

mM PdCl₂ / 50 µg/ml LPS x 250 µl/head i.p. により Pd 感作を行い 7~10 日後に 1 mM PdCl₂ を耳介に challenge して金属アレルギーを誘導した。

2) アレルギー特異的な T 細胞の濃縮

上記の方法により金属アレルギーを耳介に誘導した BALB/c マウスの顎下リンパ節を採取し、single cell に調整後、BALB/c nu·nu マウスへ i.v. により移入する。移入したマウス耳介に 4~5 回 challenge を行った後、同様に顎下リンパ節を採取・調整し、同様に BALB/c nu·nu マウスへ i.v. により移入する。これを繰り返すことで金属アレルギー特異的な T 細胞の濃縮を行った。

3) 抗 NKG2D 抗体、プロテアソームインヒビターによるアレルギー治療試験

Pd 感作を行ったマウスに、抗 NKG2D 抗体 (clone: CX5) を 100 µg/head、またはプロテアソームインヒビター MG132 を 100 µg/head 投与した後、1 mM PdCl₂ を耳介に challenge し、耳介の腫脹の程度を検討した。

C. 研究結果

1) アレルギー特異的な T 細胞の濃縮

移入を繰り返したマウスの顎下リンパ節において、TCRβ⁺/CD8⁺細胞および NKG2D⁺/CD8⁺細胞が出現することが明らかとなった (図 1)。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金属アレルギーの誘導により TCR Vβ8 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 (図 2)。

2) 抗 NKG2D 抗体、プロテアソームインヒビターによるアレルギー治療試験

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 (図 3)。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が有意に抑制できた (図 4)。

D. 考察

BALB/c nu·nu マウスにはαβ型 T 細胞が存在

しないことから、移入されたマウスに存在する TCRβ⁺/CD8⁺細胞は金属アレルギーを発症した WT BALB/c マウス由来細胞が増殖・分化したものと考えられる。さらに、金属アレルギー発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 抗体の投与により発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事が判明した。また、クラス I への抗原提示にはプロテアソームにおける抗原ペプチドの processing が必須であり、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事が判明した。金属アレルギーによりマウス TCR レパトアに変化が見られることから、今後、ヒト金属アレルギー特異的な T 細胞の TCR を解析し、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。

E. 結論

1) 金属アレルギーの発症において TCRβ⁺/CD8⁺細胞が濃縮された。さらに、NKG2D の発現が誘導されることが明らかとなった。

2) 金属アレルギーの発症に伴い、所属リンパ節に存在するαβ型 T 細胞において、TCR レパトアが変化することが判明した。

3) NKG2D 抗体の投与により金属アレルギーの発症を抑制出来ること、プロテアソームインヒビター投与でも発症を有意に抑制できることが判明した。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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) Assesment of estrogenic activity in Tunisian water and wastewater by the E-Screen assay. *Enviro.l Sci.* 14: 43-52

1) 総説論文、著書

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 : in press

2. 学会発表

国外学会

1. Ogasawara K, Ishizaki K, Urano N, Fjiwara N, Sasazuki T. Genomic analysis of RAE-1 genes. HFSP annunal meeeting, Berlin, Germany, 2008.

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

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し

図 1 : エフェクター細胞の同定

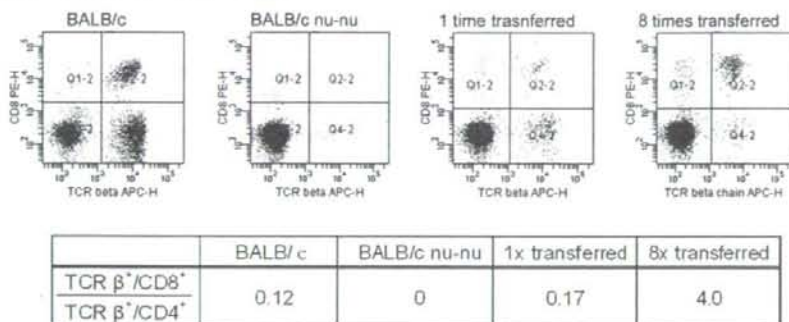


図 2 : 金属アレルギーによる TCR レパトアの変化

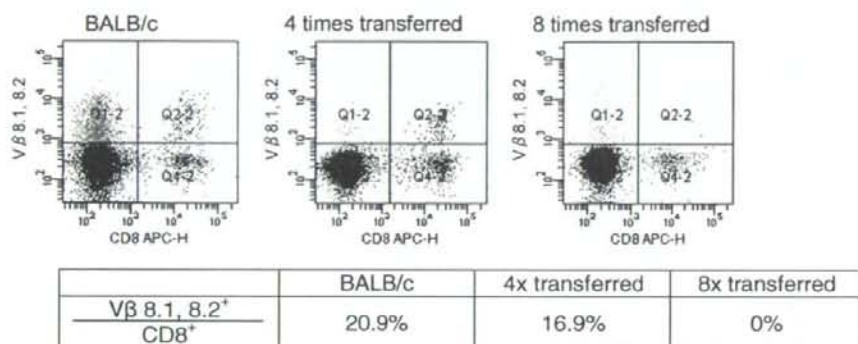


図 3 : 抗 NKG2D 抗体投与による金属アレルギー発症の抑制

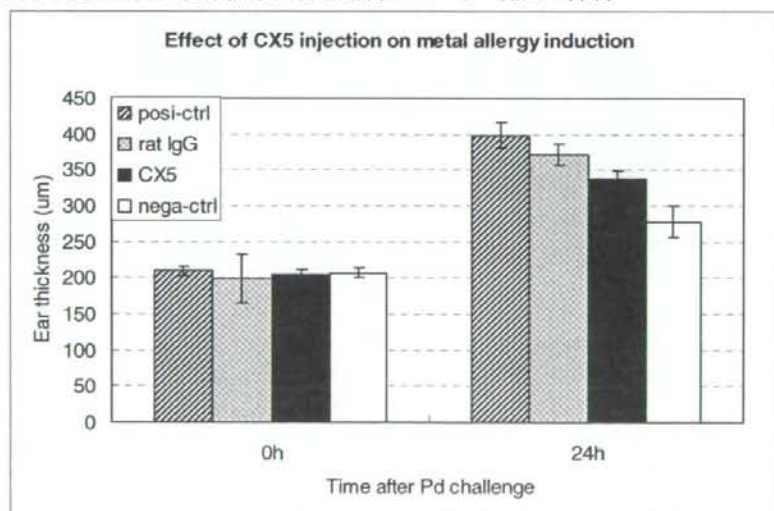
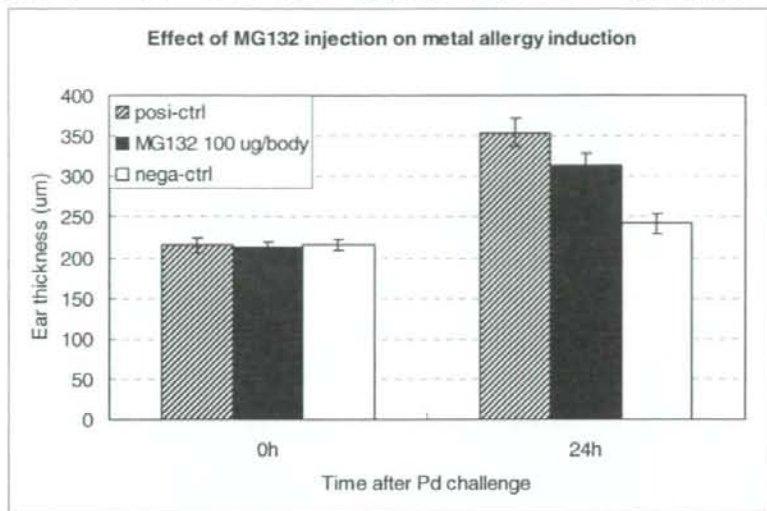


図4：プロテアソームインヒビター投与による金属アレルギー発症の抑制



分担課題：アトピー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

分担研究者：戸倉 新樹 産業医科大学医学部皮膚科学 教授

研究協力者 杉田 和成 産業医科大学医学部皮膚科学 助教
尾藤 利憲 産業医科大学病院 皮膚科 講師
梶島 利江子 産業医科大学病院 皮膚科 専修医

研究要旨

アトピー性皮膚炎 (AD) は、通常の外因性のものだけではなく、内因性のものが存在する。内因性 AD は、血中 IgE が正常域であり、皮膚バリアが破綻し IgE が高値の外因性 AD とは異なった機序で発症していると考えられている。内因性 AD における金属アレルギーの関与は、種々の傍証から推測されているが、明らかにされてこなかった。まず我々は内因性 AD の皮膚バリア機能を、角質水分量、水分蒸散量、および electric current perception threshold において、外因性 AD 比較検討した。その結果、外因性 AD ではバリアが破綻しているが、内因性 AD ではバリア機能が正常であることが判明した。次に、内因性 AD 患者 6 名に種々の金属のパッチテストを実施したところ、6 名中 3 名に 1 つ以上の金属の陽性所見を得た。さらにこれら金属のリンパ球幼弱試験を患者末梢血リンパ球を用いて行ったところ、ニッケルに対する反応が陽性を示した。内因性 AD では外因性 AD と同様に、末梢血 Th2 細胞、Th17 細胞が増加しており、免疫学的環境は類似であった。金属によってもたらされた T 細胞反応が、外因性物質同様、AD の皮疹を形成することが示唆された。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎 (AD) は均一の集団ではなく、大きくは外因性 (extrinsic) AD と内因性 (intrinsic) AD に分けられる (図 1)。外因性 AD は外来蛋白アレルギーが原因とされ、IgE が高値であり、内因性 AD は IgE が正常である。両者間での根本的な差違が何であるかは必ずしも明確ではなかったが、最近の AD 研究の進歩はこの 2 分別法に新たな光を当てようとしている。

皮膚バリア異常とアレルギー反応の先行性は無いと思われていたが^{1,2)}、2006 年に AD 患者にはフィラグリン遺伝子の変異があるという報告がなされ³⁾、20%以上の日本人 AD でもフィラグリンの遺伝子変異をもつという⁴⁾。つまり外因性 AD ではフィラグリンを典型とするバリア異常があって、アレルギーが皮膚を通過しやすくなり、アレルギーが起こり、IgE は高値となる。

一方、IgE 値が正常を示す AD の成因は、特異的 IgE の出現がないことから、恐らくアレルゲンの経表皮の透過性の亢進によるものではなく、その他の機序によるものと考えられて、外因性に対して内因性 AD と呼ばれてきた。内因性 AD の病態は明確に判っていないが、AD 患者には金属アレルギーが多いという古からの観察とともに^{5,6)}、金属が原因の一重要因子と目されている。加えて内因性 AD ではかゆみのメカニズムの異常、すなわちかゆみ過敏があるとも考えられる。かゆみ機構には、ヒスタミン、トリプターゼ、サブスタンス P、神経成長因子 (NGF)、神経反撥因子、IL-31 等々多くの分子が関わっている。内因性 AD において、金属アレルギーと恐らくそれが関わるかゆみ過敏が重要な病態因子となっている。

最近我々は、AD の免疫学的機序に関連する

重要な知見を見出した。Th17 細胞は AD 症状の initiator あるいは amplifier となることである。Th17 細胞は IL-23 などに生存・活性を維持され、IL-17、IL-22 を産生する。Th17 細胞は皮膚科領域ではまず乾癬において注目されたが⁷⁾、AD においても重要である。我々が調べた結果では、Th17 細胞は AD の急性期病変では慢性期の 3 倍以上浸潤し、末梢血では病勢に応じてその割合が高まる⁸⁾。IL-17 は皮膚での炎症の起爆剤的な存在である。もし金属アレルギーが内因性 AD の原因的要素であるならば、1) 金属が抗原として働き、その接触過敏症反応の amplifier として Th17 細胞が関わっている、2) 金属が抗原として、あるいは他の何らかの機序で Th17 細胞の活性化を誘導している、3) 金属が Th17 細胞の活性化・生存に重要な樹状細胞の機能を高めている、4) 金属が表皮角化細胞(ケラチノサイト)のサイトカイン・ケモカイン産生を促進させ T 細胞性反応を増強している、などの可能性がある。

本研究の目的は、1) 内因性 AD の存在と頻度を臨床的に明らかにすること、2) バリア機能とかゆみについて、内因性 AD を外因性 AD と比較検討すること、3) 末梢血と皮膚での Th17 細胞割合について、内因性 AD を外因性 AD と比較検討すること、4) 金属アレルギーの頻度について、内因性 AD を外因性 AD と比較検討すること、5) そうした患者において原因金属は Th17 細胞を活性化させるか検討すること、にある。

B. 方法

上記の目的を具現化するための以下の研究項目を設定した。

1) AD 重症度およびかゆみ程度に関する項目

AD 重症度: scoring of atopic dermatitis (SCORAD)、好酸球数、LDH、TARC/CCL17

かゆみ程度: visual analog scale (VAS)、electric current perception threshold (CPT: Neurometer による測定)、血漿中 substance P

2) 外因性と内因性の分別項目

IgE、transepidermal water loss (TEWL)、skin surface hydration (capacitance)

3) 金属アレルギー検査項目

金属パッチテスト、金属に対するリンパ球幼弱化反応

4) Th1, Th2, Th17 項目

細胞内サイトカイン FACS、培養上清サイトカイン測定

本研究については産業医科大学倫理委員会の承認を得た。産業医科大学病院皮膚科を受診した患者につき、インフォームド・コンセントを得て以下を行った。

1. 皮膚症状、かゆみ

AD の重症度は severity scoring system for atopic dermatitis (SCORAD) で評価した。かゆみの強さは visual analogue scale (VAS) で測定した。皮疹の性状については、特に内因性 AD では痒疹 (prurigo) タイプが多いとの仮定に基づき痒疹の有無と程度を記載した。

2. 一般血液検査

総 IgE (RIST)、ヤケヒョウヒダニ RAST、白血球数、好酸球数、LDH、TARC (thymus and activation-related chemokine, CCL17) を測定した。IgE RIST と RAST は外因性と内因性の AD を分ける指標とした。好酸球数、LDH、TARC は検査値上の重症度の指標とした。

3. 金属パッチテスト

ニッケル (Ni)、コバルト (Co)、六価クロム (Cr)、マンガン (Mn)、亜鉛 (Zn)、金 (Au)、鉄 (Fe)、スズ (Sn)、水銀 (Hg)、銅 (Cu)、白金 (Pt)、アルミニウム (Al)、銀 (Ag)、インジウム (In)、イリジウム (Ir) を選択した。スタンダードの濃度でパッチテスターを用いて行った。

4. 皮膚生理学的検査

角層のバリア機能を transepidermal water loss (TEWL)、skin surface hydration を用いて行った。

5. 末梢血リンパ球免疫検査

Ficoll 比重遠心法にて患者末梢血単核球 (PBMC) を得て、以下の測定を行った。

1) リンパ球サブセット

CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD20, CD25,

CD56, CD45RO, CD45RA, HLA-DR, CXCR3, CCR4, Foxp3 陽性細胞の割合 (%) をそれぞれの標識モノクローナル抗体で3重染色した後にフローサイトメトリにて解析した。Foxp3 は細胞内染色を用いた。特に、CXCR3+CD4+細胞:Th1、CCR4+CD4+細胞:Th2、CD4+CD25+Foxp3+細胞:regulatory T(Treg) 細胞、について検討した。

2) Th1, Th2, Th17 細胞割合

細胞内サイトカイン染色を、IFN- γ 、IL-4、IL-17 に対する抗体を用いて行った。PBMC を phorbol ester (PMA) と Ca ionophore で刺激したのち、CD3 あるいは CD8 の表面染色と上記3種それぞれの細胞内サイトカイン染色を行い、フローサイトメトリ解析した。この刺激により CD4 発現は減弱するため、IFN- γ +CD8-:Th1 細胞、IL-4+CD8-:Th2 細胞、IL-17+CD8-:Th17 細胞、としてそれぞれの割合を測定した。

3) 金属に対するリンパ球幼弱反応

金属パッチテスト陽性患者に対して、PBMC (2×10^5 /well) を 96 穴プレートで金属を希釈系列添加で3日間培養し、培養の最後 12 時間に ^3H -チミジン ($1 \cdot \text{Ci}/\text{well}$) を添加した。細胞をハーベスト後、液体シンチレーションカウンターにて ^3H -チンジンの取り込みを測定した。

4) かゆみ関連物質

神経ペプチドの代表としてサブスタンス P(SP)の血中濃度を測定した。SP については末梢知覚神経である C 線維が産生し、その受容体である NK1 を肥満細胞やケラチノサイトが表出していることから、AD のかゆみに重要とされる。なお SP を正しく測定するために、この分解酵素 (NEP) を不活化した方法を取り入れて行った。

C. 研究結果

1. 内因性 AD の臨床的特徴

IgE が 436-30,000 (mean, 5,035) の外因性 AD32 名と、IgE が 11-219 (mean, 111) の内因性 AD17 名を比較したところ、平均年齢は 30.0 歳 vs 33.3 歳と有意差なく、女性の占める割合は 33% vs 76% と内因性で圧倒的に高く、SCORAD は 41.8 ± 19.0 vs 27.1 ± 20.6 と内因性で重

症度が軽い傾向があった。この集団は内因性の数が元来少ないために、内因性の患者を多く含めている。内因性 AD の特徴を表 1 にまとめる。

表 1. 内因性 AD の特徴

<p>IgE が正常域 バリア機能が保たれている？ AD 全体の 20% あるいはそれ以下 女性に多い (7,8割) 他のアレルギー疾患の合併がない 発症が遅い 外因性に比べ皮疹が軽め かゆみが強い (痒疹を作り易い)</p>
--

2. 内因性 AD の角層状態とかゆみとの関連

我々の検討した集団において、角質水分量 (Skin surface hydration [capacitance]) は正常人コントロールに比べ、外因性 AD では有意に低く、内因性 AD では変わらなかった (図 1)。また水分蒸散量 (TEWL) は、正常人コントロールに比べ、外因性 AD では有意に高く、内因性 AD では変わらなかった (図 1)。従って外因性 AD では皮膚が乾燥した状態にあるが、内因性 AD では正常人と変わらない水分量を角質にもつことが判明した。SCORAD と VAS の相関を皮疹部で検討したところ、両タイプとも正の相関を示し、重症度においてかゆみが強いことには変わりがなかった (図 2)。電気刺激による皮膚感受性とかゆみの感じ方の指標とされる。そこで CPT (電気刺激知覚閾値) と角質水分量 (Skin surface hydration) の相関を両タイプで検討した。正常人は角質水分量と CPT が正の相関、すなわち水分量が少ないほどかゆみを感じ易くなる、を示した。内因性 AD も同じ相関を示したが、外因性 AD は相関がなかった。このことは内因性 AD は正常人と同じ角層状態を保っていることを示唆した。

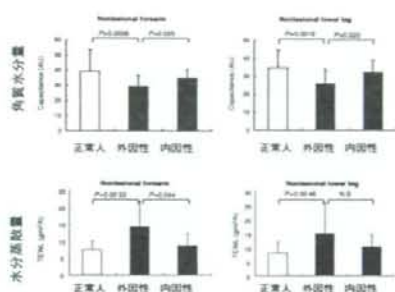


図1. 外因性ADは皮膚バリア機能が低下

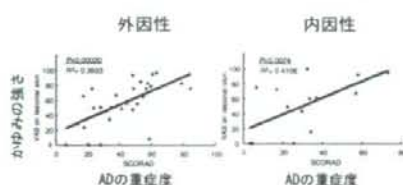


図2. 外因性も内因性もADの重症度に応じてかゆい

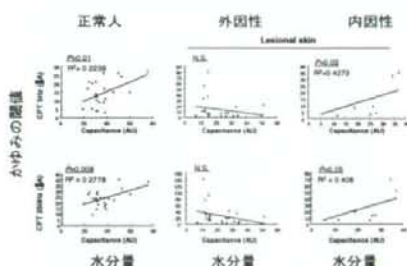


図3. 内因性ADは正常人と同じ角層状態を保持

3. 内因性ADにおけるTh1/Th2/Th17細胞割合

細胞内IL-17、IFN- γ 、IL-4染色により、末梢血のTh17細胞、Th1細胞、Th2細胞の割合を検討した。Th17細胞は、ADの重症度に応じてAD患者末梢血リンパ球中での割合が高かった⁸⁾。AD患者全体では乾癬に比べTh17細胞割合は少ないが、重症ADにおいては乾癬患者に比べ有意差無く高値であった。皮膚浸潤細胞でのIL-17産生細胞の割合は、ADの急性病変において慢性病変より高かった。

内因性と外因性のADにおいて末梢血Th1細胞(IFN- γ 産生細胞)、Th2細胞(IL-4産生細胞)、Th17細胞割合は同等であった(表2)。すなわち、内因性ADはIgEは高値ではないものの、Th2細胞に変調し、Th17細胞の割合も外因性ADと同様に保持していた。

表2. 内因性、外因性ADにおける末梢血T細胞割合(%)

AD	IL-17+細胞	IFN-g+細胞	IL-4+細胞
内因性(n=16)	0.81 ± 0.50	12.35 ± 6.57	0.40 ± 0.16
外因性(n=13)	0.79 ± 0.45	10.74 ± 7.37	0.30 ± 0.13
	P=0.9298	P=0.5414	P=0.071

4. 内因性ADと金属アレルギーとの関連

内因性AD患者6例について金属パッチテストを実施した(表3)。症例1は重クロム酸カリウムと硫酸クロムに陽性反応をみた。これは典型的な内因性AD患者であった。症例2は金属のリンパ球幼弱化試験(LST)でも3種の金属に陽性反応をみている。症例3はパラジウムのみ陽性であった。この結果からすれば、内因性ADの少なくとも一部は金属アレルギーが存在することを示唆している。

表3. 内因性ADにおける金属パッチテストの結果

症例	結果
1	クロム陽性
2	クロム、コバルト、ニッケル陽性
3	パラジウム陽性
4	すべて陰性
5	すべて陰性
6	すべて陰性

リンパ球幼弱化試験(LST)を行っている。予備実験として金属アレルギーが判明している患者に対し、LSTを行った。その結果、従来観察されているように、ニッケルでは陽性反応がでや

すいものの(図4)、コバルトは陽性反応がでにくいことが判明した(図4、5)。

金属アレルギー (ベルトのバックルによる接触皮膚炎)
パッチテスト:
コバルト、ニッケル、プラチナ、マンガン、銅に陽性

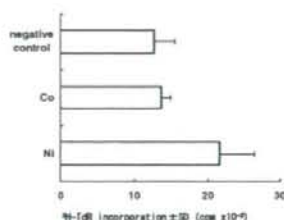


図4. LST. Ni は反応出易いが、Co は出にくい

金属アレルギー
パッチテスト: コバルト、ニッケルに陽性

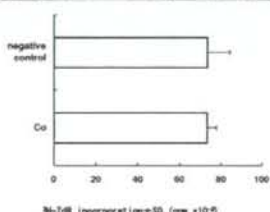


図5. LST. Co は反応が出にくい

表3における症例1の内因性ADに対してクロムのLSTを行ったが陰性であり(図6)、症例3に対してパラジウムを行ったがやはり陰性であった(図7)。従って、LSTはニッケルの陽性のみ得られ、他はパッチテスト陽性であってもLST陽性所見は得られていない。一般にニッケルはin vitroの増殖反応に適した金属であるが、その他の金属は培養系の工夫であろう。しかし、最近、症例2においてニッケルのみならず、クロムとコバルトで強いLST陽性反応が得られており、確認を急いでいる。この症例は、自己汗の皮内反応によって陽性所見を示しており、いわゆる汗アレルギーを伴った患者である。汗には多量の金属が含まれると言われており、今後の解析を続けていきたい。同時に、汗による脱感作療法も実施しつつあり、将来の展望となる。

内因性アトピー性皮膚炎
パッチテスト: クロムに陽性

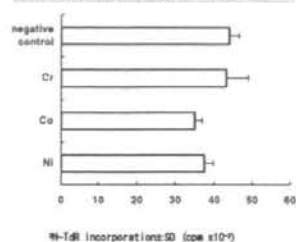


図6. LST. Cr は反応が出にくい

内因性アトピー性皮膚炎、光線過敏症
パッチテスト: パラジウムに陽性

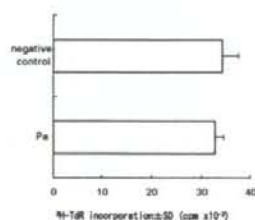


図7. Pd も反応が出にくい

5. かゆみ関連物質との関連

血中サブスタンスPの量について、内因性ADと外因性ADで解析した。合計10名のAD患者すべてにおいて、治療によるSCORADの低下に伴い、上昇していたサブスタンスPの量は低下した。この低下に外因性、内因性の差は認めなかった。

D. 考察

第1に、外因性ADと内因性ADを判別する方法が確立された。外因性ADは「角層バリア機能の破綻による外来抗原に対する反応亢進」、内因性ADは「バリア異常に基づかないかゆみの亢進」というのが基本的概念である。これを数字に還元するために、IgEの他に、角層機能(skin surface hydrationとTEWL)が有用な分別方法になることが明らかとなった

第2に、内因性ADの原因としての金属アレルギーの存在が示唆された。古くから、Ni、Cr、Coはアレルギーを起こす3大金属と言われて

おり、その他 Sn, Mn, Zn, Hg など AD あるいは自家感作性皮膚炎などで陽性率が高いと言われてきた。AD での高陽性率が、内因性 AD 患者での貢献であるかは、現在まで知られていなかった。金属パッチテストを行った 6 例の内因性 AD のうち、3 例が何らかの金属にパッチテスト陽性を示した。しかし LST は金属によって向き不向きがある。とくに溶解の問題は大きい。

第 3 に、AD と Th17 細胞の関連である。皮膚科領域では Th17 細胞は乾癬においてまず注目された。しかし我々は Th17 細胞の多寡により AD の重症度が決定されることを発表した⁸⁾。Th17 細胞の関与がさらに、金属アレルギーと結びついていけば、内因性 AD における Th17 細胞の重要性を明らかにすることができよう。

本研究実施中に、汗アレルギーの患者が金属アレルギーにもなりやすいとの示唆も得た。元来、汗には高濃度の金属が含まれていることが言われており、それを裏づけている。現在、汗アレルギーの患者に減感作療法を実施しており、これが金属アレルギーの克服に繋がることを画策している。

E. 結論

内因性 AD の原因・病態は明確において金属アレルギーが原因の一重要因子である。AD は Th2 病といわれる。しかしそれだけでは病態を説明できない。全身の免疫状態が Th2 に変調しているのは確かとしても、皮膚炎形成には Th1 サイトカインとくに IFN- γ の存在なくしては成立するのが困難だからである。病原性 T 細胞は、IFN- γ のソースであるべきこと、Th2 細胞の性格をもつことを満足させねばならない。あるいは Th1・Th2 両者を統合して促進させる T 細胞、例えば Th17 細胞を病態に参加させることが必要となる。

AD は遅発型反応 (late phase reaction) と遅延型反応 (delayed-type reaction) の間を揺れ動く疾患と捉えることができる。遅発型反応は、臨床的には浮腫性紅斑であって好酸球と Th2 細胞が媒介する。一方、遅延型反応は湿疹を形成

し Th1 細胞と Tc1 細胞が媒介する。Th17 細胞は遅発型から遅延型に移行する場面で機能を発揮するかもしれない。IFN- γ はケラチノサイトの Th1 ケモカイン産生を増強させるが、Langerhans 細胞 (LC) の Th2 ケモカイン産生は減弱させる⁹⁾。すなわち Th17 細胞の設定する環境下で、IFN- γ は Th1 ケモカインの産生を促し AD の慢性病変としての遅延型反応を先導することを示唆する。

以上の知見を踏まえると、AD における金属アレルギーの関与について次のような作業仮説が成り立つ。金属は樹状細胞やケラチノサイトを介して Th17 細胞を活性化する。この際、樹状細胞もケラチノサイト自身も金属によって活性化される。Th17 細胞は産生する IL-17 や IL-22 によりケラチノサイトを刺激し、サイトカイン・増殖因子・かゆみ関連物質の産生を亢進させる。樹状細胞よりの Th2 ケモカイン (CCL17, CCL22)、ケラチノサイトよりの Th1 ケモカイン (CXCL10, CXCL9, CXCL11) が、AD を悪化させる。さらに、かゆみ関連物質等がケラチノサイトから放出され、さらなる病状悪化を導くことが発想される。

内因性 AD 患者における金属アレルギー、汗アレルギーの検討は、増悪因子の除去のみならず、減感作療法への可能性を秘めている。

参考文献

- 1) Nishijima T, Tokura Y, Imokawa G, et al: Altered permeability and disordered cutaneous immunoregulatory function in mice with acute barrier disruption. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 175-182.
- 2) Hatano Y, Terashi H, Arakawa S, Katagiri K: Interleukin-4 suppresses the enhancement of ceramide synthesis and cutaneous permeability barrier functions induced by tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in human epidermis. *J Invest Dermatol* 2005; 124:786-792.

- 3) Palmer CN, Irvine CN, Terron-Kwiatkowski, et al: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38: 441-6.
- 4) Nomura T, Akiyama M, Sandilands A, et al: Specific Filaggrin Mutations Cause Ichthyosis Vulgaris and Are Significantly Associated with Atopic Dermatitis in Japan. *J Invest Dermatol* (in press).
- 5) Thestrup-Pedersen K: Atopic eczema. What has caused the epidemic in industrial countries and can early intervention modify the natural history of atopic eczema? Treatment strategies and compliance for the adult patient with atopic eczema. *Acta Derm Venereol Suppl* (Stockh) 2005; 215: 36-40.
- 6) Giordano-Labadie F, Rancé F, Pellegrin F, Bazex J, Dutau G, Schwarze HP: Frequency of contact allergy in children with atopic dermatitis: results of a prospective study of 137 cases. *Contact Dermatitis* 1999; 40: 192-195.
- 7) Ma HL, Liang S, Li J, et al: IL-22 is required for Th17 cell-mediated pathology in a mouse model of psoriasis-like skin inflammation. *J Clin Invest* 2008; 118: 597-607.
- 8) 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.
- 9) 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: 1719-27.

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 原著論文

1. 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).
2. 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).
3. 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).
4. 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.
5. 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
6. 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.
 7. 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.
 8. 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.
- 1) 総説論文
1. Alenius H, Roberts DW, Tokura Y, Lauerma A, Patlewicz, Roberts MS: Skin, Drug and Chemical Reactions. *Drug Discovery Today*, 2008 (in press).
 2. 戸倉新樹: アトピー性皮膚炎の発効機序からみた 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.
 3. 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.
 4. 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.
 5. 戸倉新樹: 職業性アレルギー性皮膚疾患. *Topics in Atopy* 7: 4-8, 2008.
 6. 戸倉新樹: 光免疫抑制. *アレルギーの臨床* 28: 560-565, 2008.
 7. 戸倉新樹: 紫外線による免疫抑制. *太陽紫外線防衛研究委員会学術報告書* 18: 7-13, 2008.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 戸倉新樹: 光線過敏型薬疹. 薬疹のすべて. 池澤善郎, 相原道子編. *南江堂* 2008, pp 222-227.
 15. 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.
 16. 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.
 17. 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.
2. 学会発表

国外学会

1. Tokura Y: Simultaneous expression of regulatory T cell markers and PD-1 in adult T cell leukemia/lymphoma. 4th International Symposium on the Biology and Immunology of Cutaneous Lymphomas. Berlin, 2008. 1. 11.
2. Tokura Y: Exhausted malignant T regulatory cells in ATL. 1st KSID-JSID Joint Symposium. Seoul, 2008, 3. 21.
3. Tokura Y: Cytological profiles of ATL. International Society for Cutaneous Lymphoma (ISCL) Symposium. Kyoto, 2008. 5. 13.
4. 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.
5. 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.
6. 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- γ and narrowband UVB in patients with mycosis fungoides. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
7. Yoshiki 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tokura Y: Decreased expression of DKK-1 as pathogenesis of pachydermoperiostosis. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
12. Mori T, Kabashima K, Yoshiki R, Sugita K, Shiraishi N, Kuroda E, Yamashita U, Tokura Y: Cutaneous Hypersensitivities to Hapten Are Controlled by IFN- γ -Upregulated Keratinocyte Th1 Chemokines and IFN- γ -Downregulated Langerhans Cell Th2. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
13. Nishio D, Nakashima D, Mori T, Kabashima K, Tokura Y: Induction of eosinophilic-infiltrating drug photoallergy in mice. International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008.
14. 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 10th International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
- 15.Sugita K, Kabashima K, Yoshiki R, Tokura Y: Inducible nitric oxide synthase downmodulates contact hypersensitivity by suppression dendritic cell survival and functions. The 10th International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
- 16.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 10th International Symposium on Dendritic Cells, Kobe, 2008.10.1-5.
- 17.Fukamachi S, Shiraishi N, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y: Semaphorin 3A production by human keratinocyte and fibroblast. 18th International Symposium of Itch, Tokyo, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当せず

分担課題：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に関する研究

分担研究者：梶島 健治 京都大学医学研究科 准教授

研究要旨

金属アレルギーの原因は歯科金属やピアス・時計などの装飾品など多岐にわたり、遅延型過敏反応の代表である接触皮膚炎から掌蹠膿疱症など多彩な臨床症状を呈する。パッチテストは比較的簡便な金属アレルギーのスクリーニング方法であるが、検査そのものにより感作を誘導するリスクがあることや患者のQOLを下げることが問題となっている。そこで我々は各臨床症状の原因T細胞サブセットの同定を行い、さらに安全かつ患者にとって負担のかからない *in vitro* でのスクリーニングの系を確立することを本研究の目的とする。昨年度、我々は金属アレルギーを有する患者の末梢血に金属を添加し、細胞増殖への影響を調べたところ(metal-induced lymphocyte stimulation test: MLST)、Ni に対するアレルギーを有する患者の末梢血が Ni の添加により有意に細胞増殖が増強されることを見出し、パッチテストに変わる簡易な *in vitro* assay の確立の可能性を示唆させた。ところが、さらに症例を重ねていくと、パッチテストが陽性であるにもかかわらず MLST が陰性である症例を多く経験した。そこで、偽陰性を少なくすることを目的に末梢血リンパ球から制御性T細胞を除去したところ偽陰性の割合が減少した。したがって、MLSTを行う際に、制御性T細胞を除去することは、金属パッチテストに変わる感度の良い代替法になることを示唆する。

A. 研究目的

金属アレルギーの原因は歯科金属やピアス・時計などの装飾品など多岐にわたり、臨床症状も、遅延型過敏反応の代表である接触皮膚炎から掌蹠膿疱症など多彩である。またパッチテストは比較的簡便な金属アレルギーのスクリーニング方法であるが、検査による感作誘導のリスクや入浴制限を受けるなど患者のQOLを低下させることが課題となっている。そこで我々は各臨床症状の原因T細胞サブセットの同定を行い、さらに安全かつ患者にとって負担のかからない *in vitro* でのスクリーニングの系を確立と多彩な臨床反応を *in vitro* の検査でグループ化し、治療へ応用することを目的とする。さらに昨年の報告にて、パッチテストが陽性でありながら、*in vitro* のアッセイ系で陰性となる症例を多く経験した。そこで制御性T細胞を制御し感度を上げることも試みる。

B. 方法

前年度に引き続き、パッチテスト(patch test; PT)で陽性を確認した金属アレルギー患者の臨床症状を、接触皮膚炎、肉芽腫、掌蹠膿疱症などの臨床症状別に分類する。患者からの informed consent を得た上で、各患者の末梢血から ficoll により PBMC を分離し、PT 陽性の金属(NiSO₄, NiCl₂, MnCl₂, CrCl₃, K₂Cr₂O₇などを1, 10, 100 μM の濃度にて)と混合培養(1x10⁵ cells/well:96穴)し、³[H]-thymidine を培養4日目に加え、その後24時間における取り込みをセルハーベスターにより測定し、金属の細胞増殖刺激能を評価する(=metal-induced lymphocyte transformation test; MLTT)。また、感度を上げるために制御性T細胞をCD25-beadsを用いて autoMACS により除去し、MLTTを施行する。

C. 結果

接触皮膚炎、肉芽腫性口唇炎、歯科金属アレルギー、金属プレート挿入後の蕁麻疹の17症例において金属パッチテスト陽性反応を示した各金属と混合培養した。表記は stock solution (10 mM) の希釈倍率 (あるいは金属濃度) とした。結果は、Ni (1000 から 10000 倍希釈)、Fe (10000 倍希釈)、Cr (0.5-5 μ M) による MLTT にて陽性を示した。また、Ni に対する反応も装飾品による接触皮膚炎を発症した患者では陽性であったが、肉芽腫性口唇炎やプレートの金属による蕁麻疹様のもものでは陰性であった。一方、その他の金属では明らかな陽性を示さなかった (表 1)。

また、金属が高濃度 (10 μ M 異常) 毒性を生じ細胞増殖がむしろ抑制される。

一方、制御性 T 細胞を除去すると、健常患者では、細胞増殖に影響を与えないが、Ni アレルギーの患者において、Ni 添加による増殖効果が 40% 程であった患者の増殖率が 60-80% へと上昇した (図 1)。

D. 考察

パッチテスト陽性の金属に対して LTT アッセイが陽性になる金属とならない金属の 2 種類あることが示唆された。原因として、optimal dose で金属刺激ができなかった、金属の毒性の方が stimulation よりも強く出た、Treg などの抑制系のサイトカインが産生され LTT 反応が mask された、ある種の金属では PBMC 分画では LTT が誘導されない、などがあげられる。今後も詳細な optimal dose と toxicity に関する検討や培養液中の IL-10 などの抑制系サイトカインの定量、PBMC に分離する必要がある。また、whole blood を用いた LTT アッセイを用いることも選択肢の一つとして考慮する必要がある。

一方、症例数が少ないので今後の検討が必要であるが、IV 型反応の代表である装飾品に対する遅延型過敏反応であるアレルギー性接触皮膚炎を呈するものでは陽性の傾向が強いが、肉芽腫性口唇炎や金属プレートの装着による蕁麻疹様の IV 型アレルギーの臨床系を示すものでは LTT assay が陰性となる傾向が認められた。これらの事実は臨床病型によって LTT assay の結

果が左右される可能性があることを示唆する。

今後は、金属との混合培養液中の Th1 cytokine (IFN- γ , IL-2)、Th2 cytokine (IL-4, 5, 13)、Th17 cytokine (IL-17, IL-22)、T reg cytokine (IL-10, TGF- β) などを ELISA や flowcytometry による beads array などにより評価し、臨床症状と Th1, Th2, Th17 との関連を検証し、金属によって誘発される各臨床症状の発症機序に関与する T リンパ球サブセットの同定を行う必要があると考える。

一方、Ni に対しては、パッチテストが陽性でも、MLTT において陰性となる症例を幾つか経験した。陰性になる可能性として、末梢血中において、effector memory subset の Ni に対する反応を末梢血中に存在する Treg が抑制している、という仮説も成り立つ。そこで、制御性 T 細胞を CD25 ビーズにより除去した後に MLTT を施行したところ、図 1 に示すように、Treg を除去しなければ MLTT が陰性であったにもかかわらず、Treg の除去により MLTT が陽性に転化した。このような現象は Ni に対するパッチテストが陰性の健常コントロールでは認められなかった。以上より、MLTT を施行する際に Treg を除去することにより感度が上昇することが期待できる。ただし、Treg を除去する方法は煩雑であるため、IL-10 や CTLA-4 などの中和抗体を MLTT のアッセイ系に添加する、等のより簡便な系を開発する必要があると考える。

E. 結論

アレルギー性接触皮膚炎の臨床症状を呈する金属アレルギーにおけるパッチテスト陽性の患者由来の末梢血においては、LTT アッセイによる Ni, Fe に対する特異的 T 細胞の増殖反応が検出可能であることが示された。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 原著論文

1. 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.
2. Sugita K, Koga C, Kabashima K, Tokura Y. Occupational contact dermatitis due to polyvinylamine. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22:1130.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
3. 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
4. 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
5. 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

2. 学会発表 国外学会

1) 総説論文

1. 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.
2. 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
1. Prostaglandin E2-EP3 signaling, as a negative regulator of skin immune responses by suppressing cutaneous dendritic cell functions. N Shiraishi, K Kabashima, Y Tokura (IID 2008)
2. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. C Koga, K Kabashima, N Shiraishi, M Kobayashi, and Y Tokura (IID 2008)
3. Alterations of serum Th1 and Th2 chemokines by combination therapy of interferon-g and narrowband UVB in patients with mycosis fungoides. T Shimauchi, K Sugita, D Nishio, H Isoda, S Age, Y Yamada, R Hino, M Ogata, K Kabashima and Y Tokura (IID 2008)
4. Increased epidermal RANKL of grafted skin induces IL-10-producing Langerhans cells and regulatory T cells tolerogenic for contact hypersensitivity. R Yoshiki, K Sugita, K Kabashima and Y Tokura (IID 2008)
5. Induction of eosinophil-infiltrating drug photoallergy in mice. D Nishio, D Nakashima, T Mori, K Kabashima and Y

- Tokura (IID 2008)
6. Histamine as a key enhancer for skin innate immunity to fungi. M Kobayashi, R Yoshiki, K Kabashima, and Y Tokura (IID 2008)
 7. Role of SIP-SIP1 signaling in the establishment of contact hypersensitivity. D Nakashima, K Kabashima, J Sakabe, R Yoshiki and Y Tokura (IID 2008)
 8. Cutaneous hypersensitivities to haptens are controlled by IFN- γ -upregulated keratinocytes Th1 chemokines and IFN- γ -downregulated Langerhans cell Th2 chemokine. T Mori, K Kabashima, R Yoshiki, K Sugita, N Shiraiishi, A Onoue, E Kuroda, M Kobayashi, U Yamashita, and Y Tokura (IID 2008)
 9. Inducible nitric oxide synthase regulates dendritic cell migration and contributes to contact hypersensitivity. K Sugita, K Kabashima, R Yoshiki, and Y Tokura (IID 2008)
 10. Langerhans cells and prostaglandins: contribution to the etiology and pathogenesis of atopic dermatitis and related disorders (symposium) Kabashima K. 5th Georg Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis, Kyoto, April 2008

国内学会

1. 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
2. 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
 3. 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
 4. 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
 5. 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
 6. 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
 7. 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

表 1

Case#	PT	LTT	皮膚疾患
0	all (-)		健常コントロール
1	Ni	Ni (+):1μM, (-):10,100μM	アクセサリーによるかぶれ
2	Hg/Mn (+/-?)	Ni (-):1, 10, 100μM, Cr (-):1, 10, 100μM	アクセサリーによるかぶれ
3	Ni	Ni (+): 1,10μM, (-): 100μM	アクセサリーによるかぶれ
4	Ni, Cu, Mn (+++)	Ni (-): 1, 10μM, Cu (-):1, 10, 100μM, Mn (-):1, 10μM	肉芽腫性口唇炎(歯科金属?)
5	Cu (+++)	Cu (-): 1, 10, 100μM	歯科金属アレルギー
6	Fe, Mn, Cr, Ni etc (+)	Fe (-):10mM, (+)1μM, Mn (-):1, 10μM, Cr (-): 1, 10μM, Ni (-): 1, 10μM	骨折後の金属プレート挿入後の蕁麻疹
7	Pd, Ni, K (all +/-)	Ni (-): 50, 100μM, Pd (-): 100,150μM, Cr (+): 0.5μM, (-): 5μM	人工股関節部手術後、両下肢に紅斑局面
8	Ni, Cu, Mn	Ni (-): 50μM, 1mM, Cu (-): 0.1,1mM, Mn (-): 0.1,1mM	肉芽腫性口唇炎(歯科金属?)
9	Pt, Ni	Ni (-): 50μM, (+): 1μM, Pt (-): 1μM, (-): 0.01μM	人工股関節部手術前検査
10	Mn (+), Pt/Sn (+/-)	Pt/Sn/Mn (-):1,10μM	汗疱様手足湿疹
11	Pt, Cr	Pt (-): 1,10μM, Cr (-): 0.5μM, (+):5μM	
12	Mn (+), Pt/Sn (+/-)	Pt/Sn/Mn (-): 0.1,1μM	汗疱様手足湿疹
13	Ni (+)	Ni (-):5, 50, 500 nM	全身の結節性痒疹/AD like, 陶芸家
14	Pd (+)	Pd (-):1μM	内因性アトピー性皮膚炎、光線過敏症
15	Co (+), Ni (+)	Co (-), Ni (-):1μM	金属アレルギー
16	Cr (+), Co (-), Ni (-)	Cr (-), Co (-), Ni (-):1μM	内因性アトピー性皮膚炎
17	Co/Ni/Pt/Mn/Cu (+)	Co (-), Ni (+):1μM	金属アレルギー

図 1

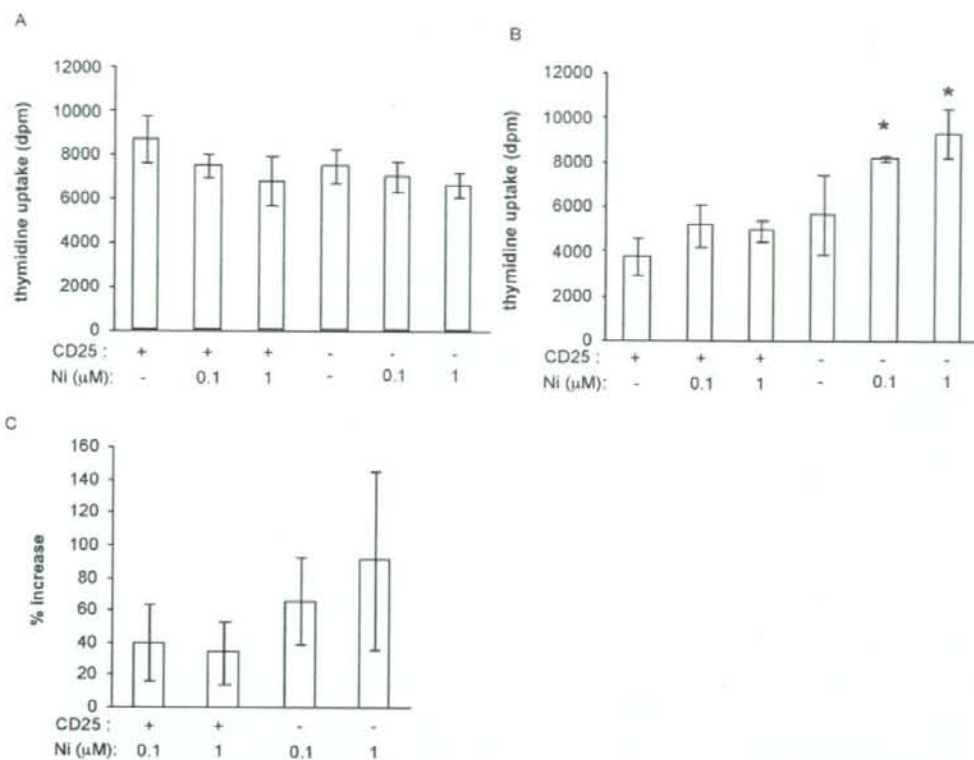


図 1 MLTT における Treg 除去の効果

Ni に対するパッチテスト陰性の健常人 (A) と、陽性の患者 (B) より末梢血を採取し、Ni を図に示す容量を加え、培養 3 日目に ^3H -thymidine を加え、24 時間後にセルハーベスターにより細胞増殖を測定した。

この際、末梢血全体 (CD25+) と制御性 T 細胞を除去した群 (CD25-) の 2 群を作り、両群間で比較検討した。さらに、Ni を添加しない群に比べどの程度上昇したかを増殖率で表示した (C)。

*: $P > 0.05$