

Title	マスト細胞由来タンパク質分解酵素の発現、活性化に及ぼすピレスロイド系化合物の影響
Sub Title	Influence of pyrethroid pesticide allethrin on the protease activity in rat RBL-2H3 cells.
Author	横田, 恵理子(Yokota, Eriko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>ピレスロイド系化合物の中でも室内用殺虫剤として汎用されているアレスリンの長時間曝露の影響について、マスト細胞モデル細胞(RBL-2H3)を用いて検討した。培養液中に0~250μMのアレスリンを添加し、長時間(18~24時間)培養したところ、100μM以上で細胞障害性が観察された。短時間(30分)処理では、250μMでも細胞障害性は認められなかったため、哺乳動物細胞に対する安全性は長時間曝露によって低下する事が示唆された。アレスリン短時間処理では、抗原抗体反応やカルシウムイオノフォア(A13287)による脱顆粒や細胞内カルシウム濃度増加は抑制された。一方、長時間処理では抗原抗体反応による脱顆粒は抑制されず、A23187による脱顆粒は有意に抑制された。A23187刺激後30秒でのカルシウム濃度増加は有意に抑制されていたが、その後の流入量に差は見られなかった。脱顆粒、細胞内カルシウム濃度共に、アレスリン単独処理の影響はなかった。</p> <p>マスト細胞特異的酵素として、トリプターゼとキマーゼに着目し、抗体感作やアレスリン長時間処理の影響を検討した。いずれの酵素活性も合成基質を用い、酵素反応によって遊離するアミノメチルクマリンの蛍光を測定する事で評価した。トリプターゼ活性は、3種類の基質を用いて検討したが、抗体感作、またアレスリン単独長時間処理による活性変化は見られなかった。抗体感作後、0.1~0.5μMアレスリンで長時間処理した場合、濃度依存性に活性増加する傾向が見られた。キマーゼ活性は、抗体感作によって約2倍増加し、また0.1~1μMアレスリンで長時間処理した場合、単独あるいは感作後のいずれの場合も有意な活性増加(約3倍)が認められた。キマーゼは、障害血管のリモデリングやアンギオテンシンIIの産生に関与するため、アレスリン長時間曝露はこれらの現象に影響することが示唆された。</p> <p>The effect of prolonged exposure of allethrin, which is widely used as indoor insecticide, was examined using mast cell model cells (RBL-2H3). When 0 to 250 μM allethrin was added to the culture medium and cultured for the long-term treatment (18 h), cytotoxicity was observed at 100 μM or more. Since cytotoxicity was not observed even at 250μM in the short-term (30 min) treatment, it was suggested that safety against mammalian cells is decreased by prolonged exposure. In the short-term treatment, degranulation and increase in intracellular calcium concentration([Ca²⁺]_i), caused by antigen-antibody reaction or calcium ionophore (A13287), were suppressed. In the long-term treatment, degranulation by antigen-antibody reaction was not inhibited, but degranulation by A23187 was significantly suppressed. Increase in [Ca²⁺]_i at 30 sec after A23187 stimulation was significantly suppressed, but there was no difference in Ca²⁺ influx rate after that. Both degranulation and [Ca²⁺]_i had no effect of treatment with allethrin alone. Focusing on tryptase and chymase, which are mast cell specific enzyme, I examined the effect of antibody sensitization and/or long-term treatment with allethrin. Either activity was evaluated by measuring the fluorescence of aminomethyl coumarin cleaved by enzymatic reaction using a synthetic substrate. Tryptase activity was examined using three kinds of substrates, but there was no change in activity due to antibody sensitization or treatment with allethrin alone for a long time. After antibody sensitization, when treated with 0.1 to 0.5 μM allethrin for a long time, there was a tendency that activity increased in a concentration-dependent manner. Chymase activity increased about 2-fold by antibody sensitization, and when treated for long periods with 0.1 to 1 μM allethrin, a significant increase in activity (about 3-fold) was observed either allethrin alone or after sensitization. Because chymase is involved in remodeling of damaged vessels and production of angiotensin II and so on, it was suggested that long-term exposure of allethrin affects these phenomena.</p>
Notes	
Genre	Research Paper

URL

https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170137

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	500（特B）千円
	氏名	横田 恵理子	氏名（英語）	Eriko Aizu-Yokota		
研究課題（日本語）						
マスト細胞由来タンパク質分解酵素の発現、活性化に及ぼすピレスロイド系化合物の影響						
研究課題（英訳）						
Influence of pyrethroid pesticide allethrin on the protease activity in rat RBL-2H3 cells.						
1. 研究成果実績の概要						
<p>ピレスロイド系化合物の中でも室内用殺虫剤として汎用されているアレスリンの長時間曝露の影響について、マスト細胞モデル細胞（RBL-2H3）を用いて検討した。培養液中に0~250 μMのアレスリンを添加し、長時間（18~24時間）培養したところ、100 μM以上で細胞障害性が観察された。短時間（30分）処理では、250 μMでも細胞障害性は認められなかったため、哺乳動物細胞に対する安全性は長時間曝露によって低下する事が示唆された。</p> <p>アレスリン短時間処理では、抗原抗体反応やカルシウムイオノフォア（A13287）による脱顆粒や細胞内カルシウム濃度増加は抑制された。一方、長時間処理では抗原抗体反応による脱顆粒は抑制されず、A23187による脱顆粒は有意に抑制された。A23187刺激後30秒でのカルシウム濃度増加は有意に抑制されていたが、その後の流入量に差は見られなかった。脱顆粒、細胞内カルシウム濃度共に、アレスリン単独処理の影響はなかった。</p> <p>マスト細胞特異的酵素として、トリプターゼとキマーゼに着目し、抗体感作やアレスリン長時間処理の影響を検討した。いずれの酵素活性も合成基質を用い、酵素反応によって遊離するアミノメチルクマリンの蛍光を測定する事で評価した。トリプターゼ活性は、3種類の基質を用いて検討したが、抗体感作、またアレスリン単独長時間処理による活性変化は見られなかった。抗体感作後、0.1~0.5 μMアレスリンで長時間処理した場合、濃度依存性に活性増加する傾向が見られた。キマーゼ活性は、抗体感作によって約2倍増加し、また0.1~1 μMアレスリンで長時間処理した場合、単独あるいは感作後のいずれの場合も有意な活性増加（約3倍）が認められた。キマーゼは、障害血管のリモデリングやアンジオテンシンIIの産生に関与するため、アレスリン長時間曝露はこれらの現象に影響することが示唆された。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>The effect of prolonged exposure of allethrin, which is widely used as indoor insecticide, was examined using mast cell model cells (RBL-2H3). When 0 to 250 μM allethrin was added to the culture medium and cultured for the long-term treatment (18 h), cytotoxicity was observed at 100 μM or more. Since cytotoxicity was not observed even at 250 μM in the short-term (30 min) treatment, it was suggested that safety against mammalian cells is decreased by prolonged exposure. In the short-term treatment, degranulation and increase in intracellular calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$), caused by antigen-antibody reaction or calcium ionophore (A13287), were suppressed. In the long-term treatment, degranulation by antigen-antibody reaction was not inhibited, but degranulation by A23187 was significantly suppressed. Increase in $[Ca^{2+}]_i$ at 30 sec after A23187 stimulation was significantly suppressed, but there was no difference in Ca^{2+} influx rate after that. Both degranulation and $[Ca^{2+}]_i$ had no effect of treatment with allethrin alone. Focusing on tryptase and chymase, which are mast cell specific enzyme, I examined the effect of antibody sensitization and/or long-term treatment with allethrin. Either activity was evaluated by measuring the fluorescence of aminomethyl coumarin cleaved by enzymatic reaction using a synthetic substrate. Tryptase activity was examined using three kinds of substrates, but there was no change in activity due to antibody sensitization or treatment with allethrin alone for a long time. After antibody sensitization, when treated with 0.1 to 0.5 μM allethrin for a long time, there was a tendency that activity increased in a concentration-dependent manner. Chymase activity increased about 2-fold by antibody sensitization, and when treated for long periods with 0.1 to 1 μM allethrin, a significant increase in activity (about 3-fold) was observed either allethrin alone or after sensitization. Because chymase is involved in remodeling of damaged vessels and production of angiotensin II and so on, it was suggested that long-term exposure of allethrin affects these phenomena.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			