

は、浸潤リンパ球と表皮ケラチノサイトである。腫瘍細胞を含むリンパ球はソラレンの光毒性作用で傷害され、またケラチノサイトはサイトカインの産生が低下する³⁾。こうした腫瘍細胞自身に対する作用のみならず皮膚微小環境が修飾されることにより、浸潤リンパ球は効果的に低下する。

PUVA療法は免疫学的修飾作用ももつ。T細胞においてTh1サイトカイン、とくにIFN- γ 誘導作用があり、逆にTh2サイトカインの産生は抑制される⁴⁾。CTCLではTh2に変調したサイトカイン環境の異常があり、これが細胞傷害性T細胞(CTL)の抑制、ひいては腫瘍免疫の抑制になっている。こうした点からもPUVA療法の治療効果は発揮されると考えられる。

PUVA療法が局所皮膚病変の改善という意味のみをもつのか、あるいはリンパ節浸潤、内臓浸潤を遅らせる効果も持ち合わせるのかは明らかではない。次項の体外循環PUVA療法[extracorporeal photochemotherapy(ECP), フォトフェレーシス photopheresis]においてみられるように、PUVA療法が腫瘍性T細胞に対する腫瘍免疫を惹起するのであれば、その治療効果は皮膚病変にとどまるものではないであろう。

2. 体外循環PUVA療法(ECP, フォトフェレーシス)

1) 概略

SS, MFを主とするCTCLに対して、米国エール大学のEdelsonら⁵⁾が開発した治療法である。1978年の試行そして1987年の最初の論文以来、米国、欧州、南アメリカなどで150以上の施設がこの治療を行っている。しかし、わが国では保険認可がなされていない。その後、全身性強皮症や天疱瘡などの自己免疫疾患、graft-versus-host disease(GVHD)、移植拒絶反応などの治療にも広く用いられている。ソラレン内服後、血液を取り出し、白血球分画にUVAを体外で照射し、また体内に戻す方法である(図1)。ソラレン(8-MOP)とUVAで処理されたT細胞はその抗原性が増強されるために、再び体内に移入することにより当該T細胞への免疫が高まり治療効果をもたらす、一種のワクチン療法である。

2) 効果機序

SSに対するECPを代表例として機序を述べたい。白血球分画のなかで奏効機序にかかわる細胞は腫瘍性T細胞と単球である(図2)。PUVA処理された腫瘍細胞はまずアポトーシスに陥る。併行して

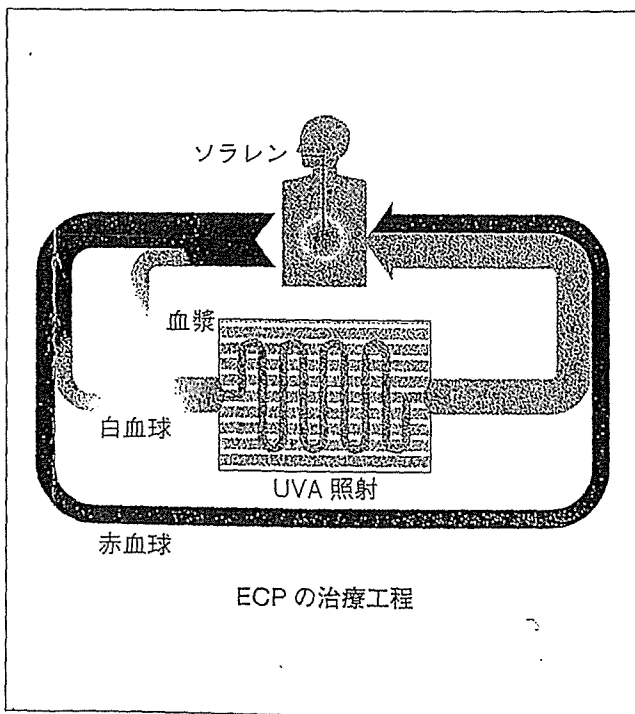


図1 ECPの実際(原図Edelson RL)

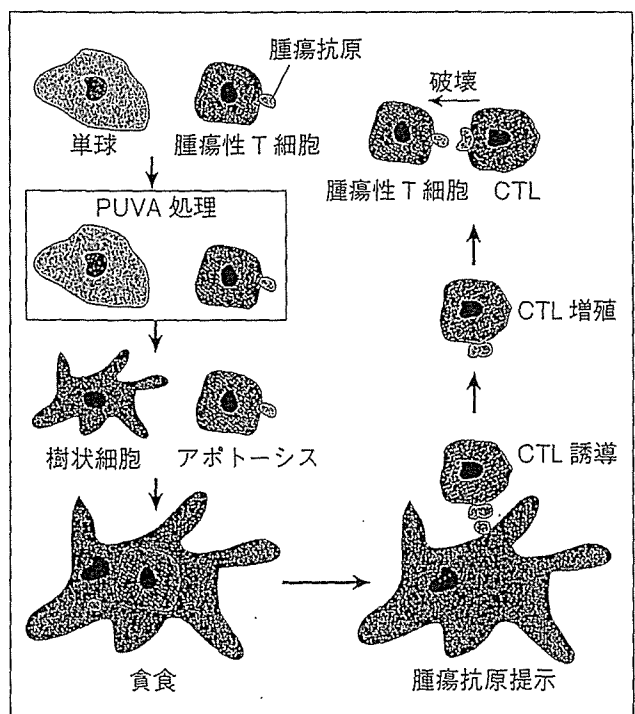


図2 ECPの効果機序

近傍に存在する単球は樹状細胞に変化していく。生じた樹状細胞は腫瘍細胞を貪食し、その抗原ペプチドを提示する。こうして腫瘍抗原を担った樹状細胞は患者に返され、体内で CD8 陽性 CTL が有効に誘導される。CTL は腫瘍細胞を傷害する⁶⁾。

PUVA 処理された腫瘍性の T 細胞が抗原性を増強する機構はさまざまな方向から検討されている。CTL が特異的に腫瘍 T 細胞を認識することから、抗原性は T 細胞受容体 (TCR) にあると考えられる。ECP は新たな腫瘍細胞の新生も抑制する可能性が高いことから、ソラレン自身は抗原性にかかわっていないと推察され、TCR の構造変化をもたらした抗原性を高めると考えられる⁷⁾。

TCR の断片ペプチドが MHC クラス I 分子に提示され、それを CTL が認識し、腫瘍細胞の破壊が起こる。この際、PUVA 処理は腫瘍細胞上の MHC クラス I 分子発現を亢進させ、さらに破壊に貢献する。

CTL を活性化させるためには Th1 サイトカインが必要であり、逆に Th2 サイトカインは CTL 活性を減弱させる。MF、SS などの CTCL は Th2 細胞としての性格をもつため、患者のサイトカイン環境は Th2 に偏重し、CTL が働きにくい環境設定をしている⁸⁾。PUVA 処理は Th2 細胞のサイトカイン産生を抑え、逆に Th1 細胞のサイトカイン産生を増強させる。結果的に CTL 活性は増強し、治療効果を側面から補助する⁴⁾。

以上のように、ECP が働く中心的なメカニズムは腫瘍細胞特異的 CTL の誘導と活性増強であるが、それに付随する免疫学的な環境にも種々の方向から影響を与えている。

3) 有効率と ECP の現在

1987～2002 年に発表された 20 編の臨床効果に関する論文をまとめると、532 例の CTCL 患者において complete response が 20%、overall response が 62%、no response が 25% であった⁶⁾。この間、装置や治療法が改善され次第に新しいものになっている。おそらく ECP により CTCL の生存期間は 2 倍に延長していると推定される。

ECP が奏効する CTCL の特徴として、病期が短いこと (2 年以内が望ましい)、顕著なリンパ節腫脹がなく内臓浸潤がないこと、白血球数が 2 万/ μ L 以内で Sézary 細胞の数が 10～20% あること⁶⁾、などである。ECP の併用療法として、全身電子線照射、IFN- α 、IFN- γ 、IL-12、bexarotene などが試みられている。

3. その他の治療法

1) narrowband UVB 療法

PUVA 療法に代わる治療法として、乾癬ですでに広く行われている治療である。通常の broadband UVB 装置が 290～320nm の光を照射するのに対し、narrowband UVB は 311nm 付近の非常に狭い範囲の紫外線を照射する。Stage I の MF に対して、54.2% に complete response、29.2% に partial response、16.7% に no response をみたと報告されている⁹⁾。

PUVA 療法と比較しての検討では、両者は同様に stage I の MF に対して有効であった。この結果を踏まえ、まず初めに narrowband UVB を行い、効果がなければ PUVA 療法に変更するのがよいとする意見もある¹⁰⁾。

2) 光化学療法 photodynamic therapy (PDT)

PDT は光感受性物質であるポルフィリン体の光毒性を利用して癌組織を破壊する治療として発展した。静注したポルフィリンが腫瘍内に選択的に取り込まれることを利用し、腫瘍にレーザーを照射して腫瘍細胞を傷害する。消化器、泌尿器、呼吸器、子宮、皮膚、眼など、さまざまな癌に対して使われている。

皮膚癌では δ -アミノレブリン酸を直接皮膚に塗布し、同部に光照射を行うことによって局所 PDT が可能であり、すでに前癌病変である日光角化症や表皮内癌である Bowen 病に適応されている。局所 PDT は皮膚腫瘍の治療のみならず、炎症性皮膚疾患にも使われるようになっており、乾癬、アクネ、疣贅など広く応用されつつある。MF に対しても扁平浸潤期に行われ、細胞浸潤の顕著な低下が確認されている¹¹⁾。

◎文献

- 1) 戸倉新樹：皮膚のリンフォーマ XIV：18-21, 1995.
- 2) Tokura Y, et al：J Invest Dermatol 96：942, 1991.
- 3) Tokura Y, et al：Photochem Photobiol 53：517, 1991.
- 4) Tokura Y, et al：J Invest Dermatol 113：202, 1999.
- 5) Edelson R, et al：N Engl J Med 316：297, 1987.
- 6) Girardi M, et al：Hematol Oncol Clin N Am 17：1391, 2003.
- 7) Berger CL, et al：Adv Dermatol 20：217, 2004.
- 8) Vowels BR et al：J Invest Dermatol 99：90-94, 1992.
- 9) Gathers RC, et al：J Am Acad Dermatol 47：191, 2002.
- 10) Diederer PV, et al：J Am Acad Dermatol 48：215, 2003.
- 11) Edstrom DW, et al：Acta Derm Venereol 81：184, 2001.

検印省略

新・皮膚悪性リンパ腫アトラス

定価(本体 16,000 円十税)

2006 年 4 月 24 日 第 1 版第 1 刷発行

編者

たき 瀧 いわ 岩 おお 大 しま 島 せ 瀬 なか 中	がわ 川 つき 月 しま 島 だ 田 と 戸 むら 村	まさ 雅 けい 啓 こう 孝 しん 真 やま 山 しげ 栄	ひろ 浩 じ 氏 いち 一 じ 路 みつる 充 お 男
---------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------

発行者

浅井宏祐

発行所

株式会社 文光堂
〒113-0033
東京都文京区本郷 7-2-7
電話 (03)3813-5478(営業)
(03)3813-5411(編集)

© 龍川雅浩ほか, 2006

印刷: 公和図書 / 製本: 福島製本

Printed in Japan

乱丁・落丁の際はお取り替えいたします。

ISBN4-8306-3449-9

- 本書の複製権・上映権・譲渡権・公衆送信権(送信可能化権を含む)は株式会社文光堂が保有します。
- JCLS(株)日本著作出版権管理システム委託出版物
本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。複写される場合は、そのつど事前に、(株)日本著作出版権管理システム(電話 03-3817-5670, FAX 03-3815-8199, e-mail: info@jcls.co.jp)の許諾を得てください。

Dermatology Practice

皮膚科診療プラクティス

19
薬疹を極める

ゲスト編集

塩原哲夫

常任編集

宮地良樹・瀧川雅浩

文光堂

241

4. 内服テストと内服照射テスト

戸倉新樹 [産業医科大学皮膚科]

I. 最も確実な診断方法

薬疹を診断するのは、確実な生体への代替試験や in vitro 試験がないため、必ずしも容易ではない。パッチテストも皮内テストも、さらにはリンパ球幼若化反応も陽性率が低い。これは、薬疹が単一の機序で起きているわけではなく、その多様な病態を一つのテストで看破することができないこと、さらには薬の代謝物が原因となることがあること、などの原因による。

最も確実な診断方法は、被疑薬をもう一度内服することである。これを内服テストと呼ぶ。光線過敏型薬疹のときには、内服して皮膚に紫外線(UV)を照射する内服照射テストを行う。いわば患者が実際に内服して起こした薬疹を、同じ経路で追体験する方法であり、use test に属する。内服テストは疾患をもう一度起こすことになり、人道的に問題を含む。

II. 危険性

内服テストは薬疹の診断にとって最も重要かつ確実なものにもかかわらず、現在は行われることが少なくなりつつある。それは薬疹が重篤な場合、試験が生命すら脅かすことがあるからである。診断を確実にすることはその反面、危険を与えることになり、リスク-利益を天秤にかけることになる。最近の考え方はこのジレンマのバランスに対して、リスク回避の方向に傾いている。すなわち患者に危険になることは極力避けることに、プライオリティがおかれるようになった。内

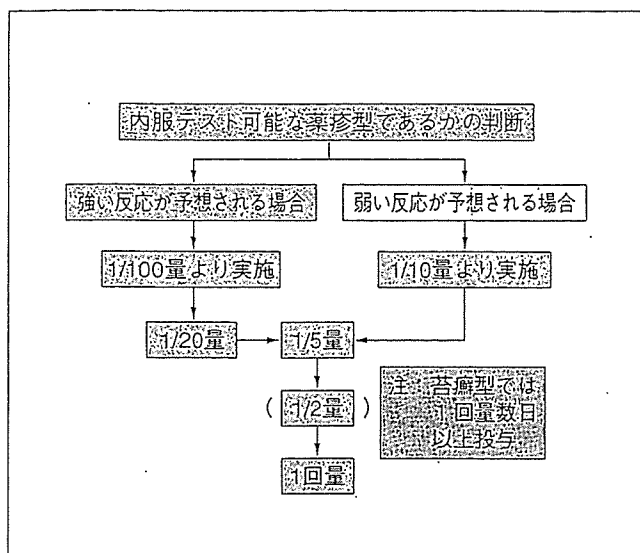
[表1] 各薬疹型と内服テスト(内服照射テスト)の実施の可否

薬疹型	実施の可否
TEN	不可
Stevens-Johnson 症候群	不可
多型滲出性紅斑型	不可(回避)
固定薬疹	可能、ただし多発型は要注意
苔癬型	可能
播種状紅斑丘疹型	可能
即時型	回避(ショックに対処)
光線過敏型	可能

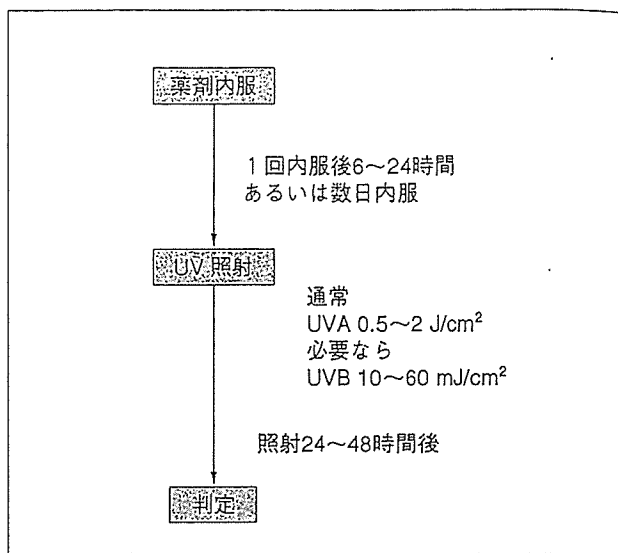
服テストの危険性は、各薬疹型によってかなり異なるため、どんな型の薬疹であるかを考慮し、その実施を判断する(表1)。

まず TEN, Stevens-Johnson 症候群, 多型滲出性紅斑を示す薬疹での、内服テストは禁忌とすべきである。前二者はたとえ少量投与であっても、強い免疫学的反応が惹起され、広範な表皮壊死かつ粘膜疹を起こし、大きな危険を伴う。多型滲出性紅斑の軽いタイプであっても、度重なる原因薬の投与は前回よりもより強い皮膚炎や粘膜疹を引き起こすことが予想され、思わぬ重症化をきすことがある。

固定薬疹は内服テストを行いやすい型である。皮疹が局所のみで誘発されるので危険性が少ない。しかし多発型の固定薬疹は度重なる誘発により、皮疹の数と程度が増し、多型滲出性紅斑類似になることがあり注意を要する。さらには口唇での皮疹の色素沈着が高度となり、色の改善までに長期間を要するようになることも十分患者に説明すべきである。この型の場合は皮疹部でのパッチテストという診断のためのよい戦略があり、内服



[図1] 内服テストの手順



[図2] 内服照射テストの手順

テストはそののちに行う順序でよいであろう。

苔癬型は危険度からいえば安全で、内服試験に適している。しかし1回投与では皮疹の誘発はむずかしく、数日以上の内服が必要となる。

I型アレルギーの機序による即時型では、ショックを起こすこともあり避けるべきである。行う必要性がどうしてもあるときには、血管確保して昇圧剤、ステロイド、抗ヒスタミン剤をベッドサイドに準備したうえでの投与が必要となる。

播種状紅斑丘疹型においては少量投与から行うことが可能であるが、注意は十分払うべきである。

光線過敏型薬疹に対しては内服テストでは誘発できず、内服照射テストを行う。UVを照射しない限り皮疹はみられないので、危険性は非常に低い。しかしニューキノロン剤など多種の薬剤が存在し、しかもそれらの薬剤間に光交叉反応性がある場合、内服光誘発に伴うT細胞クローンの拡大により感作程度を上げ、原因薬以外の薬剤も今後の投与を不可能にすることが考えられる。

III. 内服テストの実際

内服試験の薬剤使用量は、誘発が可能でしかも安全性が高い量が理想的である。誘発量に関して、中山ら¹⁾は、成人の1日内服量の1/200から1/3で大部分の誘発ができたと報告している。実際的には、反応が強いことが予想される場合は1

回量の1/100より、反応が比較的軽い場合には1/10より開始し、1/5, 1/2, 1回量と増量するのがよい(図1)。播種状紅斑丘疹型では、各量の実施は2日以上の間をおくことが望まれる。固定薬疹では数時間経てば判定可能である。多剤を内服している患者で複数の薬剤をテストする場合、陽性反応が出てさらに他の薬剤の試験を行いたいときには、1週間程度実施期間をおくことが望ましい。

IV. 内服照射テストの実際

光線過敏型薬疹の診断に使われ、薬剤投与後、UV照射を皮膚に行う²⁾。薬剤内服後、皮膚での濃度が最高値に達するまでの時間についてのデータは、ほとんどの薬剤で存在しない。したがって、薬剤内服後、血中濃度が最高になる時間を参考に、内服から照射までのタイミングを決める。通常、朝に内服して午後に照射する。照射はUVAとUVBそれぞれの人工光源を用いて行うが、UVAが作用波長であることがほとんどであり、実際にはUVA照射を行う。通常UVAを0.5~2 J/cm²照射する(図2)。UVBが作用波長である薬剤、例えばスルファニルアミド、ラニチジンでは、10~60 mJ/cm²のUVB照射を行う。スパルフロキサシンなどにおいて、UVAとUVBの両者を、順序に依存することなく連続的に照射することにより、紅斑が誘発されることが

る³⁾。これを photoaugmentation と呼んでおり、臨床症状の強さに比べ、皮疹が誘発されにくくときは UVA と UVB の連続照射を行う必要がある。

➤ V. 結果に影響を与える因子

臨床的投与を再現するという点から、内服テスト、内服照射テストは確実な診断方法と思えるが、実際は 100% 再現することはできない。それ以下の因子が結果に影響を与えるためである。

..... 投与期間

常用量を内服したとしても、投与期間が不十分なために皮疹を誘発できないことがある。特に毒生反応で起こっている場合には、薬剤の蓄積量に依存するため皮疹再現に重要な因子となる。光線過敏型薬疹で光毒性機序で起こっている場合には、皮膚での薬剤濃度が光毒性を発揮するまで上昇させないと、内服照射試験で陽性結果は得られない。アレルギー機序が介在する薬疹の場合は、投与期間が影響を与える可能性は少なく、1 回投与で誘発できることが多い。しかし苔癬型薬疹の場合には、T 細胞の活性化、表皮細胞への攻撃という過程が必要であり、数日以上投与、あるいは 1 回投与でも数日間の観察が必要となる。

..... 2. 実施時期

薬疹が治癒した後に内服テスト、内服照射テストが行われるが、治癒後から実施までの期間をどれくらいにすべきかが問題となる。例えば薬疹発現に T 細胞が介在する場合、T 細胞がアレルギーに陥っていると反応は出にくいことが予想される。また T 細胞クローンがある程度拡大した状態が必要であり、期間を置き過ぎた場合、少量の薬剤での誘発が困難になるであろう。

..... 3. ウイルス感染

薬疹はウイルス感染の影響を受けて起こることがある(詳細は 226~251 頁参照)。典型的には、HHV-6 やサイトメガロウイルスによる DIHS や EB ウイルスによるアンピシリン疹がこれに当た

る⁴⁾。特にアンピシリン疹では、薬剤と感染の両者が必須であるため、伝染性単核球症という EB ウイルス感染状態がないと発症しない。このような典型的な場合以外にも、薬疹発症にウイルスがかかわっている可能性もあり、内服テスト陰性が必ずしも原因薬否定にならないことを示唆する。

➤ VI. 被疑薬の選定と試験の実施手順

薬疹を起こす患者は多くの場合、複数の薬剤を内服している。高齢者の場合はときに 10 を越える種類の薬剤を摂取している。皮疹型とその原因薬剤の頻度から被疑薬をあげるのが容易な場合もあるが、多くの場合複数の被疑薬が選定される。内服テストを実施する際、複数の中でどの薬剤から行うかは一定の決まりはなく実施者の判断に委ねられるが、大きくは二つに分けられる。

一つは、可能性が少ないと考えられる薬剤から実施し、最も疑わしいものを最後に行う方法である。この方法の利点は、どうしても今後とも内服しなければならない薬剤の安全を確認した時点で内服テストを止めてしまい、第一の被疑薬の内服を行うことなく危険を回避できることである。

他の方法は最も疑わしい薬剤から内服テストを行う方法である。この場合、実施期間を大幅に短縮できる利点がある。しかしその投与は少量から慎重に行う必要がある。

内服テストは、知らずに同じ薬を処方され内服してしまった、というようなむしろ偶然の再投与によってなされていることも多い。複数の皮疹誘発経験をもつ患者においては、その時々内服した薬剤や成分を十分調査することも、内服テストを実施すると同様に重要なこととなる。

文献

- 1) 中山秀夫ほか：薬疹における比較的安全な誘発方法—仮称 test tablet の使用経験。治療 60 : 1352-1354, 1978
- 2) 戸倉新樹：光線過敏型薬疹。最新皮膚科学大系 5, 75-82, 2004
- 3) Tokura, Y et al : Sparfloxacin phototoxicity : potential photoaugmentation by UVA and UVB sources. Arch Dermatol Res 288 : 45-50, 1996
- 4) 塩原哲夫：薬疹。EBM 皮膚科, 文光堂, 125-135, 2001

先端医療シリーズ 38 皮膚科

皮膚疾患の最新医療

編集主幹

信州大学医学部皮膚科学教授

斎田俊明

旭川医科大学医学部皮膚科学教授

飯塚一

編集委員

北海道大学大学院医学研究科皮膚科学教授

清水宏

金沢大学大学院医学系研究科皮膚科学教授

竹原和彦

九州大学大学院医学研究院皮膚科学教授

古江増隆

順天堂大学医学部皮膚科学教授

池田志孝

群馬大学大学院医学系研究科皮膚病態学教授

石川治

大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学助教授

玉井克人

先端医療技術研究所

6. 眼皮膚白皮症の最新情報	鈴木民夫	195
6.1 はじめに		195
6.2 OCAを呈する疾患		195
6.3 日本人におけるOCAの特徴		197
6.4 おわりに		198

第10章 その他の非腫瘍性皮膚疾患

1. 乾癬の病態・病因論	照井 正	199
1.1 はじめに		199
1.2 乾癬の臨床		199
1.3 乾癬の病因		199
1.4 乾癬の治療とその作用機序		200
1.5 乾癬の病態		200
1.6 おわりに		202
2. Behçet病研究の最新情報	金子史男	203
2.1 はじめに		203
2.2 BDの皮膚粘膜症状		203
2.3 皮膚症状		204
2.4 診断		205
2.5 BDの治療		206
2.6 おわりに		207
3. 重症薬疹の病型・診断・治療	池澤善郎	208
3.1 はじめに		208
3.2 重症薬疹の病型		208
3.3 重症型薬疹の病態		209
3.4 重症薬疹におけるステロイド大量療法の有用性と問題点		211
3.5 重症型薬疹の治療指針(試案)		212
4. 男性型脱毛の病態と治療	板見 智、乾 重樹	213
4.1 はじめに		213
4.2 男性型脱毛の病態		213
4.3 多様な毛の男性ホルモン感受性		213
4.4 標的細胞における男性ホルモン作用機序		213
4.5 毛包における男性ホルモン標的細胞		214
4.6 毛成長の <i>in vitro</i> モデル		214
4.7 男性型脱毛の治療		215
4.8 おわりに		215

第11章 光線と皮膚

1. 光老化のメカニズム、治療、予防	川田 暁	217
1.1 光老化とは		217
1.2 光老化皮膚の臨床症状と病理組織学的特徴		217
1.3 光老化のメカニズム		217
1.4 光老化の治療		218
1.5 光老化の予防		219
1.6 近畿大学医学部皮膚科における取り組み		219
1.7 おわりに		219
2. 後天性光線過敏症の病態	戸倉新樹	221
2.1 はじめに		221
2.2 外因性光感受性物質による光線過敏症		221
2.3 光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症の病態		221
2.4 慢性光線性皮膚炎(CAD)の機序		223
3. 光発癌機構	久保宜明	225
3.1 はじめに		225
3.2 UVによる皮膚発癌作用		225
3.3 皮膚癌の発症機構		226

2. 後天性光線過敏症の病態

2.1 はじめに

光線過敏症は、太陽光線に当たった皮膚が赤くなるなどの異常な反応を起こす疾患の総称である。光線過敏症の原因は多種多様であり、1) 内因性の光感受性物質生成によるもの（ポルフィリン症、ペラグラ、Hartnup 病）、2) 外因性光感受性物質投与によるもの（光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症）、3) DNA 修復機序の異常によるもの（色素性乾皮症）、4) EB ウイルスの関与により起こるもの（種痘様水疱症）、5) その他原因不明のもの（日光蕁麻疹、多形日光疹、慢性光線性皮膚炎〔chronic actinic dermatitis ; CAD〕）などに分けられる。

これらのうちで後天性のものは、ペラグラ、光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症、種痘様水疱症、日光蕁麻疹、多形日光疹、慢性光線性皮膚炎である。ペラグラは先天性の Hartnup 病と同じようにニコチン酸欠乏による代謝性疾患である。種痘様水疱症は、発症以前に慢性の EB ウイルス感染が存在することを土台とする疾患と考えられている。多形日光疹は我が国では小丘疹性日光疹という軽い光線過敏性疾患である。したがってここで論じようとする“後天性の光線過敏”を起こす疾患は、外因性光感受性物質による疾患（光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症）、慢性光線性皮膚炎が中心となる。ここでは外因性光感受性物質による疾患のメカニズムを述べ、加えて慢性光線性皮膚炎のメカニズムを推論したい。

2.2 外因性光感受性物質による光線過敏症

光線過敏を獲得する際に、明瞭な光線過敏性物質が存在する場合と、そうでない場合とがある。明瞭な物質が存在する場合には、光毒性機序によって生じるものと、光アレルギー性機序によって生じるものがある。臨床的には光アレルギー性による頻度の方が高いと考えられる。

通常のアレルギーには、薬疹、接触皮膚炎を代表とするように抗原物質が明瞭なものと、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹などのように必ずしもアレルギーを決定し得ないものがある。この事情はまさに光アレルギーについても同様であり、薬剤性光線過敏症、光接触皮膚炎は抗原となる光感受性物質が明らかであり、その他の疾患は明確でない^{1,2)}。

光アレルギーの1つの特殊性として、光がアレルギー一症状発現に必須であるため、光が当たる臓器すなわち皮膚だけが病変形成の場となることがある。すなわち、光アレルギーの症状は皮膚炎のみである。別の見方をすれば光アレルギーはアレルギー獲得のメカニズムを比較的純粋に調べることのできるシステムということもできる。以後、外因性物質による光アレルギー、すなわち光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症のメカニズムをまず述べ、次いで慢性光線性皮膚炎の想定される病態を述べたい。

2.3 光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症の病態

光接触皮膚炎は抗原が皮膚に塗られて、紫外線が当たって発症する。薬剤性光線過敏症は抗原が薬剤という形で経口投与されて、紫外線が当たって発症する。

2.3.1 光接触皮膚炎

接触皮膚炎はある物質が皮膚に接触し、それによって生じる皮膚炎であり、俗にいう“かぶれ”である。皮膚炎が惹起されるのに、光を必要とするタイプのかぶれがあり、これを光接触皮膚炎と呼称している。すなわち、この“光かぶれ”ではある物質が接触した皮膚に太陽などの光が照射され、皮膚炎が生じる。

通常の接触皮膚炎に、一次刺激性（毒性機序）とアレルギー性（免疫学的機序）のものがあるように、光接触皮膚炎にも2つの型があり、それぞれ光毒性接触皮膚炎、光アレルギー性接触皮膚炎と呼んでいる。光毒性とは物質に紫外線が当たり、それによって活性酸素が発生し組織・細胞傷害をもたらすものである。細胞の構成成分別には、DNA への損傷あるいは結合、脂質過酸化反応、蛋白への結合あるいは変性を起こす。したがって炎症は起こるであろうが、特異的免疫反応が起こったわけではなく、感作も必要としない。一方、光アレルギー性接触皮膚炎は光抗原特異的な免疫反応機序によって起こったものであり、感作を必要とし、T 細胞が媒介するものである。光アレルギー機序で起こる方が光毒性より頻度が高いと考えられる。

光接触皮膚炎の原因物質は多様である。歴史的には殺菌剤として使われたサリチルアニリド、特にハロゲン化サリチルアニリドが原因物質となり、TCSA が代表的なものであった。サリチルアニリドはソープ剤、シャンプーに含まれて過去広く使用された。香料であ

るムスクアンブレットによる患者も、一時期、主要な原因となった。日光から保護する目的で使用されるサンスクリーン剤は、皮肉なことに光接触皮膚炎の原因になり、現在でも時としてこうした患者をみかける。歴史的にはベンゾフェノンが有名であった。現在、このサンスクリーン剤以上に問題となっているのが、治療用の非ステロイド外用剤であり、特に湿布薬として使われるケトプロフェンや塗布薬としてのスプロフェンによるものが多い。

それぞれの光感受性物質が光毒性、光アレルギー性物質に排他的に分けられるものではない。TCSAは光アレルギー能が高いが、光毒性も強い。しかしそれぞれの物質において両性質の強さに偏重はあり、例えば光化学療法であるPUVA療法に使われるソラレンは、光毒性は強いが光アレルギー性反応は起こしにくい。光アレルギー性物質がアレルゲンすなわち抗原性を発揮するためには紫外線照射による構造の変化と蛋白との結合が必要であり、この変化に伴い多かれ少なかれ光毒性反応が起こる。したがって一般に光アレルギー性物質は光毒性も有している。しかし逆に光毒性物質が光アレルギーを惹起するとは限らない。

2.3.2 薬剤性光線過敏症

内服薬剤と紫外線照射によって起こる光線過敏症である。この薬剤性光線過敏症は一方では、薬疹という分類の観点からもとらえることができる。すなわち皮膚疹が起こるために光照射を必要とするタイプの薬疹があり、これを光線過敏型薬疹と呼ぶ。したがって、薬剤性光線過敏症は光線過敏症からみた分類、光線過敏型薬疹は薬疹からみた分類であり、両者は同義語である。通常、薬剤内服中に戸外で日光に曝露されたというエピソードがあって発症する。年齢分布では60～

70代の高齢者に多い。

光毒性反応は日焼け（サンバーン）様発疹をとり、光アレルギー性の場合には、浮腫性紅斑、水疱、扁平苔癬様皮膚疹、白斑黒皮症などさまざまである。時には光毒性反応を思わせる浮腫性紅斑で始まり、経過とともに扁平苔癬様皮膚疹に変化する症例もある。このことは同一患者内、同一エピソード内でも光毒性反応と光アレルギー性反応が連続的に起こり得ることを推察させる。扁平苔癬様皮膚疹の性状は、紅斑ではあるが色が紫がかっていることにある。急性反応的でないため、しばしば光線過敏症を思い浮かべることが難しい。色素沈着と色素脱失が混在する病変は、白斑黒皮症と称される。原因である薬剤内服を中止することが遅れ、長期に光線過敏性皮膚炎を患った患者に多い。すでに完成してしまっている状態では難治である。

原因薬剤のランキングは数年単位で大きく変化することがある。例えば1980年代後半はアフロクアロンによる光線過敏症が多くみられたが、使用の低下に伴い頻度は減少した。古典的ではあるがピロキシカム、降圧利尿薬も頻度的に重要であり、5-FU、クロールプロマジン、トルブタミドなども併せ、現在でも原因となり得る光線過敏性薬剤である。グリセオフルビンは最近使用されなくなり、ほとんど同薬による光線過敏症をみない。チリソロール、メチクランは最近10年以内に話題になった。最近ではニューキノロン系抗菌剤によるものが多くみられている。

2.3.3 光抗原形成機序

通常の抗原とは異なり、光アレルギー性物質が抗原となるには紫外線照射が必要となる。この紫外線的作用による抗原性の獲得については古くよりいくつかの考えが提唱されてきたが、大きく2つの説に集約される^{1,2)}。1つはプロハプテンであり、もう1つは光ハプテンという概念である（図11.2.1）。プロハプテン説は、光アレルギー性物質は紫外線照射により化学構造の変化が起き、通常のハプテンのようになり、蛋白

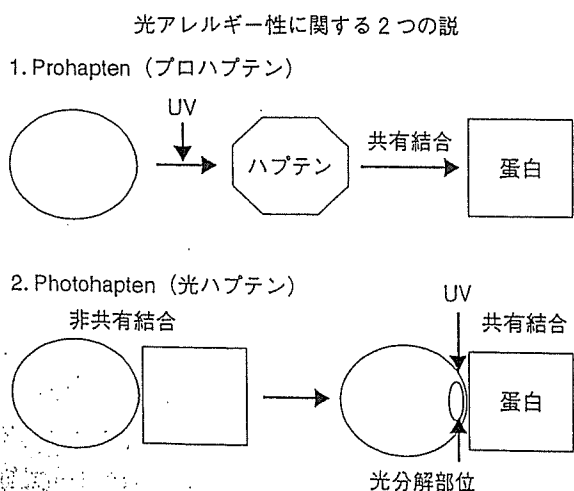


図 11.2.1 光抗原の生成機序

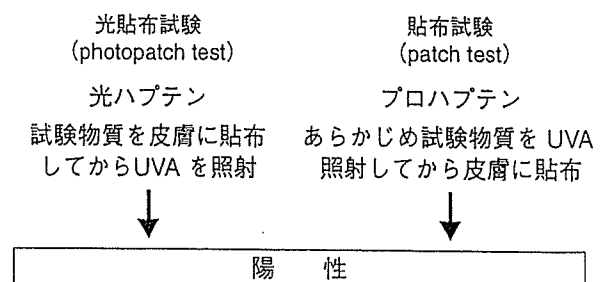


図 11.2.2 貼布試験、光貼布試験でのプロハプテンと光ハプテンの違い

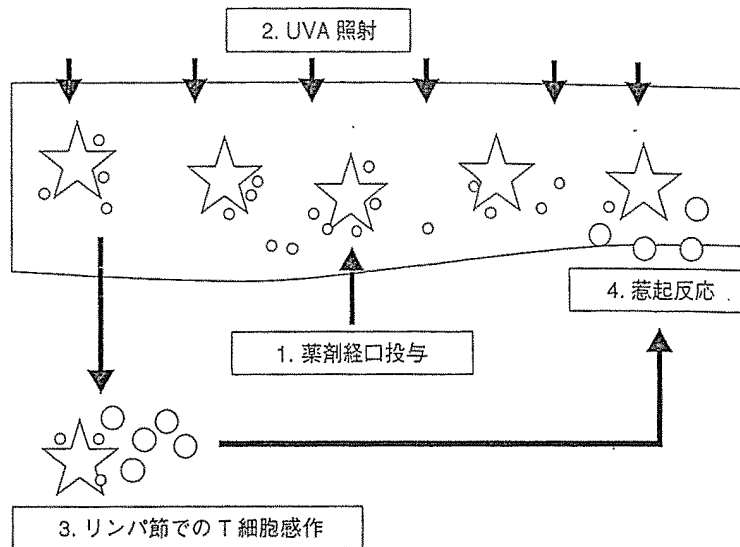


図 11.2.3 キノロン光線過敏症での光抗原提示機構

との結合能力を獲得する、という単純明快な説である。一方、光ハプテン説は、紫外線照射がなされるとその化学構造の一部が光分解され、その分解と同時に近傍の蛋白と共有結合し完全抗原ができあがるという考えである。したがってあらかじめUVAを照射した物質が蛋白と結合すればプロハプテン、一方、その物質と蛋白との共存下でUVAを照射し両者が共有結合すれば光ハプテンということになる。

多くの光抗原は光ハプテンとしての性格を持っている。したがって、当該物質が光線過敏症の原因になっているかを検証する時は、まず物質を皮膚に塗って置いて、そこに紫外線を当てる方法、すなわち光貼布試験を行う。またあらかじめ当該物質に紫外線を当てておいたものを通常の貼布試験に用いる方法がある。これはプロハプテンの証明方法であるが、この方法は通常とらない(図11.2.2)。

2.3.4 光接触皮膚炎、薬剤性光線過敏症の免疫学的機序

ランゲルハンス細胞はプロフェッショナルな抗原提示細胞であり、通常の接触皮膚炎と同様に、光接触皮膚炎においても抗原提示細胞として働き、薬剤性光線過敏症においても光抗原を提示する細胞として機能している⁴⁵⁾(図11.2.3)。ランゲルハンス細胞による光抗原の提示において、光ハプテンがランゲルハンス細胞上の主要組織適合抗原複合体(MHC)クラスII分子あるいはクラスII分子によって表出された自己ペプチドに直接光結合するのか、あるいは紫外線照射によってできた光ハプテンと蛋白の複合体がランゲルハンス細胞にいったん取り込まれ、クラスII分子とともに

再表出されるのかは不明である。しかし我々は、直接、MHCクラスII分子と自己ペプチドとの複合体に光共有結合とする実験結果を得ている⁴⁾。こうして光アレルギー性物質はT細胞を感作することになる。

2.4 慢性光線性皮膚炎(CAD)の機序

CADは、外因性光抗原を原因としない自己免疫性光線過敏症と呼ぶべき疾患である。この中にはある物質に光貼布試験陽性を示す患者がおり、光線過敏症は以前その物質に対する光接触皮膚炎であったものが、光アレルギーなしに紫外線に感受性を持つようになってしまった状態と解される。同様に、ある薬剤による光線過敏症を示していた患者が、薬剤を中止しても光線過敏症が治癒することなく存続することもある。つまり引き金は光接触皮膚炎や薬剤性光線過敏症であったものが、光抗原が除去されても存続してしまうことがある。

こうした光抗原なくして光線過敏が起こるようになる機序は未だ明瞭ではない。古典的には光感受性物質が微量に皮膚に残っている可能性がいわれてきた。しかしむしろ現在では紫外線が表皮細胞の表面に何らかの物質を誘導し、それを自己反応性T細胞が認識して皮膚炎を起こす可能性が考えられている。あるいは紫外線照射が自己蛋白の修飾を行い、それがアジュバント効果を発揮することも考えられる。しかし、そもそもその過敏症を引き起こした光抗原反応性T細胞と自己反応性T細胞にはどんな関係があるのかは未だ不明である。

もう1つ重要な臨床的観察がある。それはCADが、

HIV陽性患者に多く報告されていることである。CADの病変組織にはCD8陽性T細胞が浸潤し、苔癬型組織反応を形成していることがしばしばある。一般にCD4陽性細胞の中には、Th2やregulatory T細胞といったCD8陽性細胞傷害性T細胞の機能を抑制する細胞が備わっている。HIV陽性者ではCD4陽性T細胞の数が減少するが、これが結果的にCD8陽性細胞傷害性T細胞を活性化させてしまい、CADを誘導してしまうのかもしれない。成人T細胞性白血病に伴ったCADもある⁷⁾。この場合でもCD4陽性T細胞の機能障害を下地として、CD8陽性細胞傷害性T細胞を活性化させてしまい、CADを生じたと考えられる。

以上のように、CADの発症には、自己反応性T細胞の抑制の解除が重要な因子となっているのであろう。

文献

- 1) 戸倉新樹：光線過敏型薬疹、最新皮膚科学体系 第5巻。中山書店、東京、75-82, 2004
- 2) 戸倉新樹：光アレルギーの基礎と臨床。日皮会誌 111: 1-12, 2001
- 3) Tokura Y, et al: Photohaptenic properties of fluoroquinolones. Photochem Photobiol 64: 838-844, 1996
- 4) Ohshima A, et al: Formation of antigenic quinolone photoadducts on Langerhans cells initiates photoallergy to systemically administered quinolone in mice. J Invest Dermatol 114: 569-575, 2000
- 5) Tokura Y, et al: Cross-reactivity in murine fluoroquinolone photoallergy: exclusive usage of TCR V β 13 by immune T cells that recognize fluoroquinolone-photomodified cells. J Immunol 160: 3719-3728, 1998
- 6) Tokura Y, et al: Quinolone-photoconjugated major histocompatibility complex class II-binding peptides with lysine are antigenic for T cells mediating murine quinolone photoallergy. J Invest Dermatol 117: 1206-1211, 2001
- 7) Sugita K, et al: Chronic actinic dermatitis associated with adult T-cell leukemia. J Am Acad Dermatol 52: S38-40, 2005

(戸倉新樹)



Establishment of murine model of allergic photocontact dermatitis to ketoprofen and characterization of pathogenic T cells

Satoshi Imai^{a,b}, Kenji Atarashi^{a,b}, Koichi Ikesue^b,
Katsuhiko Akiyama^b, Yoshiki Tokura^{a,*}

^a Department of Dermatology, University of Occupational and Environmental Health,
1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu 807-8555, Japan

^b Fundamental Research Laboratories, Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc., Tsukuba, Japan

Received 9 June 2005; received in revised form 17 August 2005; accepted 26 August 2005

KEYWORDS

Photocontact
dermatitis;
Contact photoallergy;
Ketoprofen;
Chemokine

Summary

Background: Ketoprofen is well known to evoke the allergic type of photocontact dermatitis when it is applied to the skin and irradiated with ultraviolet A (UVA) light. **Objective:** We aimed to establish a murine model of this photosensitivity and to characterize pathogenic T cells concerned with the sensitivity.

Methods: Various strains of mice were sensitized on two consecutive days by application of ketoprofen to the shaved abdomen and irradiation of the skin with UVA. Five days later, they were elicited with ketoprofen plus UVA on the earlobes. Immune lymph node cells and epidermal cells from the challenged sites were analyzed by RT-PCR.

Results: Mice were successfully sensitized and challenged with 4% and 2% ketoprofen, respective, plus UVA at 20 J/cm². The responses in H-2^k mice were higher than those in the other strains examined. Immune lymph node CD4⁺ or CD8⁺ cells from ketoprofen-photosensitized H-2^k mice were transferred i.v. to naïve syngeneic recipients. Mice receiving CD4⁺ but not CD8⁺ cells exhibited ketoprofen photosensitivity, but transference of both CD4⁺ and CD8⁺ cell populations was more effective. Lymph node cells from photosensitized mice expressed high levels of mRNA for Th2 cytokine (IL-4) and Th2 chemokine receptor (CCR4) as well as Th1 cytokine (IFN- γ) and Th1 chemokine receptor (CXCR3), as assessed by RT-PCR. In addition, epidermal cells from challenged earlobes expressed increased levels of both Th1 (TARC) and Th2 (Mig) chemokines.

Conclusion: It is considered that not only Th1 but also Th2 cells participate in the pathogenesis of murine photocontact dermatitis to ketoprofen.

© 2005 Japanese Society for Investigative Dermatology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

* Corresponding author. Tel.: +81 93 691 7445; fax: +81 93 691 0907.
E-mail address: tokura@med.uoeh-u.ac.jp (Y. Tokura).

1. Introduction

Photocontact dermatitis is a specialized form of contact dermatitis evoked by various chemicals, such as halogenated salicylanilides, musk ambrette, benzophenone-3 (oxybenzone), and non-steroidal anti-inflammatory drugs [1]. Patients develop dermatitis, when their skin is exposed to these agents and subsequent ultraviolet (UV) light. This disorder is pathophysiologically divided into two types, phototoxic and photoallergic ones. While the phototoxic dermatitis is mediated by oxygen intermediates, the photoallergic type, also known as contact photosensitivity, is a well-organized cutaneous sensitivity that is immunologically induced and elicited with photoallergic agent and UVA. Recently, the incidence of the photoallergic type is higher than the phototoxic one, because the major causative agents are non-steroidal anti-inflammatory drug with photoallergic properties [2].

It has been clarified that the majority of photoallergic agents are photohaptens, which bind covalently to protein via the formation of free radicals resulting from UV irradiation [2]. Because of this photobinding ability, cells are easily photomodified with photohaptens under exposure to UVA, which is the action spectrum of photocontact dermatitis. The main sequential events in photocontact dermatitis have been investigated with 3,3',4',5-tetrachlorosalicylanilide (TCSA) in mice [3,4] and are virtually the same as those of ordinary contact dermatitis except for the requirement of UV irradiation in sensitization and challenge. Photoconjugation of epidermal cells with TCSA is the initial step. Langerhans cells (LC), which are professional antigen-presenting cells in the epidermis, play an important role. Photohaptens-bearing LC migrates to draining lymph nodes in the sensitization phase [5]. T cells sensitized by photohaptens-bearing LC induce the photosensitivity [3] and suppressor or regulatory T cells involved in this sensitivity have been identified [6].

Ketoprofen (KP), widely used as a topical non-steroidal anti-inflammatory drug, is clinically well known to induce the allergic type of photocontact dermatitis [7–11]. In addition to the high incidence of occurrence of photocontact dermatitis, KP is an interesting drug in its cross-photoreactivity with thiaprofenic acid, suprofen, phenofibrate, and benzophenone-3 [7–11]. These substances have a photohaptens moiety [2] as well as a phototoxic ability [12,13].

A model of KP photocontact dermatitis has been reported using guinea pigs [11]. However, little is known regarding the immunological characteristics of photocontact dermatitis to KP. In this study, we

established a murine model of KP photosensitivity and investigated the immunological mechanism, focusing on the involvement of Th1 and Th2 cells.

2. Materials and methods

2.1. Animals

AKR/N (H-2^k), CBA/J (H-2^k), C3H/He (H-2^k), BALB/c (H-2^d), DBA/2 (H-2^d), A/J (H-2^a), C57BL/6 (B6; H-2^b) were obtained from Kyudo Co. Ltd. (Kumamoto, Japan). BALB.K/Ola (H-2^k) mice were kindly provided by National Institute of Genetics (Mishima, Japan). Female mice, 8-week old, were used in this study.

2.2. Chemicals

KP was obtained from Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc. (Tokyo, Japan) and 3,3',4',5-tetrachlorosalicylanilide (TCSA) was purchased from Kanto Chemical Co. Inc. (Tokyo, Japan).

2.3. Light source

Black light (FL20SBL-B) emitting UVA ranging from 320 to 400 nm with a peak emission at 365 nm was purchased from Toshiba Electric Co. (Tokyo, Japan). With a UV radiometer (Topcon Technohouse Corp., Tokyo, Japan), the energy output of three 20 W tubes of black light at a distance of 20 cm was 2.4 mW/cm² at 365 nm and 0.17 mW/cm² at 305 nm.

2.4. Photosensitization and photochallenge to KP

The basic method for photosensitization and photochallenge was described previously [3,4]. Mice were painted with 50 μ l of 1, 2 or 4% KP in acetone to the clipped abdomen. Within 30 min, the painted site was irradiated with three tubes of black light at a distance of 20 cm for 2.5 h (20 J/cm² at 365 nm) unless otherwise mentioned by placing cages containing mice over the lights. We used a pane of window glass 3 mm thick to insure that no radiation below 320 nm reached the skin. The painting plus irradiation was performed on two consecutive days, i.e., days 0 and 1. Before challenge, the basal line thickness of both ears on all mice was measured with a dial thickness gauge. On day 5, all mice were challenged on both sides of each earlobe with 25 μ l of 2% KP in ethanol unless otherwise described. Within 30 min, the mice received irradiation under black light at a distance of 20 cm at 20 J/cm² at

365 nm. Ear thickness was measured 24 h after irradiation and was expressed as the mean increment in thickness above basal line control value.

2.5. Preparation of single cell suspension of lymph node cells (LNC) and epidermal cells

Axillary and inguinal lymph nodes were collected on day 3 or 5 from mice photosensitized with KP on days 0 and 1. Single cell suspensions were prepared by teasing lymph nodes. For preparation of epidermal cells, excised murine earlobes were incubated in 0.2% trypsin. Epidermal cells were dispersed and washed three times in PBS, as described previously [14].

2.6. Adoptive transfer of sensitivity with immune LNC

Immune LNC were prepared on day 5 from KP-photosensitized AKR/N mice. To obtain purified CD4⁺ or CD8⁺ T cells, LNC were incubated with anti-CD4 or anti-CD8 monoclonal antibody (mAb)-conjugated magnetic beads (DynaL Inc., Oslo, Norway) and the bound cells were detached from the beads with Detachabeads (DynaL Inc.) according to the manufacturer's directions. Unfractionated LNC (2×10^7 cells/mouse) or varying ratios of CD4⁺ or CD8⁺ T cells in 0.4 ml of phosphate buffered saline (PBS; pH 7.4) were injected i.v. into naïve recipients. The control mice were injected with PBS alone. Within 1 h after cell transfer, the recipient and control mice were challenged on the ears with 2% KP plus 20 J/cm² UVA, and ear swelling response was measured after 24 h. In a comparison, BALB/c mice were sensitized with 1% TCSA plus 12 J/cm² UVA on days 0 and 1, as described previously [3,4], and LNC were transferred to naïve syngeneic mice. Epicutaneous sensitization and challenge with TCSA plus UVA was reported [3].

2.7. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay

Total RNA was extracted from LNC or epidermal cells using the SVTotal RNA Isolation system (Promega Co., Madison, WI, USA). To prepare first strand cDNA, 1 µg of RNA was incubated in 100 µl of buffer containing 10 mM dithiothreitol, 2.5 mM MgCl₂, dNTP mix, 200 U of reverse transcriptase II (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) and 0.1 mM oligo (dT)₁₂₋₁₈ (Invitrogen). Each cDNA were amplified in a 50 µl PCR solution containing 0.8 mM MgCl₂, dNTP mix and DNA polymerase (Roche Applied Science, Penzberg, Germany) with synthesized primers. Samples were

heated to 95 °C for 2 min, 55 °C for 2 min and 72 °C for 3 min, and cycled 40 times through 95 °C for 1 min, 55 °C for 2 min and 72 °C for 3 min. The final incubation was 72 °C for 7 min. The mixture was subjected to 1% agarose gel for electrophoresis with the indicated markers and primers for the internal standard β-actin. Each sample was applied more than two lanes in the same gel. The agarose gel was stained with ethidium bromide and photographed with UV transillumination.

The sense/antisense primer sequences were as follows. Interferon-γ (IFN-γ): 5'-TGA ACG CTA CAC ACT GCA TCT TGG-3' and 5'-CGA CTC CTT TTC CGC TTC CTG AG-3'; IL-4: 5'-ATG GGT CTC AAC CCC CAG CTA GT-3' and 5'-GCT CTT TAG GCT TTC CAG GAA GTC-3'; CXCR3: 5'-GCC GAT GTT CTG CTG GTG TTA A-3' and 5'-TTT TCG ACC ACA GTT GCG GGC-3' CCR4: 5'-TCG GAT TTG CTG TTC GTC CTG T-3' and 5'-TAA GGC AGC AGT GAA TGA AGC C-3'; IP-10: 5'-CGC ACC TCC ACA TAG CTT ACA G-3' and 5'-CCT ATC CTG CCC ACG TGT TGA G-3'; Mig: 5'-TGA TAA GGA ATG CAC GAT GCT C-3' and 5'-TTC CTT GAA CGA CGA CGA CTT T-3'; TARC: 5'-CAG GAA GTT GGT GAG CTG GTA TAA-3' and 5'-TTG TGT TCG CCT GTA GTG CAT A-3'; MDC: 5'-TCT GAT GCA GGT CCC TAT GGT-3' and 5'-TTATGG AGT AGC TTC TTC ACC CAG-3'; β-actin: 5'-TGG AAT CCT GTG GCA TCC ATG AAA C-3' and 5'-TAA AAC GCA GCT CAG TAA CAG TCC G-3'.

2.8. Statistical analysis

Student's *t*-test was employed to examine the significance between the means, and *p* < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Induction of photocontact dermatitis by KP plus UVA

As shown in Fig. 1, AKR/N mice were sensitized by topical painting of 4% KP and subsequent irradiation with 20 J/cm² UVA; or by KP alone. They were challenged on the earlobes with 2% KP and/or 20 J/cm² UVA. A significant ear swelling response was observed in mice challenged with both KP and UVA, whereas elicitation with KP or UVA alone did not induce the response. In mice sensitized with 4% KP alone, KP plus UVA evoked a detectable swelling response. Since elicitation with KP alone did not yield any response, this was considered to be a phototoxic response, and was significantly lower than the photoallergic response to KP. Thus, treatment with KP plus UVA was capable of inducing the allergic type of photocontact dermatitis in mice.

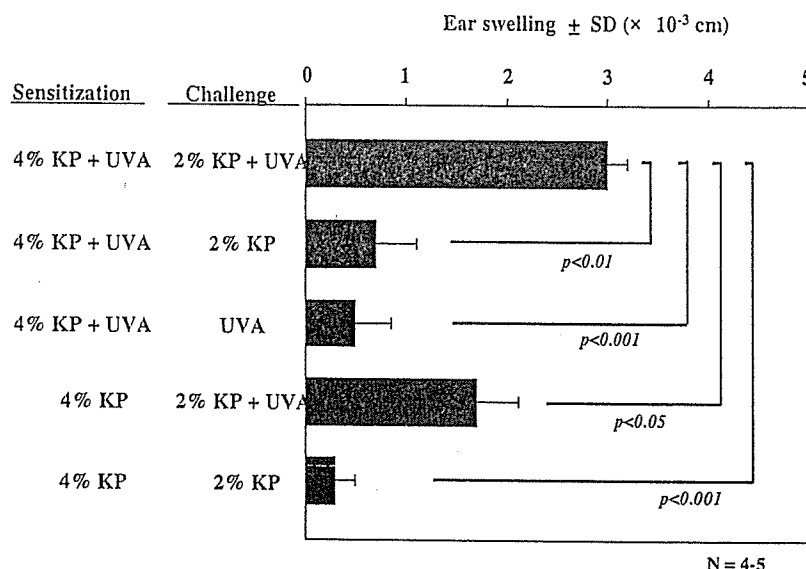


Fig. 1 Requirement of both KP and UVA for induction and elicitation of allergic photocontact dermatitis. AKR/N mice were sensitized with KP (4%) plus UVA (20 J/cm^2) or KP alone on days 0 and 1. On day 5, they were challenged on both sides of each earlobe with KP (2%) and/or subsequent UVA (20 J/cm^2). Ear swelling was measured 24 h after irradiation. Each column represents the mean \pm S.D.

3.2. KP concentration and UVA dose effective for induction and elicitation of photocontact dermatitis

AKR/N and C3H/He mice were sensitized with 1, 2, or 4% KP in combination with 20 J/cm^2 UVA, and challenged with 2% KP plus 20 J/cm^2 UVA (Fig. 2A). KP at both concentrations of 2 and 4% produced significant ear swelling responses, with the latter being slightly more effective than the former. When 4% KP-photosensitized mice were challenged with 1, 2, or 4% KP in combination with 20 J/cm^2 UVA, 2 and 4% KP induced comparable responses in AKR/N mice, while all three concentrations of KP produced significant responses in C3H/He (Fig. 2B). When AKR/N mice were sensitized with 4% KP alone and challenged with 2% or 4% KP plus UVA, photochallenge with 4% KP produced two-fold higher swelling than 2% KP (data not shown), indicating that the photo-toxic response of 2% KP was low.

AKR/N mice were sensitized with 4% KP and UVA at 10, 20, 30 or 40 mJ/cm^2 , and challenged with 2% KP plus 20 mJ/cm^2 UVA (Fig. 2C). UVA at 20, 30, and 40 mJ/cm^2 yielded significant and comparable responses. Therefore, we used 4% KP for photosensitization and 2% KP for photochallenge in combination with 20 mJ/cm^2 UVA in the following experiments.

3.3. Different reactivity in photocontact dermatitis among various mouse strains

Eight strains of mice were sensitized and challenged with KP plus UVA. AKR/N, CBA/J, C3H/He, BALB.K/

Ola, and A/J exhibited higher responses than did BALB/c, DBA/2 and B6 mice (Fig. 3). Considering that BALB/c and BALB.K/Ola mice are H-2-congenic strains and thus differ only at the H-2 complex, it seems that H-2^k mice are high responders in this sensitivity.

3.4. Adoptive transfer of photocontact dermatitis

Immune LNC were taken from AKR/N mice photosensitized with KP 5 days before and injected i.v. into naïve recipients, which were challenged with KP plus UVA. As positive control, a group of mice were epicutaneously sensitized and challenged in parallel. Fig. 4A shows that mice receiving 2×10^7 LNC exhibited a significant degree of photocontact dermatitis but to a lesser degree than the epicutaneously sensitized mice. Along with this study, immune LNC from BALB/c mice photosensitized with TCSA were transferred to naïve syngeneic recipients. They had a stronger but similarly reduced level of response as compared to the epicutaneously sensitized mice. When donor mice were treated with UVA alone, transfer of their LNC did not induce the sensitivity in recipients (Fig. 4B).

3.5. Essential and augmentative roles of CD4⁺ and CD8⁺ cells, respectively, in photocontact dermatitis

CD4⁺ or CD8⁺ T cells (5×10^6 cells/mouse) purified from KP-immune LNC of AKR/N mice were trans-

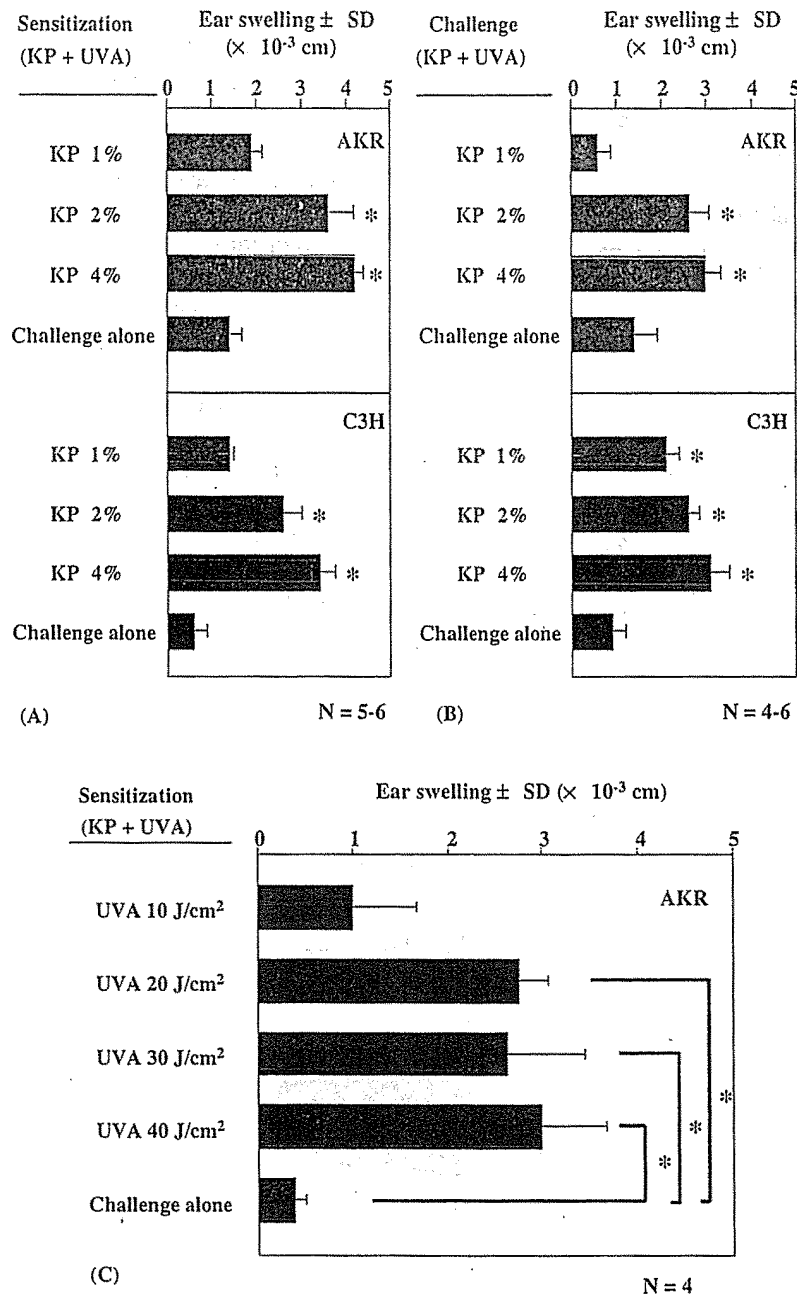


Fig. 2 Effects of KP concentration and UVA dose on sensitization and challenge of photocontact dermatitis. AKR/N and C3H/He mice were sensitized with varying doses of KP (1–4%) (A) or 4% KP (B) plus UVA (20 J/cm²) on days 0 and 1. On day 5, they were challenged on both sides of each earlobe with 2% KP (A) or varying doses of KP (1–4%) (B) plus UVA (20 J/cm²). In (C), AKR/N mice were sensitized with 4% KP plus varying doses (10–40 J/cm²) of UVA and challenged with 2% KP plus 20 J/cm² UVA. Ear swelling was measured 24 h after irradiation. Each column represents the mean ± S.D. **p* < 0.05.

ferred to naïve syngeneic recipients. Upon challenge with KP plus UVA, mice injected with CD4⁺ cells, but not CD8⁺ or CD4⁻CD8⁻ cells, exhibited a significant swelling response compared to the non-injected control mice (Fig. 5). When mice were injected with increasing numbers of CD8⁺ cells additionally with CD4⁺ cells, 5 × 10⁶

cells, but not 1 or 2.5 × 10⁶ cells, enhanced the CD4⁺ cell-induced response. This combination of CD4⁺ and CD8⁺ cells produced a comparable response to the epicutaneously sensitized mice. The results suggested that CD4⁺ T cells mediate the sensitivity and CD8⁺ T cells participate in the full responses.

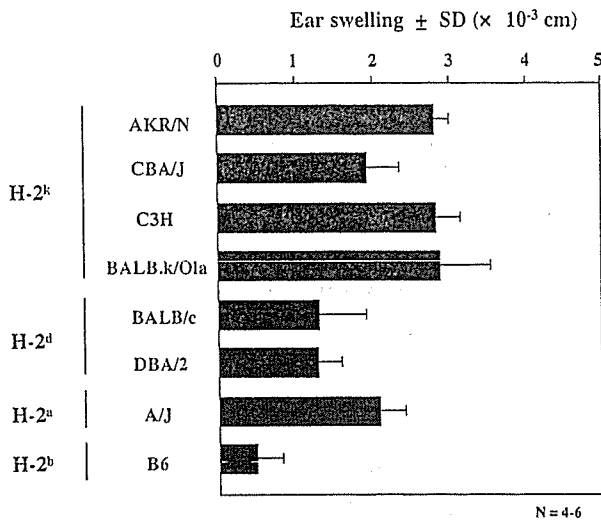


Fig. 3 Photocontact dermatitis to KP in various mouse strains with different H-2 haplotypes. Mice were sensitized with 4% KP plus 20 J/cm² UVA on days 0 and 1. On day 5, they were challenged with 2% KP and 20 J/cm² UVA. Data are expressed as: Δear swelling, representing (sensitization and challenge) – (challenge alone). Each column represents the mean ± S.D.

3.6. Elevated mRNA expression of cytokines and chemokine receptors of both Th1 and Th2 cells in immune LNC

AKR/N mice were sensitized with KP plus UVA on days 0 and 1, and single cell suspensions of immune LNC were prepared on day 1 (immediately after sensitization), 3 and 5. The expression of Th1 and Th2 cytokines, as represented by IFN-γ and IL-4, respectively, was examined by RT-PCR. As shown in Fig. 6A, KP photosensitization increased the expression of both cytokines compared to vehicle alone. Notably, IL-4 was markedly augmented by KP plus UVA on day 5.

Th1 and Th2 cells express chemokine receptor CXC chemokine receptor 3 (CXCR3) and CC chemokine receptor 4 (CCR4), respectively. The expression of these chemokine receptors was also tested in immune LNC. As most discernibly seen in day 5 LNC, CCR4 expression was remarkably enhanced by sensitization with KP plus UVA, while CXCR3 was increased to a lesser degree (Fig. 6B).

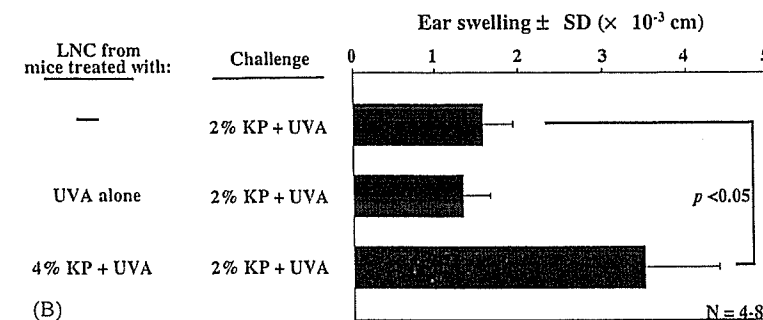
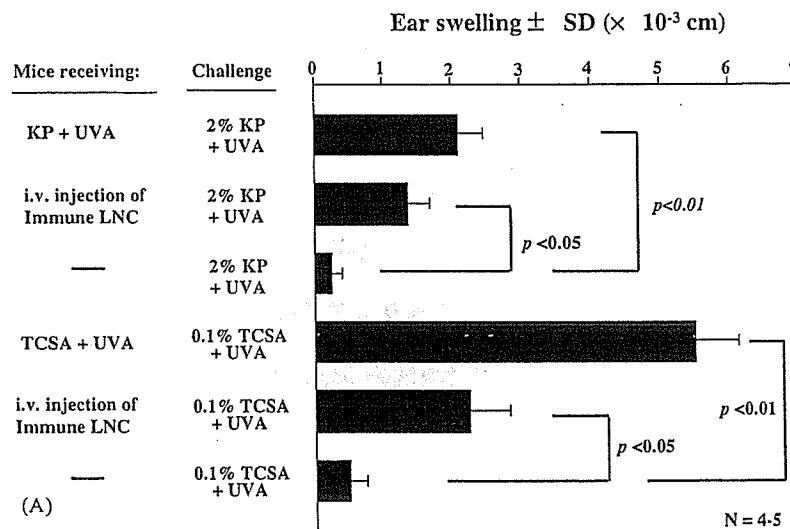


Fig. 4 (A) and (B) Transfer of LNC from KP- or TCOSA-photosensitized mice. AKR/N (for KP) and BALB/c (for TCOSA) mice were injected i.v. with immune LNC (2×10^7 cells/mouse) from KP- or TCOSA-photosensitized mice. The control mice were not injected. Within 1 h after cell transfer, the recipient and control mice were challenged with 2% KP plus 20 J/cm² UVA or 0.1% TCOSA plus 20 J/cm² UVA, and ear swelling response was measured after 24 h. Each column represents the mean ± S.D.

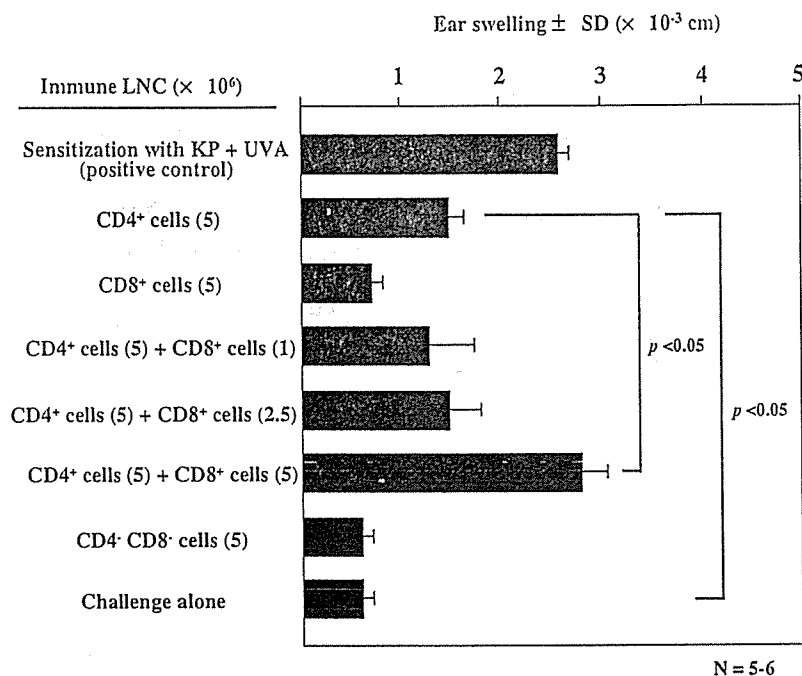


Fig. 5 Transfer of CD4⁺ and/or CD8⁺ cells from KP-photosensitized mice. Mice were injected with intravenous injection of purified CD4⁺ and/or CD8⁺ T cells from KP-photosensitized AKR/N mice. The control mice were not injected. Within 1 h after cell transfer, the recipient and control mice were challenged with 2% KP plus UVA irradiation. Each column represents the mean \pm S.D.

These results suggested that Th2 cells as well as Th1 cells are stimulated in photocontact dermatitis to KP, with the former being more enhanced by this phototreatment.

3.7. Elevated mRNA expression of chemokines of both Th1 and Th2 cells in challenged epidermis

Murine epidermal keratinocytes produce Th1 chemokines, interferon-inducible protein-10 (IP-10/CXCL10) and monokine induced by interferon- γ (MIG/CXCL9), and Th2 chemokines, thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) and macrophage derived chemokine (MDC/CCL22). These Th2 chemokines bind to CCR4 on Th2 cells, while the Th1 chemokines have affinity to CXCR3 on Th1 cells [15]. To address the role of these chemokines in infiltration of Th1 and Th2 cells at the challenged site, AKR/N mice were sensitized with KP and UVA, and 5 days later, challenged on the earlobes with KP or vehicle in combination with UVA. Epidermal cell suspensions were prepared from the ears 24 and 48 h after challenge and subjected to RT-PCR. At 24 h after challenge, the expression of Mig and TARC was increased by treatment with KP plus UVA, as compared to no treatment or vehicle alone (Fig. 7). The expression at 48 h was virtually the same as that at 24 h, but less discernible. IP-10 and MDC were not substantially changed. Thus, both

certain Th1 and Th2 chemokines, but not all, were expressed increasingly in the challenged epidermis.

4. Discussion

The present study was aimed to establish a murine model of photocontact dermatitis to KP. The photosensitivity was successfully induced and elicited by skin application of KP and subsequent irradiation with UVA. The optimal concentration of KP was 4% for sensitization and 2% for elicitation, and the dose of UVA was 20 J/cm². In a comparison with a representative allergic photocontactant TCSA [3,4], these concentration and dose are high, and the degree of ear swelling response is low. Patients with photocontact dermatitis to KP exhibit a strong erythematous reaction, and even bulla formation occurs in some patients [8–11,16]. Our present system, therefore, is not a complete mimicry to the clinical photosensitivity. Nevertheless, the photoallergic potential of KP can be evaluated by this murine model.

The magnitude of response depended on the strain of mice, and at least the major histocompatibility complex (MHC) seems to influence the response. H-2^k mice are high responders compared to H-2^{d,b} mice. This is strikingly in contrast to photocontact dermatitis to TCSA, in which H-2^{d,b} mice are high responders, while H-2^k is the low