

図 1 .

マウス皮下に植え込んだ金属ワイヤーの化学組成(mass %)と植え込み 3 日後に検出された構成金属

(高感度 ICP-MS で測定すると組織反応が起こる以前に表の右にある金属が既に溶出していた。)

	Ni	Ti	Fe	Cr	Mo	Mn	Si	Pd	Ag	Au	Cu
Ni	99.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NiTi	54~56	Bal.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SUS 316L	10~14	-	Bal.	16~18	2~3	<2	<1	-	-	-	-
Pd	-	-	-	-	-	-	-	99.95	-	-	-
Ag-Pd	-	-	-	-	-	-	-	28	48	12	10

Ni 溶出

Ni 溶出

Ni, Fe, Mo 溶出

Pd 溶出

Pd, Ag, Au, Cu 溶出

分担課題：金属パッチテストおよびヒト末梢血単球を用いた金属アレルギー診断方法確立

分担研究者：松永佳世子 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学 教授

研究要旨

金属パッチテスト (PT) は、貼布試料、貼布部位、貼布時期などにより、陽性所見にばらつきがある。接触アレルギーに関連した *in vitro* の検査には、リンパ球幼若化試験があるが金属による本検査法はまだ確実な方法とはいえない。そこで、金属アレルギーが疑われる患者に PT を行い、貼布部位、貼布試料の濃度・基剤、判定時期、貼布時の患者背景について、感度、特異度を上昇させる条件を検討した。その結果、金属 PT 試料によって、陽性率は異なった。陽性一致率は Ni が 83%、Hg 67%、Au は 40%であった。Trolab の試料 Au は陽性率が高い金属結果であった。陽性率に部位差は明らかではなかった。Au の PT 陽性率が試薬メーカーにより異なるが、濃度の測定は表記と一致していた。金属試料の分散の問題が陽性反応に影響している可能性がある。背部での密着度の問題、免疫反応の部位差も否定できない。ヒト末梢血中単球をイオン化したニッケルと培養し、CD54 ならびに CD86 発現量を測定した結果、金属アレルギーの症状が惹起されている状態では CD54 が有意に高くなることを示した。つぎに、ヒト末梢血単球を用いた *in vitro* 試験方法が実用化可能か金属の種類と症例数を増やし検討した。しかし、その結果を追試確認する症例数の追加が少なかった。以上より、金属の PT の陽性反応の再現性、確実性を担保するためには、さらに十分な検討が必要であり、今回の *in vitro* 試験法は実用性の可能性はあるが、まだデータが不足していると結論した。

A. 研究目的

金属パッチテスト (PT) も、貼布試料、貼布部位、貼布時期などにより、陽性所見にばらつきがある。接触アレルギーに関連した *in vitro* の検査には、リンパ球幼若化試験があるが、金属による本検査法はまだ確実な方法とはいえない。

われわれは、これまで、ヒト末梢血中単球をイオン化したニッケルと培養し、CD54 ならびに CD86 発現量を測定し、金属アレルギーの症状が惹起されている状態では、CD54 が有意に高くなることを示した。本研究では、金属アレルギーの診断をより正確に行うために金属パッチテスト方法の再検討と、ヒト末梢血単球を用いた *in vitro* 試験方法が実用化可能か金属の種類と症例数を増やし検討する。

B. 方法

1. 金属 PT 方法の検討：金属アレルギーが疑われる患者に PT を行い、貼布部位、貼布試料の濃度・基剤、判定時期、貼布時の患者背景について、感度、特異度を上昇させる条件を検討。
2. 金属 PT 前ならびに 48 時間後において、金属 PT 陽性患者と陰性患者の末梢血中の単球を用いて、金属アレルギーとの培養による CD86 および CD54 の発現量を比較し、ヒトの血液を用いた新しいアレルギー試験法としての実用性を検討する。

C. 結果

1. 金属 PT 試料によって、陽性率は異なった。陽性一致率は Ni が 83%、Hg 67%、Au は 40%であった。Trolab の試料 Au は陽性率

が高い金属結果であった。陽性率に部位差は明らかではなかった。

2. ヒト末梢血中単球をイオン化したニッケルと培養し、CD54ならびにCD86発現量を測定する研究は症例数の追加が少なかった。

D. 考察

1. AuのPT陽性率が試薬メーカーにより異なるが、濃度の測定は表記と一致していた。金属試料の分散の問題が陽性反応に影響している可能性がある。背部での密着度の問題、免疫反応の部位差も否定できない。

2. 症例数がまだ不十分である。

E. 結論

1. 金属のPTの陽性反応の再現性、確実性を担保するためには、さらに十分な検討が必要である。1箇所だけの貼布では金属アレルギーを見落とす可能性がある。

2. 金属PT前ならびに48時間後において、金属パッチテスト陽性患者と陰性患者の末梢血中の単球を用いて、金属アレルギーとの培養によるCD86およびCD54の発現量を比較し、ヒトの血液を用いた新しいアレルギー試験法は実用性の可能性はあるが、まだデータが不足している。

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. Yagami A, Kawai N, Kosai N, Inoue T, Suzuki K, Matsunaga K. Occupational allergic contact dermatitis due to dimethyl sulfate following sensitization from a severe acute irritant reaction to the reagent. *Contact Dermatitis* 2009;60:183-4.
2. Saito T, Hokimoto S, Oshima S, Noda K,

Kojoyo Y, Matsunaga K. Metal allergic reaction in chronic refractory in-stent restenosis. *Cardiovasc Revasc Med* 2009; 10:17-22.

3. Kaniwa N, Saito Y, Aihara M, Matsunaga K, et al. HLA-B locus in Japanese patients with anti-epileptics and allopurinol-related Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Pharmacogenomics* 2008;9:1617-22.
4. 田中紅, 中川真実子, 山北高志, 松永佳世子: 脱毛をきたした染毛剤による接触皮膚炎. *皮膚病診療* 2009;31:1303-4.
5. 安部正通, 矢上晶子, 中川真実子, 佐野晶代, 松永佳世子: HLA解析を行ったStevens-Johnson syndromeの2例. *皮膚の科学* 2009;8:158-63.
6. 古田加奈子, 美浦麻衣子, 牧浦宗彦, 鈴木加余子, 松永佳世子: トリルゴム手袋による接触皮膚炎の1. *J Environ Dermatol Cutan Allergol* 2009;3:449-58.
7. 中川真実子, 矢上晶子, 清水善徳, 鷺見康子, 鈴木加余子, 松永佳世子: インプラント中の金属アレルギーによる皮膚障害が疑われた10症例の検討. *J Environ Dermatol Cutan Allergol* 2009;3:32-41.
8. 山北高志, 清水 善徳, 内藤健晴, 松永佳世子: 掌蹠膿疱症に対する扁桃摘出術の有効性. *口咽科* 2009; 22:1:49-54.
9. 高山かおる, 横関博雄, 松永佳世子, 片山一朗, 相場節也, 伊藤正俊, 池澤善郎, 足立厚子, 戸倉新樹, 夏秋優, 古川福実, 矢上晶子, 幸野健, 乾重樹, 池澤優子, 相原道子, 日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会. 接触皮膚炎診療ガイドライン. *日皮会誌* 2009;119:1757-1793.

10.

2) 総説論文

1. 松永佳世子: 扁平苔癬. 2009;8:1262-70.
2. 鶴田京子, 松永佳世子: 湿疹・皮膚炎・じんま疹 接触皮膚炎. 小児科診療 2009;72:1979-1985.
3. 松永佳世子: 接触皮膚炎. 皮膚臨床 2009;51:1323-31.
4. 松永佳世子, 矢上晶子: 接触皮膚炎の臨床症状と検査. アレルギー・免疫 2009;16: 1698-1704.
5. 矢上晶子, 松永佳世子: 日常品による接触皮膚炎. アレルギー・免疫 2009; 16: 43-48.
6. 松永佳世子: 接触皮膚炎. Medicina 2010; 47:272-275.
7. 松永佳世子: アレルギー診療のスキルアップ パッチテストの実際. Medicina 2010; 47:287-290.

2. 学会発表

国外学会

1. Kayoko Matsunga: International Workshop on Skin Safety Evaluation of Cosmetics and Chemicals: From Genetics, Alternatives and Human Testing Japanese collaboration on human patch testing. The 17th International Contact Dermatitis Symposium and the 11th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium Kyoto, 2009.
2. Hajime Kojima, Masafumi Iijima, Kayoko Matsunaga, Hitoshi Sasa, Hiroshi Itagaki, Yuko Okamoto, Nohiro Nishiyama, Hiroshi Onodera, Iku Mita, Jun Washida, Koichi Masuyama, Mitsuteru Masuda, Yasuo Ohno. International Workshop on Skin Safety Evaluation of Cosmetics and Chemicals: From Genetics, Alternatives and Human Testing Utilization of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using

Quasi-drug. The 17th International Contact Dermatitis Symposium and the 11th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium Kyoto, 2009.

3. Mamiko Nakagawa, Yohinao Kato, Takaaki Yamada, Seiji Hasegawa, Kayoko Matsunaga. In vitro skin sensitization test using CD54 of human peripheral monocyte is useful to identify elicitation state of nickel allergy. The 17th International Contact Dermatitis Symposium and the 11th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium Kyoto, 2009.

国内学会

1. 中川真実子, 山田貴亮, 長谷川靖司, 松永佳世子: ヒト末梢血中単球による感作性試験の検討. 第

H. 知的財産権の出願・登録状況 該当無し

貼布部位の違いによる部位別のパッチテストの結果
Hg (n=9)

番号	右上		左上		右下		左下	
	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後
1								
2	+	+	-	-		+		
3	+	+	-	-				
4	+	-	+	+				
5			+	+			+	-
6			+	+			+	+
7	-	-	+	+			-	-
8			-	+			-	-
9			-	-			+	+

◇ 上背部と下背部に分けて貼布されていた症例数5例
 そのうち上背部に反応があった症例 3例/5例
 そのうち下背部に反応があった症例 3例/5例
 ◇ 左右に分けて貼布されていた症例数5例
 そのうち右に反応があった症例 3例/5例
 そのうち左に反応があった症例 2例/5例

同物質のアレルゲン発売元の違いによるパッチテストの結果とNi錯体のパッチテスト結果 Ni (n=19)

番号	硫酸ニッケル (2.5%pet) (TROLAB)		硫酸ニッケル (2.5%pet) (Brial)		Ni錯体	
	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後
1	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+

- ◆ TROLABとBrial両方に陽性: 14例/19例 (73.3%)
- ◆ 3種のアレルゲンに陽性: 9例/19例中 (47.3%)
- ◆ TROLABもしくはBrial一つの方に陽性: 3例/19例 (15.1%)
- ◆ TROLABとBrialにのみ陽性 (錯体陰性): 5例/19例 (26.3%)
- ◆ TROLABと錯体のみ陽性 (Brial陰性): 2例/19例 (10.5%)

 TROLABとBrial、錯体のアレルゲンに陽性
 TROLABかBrialの一つのアレルゲンに陽性
 TROLABとBrialにのみ陽性(錯体陰性)
 TROLABと錯体に陽性

同物質の濃度の違いによるパッチテストの結果 Au (n=8)

番号	金子オ硫酸ナトリウム (0.25%pet) (TROLAB)		金子オ硫酸ナトリウム (0.5%pet) (Brial)		金子オ硫酸ナトリウム (0.25%pet) (Brial)	
	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後
1	-	+	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	-	-
5	+	+	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-
7	+	+	+	+	-	-
8	+	+	-	-	-	-

- ◆ 3種のアレルゲンに陽性: 1例/8例中 (12.5%)
- ◆ 2種のアレルゲンのみに陽性: 5例/8例 (62.5%)
- ◆ 0.5%pet濃度のアレルゲンに陽性: 3例/8例 (37.5%)

 3つのアレルゲンが陽性
 1つのアレルゲンが陽性
 2つのアレルゲンが陽性

同物質のアレルゲン発売元と化合物の違いによるパッチテストの結果 Co (n=7)

番号	塩化コバルト (1.0%pet) (TROLAB)		硫化コバルト (1.0%pet) (Brial)		塩化コバルト (1.0%pet) (Brial)	
	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後
1	+	+	++	++	-	-
2	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
4	+	+	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-

- ◆ 塩化コバルト (TROLAB) と硫化コバルト (Brial) に陽性: 3例/7例 (42.8%)
- ◆ 塩化コバルト (TROLAB) と塩化コバルト (Brial) に陽性: 1例/7例 (14.2%)

 2つのアレルゲンに陽性
 1つのアレルゲンに陽性

まとめ1

Ni
Brial, TROLAB共に硫酸ニッケルを使用し、2.5%petと濃度・基剤も同じであり、陽性反応一致率は73.3%と高い値を示した。しかし15.1%の患者が一つのアレルゲンしか陽性反応を示さなかった。

Co
TROLABの塩化コバルト1%petとBrialの硫化コバルト1%petの陽性反応一致率は42.8%であったが、TROLAB社の塩化コバルト1%petとBrial社の塩化コバルト1%petの陽性反応一致率は14.2%であった。

Cr
Crは重クロム酸カリウム0.5%aq (鳥居薬品), 0.5%pet, (TROLAB) 硫化クロム0.5%pet(Brial), 硫化クロム酸カリウム2%aq(Brial), 塩化クロム1%pet(Brial)の4種類の化合物を貼布したが、各化合物が同時に陽性になる症例は認めなかった。

異なる化合物と基剤の違いによるパッチテストの結果 Cr (n=8)

番号	重クロム酸カリウム (0.5%aq) (鳥居薬品)		重クロム酸カリウム (0.5%pet) (TROLAB)		硫化クロム (0.3%pet) (Brial)		硫化クロム酸カリウム (1%aq) (Brial)		塩化クロム (1%pet) (Brial)	
	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後	72時間後	1週間後
1	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
5	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
7	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
8	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

1つのアレルゲンのみ陽性

◆ 2つ以上のアレルゲンに陽性反応を呈した症例は認めなかった

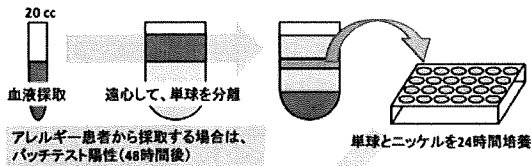
まとめ2

Hg
Hgは鳥居薬品の塩化第二水銀0.05%aqを2カ所に貼布したが部位による陽性率の差はなかった。

Pd
Pdは塩化パラジウム1%aq(鳥居薬品), 塩化パラジウム1%pet(TROLAB, Brial)と濃度は同じで異なる基剤, 異なる発売元のアレルゲンを貼布したが、陽性反応の数には大きな違いはなかった。しかしながら、その陽性一致率は15.3%と低い結果であった。

Au
金子オ硫酸ナトリウムの希釈濃度が異なるアレルゲンを貼布したところ、TROLABの金子オ硫酸ナトリウム0.25%petが金アレルギー患者全例で陽性反応を認めた。

実験方法及び解析方法(ヒト末梢血単球)



フローサイトメーター

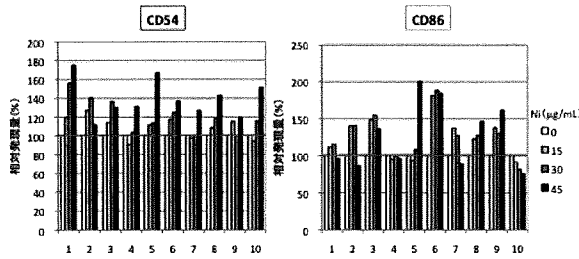
細胞表面のIsotype control (ネガティブコントロール; NC)、CD54及びCD86の発現を解析

感受性物質を添加した細胞: CD54 or CD86の測定値 - NCの測定値

コントロールの細胞: CD54 or CD86の測定値 - NCの測定値

= 感受性物質によって変化したCD54 or CD86の相対発現量 (%)

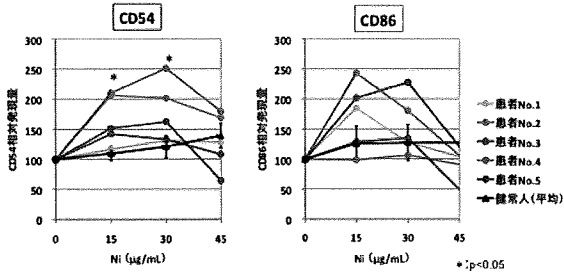
健常人におけるCD54及びCD86の発現(Ni)



CD54: 個人差によるばらつきはあるが、全体的に濃度依存的に発現が増加する傾向を認めた。

CD86: CD54と比較して、個人差によるばらつきが大きかったものの、全体的に発現の増加を認めた。ただし、発現増加を認めないものもあった(健常人No. 4, 10)

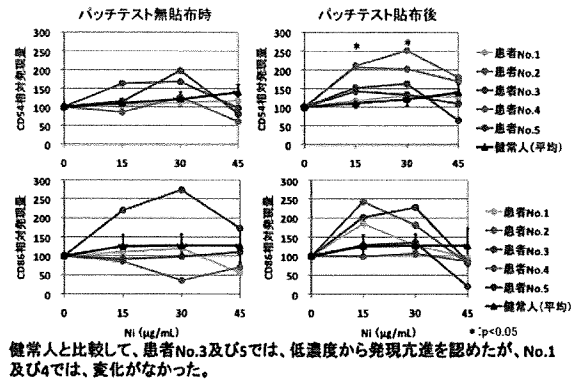
Niアレルギー患者におけるCD54及びCD86の発現



Niアレルギー患者の中央値は152,162%であり、有意な差を認めた。(p<0.05)

CD86に関しては有意な差は認めなかった。

Niアレルギー患者におけるパッチ無貼布時とパッチ貼布時の比較



健康人と比較して、患者No.3及び5では、低濃度から発現亢進を認めたが、No.1及び4では、変化がなかった。

まとめ

- ◎ 健康人の末梢血単球において、Niを暴露させると、CD54又はCD86の発現が亢進した。
- ◎ Niアレルギー患者のNi添加ヒト末梢血単球は、パッチテスト貼布時には健康人に比較してCD54の相対発現量は高かった(p<0.05)。
- ◎ しかしパッチテストを非施行時には両者の間に差はなかった。

考察

インプラントが挿入されて皮膚症状を生じている状態は体内に金属イオンがあり、パッチテスト貼布時と同じ状態がおこっていると考えられる。

インプラント中の金属によって、アレルギー症状を惹起している状況を、患者自身の末梢血単球を用いる試験方法により、リアルタイムで直接臨床症状と関連性のある金属のアレルギーを評価できる可能性があると考えた。

分担研究報告書

分担課題：金属アレルギー患者における金属反応性 T 細胞の解析

分担研究者： 橋爪秀夫 浜松医科大学皮膚科 准教授

研究協力者： 伊藤泰介 浜松医科大学皮膚科 講師

瀬尾尚宏 浜松医科大学皮膚科 助教

研究要旨

金属アレルギーは、T細胞を介する免疫反応である。金属のような低分子は、自己蛋白との結合により新たに生じたハプテン抗原として認識されると考えられているが、金アレルギー患者による我々の過去の検討から、ハプテン抗原認識以外の金属抗原認識機構の存在が推測される。金属によるT細胞反応の詳細を解析するために、我々はニッケルアレルギー患者から金属特異的T細胞を検討した。患者の末梢血をニッケルを添加して培養すると、反応するT細胞のT細胞受容体Vβ鎖は偏りがみられ、Vβ13.6陽性細胞はその35%を占めた。また、そのフェノタイプはすべてがCD4陽性で、細胞傷害性分子であるパーフォリンの弱い発現およびグラニューライシンの強い発現を認めた。この細胞から限界希釈法によって3つのニッケル特異的T細胞クローンを樹立した。調べ得た限り、これらの細胞は皮膚親和性分子であるcutaneous leukocyte antigenやケモカイン受容体のCCR4、CCR10などを発現せず、小腸親和性分子であるCCR9を発現していた。我々の検討から、ニッケル反応性CD4陽性細胞がパーフォリンやグラニューライシンを発現することから、本細胞がエフェクター細胞として表皮細胞を障害する可能性がある。金属アレルギーの簡便な診断法の確立は、本症において重要な課題であるが、金属刺激によるパーフォリンまたはグラニューライシンの発現を調べることによって、新規の診断手段となる可能性がある。

A 研究目的

金属アレルギーの予防や治療を推進するためには、金属における免疫応答の詳細を明らかにする必要がある。我々は、これまで金アレルギーの患者末梢血から金反応性T細胞を樹立し、その機能的解析を行ってきた。その結果、金反応性T細胞は、金が蛋白と共有結合したハプテン化抗原を認識するばかりでなく、MHCの拘束性が曖昧で、conventionalな抗原認識とは異なった反応が存在することを見出した。我々の発見は、金属アレルギーの機序の一部には、通常の抗原に対するT細胞反応以外の特殊な反応様式が存在することを意味している。本研究では、ヒトの金属アレルギーにおいて、既知の金属ハプテン抗原認識反応に加え、この特殊な金属に対するT細胞反応にも注目して解析し、金属反応性T細胞の特性を明らかにした上で、その機序を解明することを

目的とする。

B 研究方法

金属アレルギー患者の末梢血や皮疹部から、金属反応性T細胞を樹立する。末梢血に関しては、イオン化金属を至適量添加刺激培養してから、限界希釈法を用いて、金属反応性T細胞クローンまたはラインを樹立する。一方、誘発皮疹浸潤細胞の解析については、我々が考案した方法によって、浸潤T細胞を相当量増幅させた後、金属に対する反応性を解析する。また、末梢血からの樹立と同様の方法を用いて、皮膚由来金属反応性T細胞クローンまたはラインを樹立する。その両者の発現分子の比較検討、発現T細胞受容体の免疫学的または分子生物学的解析、金属反応性に関する特徴について解析する。(倫理面への配慮)

本研究は、浜松医科大学医の倫理委員会で倫理的側面から検討され、平成 21 年 7 月 31 日に承認を受けた(第 21-27 号)。この研究計画に基づき、被験者に対して倫理的に配慮して施行した。

C 研究結果

1)ニッケル(Ni)による接触皮膚炎患者から末梢血を採取して、Ni 添加培養におけるリンパ球のフェノタイプおよび発現する T 細胞受容体 V β 鎖の偏りをフローサイトメトリー解析した。パッチテスト後に採取した新鮮末梢血中のリンパ球は、CD4 陽性細胞が 75%、CD8 陽性細胞は 25%程度であった。50 μ M の Ni 存在下で 14 日間培養すると、ほぼすべての細胞は CD4 陽性細胞となった。両者の T 細胞受容体 V β 鎖を調べると、培養後には V β 1, 13.1, 13.6, 14, 17, 21.3 を発現する細胞の割合が増加した。特に V β 13.6 陽性細胞は 35%にも達しており、偏りがあることが判明した。Ni 刺激培養後の CD4 陽性細胞は、細胞障害性分子であるパーフォリンの弱い発現とグラニューライシンの強い発現を認めた。

2)Ni 刺激培養後の細胞から Ni 特異的 CD4 陽性 T 細胞クローンの D1 (V β 13.2 陽性), E11(V β 1 陽性)および G6(V β 13.6 陽性)の 3 個を樹立した。このうち E11 および G6 のケモカイン受容体の発現を調べたところ、皮膚親和性と関連するケモカイン受容体の CCR4, CCR10 などの発現を認めなかったが、両者とも小腸親和性のケモカイン受容体である CCR9 の発現を認めた。

D 考察

最近、Ni 特異的制御性 T 細胞の存在が健常者において確認され、この細胞の機能不全が Ni アレルギー発症の一因であることが判明した。しかしながら、どの細胞が Ni アレルギーにおいて重要なエフェクター細胞であるかという問いに対しては、CD8 陽性細胞、CD4 陽性細胞またはその両者であると種々の報告があり、未だ結論をみていない。我々の検討では、Ni 添加後 14 日間の培養で、殆どの CD8 陽性細胞が消失し、すべて CD4 陽性細胞だけが残った。この際用いた検体は、Ni による皮膚炎の極期に採取したものであり、すでに高度に活性化していた CD8 陽性細胞が再刺激によってアポトーシスに陥ってしまった可能性は拭い得ず、CD8 陽性細胞がエフェクター細胞ではないという根拠にはならない。

しかしながら、残っていた CD4 陽性細胞の約半数は、細胞障害活性を示すグラニューライシンを発現しており、結核菌などに出現する細胞傷害性 CD4 陽性細胞と同様なフェノタイプを示すことが判明した。したがって、Ni アレルギー患者においては、少なくとも Ni 刺激によって細胞障害活性を有する CD4 陽性細胞が誘導される新しい知見を得、そして本細胞が皮膚炎のエフェクター細胞である可能性を見出した。しかしながら、患者から樹立し得た 3 個の Ni 特異的 T 細胞クローンは、皮膚親和性分子の発現はみられず、直接皮膚炎をおこす病因細胞クローンを得ることはできなかった。一方、これらの細胞は、小腸親和性分子である CCR9 を発現していたが、その意義については不明である。

E 結論

Ni アレルギー患者には Ni 刺激によってグラニューライシンを発現する細胞傷害活性を有した CD4 陽性 T 細胞が存在し、この細胞が病因細胞である可能性がある。

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. Ito T, Ito N, Hashizume H, Takigawa M. Roxithromycin inhibits chemokine-induced chemotaxis of Th1 and Th2 cells but regulatory T cells. J Dermatol Sci 2009; 54: 185-91.
2. Ito T, Hashizume H, Takigawa M. Contact immunotherapy-induced Renbok phenomenon in a patient with alopecia areata and psoriasis vulgaris. Eur J Dermatol 2009.
3. Ito T, Fukamizu H, Ito N, Seo N, Yagi H, Takigawa M, Hashizume H. Roxithromycin antagonizes catagen induction in murine and human hair follicles: implication of topical roxithromycin as hair restoration reagent. Arch Dermatol Res 2009; 301: 347-55.

4. Ito T, Aoshima M, Ito N, Uchiyama I, Sakamoto K, Kawamura T, Yagi H, Hashizume H, Takigawa M. Combination therapy with oral PUVA and corticosteroid for recalcitrant alopecia areata. Arch Dermatol Res 2009; 301: 373-80.

5. Hashizume H, Aoshima M, Ito T, Seo N, Takigawa M, Yagi H. Emergence of circulating monomyeloid precursors predicts reactivation of human herpesvirus-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome. Br J Dermatol 2009; 161: 486-8.

総説論文、書籍

1. 瀬尾尚宏, 橋爪秀夫: 金属アレルギーにおける T 細胞の反応 臨床免疫・アレルギー科 52(2):246-251,2009

研究発表

国際学会

1. Fujiyama T, Hashizume H, Takigawa M: Stress management alleviates atopic pruritus. 5th International

Workshop for the Study of Itch 25th Oct.

国内学会

1. 橋爪秀夫 紫外線と免疫 第 108 回日本皮膚科学会総会 4月25日
2. 橋爪秀夫 腫瘍ペプチドを用いた経皮的免疫療法 第25回日本悪性腫瘍学会 5月22日
3. 橋爪秀夫 重症薬疹の治療 第21回日本アレルギー学会春季臨床大会 6月5日
4. 橋爪秀夫 乾癬患者の QOL とネオオーラル治療 第60回日本皮膚科学会中部支部総会 10月10日
5. 橋爪秀夫 金属による T 細胞反応 日本皮膚アレルギー学会・接触皮膚炎学会 11月6日
6. 橋爪秀夫 An encounter of mono-myeloid precursors with CD4+ cells in skin initiates herpes virus reactivation in drug-induced hypersensitivity syndrome. 第34回日本研究皮膚科学会 12月5日

H 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

特許取得 なし。

実用新案登録 なし。

その他 なし。

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

分担課題:アトピー皮膚炎における外因性・内因性の2分別と金属アレルギーの関与に関する研究

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:尾藤 利憲 産業医科大学病院 皮膚科 講師
: 栂島 利江子 産業医科大学病院 皮膚科 専修医
: 森 智子 産業医科大学医学部皮膚科学 助教
: 杉田 和成 産業医科大学医学部皮膚科学 助教

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と比較検討した。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。さらに外因性ADではフィラグリンの遺伝子変異をもつ患者がいるものの、内因性ADには調べ得た限りでは存在しなかった。次に、外因性19名、内因性17名に種々の金属のパッチテストを実施したところ、内因性AD患者に陽性率が高く、とくに17名中9名にコバルトの陽性所見を得た。内因性ADでは外因性ADと同様に、末梢血IL-4あるいはIL-5陽性Th細胞、さらにはIL-17陽性Th細胞が増加しており、両者間に有意差はなかったものの、内因性ADではさらにIFN- γ 陽性T細胞が外因性ADと比べ有意に増加していた。このことは内因性ADではTh1細胞も増加していることを示し、何らかの非蛋白抗原、例えば金属に接触過敏を有していることが想定された。AD患者には自己汗アレルギーをもつものがあるが、自己汗にアレルギー反応を示した9名のAD患者において金属に対するリンパ球幼弱化試験では2名、金属パッチテストで1名が陽性反応を示した。金属アレルギーを有する患者は自己汗、しかも汗が含有する金属によりADの皮疹を悪化させている可能性が示唆された。

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。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(loss of function)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つて、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、恐らく蛋白抗原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 の特徴を表 1 に示す。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く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。これは pseudo-atopic dermatitis^{7,8)} と呼ばれた病像・病態が、金属アレルギー特に Cr によるアレルギーであったことと関連を示す。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可能性は残される。

表 1. 内因性アトピー性皮膚炎の特徴

- 1) 基本的特徴
IgE が正常域か軽度高値である。
環境食物アレルギーに対する特異的 IgE がない。
アレルギー性鼻炎喘息の合併がなく、家族歴もない。
- 2) 頻度
AD の約 20% を占める。女性に多い (70~80%)。
- 3) 臨床的特徴
Dennie-Morgan fold が出易い。
尋常性魚鱗癬を合併せず、手掌の hyperlinearity もない。
発症年齢が遅めである。
症状が比較的軽い。しかし従来の治療に反応が悪い。
- 4) 皮膚バリア
皮膚バリア機能が正常である。
フィラグリン遺伝子変異がない。
- 5) 免疫学的特徴
IL-4, IL-5, IL-13 が外因性ほど高くない。
IFN- γ 産生細胞割合が高い。
- 6) 病因論的特徴
金属アレルギーが多い。

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⁹⁾、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¹⁰⁾。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、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、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、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、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。

また、AD 患者の約半数が自己汗にアレルギー反応を示すこと、自己汗希釈液を用いた減感作療法で皮疹改善効果があることが判明している¹¹⁾。一方、汗成分が金属を含有していること、経口摂取した金属が汗に漏出することなどが報告されており¹²⁾、手掌や頸部、腋窩、膝窩など多汗部位における皮疹の形成に汗もしくは金属の関与が予想される。上述の機序により AD の皮疹の増悪にも金属アレルギーの関与が考えられ、金属に皮膚が曝露する経路としては自己汗を通してである可能性が考えられる。

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 Th1 細胞、Th2 細胞、及び 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) 汗アレルギーと金属アレルギーの相関関係を調査すること、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
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

5. 汗アレルギー検査項目

患者の自己汗を用いた皮内テスト

具体的には、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(Cu)、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。

i) 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。

ii) 金属に対するリンパ球幼弱化反応

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 -チミジンの取り込みを測定した。

iii) 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。

6. 汗アレルギー

i) 自己汗を両腕から採取し、22 μm フィルターを通して精製し、滅菌生理食塩水にて100倍希釈し、0.02mlを皮内注射し、長径10mm以上の紅斑を生じた場合を陽性とした。

ii) 汗の中に含まれる金属の測定

三菱化学アナリテック(岡山)に依頼し、汗に含まれる金属をng/gの単位で測定した。

C. 研究結果

1. 患者背景

外因性AD46名と内因性AD26名を比較した。症例背景を表2に示す。

表2. 症例背景

	外因性 AD	内因性 AD	Fischer's exact test
患者数	46 (19 men and 27 women)	28 (8 men and 18 women)	
年齢 (years, mean ± SD)	30.5 ± 13.2	31.6 ± 11.6	N.S.
IgE (kU/L, mean ± SD)	8.055 ± 10.373 (550-53,000)	124.9 ± 107.8 (6-387)	P=0.0002
LDH (IU/L, mean ± SD)	269.9 ± 71.9	212.6 ± 70.38	P=0.0187
好酸球数 (% , mean ± SD)	8.8 ± 6.0	6.1 ± 5.4	N.S.
VAS (mean ± SD)	54.2 ± 27.0	51.9 ± 20.9	N.S.
SCORAD (mean ± SD)	35.4 ± 16.1	30.2 ± 10.4	N.S.
TEWL (g/m ² /h, mean ± SD)	14.3 ± 7.57*	8.73 ± 3.74	P=0.044
Skin surface hydration (AU, mean ± SD)	29.2 ± 7.29*	34.7 ± 5.78	P=0.025

The normal ranges or values are as follows: LDH, 119-229 IU/L; TEWL, 6.59 ± 1.78 g/m²/h; skin surface hydration (capacitance), 39.2 ± 14.4 AU. *Statistically significant, compared to normal subjects.

この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¹⁴⁾。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。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。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。電気刺激による皮膚感受性は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 が正の相関する、すなわち水分量が少ないほどかゆみを感じ易くなることを示した。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。以上より、内因性 AD は正常人と同じ角層状態を保っていることが示唆された。

さらにフィラグリン遺伝子変異を調べたところ、外因性 AD は 11 名中 5 名変異があったが、内因性 AD では 6 名中 1 名のみ変異があった。これはフィラグリンという角層バリア機能を構成する蛋白からも、内因性 AD は異常がないことが多いことを示した。

2. 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いことがすでに判明している¹⁰⁾。

内因性 AD は外因性 AD に比べ、末梢血 Th2 細胞 (IL-4 あるいは IL-5 産生細胞) は有意差がなく、内因性 AD も Th2 に変調していることを裏付けた (図 1)。また Th17 細胞割合も同等であった。一方、Th1 細胞 (IFN- γ 産生細胞) 割合は内因性 AD で有意に高く、内因性 AD は蛋白抗原以外の抗原、例えば金属に反応していることが示唆された。

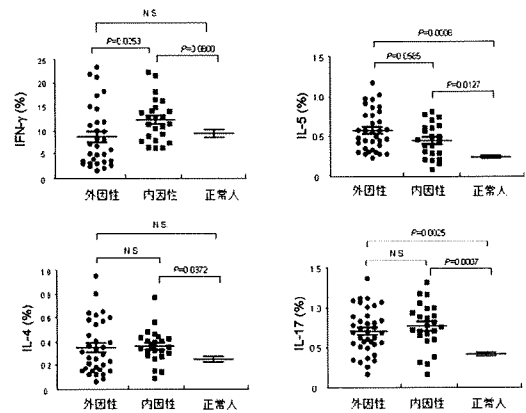


図1. 末梢血サイトカイン産生T細胞割合

3. 内因性 AD と金属アレルギーとの関連

外因性 19 名、内因性 17 例について金属パッチテストを実施した (表 4)。内因性 17 名中 9 名が Co に対して陽性反応を示し、外因性に比べ有意に多かった。しかも女性が 6 名であった。内因性 AD は女性に多いことと一致し、金属アレルギー、とくに Co の重要性が示唆された。その他では、Cr、Ni の陽性率が高かった。

表4. 金属パッチテスト結果

	外因性	内因性	Fischer's exact test P=0.0103
Co	2/19 (10.5%, M0, F2)	9/17 (52.9%, M3, F6)	
Ni	4/19 (21.1%, M0, F4)	5/17 (29.4%, M2, F3)	N.S.
Cr	2/19 (10.5%, M0, F2)	4/17 (23.5%, M1, F3)	N.S.
Zn	1/19 (5.3%, M1, F0)	1/17 (5.9%, M0, F1)	N.S.
Mg	1/19 (5.3%, M0, F1)	2/17 (11.8%, M0, F2)	N.S.
Pd	1/19 (5.3%, M0, F1)	1/17 (5.9%, M0, F1)	N.S.

Other metals, including aluminum, stannous, ferric, platinum, indium, iridium, silver, potassium, gold, cupric, and mercuric, yielded negative results in all patients examined.

金属パッチテスト陽性者にリンパ球幼弱化試験 (LST) を行った。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、Ni では陽性反応がでやすいものの、Co は陽性反応がでにくいことが判明した。内因性 AD の Cr パッチテスト陽性者に対して Cr の LST を行ったが陰性であり、Pa 陽性者にも LST を行ったがやはり陰性であった。従って、LST は Ni 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 Ni 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、1 症例において Ni のみならず、Cr と Co で強い LST 陽性反応が得られた。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。

4. 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。患者すべてにおいて、治療による SCORAD と VAS 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。外因性、内因性との間に血中サブスタンス P の量の差は認めなかった。

5. 汗アレルギーと金属

外因性 AD 患者 20 名、内因性 AD 患者 5 名で自己汗の皮内テストを行った。外因性

11/20 (55%)、内因性 4/5 (80%) が陽性反応を示した。8 名で金属に対する LST もしくは金属パッチテストを行い 3 名が陽性を示した。陽性患者はいずれも内因性 AD 患者であった。汗皮内テスト陽性者 12 名に対して減感作療法を行い、現在 10 名で症状改善をみている。

汗中の金属 (Ni, Cr, Co) の定量を行った。外因性 AD 6 名、内因性 AD 2 名、健常人 4 名の汗を測定した。Cr と Co は各群、個人間で有意差はみられなかったが、Ni に関しては Ni の LST 陽性を示した内因性 AD 患者 1 名が 722ng/g であり (もう 1 名は正常)、外因性 AD の平均 112±76、健常人平均 136±114 と比較してとびぬけて高値を示した。

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他の原因」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。また外因性 AD の一部はフィラグリン遺伝子変異を有することが確認され、内因性 AD は変異をもたないことも明らかになった。

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 なども 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。内因性 AD が女性に多く、パッチテストでもっとも陽性率が高かった Co 陽性者 5 名がすべて女性であったことは興味深い。LST は金属によって向き不向きがあり、とくに溶解の問題は大きい。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も期待している。

第3に、内因性ADとTh1細胞の関わりである。外因性、内因性ADにおいて末梢血Th2細胞、Th17細胞割合は両者とも高い割合をします。しかしTh1細胞は内因性ADで高く、蛋白抗原以外のもの、例えば金属が抗原になっている可能性を支持した(図2)。

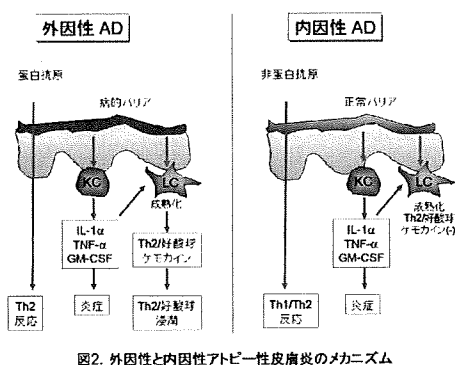


図2. 外因性と内因性アトピー性皮膚炎のメカニズム

E. 結論

内因性ADの原因・病態は金属アレルギーが一重要因子である。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。内因性ADでは外因性ADで重要なTh2細胞/Th17細胞とともに、Th1細胞が重要であることが示唆された。

内因性ADは皮膚バリア機能が正常であり、バリア異常に基づく蛋白アレルギーが発症に絡む外因性ADとは異なる。蛋白抗原はTh2を誘導しやすいことを考えると、内因性ADの抗原は蛋白抗原以外のものであって、

Th1も誘導しやすい抗原かもしれない。その意味において金属アレルギーが多いことと符号する。内因性ADは女性に多く、コバルトアレルギーは女性に多い。Pseudo-atopic dermatitisが金属によって発症していた⁷⁾という観察は、現在も非常に重要な知見と思われる。

衛生環境仮説では、兄のすぐ上に兄がいること、兄がデイケアセンターに早くからあずけられることが、ADの発症を抑制すると考えられている。これは細菌成分などに曝された場合免疫状態はTh1に傾き、それによってTh2病の発症が妨げられるという説である。ドイツでの研究で早くからデイケアセンターに入所させた児には内因性ADが多いという。これは見方を変えれば、外因性ADがTh2優位のため、その発症が抑制され、比較的的内因性AD割合が多くなると解釈することもできる。

AD患者はかなりの割合で汗アレルギーを有していることが判明しているが、今後は原因成分の中でも金属が重要と考えられる。汗中の金属成分の測定、AD個人間での比較、金属負荷後の用量の変動などの調査を検討している。内因性AD患者で汗アレルギーを有する患者は金属アレルギーも合併している可能性が示唆された。金属の体外への排出経路として汗が考えられ、AD患者の皮疹の形成機序を解き明かすヒントになる可能性がある。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、減感作療法をはじめとする新たな治療展開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) Shanon J: Pseudo-atopic dermatitis. Contact dermatitis due to chrome sensitivity simulating atopic dermatitis. *Dermatologica* 1965;131:1761-90.
 - 8) De Cock PA, Shanon J: Pseudo-atopic dermatitis. An example of pseudo-nomenclature. *Dermatologica*. 1966;133:236-237.
 - 9) 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.
 - 10) 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.
 - 11) 尾藤利憲、福永淳、大橋明子、堀川達弥、市橋正光、錦織千佳子：自己の汗希釈液を用いたアトピー性皮膚炎患者に対する減感作療法、*日皮アレルギー*、11: 122-127, 2003
 - 12) Julander A, Hindsén M, Skare L, Lidén C. Cobalt-containing alloys and their ability to release cobalt and cause dermatitis. *Contact Dermatitis*. 2009 ;60:165-70.
 - 13) 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.
 - 14) Mori T, Ishida K, Mukumoto S, Yamada Y, Imokawa G, Kabashima K, Kobayashi M, Bito T, Nakamura M, Ogasawara K, Tokura Y. Comparison of skin barrier function and sensory nerve electric current perception threshold between IgE-high extrinsic and IgE-normal intrinsic types of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2010, 162: 83-90..
 - 15) Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* (in

press).

16) 戸倉新樹, 椛島利江子 : 内因性アトピーと外因性アトピー, アレルギーの臨床 (印刷中).

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. Nakamura M, Tokura Y : The localization of label-retaining cells in eccrine glands. J Invest Dermatol 129 : 2077-2078, 2009.
2. 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 160 : 297-304, 2009.
3. Kobayashi M, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Downmodulatory Effects of the Antihistaminic Drug Bepotastine on Cytokine/Chemokine Production and CD54 Expression in Human Keratinocytes. Skin Pharmacol Physiol 22 : 45-48, 2009.
4. Kobayashi M, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Effects of oral antibiotic roxithromycin on quality of life in acne patients. J Dermatol 36 : 383-391, 2009.
5. Mori T, Ishida K, Mukumoto S, Yamada Y, Imokawa G, Kabashima K, Kobayashi M, Bito T, Nakamura M, Ogasawara K, Tokura Y : Comparison of skin barrier function and sensory nerve electric current perception threshold between IgE-high extrinsic and IgE-normal intrinsic types of atopic dermatitis. Br J Dermatol 162:83-90, 2010.
6. Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, Okazaki T, Tokura Y : Tumor cell expression of programmed cell death 1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. Cancer (in press).
7. 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 129 : 705-713, 2009.
8. Sugita K, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Drug-induced papuloerythroderma : Analysis of T-cell populations and a literature review. Acta Derm Venereol 89 : 618-622, 2009.
9. Sugita K, Kabashima K, Yoshiki R, Ikenouchi-Sugita A, Tsutsui M, Nakamura J, Yanagihara N, Tokura Y : Inducible Nitric Oxide Synthase Downmodulates Contact Hypersensitivity by Suppressing Dendritic Cell Migration and Survival. J Invest Dermatol 130:464-471, 2010.
10. Sugita K, Kobayashi M, Mori T, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Antihistaminic drug olopatadine downmodulates CCL17/TARC production by epidermal cells. J Dermatol 36:654-657, 2009.
11. Fukamachi S, Kabashima K, Sugita K, Kobayashi M, Tokura Y : Therapeutic effectiveness of various treatments for eosinophilic pustular folliculitis. Acta Derm Venereol 89 : 155-159, 2009.
12. Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tabata Y, Kohno K, Tokura Y : Involvement of Wnt signaling in dermal fibroblasts. Am J Pathol 176:721-732, 2010.
13. Abe S, Kabashima K, Moriyama T, Tokura Y: Food-dependent anaphylaxis with serum IgE immunoreactive to dairy products containing high-molecular-weight proteins. J Dermatol Sci 57:137-140, 2010.

14. Nishio D, Nakashima D, Mori T, Kabashima K, Tokura Y : Induction of eosinophil-infiltrating drug eruption in mice. *J Dermatol Sci* 55 : 34-39, 2009.
 15. Shimauchi T, Sugita K, Nakamura M, Tokura Y: Leukemic Cutaneous T-cell Lymphoma Manifesting Papuloerythroderma with CD3- CD4+ Phenotype. *Acta Derm Venereol* 90:68-72, 2010..
 16. Onoue A, Kabashima K, Kobayashi M, Mori T, Tokura Y : Induction of eosinophil- and Th2-attracting epidermal chemokines and cutaneous late-phase reaction in tape-stripped skin. *Exp Dermatol* 18 : 1036-1043, 2009.
 17. Amagai M, Ikeda S, Shimizu H, Iizuka H, Hanada K, Aiba S, Kaneko F, Izaki S, Tamaki K, Ikezawa Z, Takigawa M, Seishima M, Tanaka T, Miyachi Y, Katayama I, Horiguchi Y, Miyagawa S, Furukawa F, Iwatsuki K, Hide M, Tokura Y, Furue M, Hashimoto T, Ihn H, Fujiwara S, Nishikawa T, Ogawa H, Kitajima Y, Hashimoto K : Pemphigus Study Group: A randomized double-blind trial of intravenous immunoglobulin for pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 60 : 595-603, 2009.
 18. Atarashi K, Mori T, Yoshiki R, Kabashima K, Kuma H, Tokura Y : Skin application of ketoprofen systemically suppresses contact hypersensitivity by inducing CD4(+) CD25(+) regulatory T cells. *J Dermatol Sci* 53 : 216-221, 2009.
 19. 岩月啓氏、河合一浩、大塚幹夫、大野貴司、八木宏明、戸倉新樹、瀬戸山充、長谷哲男、菅谷 誠、土田哲也：皮膚悪性腫瘍診療ガイドライン II：皮膚リンパ腫（要約）。日本皮膚科学会雑誌 119 : 1189-1211, 2009.
 20. 高山かおる、横関博雄、松永佳世子、片山一朗、相場節也、伊藤正俊、池澤善郎、足立厚子、戸倉新樹、夏秋 優、古川福実、矢上晶子、幸野 健、乾 重樹、池澤優子、相原道子、日本皮膚科学会接触皮膚炎診療ガイドライン委員会：接触皮膚炎診療ガイドライン。日本皮膚科学会雑誌 119 : 1757-1793, 2009.
- 1)総説論文
1. Tokura Y: Photoallergy. *Expert Rev Dermatol* 4 : 263-270, 2009.
 2. Alenius H, Roberts DW, Tokura Y, Lauerma A, Patlewicz, Roberts MS : Skin, Drug and Chemical Reactions. *Drug Discovery Today* (in press).
 3. Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* (in press).
 4. 戸倉新樹：産業医学と皮膚科。皮膚と美容 41 : 14-19, 2009.
 5. 戸倉新樹：偽リンパ腫。日本皮膚科学会雑誌 119 : 1059-1064, 2009.
 6. 戸倉新樹：皮膚リンパ腫。日本医師会雑誌 138 : S280-281, 2009.
 7. 戸倉新樹：炎症性皮膚疾患の見方とコツ。日本臨床内科医会誌 24 : 115-118, 2009.
 8. 戸倉新樹：薬剤性過敏症候群とヒトヘルペスウイルス。小児科 50 : 1335-1341, 2009.
 9. 戸倉新樹：乾癬の病態：T細胞と樹状細胞から。マルホ皮膚科セミナー。放送内容集 201 35-38, 2009.
 10. 戸倉新樹：職業性皮膚炎の臨床と原因抗原。アレルギー・免疫 16 : 1714-1719, 2009.
 11. 戸倉新樹，栴島利江子：内因性アトピーと外因性アトピー。アレルギーの臨床（印刷中）。
 12. 尾藤利憲、杉田和成、戸倉新樹：接触皮膚炎関連の話題。MEDICO 40 : 293-295, 2009.

13. 小林美和、戸倉新樹：外用レチノイド全般. 日本臨床皮膚科医会雑誌 26:472-474, 2009.
14. 尾藤利憲：慢性光線皮膚障害と慢性放射線皮膚炎. MB Derma 154 : 53-59, 2009.
15. 杉田和成、戸倉新樹：菌状息肉症. Visual Dermatology (印刷中)
16. 織茂弘志、戸倉新樹：職業性皮膚疾患 NAVI. 臨床皮膚科 63 : 131-134, 2009.
17. 織茂弘志、戸倉新樹：「職業性皮膚疾患 NAVI」による登録と利用. MB Derma 154 : 60-65, 2009.
18. 古賀千律子、戸倉新樹：切削油・機械油による皮膚障害. MB Derma 154 : 13-16, 2009.
19. 磯田英華、戸倉新樹：化学熱傷と急性刺激性接触皮膚炎. MB Derma 154 : 25-32, 2009.
5. Nakamura M, Tokura Y: Differentiation of epidermal keratinocytes from mouse induced pluripotent stem cells. The 39th European Society for Dermatological Research Annual Meeting, Budapest, 2009.
6. Nakamura M, Sugita K, Yoshiki R, Hino R, Watanabe T, Tokura Y: Reduced expression of microRNA-155 in ATLL cells upregulates activation-induced cytidine deaminase and leads to neoplastic development. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
7. Bito T, Fukamachi S, Yoshiki R, Mori T, Shimauchi T, Nakamura M, Nishigori C, Tokura Y : Mechanism of suppressive effect of lipoic acid on the UVB-induced erythema reaction in vivo. Society for Investigative Dermatology Annual Meeting, Montreal(Canada), 2009.

2.学会発表 国外学会

1. Tokura Y : Th17 cells in skin diseases. Annual Meeting of Taiwanese Dermatological Association, Kaohsiung, 2009.
2. Tokura Y : Skin disorders associated with Epstein-Barr virus infection. JSID Forum. The 18th Meeting of European Association of Dermatology and Venereology, Berlin, 2009.
3. Nakamura M, Jo J, Tabata Y, Ishikawa O, Tokura Y : Controlled delivery of T-box21 small interfering RNA ameliorates autoimmune alopecia (alopecia areata) in C3H/HeJ mouse model. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
4. Tokura Y : Expanding roles for Th17 cells in immunological skin disorders. The 4th Joint Meeting of Japanese Dermatological Association and Australasian College of Dermatology, Sapporo, 2009.
8. Bito T, Sumita N, Masaki T, Shirakawa T, Ueda M, Yoshiki R, Tokura Y, Nishigori C : UVB and UVC induce Stat3 activation in human keratinocytes and fibroblasts through reactive oxygen species and DNA damage. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
9. Kobayashi M, Kabashima R, Nakamura M, Tokura Y : Two cases of subcutaneous phaeohyphomycosis due to unidentified fungi in immunocompromised hosts. ISHAM, 2009.
10. Mori T, Kabashima K, Sakabe J, Fukamachi S, Sugita K, Yoshiki R, Kobayashi M, Tokura Y : Activation of mast cells and Th2 cells and enhancement of immediate and late-phase cutaneous reactions via D1-like dopamine receptor. The 34th Meeting of the Japanese Society

- for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
11. Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, Okazaki T, Tokura Y: Tumor cell expression of programmed cell death 1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. The 39th European Society for Dermatological Research Annual Meeting, Budapest, 2009.
 12. Hino R, Mukumoto S, Ine K, Kawakami C, Yoshiki R, Sugita K, Nakamura M, Tokura Y: Tar-pitch dermatoses in fishermen. The 10th Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium. Kyoto, 2009.
 13. Yoshiki R, Kabashima K, Sugita K, Nakamura M, Tokura Y: Local UVB-induced immunosuppression is mediated by IL-10-producing and OX40L-positive mature Langerhans cells. The 39th European Society for Dermatological Research Annual Meeting, Budapest, 2009.
 14. Yoshiki R, Kabashima K, Sakabe J, Sugita K, Bito T, Nakamura M, Tokura Y : Local UVB-induced immunosuppression is mediated by IL-10-producing and OX40L-positive mature Langerhans cells. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
 15. Sugita K, Kabashima K, Sakabe J, Yoshiki R, Tokura Y : Sphingosine-1-phosphate regulates cutaneous localization and bone marrow egress of eosinophils. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
 16. Sawada Y, Bito T, Kabashima R, Sugita K, Hino R, Nakamura M, Tokura Y : Cholinergic urticaria with generalized anhidrosis/hypohidrosis: Etiologic role for depressed cholinergic receptor expression in eccrine glands and mast cells. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
 17. Sawada Y, Bito T, Kabashima R, Sugita K, Hino R, Nakamura M, Tokura Y. Cholinergic urticaria with generalized hypohidrosis and episodic seizure. The 4th Joint meeting of Japanese Dermatological association and Australasian College of Dermatologists. Sapporo, 2009.
 18. Sawada Y, Bito T, Kabashima R, Sugita K, Hino R, Nakamura M, Tokura Y. Cholinergic urticaria with generalized anhidrosis/hypohidrosis: Etiologic role for depressed cholinergic receptor expression in eccrine glands and mast cells. The 35th Annual Meeting of Taiwanese Dermatological Association. Kaohsiung, 2009.
 19. Fukamachi S, Mori T, Sakabe J, Shiraishi N, Kuroda E, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Topical cholecystokinin depresses itch-associated scratch behavior in mice. 5th International Workshop for the Study of Itch, Tokyo, 2009.
 20. Fukamachi S, Mori T, Sakabe J, Shiraishi N, Kuroda E, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y : Topical Cholecystokinin Depresses Itch-Associated Scratching Behavior in Mice. The 34th Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Fukuoka, 2009.
 21. Fukamachi S, Kawakami C, Kabashima R, Sawada Y, Sugita K, Yatera K, Tokura Y : Tuberculosis verrucosa cutis with elevation of circulating Th1 and Th17