

200832016A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

金属アレルギーの克服へ向けた効果的診断・  
予防・治療法の開発研究

平成20年度 総括研究報告書

主任研究者 小笠原 康悦

平成21(2009)年 3月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 金属アレルギーの克服へ向けた効果的診断・予防・治療法の開発研究----- 3  
東北大学 加齢医学研究所  
国立国際医療センター研究所 小笠原 康悦

## II. 分担研究報告

1. マウス金属アレルギーモデルを用いた金属アレルギー特異的T細胞解析----- 19  
東北大学 加齢医学研究所  
国立国際医療センター研究所 小笠原 康悦
2. アトピー性皮膚炎における金属アレルギーの関与とTh17細胞による増強----- 24  
産業医科大学医学部 戸倉新樹
3. 金属アレルギーの新規診断法と治療法の開発に向けた理論的基盤の開発----- 34  
京都大学大学院医学研究科 梶島健治
4. 骨髄由来樹状細胞の移入による金属アレルギーの感作成立とTLRシグナリング----- 40  
北海道大学大学院医学研究科 西屋 禎
5. 金属アレルギー発症に関与する自己抗原ペプチド精製とそのアッセイ系の確立----- 44  
東北大学大学院歯学研究科 菅原 俊二
6. マウスNiアレルギーモデルの惹起相における自然免疫の役割----- 49  
東北大学大学院歯学研究科 高田 春比古
7. 金属アレルギーでの微生物環境の重要性----- 55  
東北大学大学院歯学研究科 遠藤 康男
8. 金属アレルギーの新しい診断技術開発に向けた工学的アプローチ  
HDCレポーター動物の作製----- 59  
東北大学大学院工学研究科 大津 浩

III. 班会議プログラム	65
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	103
V. 研究成果の刊行物・別刷	115

# I. 総括研究報告

研究課題：金属アレルギーの克服へ向けた効果的診断・予防・治療法の開発研究

主任研究者：小笠原 康悦 東北大学加齢医学研究所 加齢生体防御学研究分野 教授  
国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 特任研究員

## 研究要旨

金属アレルギー等のアレルギー性皮膚炎は増加の一途であり、難治性の合併症を引き起こすため、大きな問題となっている。本研究はこれまで不明であった金属アレルギー発症の分子機構を明らかにし、アレルギーの診断、予防、治療に役立つ理論的基盤の確立を目指すことを目的とし、動物モデルを用いた基盤的研究、疾患患者サンプルを用いた臨床研究、工学的視点からの新規診断法の開発という観点から多面的に研究を進めている。当研究班が独自に開発した金属アレルギー動物モデルは、Nature 誌の News に掲載され国際的にも高く評価されている。本年度は、動物モデルによる基盤的研究から、金属暴露により CD8/CD4 比が変化し CD8+細胞が濃縮されること、NKG2D の発現が誘導されること、TCR レパトアが変化することが明らかになった。また、NKG2D やプロテアソームは金属アレルギーの治療標的になり得ることも判明した。さらに、*in vitro* で樹状細胞を金属感作し、マウスに移入することで金属アレルギーを誘導することが可能となった。臨床的観点からは、金属に対するヒト LTT アッセイにおいて、制御性 T 細胞を除去することにより、感度を高めることができた。また、内因性アトピー性皮膚炎患者において重クロム酸カリウムと硫酸クロムに陽性反応を得、金属アレルギーとのかわりが疑われた。工学的観点からの研究では、溶出金属イオンの測定法には、Newport Green を用いた蛍光色素解析、および ICP-AES 法が有効であることが判明した。今後多面的かつ総合的に、新規診断、治療法を開発していく予定である。

## 分担研究者：

小笠原康悦	東北大学加齢医学研究所 教授 国立国際医療センター研究所 特任研究員	川野光子	国立国際医療センター 協力研究員
戸倉新樹	産業医科大学医学部 皮膚科 教授	田中和沙	国立国際医療センター研究所 特任研究員
梶島健治	京都大学大学院医学研究科准教授	浦野奈央子	国立国際医療センター研究所 研究生
大津浩	東北大学大学院工学研究科 教授	尾藤利憲	産業医科大学 医学部 講師
西屋禎	北海道大学大学院医学研究科講師	杉田和成	産業医科大学 医学部 助教
菅原俊二	東北大学大学院歯学研究科 教授	梶島利江子	産業医科大学 医学部 専門医
高田春比古	東北大学大学院歯学研究科 教授	永井康裕	東北大学大学院歯学研究科 助教
遠藤康男	東北大学大学院歯学研究科 非常勤講師	高橋春江	東北大学大学院歯学研究科 大学院生
		金原正敬	東北大学大学院歯学研究科 大学院生
研究協力者：		田中志典	東北大学大学院歯学研究科 大学院生
笹月健彦	国立国際医療センター 名誉総長		

## A. 研究目的

金属アレルギーは装飾品をつける人口の増加および金属を用いた医療技術の発展に伴い増加しているが、金属アレルギー発症の分子機構は未だ分かっていない。掌蹠膿疱症などの金属アレルギー合併症は総じて難治であり、患者のQOLを著しく妨げている。金属アレルギー診断法としてパッチテストが有効であるものの、その施行および判定には患者の負担が大きく、より効果的な診断法も望まれている。従って本研究は金属アレルギー発症の分子機構を明らかにし、アレルギーの診断、予防、治療に役立つ理論的基盤の確立を目指すことを目的とする。我々の研究班は、これまで観察が困難であった金属アレルギー動物モデルを作製することに昨年度成功し、国際的に高い評価を得ている (*Nature* 2007)。本研究目的を達成するため、

1. 金属アレルギー発症の分子機構の解明 (動物モデルからのアプローチ)
  2. 金属アレルギーにおける細菌成分のアジュバント効果 (自然免疫からのアプローチ)
  3. 新規診断法と治療法の開発へ向けた理論的基盤の確立 (疾患からのアプローチ)
- を specific Aim として設定している。

## B. 方法

### 1. 金属アレルギー発症の分子機構の解明

1) 金属アレルギーにかかわるエフェクター細胞を絞り込むため、マウスモデルを用いて所属リンパ節リンパ球をヌードマウスに養子移入した。金属暴露後、さらに所属リンパ節リンパ球を別のヌードマウスに移入し、金属暴露と養子移入を繰り返すことで、エフェクター細胞を濃縮することを試みた。濃縮された細胞集団をフローサイトメトリーおよび蛍光組織染色により評価した。

2) 金属と結合するペプチドを同定するため、NiとLPSで感作したマウス脾細胞から抗原提示細胞を単離し、界面活性剤で処理し、可溶化画分を調整した。MHC Class II分子と収容溝のペプチドを溶出し、限外濾過法、逆相HPLCカラムにて分析した。さらに、精製ペプチドの活性を評価するためのアッセイ系を確立するため、BALB/cマウスをNi+LPSで腹腔内感作後、ニッケルイオンで尾根部筋肉内にchallengeした。5日後、所属リンパ節と脾臓から

リンパ球を調整し、リンパ球をニッケルイオンとIL-2存在下で3日間培養し、リンパ球の増殖を検討した。

### 2. 金属アレルギーにおける細菌成分のアジュバント効果

1) 金属アレルギーの感作相 (priming, sensitization) を *in vitro* で行うことができるかを調べるため、骨髄由来樹状細胞(DC)を調整し *in vitro* で金属塩とLPSで刺激後、マウスに移入した。その後金属塩を、感作DCを移入したマウスに接種しアレルギーが誘導できるか検討した。

2) 各種TLR系ならびにNOD系リガンド(マイコプラズマ型合成リポペプチド、FK156、ムラミルジペプチド)などを用いて金属アレルギーにおける感作相 (priming, sensitization) と惹起相 (challenge, elicitation) のそれぞれの段階での細菌成分の重要性についてマウスモデルを用いて検討した。口腔内細菌である *P. intermedia*, *P. gingivalis* のLPS画分を用いて惹起相における細菌成分の重要性についてマウスモデルを用いて検討した。

### 3. 新規診断法と治療法の開発へ向けた理論的基盤の確立

1) マウスモデルを用いた養子移入の結果から、CD8<sup>+</sup>T細胞が有力なエフェクター細胞の候補と考えられることから、Class Iへの抗原提示に重要なプロテアソームを標的とし、プロテアソームインヒビターを用いて金属アレルギーの発症を抑制できるか検討した。また、養子移入を繰り返したCD8<sup>+</sup>T細胞においてNKG2Dが発現することから、抗NKG2D抗体により金属アレルギーの発症を抑制できるかも検討した。

2) 溶出金属イオンの測定法を開発するため、マウスの背部皮下に種々の金属を植え込み炎症反応を惹起させた。周辺組織中の金属濃度をNewport Greenを用いた蛍光法とICP-AES法で測定した。

3) パッチテスト(PT)で陽性を確認した金属アレルギー患者の末梢血からPBMCを分離した。制御性T細胞(Treg)を除去後、PT陽性の金属(NiSO<sub>4</sub>, NiCl<sub>2</sub>, MnCl<sub>2</sub>, CrCl<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>など)と混合培養し、<sup>3</sup>[H]thymidineの取り込みにて評価した (lymphocyte transformation test; LTT)。

4) 外因性および内因性アトピー性皮膚炎患者において、金属アレルギーの関与をパッチテストを用いて検討した。また、Th17 細胞の関与についても追究した。

#### (倫理面への配慮)

患者サンプルを用いた研究においては、「臨床研究に関する倫理指針(平成 15 年厚生労働省告示第 255 号)」、およびその「改正指針(平成 16 年厚生労働省告示第 459 号)」に従い、被験者には十分な研究内容の説明を口頭と文書の両方伝え、承諾を確認している。さらに、個人情報保護法に基づき保存される検体試料や研究データの匿名化は、患者に対し独自の ID を付与し、病院での患者 ID、氏名、住所、電話番号を削除する連結可能匿名化にて行っている。これらの実施に際し、施設内の倫理委員会において本研究計画の承認を得ている。実験動物の使用においては、各研究機関の実験動物委員会の審査及び承認を受け、各機関の倫理基準を厳守している。また、遺伝子組み換え実験については、各研究機関のバイオ・セーフティー委員会の承認を受けて実施している。

### C. 研究結果

#### 1. 金属アレルギー発症の分子機構の解明

1) 金属暴露、養子移入を繰り返すことにより、CD8/CD4 比が変化し、TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞が濃縮されることが判明した。また、CD8<sup>+</sup>細胞は NKG2D を発現するようになった。さらに、養子移入前の BALB/c マウスリンパ球は、V $\beta$  8 CD8<sup>+</sup>細胞細胞が TCR $\alpha\beta$ <sup>+</sup>細胞の中で優位に存在していたが、金属暴露、養子移入を繰り返すことにより、V $\beta$  8 CD8<sup>+</sup>細胞はほとんど存在しなくなり、TCR レパトアが変化することが判明した。

2) 金属と結合するペプチドに関して、逆相 HPLC カラムの分析により、精製した試料中に約 10 のピークを得た。この中に金属と結合するペプチドが存在する可能性が高い。さらに、この精製ペプチドの活性を評価するためのアッセイ系を確立することに成功した。

#### 2. 金属アレルギーにおける細菌成分のアジュバント効果

1) PdCl<sub>2</sub> + LPS 処理 DC 移入群は、未処理 DC 移入群と比較して PdCl<sub>2</sub> による challenge で優位な腫脹の増大を示した。PdCl<sub>2</sub> 処理 DC 移入群は、未処理 DC 移入群と比較して 48 時間以降の腫脹が増大する傾向を示した。

2) 微生物関連物質はいずれも感作相と惹起相の両ステップで Ni-allergy を促進した。とくにそれ自体の炎症作用が極めて弱いマンナンが、かなり強いアジュバント効果をもつ。歯周病関連細菌の *P. intermedia* ならびに *P. gingivalis* の菌体成分では TLR2 リガンドのリポペプチドが金属アレルギー発症に重要である。

### 3. 新規診断法と治療法の開発へ向けた理論的基盤の確立

1) 抗 NKG2D 抗体を投与したマウスでは、金属アレルギーの発症が有意に抑制された。また、プロテアソームインヒビターの投与によっても、金属アレルギーの発症を抑制できた。

2) 溶出金属イオンの測定法として、Newport Green を用いた蛍光法と ICP-AES 法を用いたところ、Newport Green による測定では特異性がなかったニッケルと亜鉛を ICP-AES 法では分けて測定することができることがわかった。測定の感度はほぼ同程度であった。

3) Ni アレルギーの患者において、Ni に対する LTT の高値を認めた。また、SI は CD25 陽性制御性 T 細胞を除去することにより上昇した。

4) 内因性アトピー性皮膚炎患者 1 例において重クロム酸カリウムと硫酸クロムに陽性反応をみた。

### D. 考察

#### 1. 金属アレルギー発症の分子機構の解明

1) 金属暴露、養子移入の繰り返しによりエフェクター細胞が濃縮できることが判明した。エフェクター細胞の 1 つとして TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞が考えられる。金属アレルギー炎症が繰り返されるにつれて NKG2D の発現が増強することが判明し、治療標的の候補となった。金属アレルギーにより TCR レパトアに変化が見られることから、今後、金属アレルギー特異的 T 細胞の TCR を解明し、TCR レパトアの検出がヒト金属アレルギーの新規診断法として有用か追究する。

2) 本研究により自己抗原ペプチドを精製できることが判明した。今後、精製の精度とスケールを上げ、LC/MS/MS 分析により、金属アレルギー発症に関与する自己抗原ペプチドを同定する。

## 2. 金属アレルギーにおける細菌成分のアジュバント効果

1) *in vitro* で金属イオンを処理した DC を移入することにより感作を成立させることが可能であり、今後この実験系を用いて、効果的 LTT アッセイの開発、および提示されるペプチドの同定などを試みる。  
2) 様々な菌体成分が金属アレルギー惹起反応を増強した。LPS 存在下での金属アレルギーの交差反応はかなり広く、かつ、極めて低濃度で起こるという知見は、これがヒト金属アレルギーにおいても事実であるとすれば、金属アレルギーの診断や治療を考える上で極めて重要である。パッチテストの見直しも考慮に値する。

## 3. 新規診断法と治療法の開発へ向けた理論的基盤の確立

1) マウスモデルにおいて金属アレルギー炎症が繰り返されるにつれて NKG2D の発現が増強すること、抗 NKG2D 抗体の投与により炎症が軽減されることから、NKG2D は金属アレルギーの新たな治療標的となりうることが判明した。また、MHC Class I への抗原提示にはプロテアソームが重要であり、プロテアソームインヒビターにより発症を有意に抑制できることから、プロテアソームも治療標的となりうることを判明した。  
2) 溶出金属イオンの測定法として Newport Green を用いた蛍光色素を用いた解析でも Ni の量を定量することが可能である。また ICP-AES 法も有力な測定法であり、今後、測定に必要な最小量を検討し、実用化に向けて追究する。  
3) LTT アッセイは、末梢血から制御性 T 細胞を除去することにより、測定感度が増強することが判明した。一方、健康人では制御性 T 細胞を除去しても擬陽性とはならず、末梢血から制御性 T 細胞を除去することは効果的である。今後、更なる症例数を重ねて、本コンセプトの正しさを検証する。

## E. 結論

1) 金属暴露、養子移入を繰り返すことにより、CD8/CD4 比が変化し、TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞が濃縮されることが判明した。金属アレルギーの発症において TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞に NKG2D の発現が誘導されること、TCR レパトアが変化することが明らかとなった。抗 NKG2D 抗体の投与、およびプロテアソームインヒビター投与でも金属アレルギーの発症を有意に抑制できることが判明した。すなわち、NKG2D やプロテアソームは金属アレルギーの治療標的になり得る。

2) 金属アレルギー発症に関与する精製ペプチドの活性を評価するアッセイ系を確立することに成功した。

3) 溶出金属イオンの測定法には、Newport Green を用いた蛍光色素解析、および ICP-AES 法が有効である。

4) 感染や微生物成分が極めて重要な金属アレルギー促進因子であること、また、いったん感作が成立すると、極めて低い濃度で種々の金属イオンもアレルギー反応を誘導することが判明した。菌周病関連細菌の *P. intermedia* ならびに *P. gingivalis* の菌体成分では TLR2 リガンドのリポペプチドが金属アレルギー発症に重要である。

5) *In vitro* で金属イオンと TLR リガンドを同時処理した骨髄由来 DC を移入することにより、金属アレルギーの感作が成立することがわかった。

6) 金属に対するヒトサンプル LTT アッセイにおいて、制御性 T 細胞を除去することにより、感度を高めることができた。

7) 内因性アトピー性皮膚炎患者 1 例において重クロム酸カリウムと硫酸クロムに陽性反応をみた。

## F. 研究危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

論文発表	総計	66報
原著論文		39報
書籍、総説論文		27報

### 1) 原著論文

1. Talorete TPN, Limam A, Kawano M, Ben Rejeb



- Jenhani A, Ghrabi A, Isoda H. (2008) Stress response of mammalian cells incubated with landfill leachate. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27: 1084-1092
2. Kawano M, Matsuyama K, Miyamae Y, Shinmoto H, Kchouk ME, Morio T, Shigemori H, Isoda H. (2007) Antimelanogenesis effect of Tunisian herb *Thymelaea hirsuta* extract on B16 murine melanoma cells. *Exp. Dermatol*. 16: 977-984
  3. Limam A, Talorete TPN, Ali MB, Kawano M, Ben Rejed Jenhani A, Abe Y, Ghrabi A, Isoda H. (2007) Assessment of estrogenic activity in Tunisian water and wastewater by the E-Screen assay. *Enviro.l Sci*. 14: 43-52
  4. Kobayashi M, Yoshiki R, Sakabe J, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y. Expression of toll-like receptor 2, NOD2 and dectin-1 and stimulatory effects of their ligands and histamine in normal human keratinocytes. *Br J Dermatol* (in press).
  5. Atarashi K, Kabashima K, Akiyama K, Tokura Y: Skin application of the nonsteroidal anti-inflammatory drug ketoprofen downmodulates the antigen-presenting ability of Langerhans cells in mice. *Br J Dermatol* (in press).
  6. Yoshiki R, Kabashima K, Sugita K, Atarashi K, Shimauchi T, Tokura Y. IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells are responsible for depressed contact hypersensitivity in grafted skin. *J Invest Dermatol* (in press).
  7. Hino R, Orimo H, Kabashima K, Atarashi K, Nakanishi M, Kuma H, Tokura Y. Evaluation of photoallergic potential of chemicals using THP-1 cells. *J Dermatol Sci* 2008; 52:140-143.
  8. Nakashima D, Kabashima K, Sakabe JI, Sugita K, Kobayashi T, Yoshiki R, Tokura Y. Impaired initiation of contact hypersensitivity by FTY720. *J Invest Dermatol* 2008; 128:2833-2841
  9. Koga C, Kabashima K, Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008; 128:2625-2630.
  10. Mori T, Kabashima K, Yoshiki R, Sugita K, Shiraishi N, Onoue A, Kuroda E, Kobayashi M, Yamashita U, Tokura Y. Cutaneous hypersensitivities to hapten are controlled by IFN-gamma upregulated keratinocyte Th1 chemokines and IFN-gamma downregulated Langerhans cell Th2 chemokines. *J Invest Dermatol* 2008; 128:1719-1727.
  11. Hino R, Nishio D, Kabashima K, Tokura Y. Percutaneous penetration via hand eczema is the major accelerating factor for systemic absorption of toluene and xylene during car spray painting. *Contact Dermatitis* 2008, 58:76-79
  12. Yoshiki R, Kabashima K, Sugita K, Atarashi K, Shimauchi T, Tokura Y. IL-10-Producing Langerhans Cells and Regulatory T Cells Are Responsible for Depressed Contact Hypersensitivity in Grafted Skin. *J Invest Dermatol* 2008.
  13. Sugita K, Koga C, Kabashima K, Tokura Y. Occupational contact dermatitis due to polyvinylamine. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22:1130.
  14. Nakashima D, Kabashima K, Sakabe J, Sugita K, Kobayashi T, Yoshiki R, et al. Impaired initiation of contact hypersensitivity by FTY720. *J Invest Dermatol* 2008; 128:2833-41.
  15. Koga C, Kabashima K, Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2008; 128:2625-30.
  16. Hino R, Orimo H, Kabashima K, Atarashi K, Nakanishi M, Kuma H, et al. Evaluation of photoallergic potential of chemicals using THP-1 cells. *J Dermatol Sci* 2008; 52:140-3.
  17. Hino R, Nishio D, Kabashima K, Tokura Y. Percutaneous penetration via hand eczema is the major accelerating factor for systemic absorption of toluene and xylene during car spray painting. *Contact Dermatitis* 2008; 58:76-9.
  18. Horinouchi T, Miyake Y, Nishiya T, Nishimoto A, Morishima S, Muramatsu I, Miwa S. Functional role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in Ca<sup>2+</sup> influx mediated via human endothelin type A receptor

- stably expressed in Chinese hamster ovary cells (2007). *J. Pharmacol. Sci.* 107(4), 456-459.
19. Kuroishi T, Endo Y, Muramoto K, Sugawara S. Biotin deficiency up-regulates TNF- $\alpha$  production in murine macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 83 (4): 912-920, 2008.
  20. Sakai A, Sugawara Y, Kuroishi T, Sasano T, Sugawara S. Identification of IL-18 and Th17 cells in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome, and amplification of IL-17-mediated secretion of inflammatory cytokines from salivary gland cells by IL-18. *J. Immunol.* 181 (4): 2898-2906, 2008.
  21. Kuroishi T, Kinbara M, Sato N, Tanaka Y, Nagai Y, Iwakura Y, Endo Y, Sugawara S. Exacerbation of metal allergy by biotin deficiency via up-regulation of IL-1 $\alpha$  production in mice. *J. Nutri.* in press.
  22. Uehara A, Naito M, Imamura T, Potempa J, Travis J, Nakayama K, Takada H (2008) Dual regulation of interleukin-8 production in human oral epithelial cells upon stimulation with gingipains from *Porphyromonas gingivalis*. *J Med Microbiol* 57(4):500-507.
  23. Uehara A, Imamura T, Potempa J, Travis J, Takada H. (2008) Gingipains from *Porphyromonas gingivalis* synergistically induce the production of proinflammatory cytokines through protease-activated receptors with Toll-like receptor and NOD1/2 ligands in human monocytic cells. *Cell Microbiol* 10(5):1181-1189.
  24. Uehara A, Takada H. (2008) Synergism between TLRs and NOD1/2 in oral epithelial cells. *J Dent Res* 87(7):682-686.
  25. Uehara A, Hirabayashi Y, Takada H. (2008) Antibodies to proteinase 3 prime human oral, lung, and kidney epithelial cells to secrete proinflammatory cytokines upon stimulation with agonists to various Toll-like receptors, NOD1, and NOD2. *Clin Vaccine Immunol* 15(7):1060-1066.
  26. Yano T, Mita S, Ohmori H, Oshima Y, Fujimoto Y, Ueda R, Takada H, Goldman WE, Fukase K, Silverman N, Yoshimori T, Kurata S. (2008) Autophagic control of listeria through intracellular innate immune recognition in drosophila. *Nat Immunol* 9(8):908-916.
  27. Nemoto E, Honda T, Kanaya S, Takada H, Shimauchi H. (2008) Expression of functional Toll-like receptors and nucleotide-binding oligomerization domain proteins in murine cementoblasts and their upregulation during cell differentiation. *J Periodont Res* 43(5):585-593.
  28. Natsuka M, Uehara A, Yang S, Echigo S, Takada H. (2008) A polymer-type water-soluble peptidoglycan exhibited both Toll-like receptor 2- and NOD2-agonistic activities, resulting in synergistic activation of human monocytic cells. *Innate Immunity* 14(5):298-308.
  29. Kuroishi T, Endo Y, Muramoto K, Shunji Sugawara. Biotin deficiency up-regulates TNF- $\alpha$  production in murine macrophages. *J Leukocyte Biol* 2008;83:912-920.
  30. Oizum T, Yamaguchi K, Funayama H, Kuroishi T, Kawamura H, Sugawara S, Endo Y. Necrotic Actions of Nitrogen-Containing Bisphosphonates (NBPs) and Their Inhibition by Clodronate (a non-NBP) in Mice: Potential for Utilization of Clodronate as a Combination Drug with an NBP. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* (in press)
  31. Deng X, Tamai R, Endo Y, Kiyoura Y. Alendronate augments interleukin-1 $\beta$  release from macrophages infected with periodontal pathogenic bacteria through activation of caspase-1. *Toxicol Appl Pharmacol.* (in press)
  32. Musio S, Pedotti P, Mantegazza R, Ohtsu H, Boon L, Steinman L, Galli SJ, Pedotti R. Anaphylaxis to a self-peptide in the absence of mast cells or histamine. *Lab Invest* in press
  33. Brabant C, Alleva L, Grisar T, Quertemont E, Lakaye B, Ohtsu H, Lin J-S, Jatlow P, Picciotto M, Tirelli E. The H<sub>3</sub> inverse agonist thioperamide potentiates cocaine-induced locomotion: role of the histaminergic system and potential

- pharmacokinetic effects **Psychopharmacology** in press
34. Shiohara M, Shigemura T, Suzuki T, Tanaka M, Morii E, Ohtsu H, Shibahara S, Koike K. MITF-CM, a newly identified isoform of microphthalmia-associated transcription factor, is expressed in cultured mast cells. **Int J Lab Hematol** in press
  35. Leite-de-Moraes MC, Diem S, Michel ML, Ohtsu H, Thurmond RL, Schneider E, Dy M. Histamine receptor H4 Activation Positively Regulates *in vivo* IL-4 and IFN- $\gamma$  Production by invariant natural killer T cells. **J Immunol** 182, 1233-1236, 2009
  36. Andou A, Hisamatsu H, Okamoto S, Chinen H, Kamada N, Kobayashi T, Hashimoto M, Okutsu T, Shimbo K, Takeda T, Matsumoto H, Sato A, Ohtsu H, Suzuki M, Hibi T. Dietary histidine ameliorates murine colitis by inhibition of pro-inflammatory cytokine production from macrophages. **Gastroenterol** 136, 567-574, 2009
  37. Yamauchi K, Piao HM, Nakadate T, Shikanai T, Nakamura Y, Ito H, Mouri T, Kobayashi H, Maesawa C, Sawai T, Ohtsu H, Inoue H. Enhanced Goblet Cell Hyperplasia in HDC Knockout Mice with Allergic Airway Inflammation. **Allergology International** 58, 125-134, 2009
  38. Yamauchi K, Piao HM, Nakadate T, Shikanai T, Nakamura Y, Niisato M, Ito H, Mouri T, Kobayashi H, Maesawa C, Sawai T, Ohtsu H, Inoue H. Progress in allergy signal research on mast cells: the role of histamine in goblet cell hyperplasia in allergic airway inflammation - a study using the hdc knockout mouse. **J Pharmacol Sci** 106, 354-360, 2008
  39. Beghdadi W, Porcherie A, Dubayle D, Peronet R, Khun H, Huerre M, Watanabe T, Ohtsu H, Louis J, Mécheri S. Histidine decarboxylase deficiency is associated with significant protection against severe malaria in mice. **J Exp Med** 205, 395-408, 2008
- 2) 書籍、総説論文
1. 著者: Anthony L. DeFranco, Richard M. Locksley, Miranda Robertson  
題名: Immunity -The Immune Response in Infectious and Inflammatory Disease  
Chapter 8, Specialized Lymphocytes in Early Responses and Homeostasis  
出版社: Oxford University Press  
(翻訳: 小笠原康悦, 監訳: 笹月健彦)  
年月: 2009
  2. Alenius H, Roberts DW, Tokura Y, Lauerma A, Patlewicz, Roberts MS: Skin, Drug and Chemical Reactions. **Drug Discovery Today**, 2008 (in press).
  3. 戸倉新樹: アトピー性皮膚炎の奏効機序からみた Narrowband UVB と PUVA 療法のケラチノサイトに対する影響. **皮膚の科学** 6: 6-10, 2007.
  4. 戸倉新樹: ウイルス感染と薬剤性過敏症候群 (DIHS). **アレルギーの臨床** 28: 210-215, 2008.
  5. 戸倉新樹: 保育園で問題になる皮膚疾患: アトピー性皮膚炎について. **保育と保健** 14: 108-112, 2008.
  6. 戸倉新樹: 職業性アレルギー性皮膚疾患. **Topics in Atopy** 7: 4-8, 2008.
  7. 戸倉新樹: 光免疫抑制. **アレルギーの臨床** 28: 560-565, 2008.
  8. 戸倉新樹: 紫外線による免疫抑制. **太陽紫外線防御研究委員会学術報告書** 18: 7-13, 2008.
  9. 戸倉新樹: 薬剤性過敏症候群とヒトヘルペスウイルス. **臨床免疫・アレルギー科** 50: 302-306, 2008.
  10. 戸倉新樹: アトピー性皮膚炎の病態からみた早期介入の意味. **皮膚の科学** 7: 1-4, 2008.
  11. 戸倉新樹: 光線療法の作用機序: UVB と PUVA 療法の細胞学的メカニズム. **日皮会誌** 118: 2865-2867, 2008.
  12. 戸倉新樹: 皮膚 T 細胞性リンパ腫とケモカイン受容体. **WHAT'S NEW in 皮膚科学**. 宮地良樹編, **メディカルレビュー社** pp114-115, 2008.
  13. 戸倉新樹: 光アレルギーとは? **スキンケア最前線**. 宮地良樹編, **メディカルレビュー社**, pp158-159, 2008.
  14. 戸倉新樹: 薬剤性光線過敏症. 1冊でわかる光皮膚科学. 森田明理他編 **文光堂** 130-134,

2008.

15. 戸倉新樹：光線過敏型蕁麻疹。蕁麻疹のすべて。池澤善郎，相原道子編。南江堂 2008, pp 222-227.
16. 戸倉新樹：光線過敏症と起こしうる皮膚科治療薬は？ 現場の疑問に答える皮膚病治療薬。宮地良樹，大谷道輝編 中外医学社 2008, 293-294.
17. 戸倉新樹：物理化学的皮膚障害・光線過敏症。皮膚科典型アトラス 560 日本医事新報社 pp61-66, 2008.
18. 戸倉新樹：アレルギー・マーチって何？皮膚科医の立場から。小児の皮膚トラブル FAQ。宮地良樹他編 診断と治療社 2008, pp100-101.
19. Kabashima K, Tokura Y. The potential of selected prostanoid receptors as targets in a new therapeutic strategy for allergy and immune diseases. *Curr Drug Saf* 2007; 2:186-92.
20. 著者：梶島健治  
題名：一冊でわかる光皮膚科 「紫外線と表皮角化細胞」  
掲載誌：文光堂 東京 p14-16 2008
21. 著者：梶島健治  
皮膚の抗原提示細胞の分類と免疫・アレルギーの制御  
掲載誌：西日本皮膚科70巻5号 Page475-477
22. 著者：梶島健治  
題名：樹状細胞のプロスタグランジンE2によるTh1細胞の分化誘導  
掲載誌：臨床免疫・アレルギー科50巻3号 Page339-344
23. 著者：梶島健治  
題名：炎症と脂質メディエーター 「皮膚免疫と脂質メディエーター」  
掲載誌：BIO Clinica 1月号 北隆館 2008
25. 著者：Tadashi Nishiyu, Anthony L. DeFranco  
題名：Signaling by Toll-like receptors 出版社：CRC Press 年月：2008
26. 著者：佐藤直樹、金原正敬、高橋春江、黄玲、船山ひろみ、黒石智誠、山本照子、佐々木啓一、高田春比古、菅原俊二、遠藤康男  
題名：ニックレルアレルギーの自然免疫を背景とした発症機序  
掲載誌：臨床免疫・アレルギー科 Vol 50 (5)

頁：618-624 年月：2008年11月

27. Ohtsu H. The role of histamine in immunological and cardiovascular disease, and the transporting system of histamine in the cell. *J Pharmacol Sci (Review)* 106, 347-353, 2008

## 2. 学会発表

学会発表 総計	104件
国際学会発表	34件
国内学会発表	70件

## 国際学会

1. Ogasawara K, Ishizaki K, Urano N, Fjiwara N, Sasazuki T. Genomic analysis of RAE-1 genes. HFSP annual meeting, Berlin, Germany, 2008.
2. Tokura Y: Simultaneous expression of regulatory T cell markers and PD-1 in adult T cell leukemia/lymphoma. 4<sup>th</sup> International Symposium on the Biology and Immunology of Cutaneous Lymphomas. Berlin, 2008.1.11.
3. Tokura Y: Exhausted malignant T regulatory cells in ATL. 1<sup>st</sup> KSID-JSID Joint Symposium. Seoul, 2008, 3.21.
4. Tokura Y: Cytological profiles of ATL. International Society for Cutaneous Lymphoma (ISCL) Symposium. Kyoto, 2008.5.13.
5. Kobayashi M, Sakabe J, Yoshiki R, Kabashima K, Tokura Y: Histamine as a key enhancer for skin innate immunity to fungi. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
6. Koga C, Kabashima K, Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y: Possible pathogenic role of Th17 Cells for atopic dermatitis. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
7. Shimauchi T, Sugita K, Nishio D, Isoda H, Abe S, Yamada Y, Hino R, Ogata M, Kabashima K, Tokura Y: Alterations of serum Th1 and Th2 chemokines by combination therapy of interferon- $\gamma$  and narrowband UVB in patients with mycosis fungoides. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
8. Yohiki R, Sugita K, Kabashima K, Tokura Y: Increased epidermal RANKL of grafted skin

- induces IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells tolerogenic for contact hypersensitivity. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
9. Sugita K, Kabashima K, Yoshiki R, Tokura Y : Inducible nitric oxide synthase regulates dendritic cell migration and contributes to contact hypersensitivity . International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  10. Fukamachi S, Kabashima K, Shiraishi N, Kobayashi M, Tokura Y : Histamine and PAR-2 agonist upmodulate the production of cytokines/chemokines but modulate semaphorin 3A production in human keratinocyte.. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  11. Shiraishi N, Kabashima K, Koga Y, Tokura Y : Prostaglandin E2-EP3 signaling, as a negative regulator of skin immune responses by suppressing cutaneous dendritic cell functions. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  12. Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tokura Y : Decreased expression of DKK-1 as pathogenesis of pachydermoperiostosis. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  13. Mori T, Kabashima K, Yoshiki R, Sugita K, Shiraishi N, Kuroda E, Yamashita U, Tokura Y. : Cutaneous Hypersensitivities to Hapten Are Controlled by IFN- $\gamma$ -Upregulated Keratinocyte Th1 Chemokines and IFN- $\gamma$ -Downregulated Langerhans Cell Th2. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  14. Nishio D, Nakashima D, Mori T, Kabashima K, Tokura Y: Induction of eosinophilic-infiltrating drug photoallergy in mice. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
  15. Shiraishi N, Kabashima K, Tokura Y: Prostaglandin E2-EP3 signaling serves as a negative regulator of skin immune responses by suppressing cutaneous dendritic cell functions. The 10<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
  16. Sugita K, Kabashima K, Yoshiki R, Tokura Y: Inducible nitric oxide synthase downmodulates contact hypersensitivity by suppression dendritic cell survival and functions. The 10<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
  17. Yoshiki R, Kabashima K, Sugita K, Tokura Y: RANKL from apoptotic keratinocytes and IL-10-producing Langerhans cells play critical roles for UVB induced immunosuppression. The 10<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
  18. Fukamachi S, Shiraishi N, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y: Semaphorin 3A production by human keratinocyte and fibroblast. 18<sup>th</sup> International Symposium of Itch, Tokyo, 2008.
  19. N Shiraishi, K Kabashima, Y Tokura: Prostaglandin E2-EP3 signaling, as a negative regulator of skin immune responses by suppressing cutaneous dendritic cell functions. (IID 2008)
  20. C Koga, K Kabashima, N Shiraishi, M Kobayashi, and Y Tokura :Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. (IID 2008)
  21. T Shimauchi, K Sugita, D Nishio, H Isoda, S Age, Y Yamada, R Hino, M Ogata, K Kabashima and Y Tokura :Alterations of serum Th1 and Th2 chemokines by combination therapy of interferon-g and narrowband UVB in patients with mycosis fungoides. (IID 2008)
  22. R Yoshiki, K Sugita, K Kabashima and Y Tokura :Increased epidermal RANKL of grafted skin induces IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells tolerogenic for contact hypersensitivity. (IID 2008)
  23. D Nishio, D Nakashima, T Mori, K Kabashima and Y Tokura :Induction of eosinophil-infiltrating drug photoallergy in mice. (IID 2008)
  24. M Kobayashi, R Yoshiki, K Kabashima, and Y Tokura :Histamine as a key enhancer for skin innate immunity to fungi. (IID 2008)
  25. Nakashima, K Kabashima, J Sakabe, R Yoshiki and Y Tokura :Role of SIP-SIP1 signaling in the establishment of contact hypersensitivity. D (IID 2008)
  26. T Mori, K Kabashima, R Yoshiki, K Sugita, N Shiraishi, A Onoue, E Kuroda, M Kobayashi, U

- Yamashita, and Y Tokura :Cutaneous hypersensitivities to hapten are controlled by IFN-g-upregulated keratinocytes Th1 chemokines and IFN-g-downregulated Langerhans cell Th2 chemokine. (IID 2008)
27. K Sugita, K Kabashima, R Yoshiki, and Y Tokura :Inducible nitric oxide synthase regulates dendritic cell migration and contributes to contact hypersensitivity. (IID 2008)
28. Kabashima K.:Langerhans cells and prostaglandins: contribution to the etiology and pathogenesis of atopic dermatitis and related disorders (symposium) 5th Georg Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis, Kyoto, April 2008
29. Kuroishi T, Endo Y, Muramoto K, Sugawara S. Biotin deficiency up-regulates tumor necrosis factor- $\alpha$  production in murine macrophages. The 95th Annual Meeting of the American Association of Immunologists, San Diego, USA, 2008年4月5-9日
30. Nagai Y, Kuroishi T, Ohki A, Sugawara S. Induction of Treg from PBMC by interacting with immunosuppressive molecules on oral mesenchymal stem cells from human gingival fibroblasts. The American Society for Cell Biology Annual Meeting, San Francisco, USA, 2008年12月13-18日
31. Sato T, Endo Y, Shimauchi H, Takada H: Analgesic effects of NOD1 and NOD2 agonists. The 3<sup>rd</sup> International Symposium for Interface Oral Health Science, Sendai, 2009.1.15-16. Program and Abstracts 62-63, 2009.
32. Tanaka Y, Nagai Y, Kuroishi T, Takada H, Endo Y, Sugawara S: Anaphylaxis-like shock induced by LPS plus anti-neutrophil antibodies in mice. The 3<sup>rd</sup> International Symposium for Interface Oral Health Science, Sendai, 2009.1.15-16. Program and Abstracts 63, 2009.
33. Shikama Y, Kuroishi T, Nagai Y, Shimauchi H, Takada H, Sugawara S, Endo Y.: Muramyldipeptide augments the actions of LPS via multiple fashions in mice. The 3<sup>rd</sup> International Symposium for Interface Oral Health Science, Sendai, 2009.1.15-16. Program and Abstracts 64, 2009.
34. Takahashi H, Kinbara M, Kuroishi T, Takada H, Sasaki K, Sugawara S, Endo Y. Nickel allergy in mice: effects of microbial milieu or inflammation on its priming phase (Kim-Jim Symposium). The Korean Institute of Metals and Materials 2008 Fall Conference. 2008.9.23-24, 韓国 (仁川)

#### 国内学会

1. 浦野奈央子, 川野光子, 田中和沙, 岩崎之克, 中村雅典, 小笠原康悦 「金属アレルギーモデルマウスにおける耳介真皮へのT細胞の浸潤」第50回歯科基礎医学会、東京、2008年9月
2. Kawano M, Urano N, Tanaka-Ishizaki K, Ogasawara K. Pathological analysis using molecular cell biological methods of mouse model for metal allergy. The 38th Annual Meeting of Japanese Society for Immunology, Kyoto, Dec. 2008.
3. Tanaka-Ishizaki K, Kawano M, Urano N, Ogasawara K. RAE-1 is expressed on tumor associated macrophages. The 38th Annual Meeting of Japanese Society for Immunology, Kyoto, Dec. 2008
4. 梶島健治  
「脂質メディエーターの免疫における新たな役割」(シンポジウム)  
分子生物・生化学会合同集会 (BMB2008) 神戸、2008年11月
5. 梶島健治  
「Th17とアトピー性皮膚炎」(シンポジウム)  
日本アレルギー学会 東京、2008年11月
6. 梶島健治  
「皮膚アレルギーの新しい知見と臨床応用の可能性について」(ランチョンセミナー)  
第38回 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学術大会 大阪、2008年11月
7. 梶島健治  
「IL-17とTh2型免疫応答」シンポジウム  
第38回 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学術大会 大阪、2008年11月
8. 梶島健治

「接触皮膚炎と樹状細胞」

第346回 日本皮膚科学会 福岡地方会  
北九州 2008年9月

9. 梶島健治

「脂質メディエーターの皮膚における新たな役割」

第4回 JSI-RCAI 免疫ワークショップ 甲府  
2008年5月

10. 梶島健治

「脂質メディエーターの免疫・アレルギーにおける新たな役割」

第128回 日本薬学会総会 横浜 2008年3月

11. 三宅由美恵、堀之内孝広、西屋禎、西本新、三輪聡一

：エンドセリンA型受容体を介して活性化されるCa<sup>2+</sup>シグナリングの多様性、第22回北海道薬物作用談話会、札幌、2008年7月26日

12. 藤井俊輔、朝野拓史、片山貴博、堀之内孝広、西屋禎、西本新、南雅文、三輪聡一

：タバコ煙に含まれる血管壁構成細胞障害因子の性状解析、第21回北海道薬物作用談話会、第22回北海道薬物作用談話会、札幌、2008年7月26日

13. 三宅由美恵、堀之内孝広、西屋禎、西本新、三輪聡一

：エンドセリンA型受容体を介した細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇反応に関与するシグナルカスケードの多様性、第59回日本薬理学会北部会、仙台、2008年9月27日

14. 西本新、魯凌云、西屋禎、堀之内孝広、三輪聡一

：エンドセリンA型受容体(ET<sub>A</sub>R)結合蛋白質Jab1によるET<sub>A</sub>R蛋白質分解制御機構の解明、第59回日本薬理学会北部会、仙台、2008年9月27日

15. 西本新、魯凌云、西屋禎、堀之内孝広、三輪聡一

：エンドセリンA型受容体(ET<sub>A</sub>R)結合蛋白質Jab1によるET<sub>A</sub>Rレベルの調節、第18回日本循環薬理学会、千葉、2008年11月21日

16. 堀之内孝広、西屋禎、西本新、森島繁、村松郁延、三輪聡一

：エンドセリンA型受容体により誘発される持続性Ca<sup>2+</sup>流入の分子機構、第18回日本循環薬理学会、千葉、2008年11月21日

17. 菅原俊二、(シンポジウム、免疫制御の科学)

口腔粘膜疾患発症の分子機構とその制御、第62

回日本口腔科学会学術集会(福岡)2008年4月17、18日

18. 佐藤恭子、黒石智誠、菅原由美子、笹野高嗣、菅原俊二、IL-18 Tgマウスにおける唾液腺の組織学的変化と浸潤リンパ球の解析、第62回日本口腔科学会学術集会(福岡)2008年4月17、18日

19. 酒井梓、菅原由美子、黒石智誠、笹野高嗣、菅原俊二、シェーグレン症候群の唾液腺における病態発現にはIL-18とTh17が関与する、第62回日本口腔科学会学術集会(福岡)2008年4月17、18日

20. 大泉丈史、山口晃史、川村仁、黒石智誠、菅原俊二、遠藤康男、骨吸収抑制薬 bisphosphonates (BP) による壊死作用：窒素含有BP (NBP) と窒素非含有BP (non-NBP) の作用の違い、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム(仙台)2007年5月19日

21. 大木(小澤)亜紀子、小峯健一、黒石智誠、小峯優美子、南 匠、島内英俊、菅原俊二、歯周疾患における診断指標としての唾液中炎症性ラクトフェリン・ポリペプチド(「第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム優秀研究賞」受賞)、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム(仙台)2007年5月19日

22. 鈴木 淳、小川祐平、山田雄大、天野一字、田浦勝彦、井川恭子、丹田奈緒子、斎藤恵一、相田潤、渋谷芳郎、伊藤恵美、小峯健一、小坂 健、菅原俊二、小関健由、安静時唾液と歯科疾患との関連性の解析、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム(仙台)2007年5月19日

23. 酒井梓、菅原由美子、黒石智誠、笹野高嗣、菅原俊二、シェーグレン症候群の唾液腺における病態発現にはIL-18とTh17が関与する、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム(仙台)2007年5月19日

24. 高橋春江、金原正敬、黒石智誠、高田春比古、佐々木啓一、菅原俊二、遠藤康男、マウスにおけるニッケルアレルギー：感作過程における各種微生物成分および炎症性物質の効果、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム(仙台)2007年5月19日

25. 四釜洋介、島内英俊、高田春比古、菅原俊二、

- 遠藤康男, Muramyl-dipeptide によるマウス組織における IL-1 $\alpha$  の産生: Endotoxin shock 増強効果との関連性. 第 5 回東北大学バイオサイエンスシンポジウム (仙台) 2007 年 5 月 19 日
26. 金原正敬, 黒石智誠, 山本照子, 菅原俊二, 遠藤康男, マウスにおけるニッケルアレルギー: 交差反応および LPS のニッケル濃度におよぼす効果. 第 5 回東北大学バイオサイエンスシンポジウム (仙台) 2007 年 5 月 19 日
27. 田中志典, 黒石智誠, 菅原俊二, 遠藤康男, LPS と好中球によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック. 第 5 回東北大学バイオサイエンスシンポジウム (仙台) 2007 年 5 月 19 日
28. 黒石智誠, 金原正敬, 遠藤康男, 菅原俊二, ピオチンによる金属アレルギー炎症の制御. 第 5 回東北大学バイオサイエンスシンポジウム (仙台) 2007 年 5 月 19 日
29. 田中志典, 黒石智誠, 菅原俊二, 遠藤康男, LPS と好中球によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック. 第 53 回東北大学歯学会 (仙台) 2008 年 6 月 27 日
30. 酒井 梓, 菅原由美子, 黒石智誠, 笹野高嗣, 菅原俊二, シェーグレン症候群の唾液腺における IL-18 と Th17 の関与. 第 18 回日本口腔粘膜学会総会・学術集会 (東京) 2008 年 9 月 19, 20 日
31. 佐藤恭子, 黒石智誠, 田中志典, 伊藤あゆみ, 菅原由美子, 笹野高嗣, 菅原俊二, IL-18 Tg マウスにおける唾液腺の組織学的変化と自己抗体の解析. 第 18 回日本口腔粘膜学会総会・学術集会 (東京) 2008 年 9 月 19, 20 日
32. 四釜洋介, 島内英俊, 菅原俊二, 高田春比古, 遠藤康男, Muramyl-dipeptide (MDP) による炎症性サイトカイン産生及びエンドトキシンショック増強効果とそのメカニズムの解析. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
33. 永井康裕, 黒石智誠, 白石大祐, 大木亜紀子, 菅原俊二, ヒト歯肉線維芽細胞からの間葉系幹細胞の樹立と共刺激分子の発現解析. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
34. 西岡貴志, 黒石智誠, 菅原由美子, 田中志典, 笹野高嗣, 遠藤康男, 菅原俊二, Keratin 5(K5)/IL-18 トランスジェニックマウスにおける唾液腺障害の発現と制御性 T 細胞の関与. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
35. 高橋春江, 黒石智誠, 菅原俊二, 佐々木啓一, 遠藤康男, 歯科用レジニアレルギーモデルマウス作製の試み: アレルギー成立における H2O2 の効果. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
36. 木山朋美, 土谷昌広, 遠藤康男, 西岡貴志, 菅原俊二, 渡辺 誠, 咀嚼様運動によるマウス咬筋での IL-6 発現とその意義に関する考察. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
37. 大泉丈史, 山口晃史, 川村 仁, 菅原俊二, 遠藤康男, 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用: グラム陰性菌細胞壁成分 lipopolysaccharide (LPS) による増強. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
38. 田中志典, 黒石智誠, 遠藤康男, 菅原俊二, LPS と好中球によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
39. 佐藤恭子, 黒石智誠, 田中志典, 西岡貴志, 菅原由美子, 菅原俊二, IL-18 遺伝子導入マウスにおける唾液腺障害と自己抗体の解析. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
40. 船山ひろみ, 黄 玲, 金原正敬, 柴田健一郎, 朝田芳信, 菅原俊二, 高田春比古, 遠藤康男, マウスにおけるニッケルアレルギー: elicitation step における自然免疫の関与. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
41. 金原正敬, 黒石智誠, 山本照子, 菅原俊二, 遠藤康男, マウスにおけるニッケルアレルギーとその交差反応における金属イオン濃度: LPS の効果. 第 50 回歯科基礎医学会学術大会 (東京) 2008 年 9 月 23~25 日
42. 永井康裕, 黒石智誠, 大木亜紀子, 菅原俊二, 口腔間葉系幹細胞の制御性 T 細胞誘導. 第 38



- 回日本免疫学会総会・学術集会(京都)2008年12月1~3日
43. 佐藤恭子, 黒石智誠, 田中志典, 星野友昭, 西岡貴志, 菅原由美子, 菅原俊二. K5/IL-18 遺伝子導入マウスにおける唾液腺障害と自己抗体の解析. 第38回日本免疫学会総会・学術集会(京都)2008年12月1~3日
44. 四釜洋介, 島内英俊, 高田春比古, 菅原俊二, 遠藤康男. Muramyl-dipeptide (MDP) による炎症性サイトカイン産生及びエンドトキシンショック増強効果. 第38回日本免疫学会総会・学術集会(京都)2008年12月1~3日
45. 大木(小澤)亜紀子, 島内英俊, 菅原俊二. 歯肉線維芽細胞における IL-15 発現の変動. 第38回日本免疫学会総会・学術集会(京都)2008年12月1~3日
46. 田中志典, 永井康裕, 黒石智誠, 高田春比古, 遠藤康男, 菅原俊二. LPS と好中球によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック. 第38回日本免疫学会総会・学術集会(京都)2008年12月1~3日
47. 永井康裕. 口腔粘膜の免疫寛容機構と舌下免疫療法. 第54回東北大学歯学会(仙台)2009年2月27日
48. 青沼 智 上原亜希子 山本照子 高田春比古: ヒト歯根膜細胞(PDL)の Toll-like receptor (TLR) 系分子およびNOD1/NOD2分子の発現とその機能 第50回歯科基礎医学会総会(東京)2008.9.23-25.  
J Oral Biosci 50(suppl):152, 2008.
49. 四釜洋介 島内英俊 菅原俊二 高田春比古 遠藤康男: Muramyl-dipeptide (MDP)による炎症性サイトカイン産生及びエンドトキシンショック増強効果とそのメカニズムの解析 第50回歯科基礎医学会総会(東京)2008.9.23-25.  
J Oral Biosci 50(suppl):155, 2008.
50. 船山ひろみ 黄 玲 金原正敬 柴田健一郎 朝田芳信 菅原俊二 高田春比古 遠藤康男: マウスにおけるニッケルアレルギー elicitation step における自然免疫の関与 第50回歯科基礎医学会総会(東京)2008.9.23-25.
51. 青沼 智 上原亜希子 山本照子 高田春比古: ヒト歯根膜細胞(PDL)の自然免疫系 Toll-like receptor (TLR) 系分子, NOD1 および NOD2 分子の発現とその機能 第14回日本エンドトキシン研究会(仙台)2008.10.24-25.  
プログラム・講演抄録集 36, 2008.
52. 佐藤 匡 遠藤康男 島内英俊 高田春比古: NOD1 アゴニスト FK565 の鎮痛作用 第14回日本エンドトキシン研究会(仙台)2008.10.24-25.  
プログラム・講演抄録集 40, 2008.
53. Shikama Y, Shimauchi H, Takada H, Sugawara S, Endo Y.: Muramyl-dipeptide (MDP) augments LPS-induced pro-inflammatory cytokine productions and endotoxin-shock. 38th Annual Meeting of Japanese Society for Immunology, Kyoto, 2008.  
学術集会記録 38:153, 2008.12.1-3.
54. Tanaka Y, Nagai Y, Kuroishi T, Takada H, Endo Y.: Anaphylaxis-like shock induced by LPS plus anti-neutrophil antibodies in mice. 38th Annual Meeting of Japanese Society for Immunology, Kyoto, 2008.12.1-3.  
学術集会記録 38:255, 2008.
55. 田中志典, 黒石智誠, 菅原俊二, 遠藤康男. LPS と好中球によりマウスに誘導されるアナフィラキシー様ショック. 東北歯学会 2008.6.27, 仙台
56. 大泉丈史, 山口晃史, 川村仁, 菅原俊二, 遠藤康男. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用: グラム陰性菌細胞壁成分 lipopolysaccharide (LPS) による増強. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京
57. 山口晃史, 大泉丈史, 遠藤康男. 骨粗鬆症患者における bisphosphonates (BPs) による顎骨壊死: 進行阻止と骨吸収抑制維持の試み. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京
58. 四釜洋介, 島内英俊, 高田春比古, 菅原俊二, 遠藤康男. Muramyl-dipeptide (MDP) による炎症性サイトカイン産生及びエンドトキシンショック増強効果とそのメカニズムの解析. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京

59. 金原正敬, 黒石智誠, 山本照子, 菅原俊二, 遠藤康男. マウスにおけるニッケルアレルギーとその交差反応における金属イオン濃度: LPS の効果. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京
60. 船山ひろみ, 黄玲, 金原正敬, 柴田健一郎, 菅原俊二, 高田春比古, 遠藤康男. マウスにおけるニッケルアレルギー: elicitation step における自然免疫の関与. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京
61. 高橋春江, 黒石智誠, 菅原俊二, 佐々木啓一, 遠藤康男. 歯科用レジニアレルギーモデルマウス作製の試み: アレルギー成立における H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の効果. 歯科基礎医学会 2008.9.23-25, 東京
62. 木山朋美, 土谷昌広, 西岡貴志, 渡辺誠, 遠藤康男, 菅原俊二. 持続的咀嚼様運動によるマウス咬筋での IL-6 発現. 歯科基礎医学会 2008, 9, 23-25, 東京
63. 佐藤匡, 遠藤康男, 島内英俊, 高田春比古. NOD1 アゴニスト FK565 の鎮痛作用. 日本エンドトキシン研究会. 2008.10.24-25, 仙台
64. 金原正敬, 遠藤康男. マウスにおけるニッケルアレルギー: 自然免疫系の関与. 薬物活性シンポジウム/日本ヒスタミン学会, 2008.10.23-25, 徳島
65. 大泉丈史, 山口晃史, 船山ひろみ, 川村 仁, 菅原俊二, 遠藤康男. Bisphosphonates (BPs) の炎症・壊死作用: マウスでの基礎研究に基づく発症機序および予防・治療に関する提案. 日本骨代謝学会, Bisphosphonate-update 2008.10.29-31, 大阪
66. 山口晃史, 大泉丈史, 遠藤康男. 骨粗鬆症患者における窒素含有 bisphosphonate (NBP) による顎骨壊死: 進行阻止と骨吸収抑制維持を目指した etidronate (non-NBP) への切り換えの試み. 日本骨代謝学会 2008.10.29-31, 大阪
67. 大泉丈史, 山口晃史, 遠藤康男. 窒素含有 bisphosphonates (NBPs) の壊死作用: グラム陰性菌細胞壁成分 lipopolysaccharide (LPS) による増強. 日本骨代謝学会 2008.10.29-31, 大阪
68. Tanaka Y, Nagai Y, Kuroushi T, Takada H, Endo Y, Sugawara S. Anaphylaxis-like shock induced by LPS plus anti-neutrophil antibodies in mice. 日本免疫学会 2008.12.1-3, 京都
69. Deng X, Tamai R, Endo Y, Kiyoura Y. Alendronate augments oral bacteria-induced IL-1 $\beta$  production by macrophages through caspase-1 activation. 日本免疫学会 2008.12.1-3, 京都
70. Shikama Y, Shimauchi H, Takada H, Sugawara S, Endo Y. Muramyl-dipeptide (MDP) augments LPS-induced pro-inflammatory cytokine productions and endotoxin-shock. 日本免疫学会 2008.12.1-3, 京都

## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究補助金(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)  
分担研究報告書

分担課題：マウス金属アレルギーモデルを用いた金属アレルギー特異的 T 細胞解析

分担研究者	小笠原 康悦	東北大学加齢医学研究所 加齢生体防御学研究分野 教授
		国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 特任研究員
研究協力者	笹月 健彦	国立国際医療センター 名誉総長
	川野 光子	国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 協力研究員
	田中 和沙	国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 特任研究員
	浦野 奈央子	国立国際医療センター研究所 難治性疾患研究部 研究生

### 研究要旨

金属アレルギーは T 細胞依存性の IV 型（遅延型）アレルギー反応であると考えられているが、その分子機構は不明のままである。我々は、当研究班で開発した金属アレルギーマウスモデルを用い、金属暴露と養子移入を繰り返すことで、アレルギー特異的な T 細胞を濃縮し、エフェクター細胞の同定を試みた。また、共刺激分子である NKG2D および抗原提示にかかわるプロテアソームがアレルギーの発症に関与するののかについて追究した。移入を繰り返したマウスの顎下リンパ節において、TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞が TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>細胞に比較して多く存在するようになり、TCR $\beta$ <sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞がエフェクター細胞として働いている可能性が示唆された。また、CD8<sup>+</sup>T 細胞上に NKG2D の発現が誘導されることが確認された。さらに、移入を繰り返したマウスの顎下リンパ節において TCR V $\beta$ 8 の割合が WT の BALB/c マウス顎下リンパ節に比べて低く、TCR レパトアが変化していることが判明した。加えて、抗 NKG2D 抗体およびプロテアソームインヒビターを投与したマウスでは、金属アレルギーの発症が有意に抑制された。このことから、NKG2D およびプロテアソームは、金属アレルギーの新たな治療標的になりうることが判明した。

#### A. 研究目的

金属アレルギーは、我々に身近なアレルギー疾患であり、ピアスなどの装飾品や、歯科医療で用いられるパラジウム (Pd)、銀 (Ag)、銅 (Cu)、ニッケル (Ni) など多様な金属を含む合金がその原因となる場合が多い。例えば、口腔内ではこれらの金属がイオン化し、口腔細菌、唾液、血液などのタンパクと結合して抗原性を持つのではないかと考えられている。すなわち金属アレルギーは、イオン化した金属に細菌成分などがアジュバントとして働き、アレルギーの発症および増悪に関与している可能性が考えられる。しかしながらその発症の分子機構は不明である。

金属アレルギーは、遅延型過敏反応とされ T

細胞主体のアレルギー反応とされている。我々は、金属アレルギーマウスモデルを用いて、金属アレルギーの病態、発症における分子の変化を時系列的に解析し、新規診断、予防、治療法の開発を目指すことを目的としている。今年度は、共刺激分子として NKG2D や抗原提示にかかわるプロテアソームがアレルギー発症に関与しているのか、また金属アレルギーの発症により TCR レパトアが変化するののかについて追究した。

#### B. 方法

1) 金属アレルギーマウスモデル

C57BL/6 マウス、または BALB/c マウスに、10