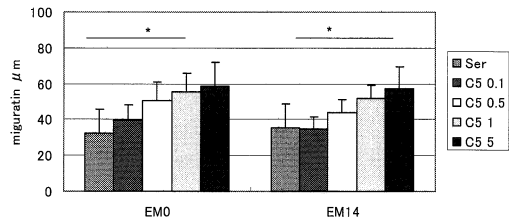


Fig. 2 Suppression Chemotactic activity of C5 on EM treated Group

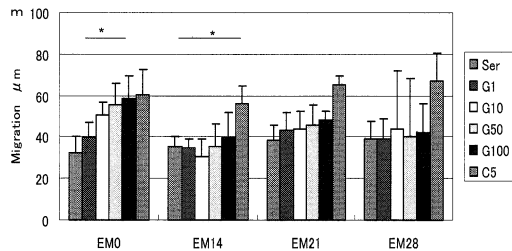


Fig. 3 Suppression Chemotactic activity of GRO on EM treated Group

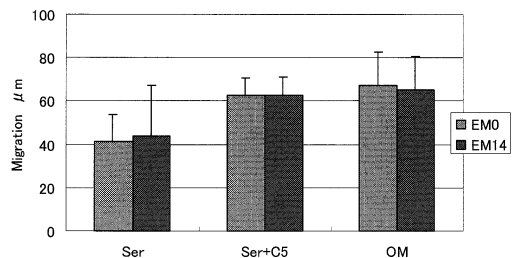


Fig. 4 Chemotactic activity of OME neutrophil

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。(Fig. 3)

3. 中耳内に滲出した好中球の遊走能: 中耳に

滲出した好中球の遊走能は抹消血好中球と比較して上昇していた。中耳腔に滲出した好中球の遊走能はエリスロマイシンの2週間投与によっても抑制効果は認められなかった。(Fig. 4)

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), 補体 (C5a) がどのように関与しているかについて検討を行った³⁾。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。

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。また、刺激を受け、中耳に滲出した好中球の遊走能は上昇していたが、エリスロマイシン投与によっても影響は受けなかった。このことは滲出性中耳炎に対するエリスロマイシンの抗炎症効果は中耳に滲出した好中球に対する作用ではなく、中耳腔への好中球浸潤に作用する可能性があるかと推測された。

参 考 文 献

- 1) 榎本冬樹, 市川銀一郎, 長岡 功, 山下辰久: 実験的滲出性中耳炎に対するエリスロマイシンの作用機序の検討. 日耳鼻 99: 1126-1135, 1996
- 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 RM, 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: 28717-24. 1995.

質 疑 応 答

質問 長峯正泰 (旭川医大)

副鼻腔, 気管, 肺などにおける実験モデルはあるのか? あればどのような検討がなされたのか?

応答 榎本冬樹 (順天堂大)

ラット, マウスで LPS を吸入させ, 肺胞内

の IL-8 などを測定するモデルがあります。

質問 館田一博 (東邦大)

GRO と補体における反応性の違いは何ですか? レセプターは?

応答 榎本冬樹 (順天堂大)

GRO, C5 の反応性の差はレセプターの反応

性, 細胞内シグナルの関与が考えられます.

連絡先: 榎本 冬樹

〒113-8421

東京都文京区本郷 2-1-1

順天堂大学医学部耳鼻咽喉科学教室

TEL 03-3813-3111 FAX 03-5840-7103

E-mail fenomoto@med.juntendo.ac.jp