

研究区分	教員特別研究推進（地域振興）
------	----------------

研 究 テーマ	培養マクロファージにおける環境中微粒子局在と細胞活性化の相関可視化				
研究組織	代 表 者	所属・職名	看護学部・助教	氏名	赤路 佐希子
	研究協力者	所属・職名	京都先端科学大学・教授	氏名	高野 裕久
		所属・職名	京都大学・助教	氏名	本田 晶子
		所属・職名	静岡県立大学・教授	氏名	井上 健一郎
		所属・職名	看護学部・助教	氏名	三崎 健太郎
	発 表 者	所属・職名	看護学部・助教	氏名	赤路 佐希子

講演題目
免疫応答極初期におけるマクロファージ細胞内での環境中微粒子局在可視化に向けた検討
研究の目的、成果及び今後の展望
【目的】 大気中に浮遊する微粒子（大気中微粒子）のうち、特に2.5ミクロン以下の微粒子（PM2.5）や化石燃料燃焼由来粒子（DEP）等が気管支喘息等のアレルギー悪化を引き起こすことが知られている。これまでの動物実験により、上記の粒子がマウスの喘息モデルを悪化させるメカニズムとして、肺におけるサイトカイン・ケモカインの発現上昇、免疫グロブリンの上昇および酸化ストレス増強等が関わっていることが明らかにされてきた。さらに、粒子を取り込んだ貪食細胞が炎症性を示す液性因子に陽性を示していたことから、極初期における過剰免疫応答が、これらの病態悪化の引き金となっている可能性が考えられる。 また、細胞を用いた実験において、抗原と粒子の共曝露系において抗原提示細胞の活性増強が粒子に含まれる成分により異なることが示されてきている。しかし、抗原や粒子に曝露された極初期の段階において、貪食細胞に取り込まれた粒子やその成分がどのような挙動を示し、抗原との相互作用により細胞を活性化させるかを詳細に観察・評価した知見はない。 そこで本研究では、免疫応答の極初期に発生するマクロファージ細胞の貪食作用が、どのようにその先のアレルギーネットワークの亢進に寄与するのかを明らかにするために、「マクロファージに貪食された粒子の細胞内動態を可視化すること」を目的とした。 【成果および今後の展望】 まず株化マクロファージ（RAW264.7）細胞を入手し、研究室内において正常に増殖しており培養細胞の維持に問題がないことを確認し、曝露実験に使用するために必要となる細胞数を確保した。マクロファージ細胞内における粒子の局在可視化には、生体試料中の微粒子を成分同定しながら可視化できる顕微ラマン分光法を用いて取得する。これまでに検討してきた、顕微ラマン分光法を用いたマウス肺組織切片における曝露粒子の可視化に関する手法、および各種粒子曝露による炎症発現と粒子局在との相関については、学会で報告を行ったほか論文執筆を進めている。マクロファージ細胞に対し、顕微マラン分光装置にて計測を可能とする培養形態および方法については現在検討を進めている。 今後は、培養したマクロファージ細胞に対し、抗原とともに大気中微粒子の中で僅アレルギー作用を持つことが明らかとなっている DEP 粒子を曝露し、炎症性を示す液性因子に対する免疫染色を行い、まず細胞における炎症反応の有無を確認する。続いて同一標本に対し顕微ラマン分光装置を用いたマッピング測定を実施し、貪食された微粒子の大きさや局在変化および成分等の違いを経時的に観察する予定である。