

ニッケルアレルギー発症に関わるニッケル結合性樹状細胞の同定 研究者の声【21】  
東北大学大学院の黒石 智誠 先生

プロトコール紹介

【1】皮膚所属リンパ節からの DC 画分の精製

In vivo で DC を増加させるため、C57BL6/N マウスに  $2 \times 10^6$  cells の B16-Flt3L 細胞 (DC 増殖因子である Flt3L の遺伝子を導入した B16 メラノーマ細胞。Flt3L を恒常的に産生する。) を皮下接種した。2 週間後、皮膚所属リンパ節を摘出し、コラゲナーゼ処理によりリンパ節細胞を調整した。

EasySep Mouse Pan-DC Enrichment Kit を用いて DC を精製し、フローサイトメトリーにより解析した。DAPI<sup>-</sup> TCR $\beta$ <sup>-</sup> B220<sup>-</sup> MHC class II<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> を DC と定義した (図 1)。

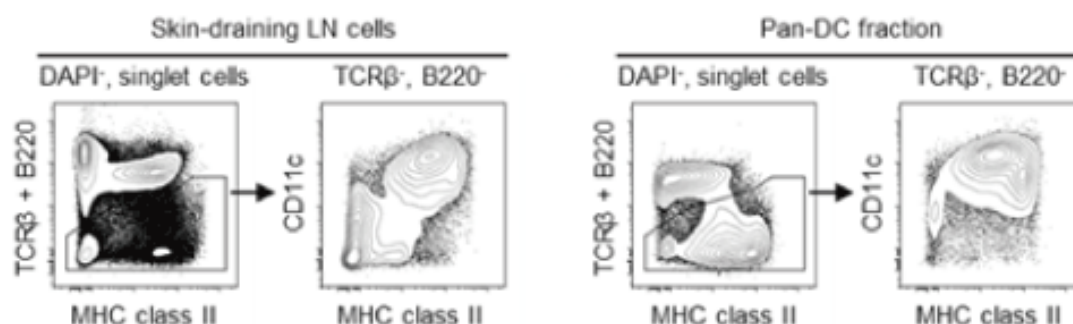


図 1. 皮膚所属リンパ節 (Skin-draining LN cells) および EasySep Mouse Pan-DC Enrichment Kit による精製 DC 画分 (Pan-DC fraction) のフローサイトメトリー解析

【2】Ni-DC による Ni アレルギー性炎症の誘導

Ni アレルギーマウスモデルは Sato らの方法に従い作製した (Sato et al. Clin Exp Allergy 2007; 37: 743-751.).  $250 \mu\text{L}$  の Ni 溶液 ( $0.5 \text{ mM NiCl}_2$  および  $0.5 \mu\text{g/mL LPS}$  を生理食塩水に溶解) を腹腔内投与し、Ni に対する特異免疫を誘導 (感作) した。感作 2 週間後、 $\text{NiCl}_2$  溶液  $20 \mu\text{L}$  を耳介に皮内接種し、誘導された耳介の腫脹を Ni アレルギー性炎症の指標とした。

皮膚所属リンパ節および腸間膜リンパ節から精製した DC 画分を、in vitro で  $100 \mu\text{M NiCl}_2$  もしくは PBS と反応させ、Ni-DC および PBS-DC とした。 $2 \times 10^5 \text{ cells}/20 \mu\text{L}$  の Ni-DC もしくは PBS-DC を Ni 感作マウスの耳介に皮内接種し、48 時間後の耳介の腫脹を測定した。陰性コントロールとして生理食塩水 (saline) を、陽性コントロールとして  $1 \text{ mM NiCl}_2$  を耳介に皮内接種した。その結果、Ni 結合能の強い、皮膚所属リンパ節から調製した Ni-

DCにより、有意な耳介の腫脹が誘導された。

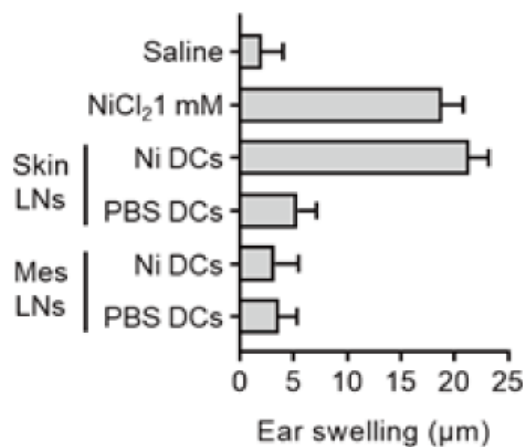


図2. in vitro で Ni と反応させた皮膚所属リンパ節 (Skin LNs) および腸間膜リンパ節 (Mes LNs) 由来 DC 画分を Ni 感作マウスの耳介に皮内接種した。Ni アレルギー性炎症の指標として耳介の腫脹 (Ear swelling) を測定した。Ni 結合能の強い皮膚所属リンパ節由来 DC で有意な耳介の腫脹が誘導された。

#### 参考文献

Kuroishi et al., 2020. Migratory dendritic cells in skin-draining lymph nodes have nickel-binding capabilities. Scientific Reports 10:5050

株式会社ベリタス 〒105-0013 東京都港区浜松町1-10-14 住友東新橋ビル3号館5F

TEL 03-5776-0078 FAX 03-5776-0076

技術的なお問い合わせは：TEL 03-5776-0040 E-mail [techservice@veritastk.co.jp](mailto:techservice@veritastk.co.jp)