

総説 2 パッチテストの理論と実際

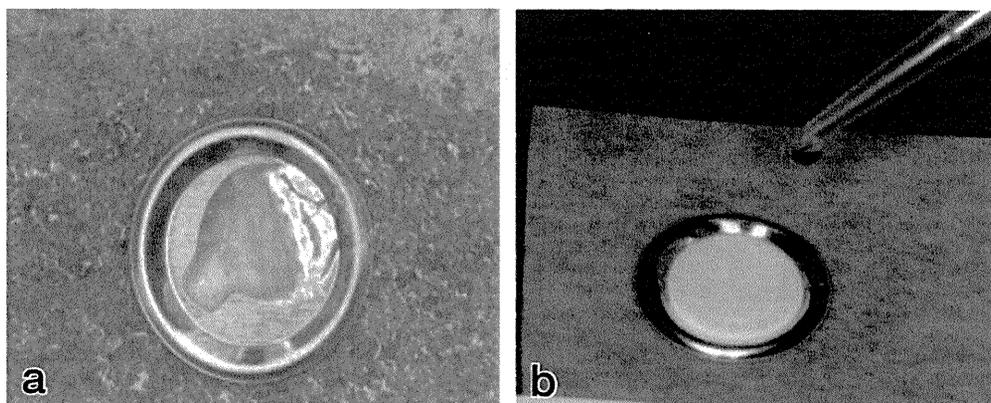


図4 貼布に用いる試薬の適切な量

(a) アルミ板の上に被疑物質を20 mg 載せる。
(b) ピペットを用いて水溶性試薬を15 μ l 載せる。

誘発できない。正しい結果を導くためには、試薬調整における濃度や基剤の決定が重要なポイントとなる。ジャパニーズスタンダードシリーズ以外のアレルゲンの濃度や基剤については、接触皮膚炎のテキストブックや過去の文献を参照する³⁻⁵⁾。基剤は白色ワセリンがもっとも広く使用されているが、精製水や溶剤(アセトン、エタノール、メチルエチルケトン)などが推奨される場合もある。

参考となるテキストブックを以下に記載する。

- ・ Peter JF, Torkil M, Jean-Pierre L: Contact Dermatitis 4th ed, Springer Verlag, Germany, p.366, 2005
- ・ Robert LR, Joseph FF: Fisher's Contact Dermatitis 6th ed, BC Decker Inc, Hamilton, 2008
- ・ Anton C de Groot: Patch Testing, 3th ed, Elsevier, Netherland, 2008
- ・ 須貝哲郎: アトラス接触皮膚炎, 金原出版, 東京, 1986

4) パッチテストにおける注意点

① アレルゲンの保存: アレルゲンの変質を最小限にするため冷暗所で保管する。アレルゲンは有効期限内に使用する。

② アレルゲンの貼布部位: 強い反応や交叉反応を呈するアレルゲンは隣接しないように貼布する。

③ 禁忌: 妊婦にはパッチテストを実施しない。

④ 併用薬: ①ステロイド薬—外用薬: テスト部位へのステロイド外用薬の塗布は偽陰性を招く。内服薬: プレドニゾロン(20 mg/日)を内服していても重要なアレ

ルギーは見逃さない⁶⁾。しかし、結果が不確かな場合は被疑物質による repeating patch testing を行う。⑤抗ヒスタミン薬—経口ロラタジン内服でパッチテスト反応が減弱したという報告があるが、パッチテスト結果における抗ヒスタミン薬の影響は現在も議論が続いている⁷⁾。
⑥免疫調整薬—免疫調整薬による影響は不明である。

■ パッチテストの手順

今回は、代表的なパッチテスト法である単純閉鎖試験を述べる。

1) パッチテストユニットの準備

あらかじめ被験物質をパッチテストユニットに付けておく。パッチテストユニットに載せる試薬の量を一定にすることによって、安全で再現性のある検査を行うことができる。そのため、軟膏や固形物はそのまま Finn Chamber (8 mm 径) に20 mg 載せる(図4)。水溶液の場合は、付属のろ紙を白色ワセリンで Chamber に固定しその上に15 μ l 滴下する。パッチテストテープの場合は、シールを剥がしそのまま貼布する。

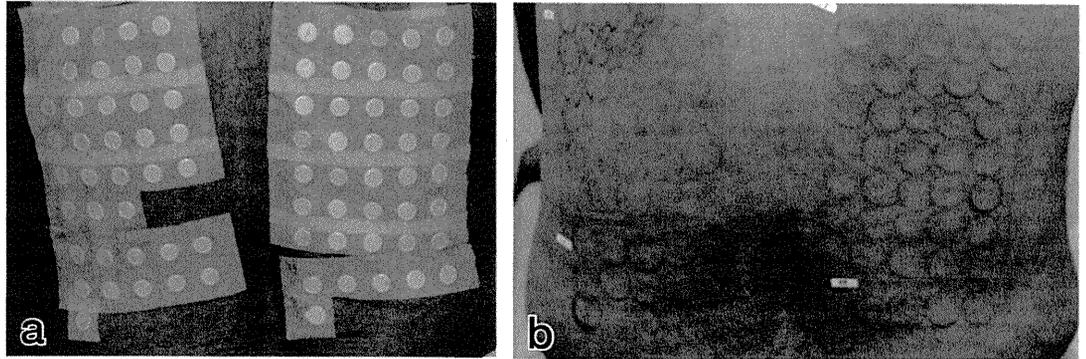
2) 貼布方法

通常、背部(傍脊椎部)の外見上正常な部位に48時間貼布する(図5a)。上背部や上腕外側に貼布することが推奨されている。貼布後、シャワー、入浴、スポーツ、発汗の多い労働は控えるように指示する。

3) パッチテストユニットの除去

貼布した48時間後にパッチテストユニットを静かに除去する(図5b)。色素や油剤、ファンデーションなど、パッチテストの判定に障害となるものはオリーブ油などで拭いた後、微温湯で拭く。水溶液などはガーゼでおさえるだけでもよい。ユニットを除去してから判定までの

図5 パッチテスト
(a) アレルゲンを載せたパッチテストユニットを背部に貼布する。
(b) パッチテスト開始48時間後、パッチテストユニットを静かに剥がし、インクでマーキングする。



間(1時間30分～2時間)、パッチテスト貼布部位に圧力をかけないよう患者に指示する。

4) パッチテストの判定

パッチテストの判定は複数回実施することが推奨されている。通常は、48時間、72時間または96時間後、そして1週間後に判定を行う。複数回判定する理由としては、金属抗原(とくにスズ、亜鉛、白金、イリジウム)は刺激反応が出現しやすいこと、硫酸フラジオマイシンなどの分子量の大きい抗生物質やステロイド外用薬などの抗炎症作用のある物質は陽性反応が4日、もしくはそれ以上遅れて誘発されることなどがあげられる。アレルギー反応はパッチテストユニットを外した後も反応が長く持続するが、刺激反応は時間とともに反応が弱まっていくという傾向がある。以上のような理由から、当科ではできるだけ複数回(3回)判定を行っている。

■ 判定基準^{8, 9)}

現在では、パッチテストの結果を評価するための判定基準にはICDRG基準を用いる(表3)。浸潤(浮腫)を触れる紅斑がパッチテスト部位の50%以上を占める場合は、ほぼアレルギー反応でよいとされる。

■ 結果の解釈

検査および判定が終了したら、判定結果と臨床症状の関連性を確認する。陽性反応が得られた場合は、①接触または使用歴を確認し、現在の皮膚炎の原因か、増悪因子かを明らかにする。②今回接触した物質でなければ過去の皮膚炎の既往を十分に問診し、以前の皮膚炎の原因か、増悪因子かを明らかにする。③さらに、これまでの皮膚炎とは関係のない交叉反応である可能性を考慮するなどを検討する。

一方、パッチテストが陰性であっても、即座にアレルギー反応ではないと判断せず、アレルゲンを正しい濃度で適切に貼布したかなどを検証する。

1) 多数の陽性反応が得られた場合

非常に強い陽性反応は、その反応の近傍にも陽性反応を出現させることがある。これを excited skin syndrome もしくは angry back syndrome という。このような場合は、非特異的反応を排除するためにより少ない抗原数で再検査を行う。

2) 結果と臨床症状が一致しない場合

適切な濃度・基剤で検査を行ったか検証し、可能な限り再検査を行う。また、パッチテスト中に偽陽性、偽陰性反応を生じさせる要因がなかったか確認する(発汗や圧迫など)。

3) 患者への結果報告

陽性反応が現在の皮膚炎の原因であると確認できた場合、原因物質の性質やそれが含まれる製品などの情報を伝える。また、それらの抗原で交叉反応を呈するものがあればその情報についても伝える。当科では、ジャパニーズスタンダードシリーズのアレルゲンに関してはアレルゲンカードを常備しており、患者に配布している(表4)。

4) 歯科医への紹介、結果報告

歯科治療で使用されている金属が陽性となった場合はテンプレートを用いて歯科主治医へ患者情報を送っている。テンプレートについてはp.1207を参照されたい。

■ パッチテストの危険性・インフォームドコンセント

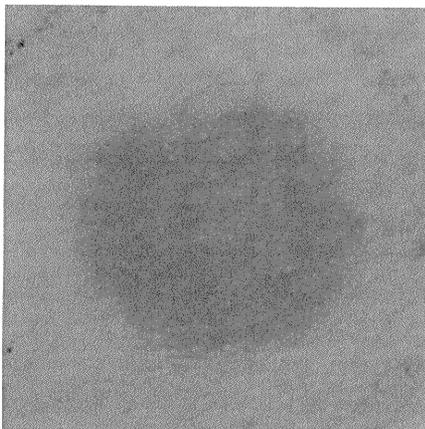
パッチテストにより、強刺激物質や腐食性化学物質は、強い反応や色素沈着や色素脱失をおこすことがある。また、そのような物質はパッチテストにより新たな感作をおこす可能性もある。よって未知の物質については、腐

特集 最新・歯科と連携して治す皮膚疾患

総説 2 パッチテストの理論と実際

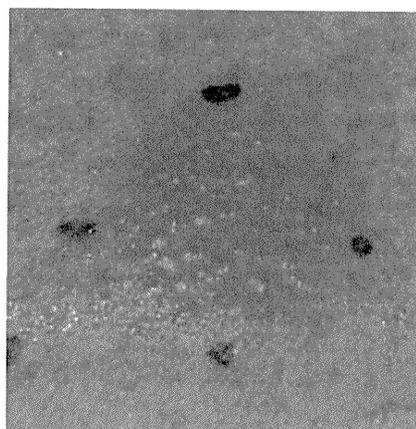
表3 判定基準

Score	Interpretation	解 釈
-	Negative reaction	陰性反応
? +	Doutful reaction; faint erythema only	淡い浸潤のない紅斑
+	Weak(nonvesicular) reaction; erythema, slight infiltration	浸潤(浮腫)を触れる紅斑が少なくともパッチ部位の50%以上を占めるもの
++	Strong (edematous or vesicular) reaction erythema, infiltration, vesicles	小水疱を伴う紅斑
+++	Extreme (bullous or ulcerative)	パッチテスト部位の50%以上が小水疱あるいは大水疱であるもの(浸潤性紅斑を伴う)
IR	Irritant reaction of different types	刺激反応
NT	Not tested	



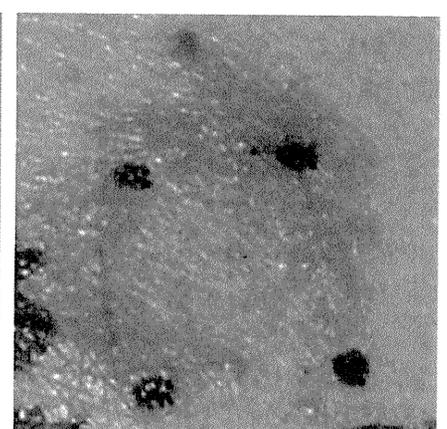
+

浸潤を触れる紅斑を認める。小水疱はない。



++

小水疱を伴う紅斑。



IR (刺激反応)

リング状の紅斑、浮腫。

食性、刺激性、感作性、経皮吸収後の身体への影響などを確認し、適切な濃度・基剤を設定したうえでパッチテストを実施する。また、検査を実施する前には、パッチテストの危険性を十分説明し、患者が同意したうえで検査を行う。

■ 歯科金属による遅延型アレルギー

金属による遅延型(Ⅳ型)アレルギーでは、金属自体がアレルギーであるのではなく、金属から溶出した金属イオンが、人体が本来もつタンパク質と結合しアレルギーとなるタンパク質に変性させ症状を惹起している。歯科用金属による金属アレルギーの患者も多く、疾患としては扁平苔癬や歯科金属疹(異汗性湿疹・掌蹠膿疱症)が誘発される。原因となる歯科金属には、水銀、金、パラジウム、白金、アルミニウム、スズ、銀、インジウム、イリジウムがあげられる。

臨床的に金属アレルギーが関与していることが疑われる患者にパッチテストを行い、金属アレルギーが陽性を呈した場合は、本誌で伊藤先生が紹介しているテンプレート(p.1207)を用いて紹介状を作成し、歯科の先生に紹介すると情報漏れがなく、スムーズに診療を進めることができる。

■ おわりに

歯科と皮膚科との連携診療において、パッチテストは金属アレルギーの有無を確認し、治療方針を立てることにおいて欠くことのできない検査法である。しかしながら、適切に行い、得られた結果を正しく解釈しなければ、患者の症状は改善しないどころか、患者に不要な金銭的負担を強いる可能性もある。

皮膚科医に限らず、歯科医の先生方にも行ってもらえる簡便なパッチテスト法が確立されればよいのだが、現

表4 当科で配布しているアレルギー説明カード

JS-1
コバルト
(Cobalt chloride)
 あなたはコバルトにアレルギーです。コバルトは以下のものに含まれています。

1. メッキ製品（ニッケルメッキされたものにはたいてい含まれる）
2. 歯科金属
3. セメント
4. 染毛剤
5. 印刷インキ
6. ビタミン B12 製剤：メチコパール
7. 接着剤
8. 色素
9. 絵の具、クレヨン
10. 陶磁器
11. エナメル
12. 粘土
13. ポリエステル系プラスチック

これらの製品の使用、摂取に注意してください。
 (藤田保健衛生大学医学部皮膚科学)

JS-2
ニッケル
(Nickel sulfite)
 あなたはニッケルにアレルギーです。ニッケルは金属のアレルゲンで、以下のものに含まれています。

1. ニッケル合金製品：ピアス（18Kでもニッケルを含むことがある）ネックレス、イヤリング、ブレス、ヘアピン、時計、眼鏡フレーム、ジーンズのボタン、ビューラーなど（これらは特に汗をかいたときに触れるとニッケルが溶出しやすい）
2. ニッケル硬貨（50円、100円硬貨でニッケルが溶出しやすい）
3. 歯科用合金
4. ステンレス製品：台所器具など
5. ステンレス製医療機器：プレート、ペースメーカー、人工弁人工骨、注射針など
6. 陶磁器

これらの製品の接触もしくは使用に注意してください。
 (藤田保健衛生大学医学部皮膚科学)

JS : Japanese Standard の略

時点ではむずかしい。また、どの施設の皮膚科医でもパッチテストが可能というわけではない。そのため、歯科の先生がパッチテストを必要な患者を経験された場合は本試験が可能な医療施設に紹介されることが望ましく、また、今後、皮膚科医に対するパッチテストの教育プログラムの推進が望まれる。

文献

- 1) 松永佳世子：第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会・共同研究シンポジウム、山梨、2011年7月
- 2) 松永佳世子：J Environ Dermatol Cutan Allergol 2: 427, 2008
- 3) 松永佳世子, 早川律子：皮膚臨床 30: 885, 1988
- 4) 高橋仁子, 菅野与志子, 大城戸宗男：皮膚臨床 30: 813, 1988

- 5) 岡部俊一, 鈴木長男：皮膚臨床 30: 843, 1988
- 6) Anveden I et al: Contact Dermatitis 50: 298, 2004
- 7) Elston D et al: Am J Contact Dermatol 11: 184, 2000
- 8) Jean-Marie L, Howard IM (ed) : Patch Testing and Prick Testing, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 33, 2009
- 9) パッチテスト反応アトラス：日本接触皮膚炎学会発行, 2005

矢上 晶子 Yagami, Akiko

〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98
 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学
 FAX: 0562-93-2198

松永 佳世子 Matsunaga, Kayoko

藤田保健衛生大学医学部皮膚科学

皮膚疾患を有する患者様へ 医療情報

歯科と連携する皮膚疾患もあります。

最近、歯科で使用した金属による皮膚疾患（歯科金属アレルギー、せつしょくひふえん接触皮膚炎など）で来院される患者様も増えています。

こういった疾患に対しては、皮膚科やアレルギー内科などの先生たちとしっかりと連携を取り合って治療していくことが大切です。

皮膚科での病名も「金属アレルギー」「接触皮膚炎」「しょうせきのうぼうしょう掌蹠膿疱症」など、歯科との関連が考えられる病名もたくさんあります。

皮膚科より歯科受診をすすめられる場合もあります。

「皮膚科なのに、歯科？」と思われる患者様もみえますが、実は歯科疾患が関わっていることもあります。

まずは、かかりつけの皮膚科での正確な診断、原因の検索（詳細な問診・皮膚生検・パッチテスト・血液検査・白癬菌検査など）が必要です。

パッチテストは、貼布日、48時間判定、72時間判定、1週間後判定が必要不可欠です。

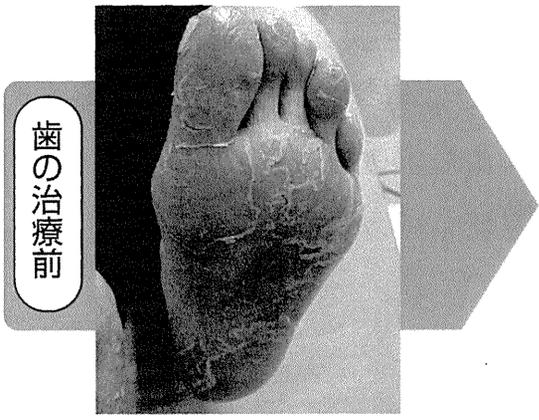
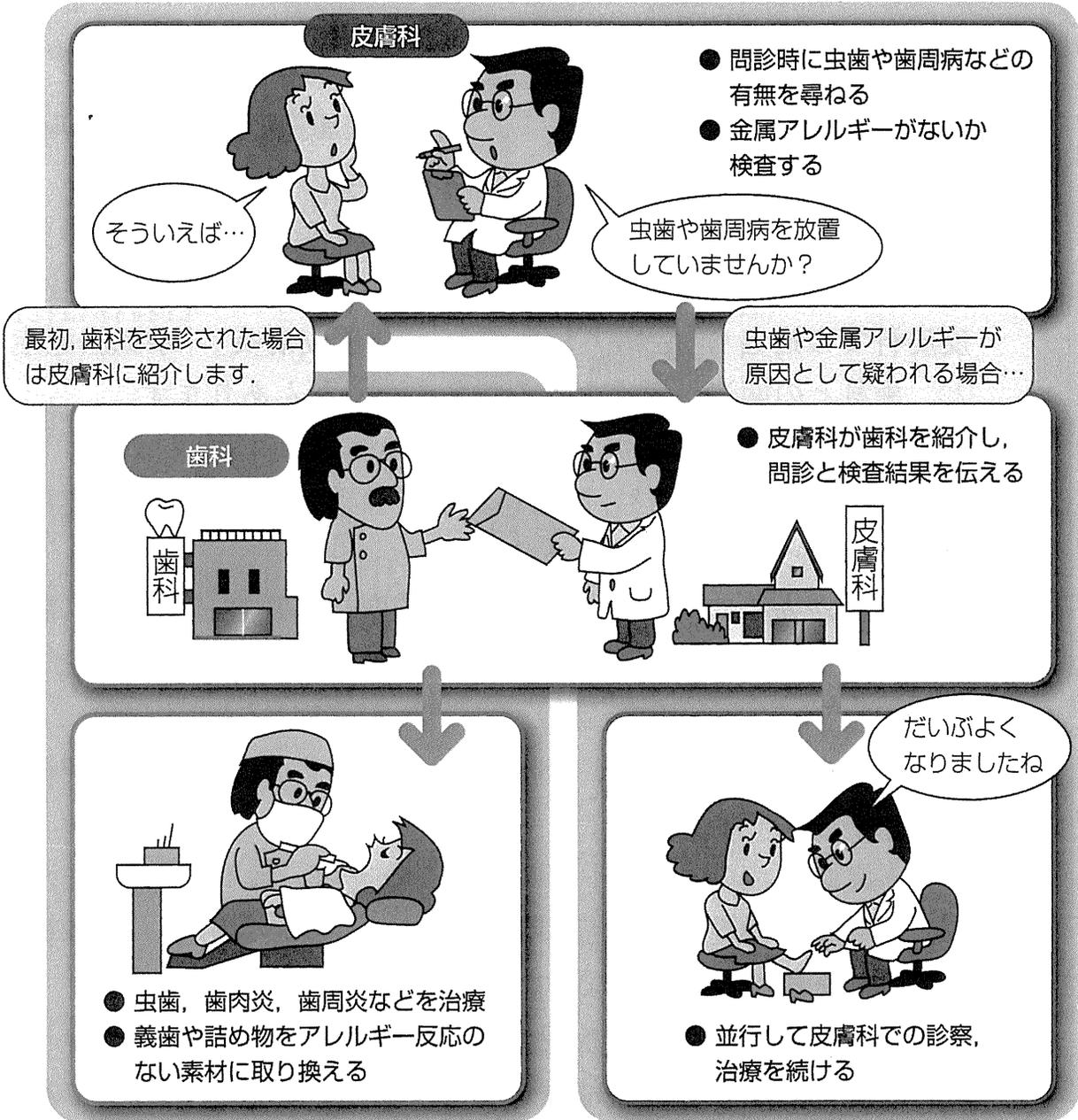
また掌蹠膿疱症のように「歯の根っこの炎症・歯周疾患」、また扁桃腺・副鼻腔の慢性的な炎症が関わっている場合もあり、耳鼻科受診が必要になる場合があります。

こういった難治性の皮膚疾患があり、皮膚科治療だけで改善しない場合、歯科治療・耳鼻科治療なども皮膚科の先生に相談してみてください。

また金属アレルギー等の場合、置き換える歯科材料によっては保険で可能な場合・あるいは保険では無理な場合もありますので、歯科の先生とよくご相談されることもおすすめいたします。

ただ、多くは保険で可能な場合もあります。

患者さんに提供するテンプレート（裏）



写真提供：おしむら歯科

執筆者 押村 進（おしむら歯科）

歯科から皮膚科への診断に関する情報提供書(初診)

病院

先生御侍史

歯科医院

印

受診日 20 / /

氏名() 年齢(才) 性別(男・女)

紹介理由:

皮膚科医への依頼内容

- 皮膚疾患の確定診断
 金属アレルギーの精査
 薬剤アレルギーの精査
 その他()

現病歴:

臨床写真 有 ・ 無

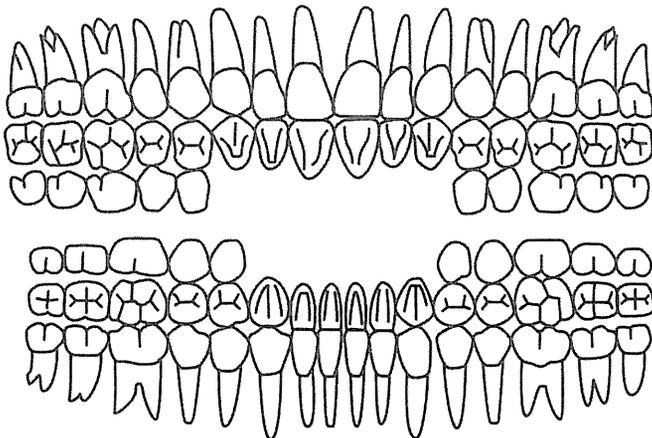
既往歴(歯科疾患以外):

薬剤アレルギー:

歯科治療についての既往歴: ①他の歯科医院
 ②当院

今回の診察結果(年 月 日)

根尖病巣 あり ・ なし
 中等度以上の歯周炎 あり ・ なし
 粘膜疹 あり() ・ なし
 X線撮影での異常所見 あり() ・ なし



オルソパントモ: 施行 ・ 未施行
 その他の画像診断 あり ・ なし

上記の所見が皮膚疾患の契機または悪化の原病巣となる可能性はあるか はい ・ いいえ
 今後の歯科治療の予定

現在使用している修復物の材料名および考えられる使用金属名

アマルガム(水銀, 銀, 錫, 銅), 金パラ(銀, パラジウム, 金, 銅, 錫, 亜鉛, In)
 銀合金(銀, 錫, 亜鉛, 銅), MMAモノマー, その他()

皮膚科から歯科に提供する紹介状テンプレート

患者氏名			ID	
性別	男	女	生年月日 (年齢)	年 月 日 (歳)
診断名	<input type="checkbox"/> 掌蹠膿疱症 <input type="checkbox"/> 異汗性湿疹 <input type="checkbox"/> 扁平苔癬 <input type="checkbox"/> 尋常性乾癬 <input type="checkbox"/> 膿疱性乾癬 <input type="checkbox"/> 口唇炎 <input type="checkbox"/> 他 ()			
発症時期	年	月	喫煙歴	<input type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有→ 本/日× 年
皮膚・関節症状 (部位を図示しながら自覚症状も記入)			皮膚科治療内容・方針	
			内服薬	
			外用薬	
			他	
			<input type="checkbox"/> 禁煙指導 <input type="checkbox"/> 食事指導	
口腔内所見	治療痕 <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり →		金属 <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり	
	粘膜疹 <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり →		所見:	
かかりつけ歯科	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり →		(医院名)	
現在通院中の病院・診療科				
感染症	<input type="checkbox"/> 未検査 <input type="checkbox"/> 検査済 → 年 月 日: HCVAb (), HBsAg (), HIVAb (), 梅毒反応 ()			
合併症・既往歴	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 糖尿病 <input type="checkbox"/> 脳梗塞 <input type="checkbox"/> 心筋梗塞 <input type="checkbox"/> 骨粗鬆症 <input type="checkbox"/> 膠原病 (病名:) <input type="checkbox"/> 他 ()			
使用中の薬剤 (処方内容)	<input type="checkbox"/> 抗凝固薬 () <input type="checkbox"/> 抗生剤 () <input type="checkbox"/> 鎮痛剤 () <input type="checkbox"/> ステロイド () <input type="checkbox"/> 他 ()			
薬剤アレルギー	<input type="checkbox"/> 局所麻酔 (薬剤名: 症状:) <input type="checkbox"/> 抗生剤 (薬剤名: 症状:) <input type="checkbox"/> 鎮痛剤 (薬剤名: 症状:) <input type="checkbox"/> 他 (薬剤名: 症状:)			
パッチテスト結果	貼布日 年 月 日 判定 <input type="checkbox"/> 48hrs <input type="checkbox"/> 72hrs <input type="checkbox"/> 96hrs <input type="checkbox"/> D7 3+ Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti 2+ Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti 1+ Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti ?+ Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti IR Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti 陰性 Co Ni Cr Hg Au Zn Mn Ag Pd Pt Sn Cu Fe Al In Iri Ti * 貼布していない金属は斜線 (/) で消す。 * 判定は ICDRG 基準に従う。			
解釈・コメント				
扁桃病巣	扁桃誘発試験 <input type="checkbox"/> 予定無 <input type="checkbox"/> 検討中 <input type="checkbox"/> 施行予定 (予定日 年 月)			
	<input type="checkbox"/> 施行済 (施行日 年 月 日) → 結果 <input type="checkbox"/> 陽性 <input type="checkbox"/> 陰性			
扁桃摘出術	<input type="checkbox"/> 予定無 <input type="checkbox"/> 検討中 <input type="checkbox"/> 施行予定 (予定日 年 月)			
	<input type="checkbox"/> 施行済 (施行日 年 月 日)			

Dermatological View

J Visual Dermatol 10:1208-1212,2011

金属アレルギーの免疫学 Up-to-date

川野光子, 小笠原康悦

Kawano Mitsuko, Ogasawara Kouetsu
東北大学加齢医学研究所生体防御学分野

はじめに

元来生体に対して無害と考えられる物質(花粉, 食品, 金属等)が抗原となり, 生体に対して有害な免疫反応をおこしてしまう場合がある. そのような病態は過敏反応と呼ばれ, 抗原の複数回の曝露による過敏反応を, アレルギーという.

現在, アレルギーは4つに分類されている(Gell & Coombs¹⁾). もっとも頻度の高いアレルギーは通常I型アレルギーと呼ばれるものであり, IgEを介した即時型過敏反応とされ, 花粉症・アレルギー性鼻炎・アナフィラキシーショックなどがあげられる. II型アレルギーは細胞表面において直接反応するIgMやIgGにより生じる組織傷害であり, Fc受容体を介した機序が重要と考えられており, 自己免疫性溶血性貧血・バセドウ病・重症筋無力症などがあげられる. III型アレルギーは, 可溶性抗原とそれに対する抗体による免疫複合体が局所に沈着し, Fc受容体を有する細胞や補体の活性化により組織傷害が生じる. とくにFcγR IIIを介した肥満細胞の活性化が重要であるとされ, アルサス反応が有名である. ヒトの疾患としては, 血清病・全身性エリテマトーデスにおける腎炎や皮膚炎が代表的である.

I型からIII型のアレルギーは抗体を介した反応である. これに対し, IV型アレルギーは, 感作T細胞によ

る組織傷害として知られ, 抗原投与後24時間以上経過してから生じる反応であり, 遅延型過敏反応とも呼ばれる.

金属アレルギーはこの遅延型過敏反応に分類され, T細胞主体の接触型過敏反応の一つと考えられているが, その詳しい分子メカニズムについてはいまだ不明な部分が多い. 金属アレルギーの原因としては, 口腔粘膜に直接接触する歯科用金属材料, 生体埋入型の医療用金属合金, ピアスや腕時計などの金属製装飾品に含まれる金属が考えられている. これら金属が生体に接触することでイオン化して生体内に侵入し, 抗原提示によりアレルギーが発症すると考えられている^{2,3)}.

本稿では, 主に金属アレルギー研究の現状について述べるとともに, 新しい金属アレルギーマウスモデルの開発と今後の展望について概説する.

IV型アレルギーの発症機序

一般的にIV型アレルギー反応は, 抗原が経皮的に吸収された際, 抗原提示細胞が抗原を捕捉した後, 所属リンパ節においてナイーブT細胞を感作することが原因となっておこる. 感作成立後に再度同じ抗原が生体に接触した場合, 抗原提示細胞が抗原を感作T細胞に提示すると, 感作T細胞がエフェクター細胞となって機能し, 局所において炎症がおこる. このとき, 2度目の抗原接触から炎症が生じるまでに24~48時間を要することから, この反応を遅延型過敏反応とよぶ.

一般的に, 抗原が外来性の場合にはリソソームによる抗原のプロセッシングを受けてMHC class IIを介して

Dermatological View

CD4⁺ T細胞へ、内在性の場合にはプロテアソームによる抗原のプロセッシングを受けてMHC class Iを介してCD8⁺ T細胞へ抗原が提示される。CD4⁺ T細胞が機能する場合には抗原刺激を受けてサイトカインが産生され、それにより免疫細胞や炎症細胞の活性化がおこり、炎症が惹起されると考えられている。CD8⁺ T細胞の場合には、CD4⁺ T細胞と同様にサイトカイン産生が関与して炎症が惹起される場合と、perforin/granzymeなどの細胞傷害顆粒の放出による直接的な細胞傷害の場合があると考えられている⁴⁾。

抗原提示は主に抗原が接触した組織の所属リンパ節でおこる。経皮的に抗原が接触した場合、表皮基底層上層に位置するランゲルハンス細胞(LC)はE-cadherinの発現を減少させることで角化細胞との接着を減弱させると同時に、ケモカイン受容体であるCCR7の発現を増加させることでケモカインに誘引されて輸入リンパ管を介して所属リンパ節に移動する。こうして所属リンパ節に移動したLCは抗原提示細胞として機能し、T細胞への抗原の提示とT細胞の活性化を誘導する。活性化したT細胞は、前述の通りにサイトカイン産生や細胞傷害顆粒の産生を通して組織に炎症を誘導し、アレルギーが発症すると考えられている^{5,6)}。

金属アレルギー研究の現状

これまでのIV型アレルギー反応とされる遅延型過敏反応に関して、2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)や2,4,6-trinitrochlorobenzene (TNCB), 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB)などの低分子化合物を用いた先行研究が多く報告されている⁷⁻⁹⁾。これら低分子化合物はハプテンとして機能し、経皮的に吸収されて生体内のタンパク質が変性することで自己のタンパク質が抗原性を獲得し、この抗原に対して過敏反応が誘導される。

それでは、金属の場合にはどのようにして感作が成立し、T細胞による反応がおこっているのだろうか？ 生体に接触した金属がイオン化して生体に侵入し、金属も低分子化合物と同様にハプテンとして機能していると考えられている。しかしながら、その後の抗原提示の詳細については、はっきりと示されているわけではない。金属イオンが免疫シナプス上に配位する可能性、生体内に存在するタンパク質を変性させることで内在性タンパク質に抗原性を付与している可能性、内在性タンパク質に

金属イオンが結合して抗原性を獲得している可能性など、さまざまな可能性が考えられている^{10,11)}。したがって、金属アレルギーの発症機序が解明されるまでにはさらなる研究が必要である。

この背景には、①金属アレルギーにどのような免疫細胞が関与しているのかよくわかっていないこと、②金属に特異的に反応するT細胞受容体(T cell receptor: TCR)レパトアの解析が不十分であること、③抗原ペプチド、あるいは金属イオンが結合する内在性タンパク質の同定がいまだなされていないこと、④金属イオンが免疫シナプスのどこに結合するのかわかっていないことなどがあげられる。

これまでの金属アレルギーの研究は主に、パッチテスト(PT)陽性のヒト患者血液から末梢血単核球(peripheral blood mononuclear cell: PBMC)を分離し、*in vitro*において金属溶液に反応するT細胞クローンを得ることにより進められてきた^{12,13)}。しかしながら、ヒトでの解析はすでにアレルギーを発症してからの解析であって、アレルギー発症における時系列的変化を明らかにすることはできない。さらに、ヒト患者サンプルのMHCは異なっていることが多く、T細胞レパトア解析から金属が結合する抗原ペプチドを絞り込むことは困難をきわめる。たとえば、同じ金属PTに反応した患者サンプルにおいても、異なるTCRレパトアが報告されており、エフェクターT細胞サブセットについても議論が尽きない。

上記のように、ヒト患者においてはMHCが異なるため、異なるTCRレパトアが反応するのは容易に想像できる。また、ヒトの場合は生活するうえでさまざまな金属に曝露されており、単一の金属曝露による影響を解析することは実質不可能である。この問題を解決するためには、金属アレルギー発症モデル動物を開発することが必須であり、動物モデルによって、各種金属に特異的に反応するT細胞を解析すること、および金属アレルギー発症における時系列的変化を解析することが可能となる。

モデル系の構築

現在、さまざまな疾患モデル動物が存在し、アトピー性皮膚炎やI型糖尿病、慢性関節リウマチなどの研究が盛んに行われてきた一方、金属アレルギーについては入手可能な疾患モデル動物が存在しなかったことから、金

■ 金属アレルギーの免疫学 Up-to-date

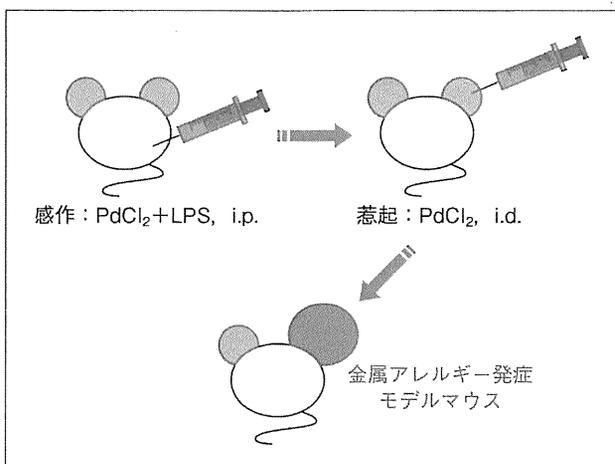


図1 金属アレルギーモデルマウス
BALB/c マウスの腹腔内にパラジウム+ LPS 混合液を接種して感作を行い、マウス耳介にパラジウム溶液のみを注射して金属アレルギーを惹起させ、金属アレルギーモデルマウスを作成した。

属特異的な反応を解析することは困難であった。

これまでにもマウスを用いた金属アレルギー研究がなされているが、マウス個体に金属溶液のみでアレルギーを誘導させることはむずかしく、金属溶液+ adjuvant を用い誘導している^{14,15)}。DNCBやTNCB, DNFB による遅延型過敏反応の解析のように、耳介に投与することで局所に金属アレルギーを誘導し、耳介厚の測定により金属アレルギー誘導を容易に評価する系が用いられている。しかしながら、adjuvant を使用して金属アレルギーを誘導した場合、惹起した反応が金属特異的な反応であるのか、adjuvant による影響なのかがはっきりしない。われわれは金属アレルギーにおけるT細胞の詳細な解析を目指し、先行研究を参考にしながらもこれまでにない金属アレルギーモデルマウスの構築を試みた。

金属アレルギーの原因の一つとして歯科金属が指摘されている。口腔内環境を考えると金属とともに常在細菌が存在する環境にある。すなわち、口腔内では金属イオンと細菌成分により常に曝露されている。この状況をマウスモデルで再現するために、グラム陰性菌の細胞壁成分であるリポ多糖 (lipopolysaccharide : LPS) と、歯科金属の代表的金属であるパラジウム (Pd) との混合液をマウス (BALB/c) に接種 (腹腔内) して感作を行い、マウス耳介に Pd 溶液のみを投与することで金属アレルギーを誘導した (図1)。その結果、効率的に Pd アレルギーを耳介に誘導することができた (図2)。

金属による細胞毒性は非常に強く、ある一定の濃度で

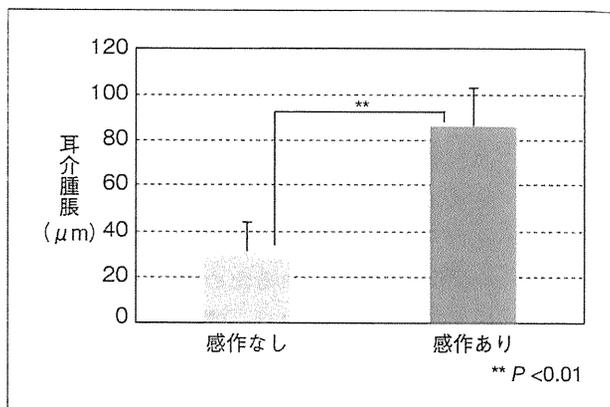


図2 金属アレルギー惹起後24時間における耳介の腫脹

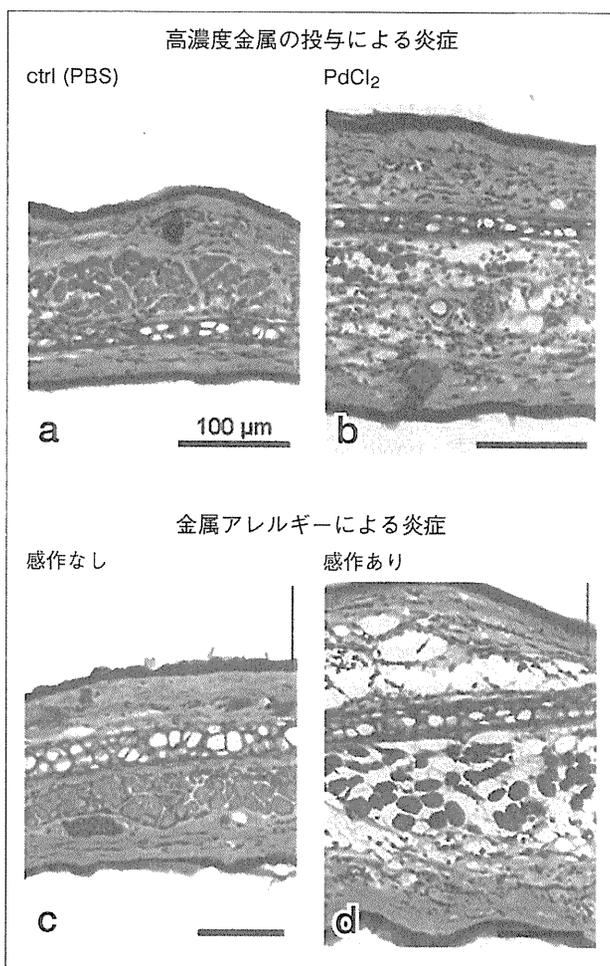


図3 金属の細胞毒性による炎症 (b) と金属アレルギーによる炎症 (d) は、見分けがつかない
(上) 高濃度パラジウムの金属毒性によるマウス耳介腫脹 (b)。(a) は PBS 投与コントロール。
(下) パラジウムに感作させた後、低濃度パラジウムによりアレルギーを惹起した際のマウス耳介腫脹 (d)。(c) は感作していないマウスに (d) と同様の処置をした際のマウス耳介。

Dermatological View

上の金属を投与しただけで強い炎症を呈することから、金属アレルギーと金属炎症の区別は、耳介の腫脹の評価だけではむずかしい(図3)。また、*adjuvant*のみでも炎症反応が惹起されるため、金属特異的なアレルギー反応を観察するためには、感作における自然免疫の活性化と一線を画した条件で惹起を行う必要がある。すなわち、*adjuvant*の混入を明らかに否定できる条件で惹起を行うことで、*adjuvant*に対する反応である可能性を否定し、なおかつ惹起される反応が金属に起因することを明確に示すことができなければ、金属アレルギーに対する疾患モデル動物とはいえない。

そこでわれわれは、感作成立個体の所属リンパ節細胞(Pd-SLN)をハプロタイプが同じヌードマウスに養子移入することで、*adjuvant*フリー(*adjuvant*に接触していない)な他個体で金属アレルギーを誘導することができるかどうか検討した(図4)。コントロールとしてナイーブなマウスの所属リンパ節細胞(*naïve*-SLN)を用いて同様の実験を行った。その結果、Pd-SLNを移入した場合には、感作の操作を行うことなくマウス耳介へのPd投与により金属アレルギーを誘導することができた一方、*naïve*-SLNの移入では金属アレルギーの誘導は観察されなかった(図5)。これらの結果は、われわれが開発したモデル系が*adjuvant*による反応を捉えているわけではなく、金属特異的なアレルギー反応を再現していることを証明すると同時に、金属に感作されたメモリーT細胞が移入されることによりヌードマウスへの金属感作の成立を示すものである。こうして、金属特異的なアレルギー反応を再現するマウスモデルによる解析が可能となった。

このモデルを用いて、金属アレルギーにおけるT細胞の反応について検討した。前述のとおり、感作が成立していない個体のリンパ節細胞を移入してもヌードマウスに金属アレルギーを誘導できなかったこと、ヌードマウスに直接感作+惹起を行った場合にも金属アレルギーの誘導は観察されなかったことから、金属アレルギーにおいてT細胞が重要な役割を担っていることが明らかとなったが、金属特異的なT細胞が反応しているのかどうかは不明であった。そこでわれわれは、ヌードマウスへの移入をくり返すことによって、*in vivo*でエフェクターT細胞を濃縮したうえで金属に反応するT細胞の解析を行った(図4参照)。その結果、理論上 5×10^{16} 通り存在するTCRレパトアの中から、 α 鎖に

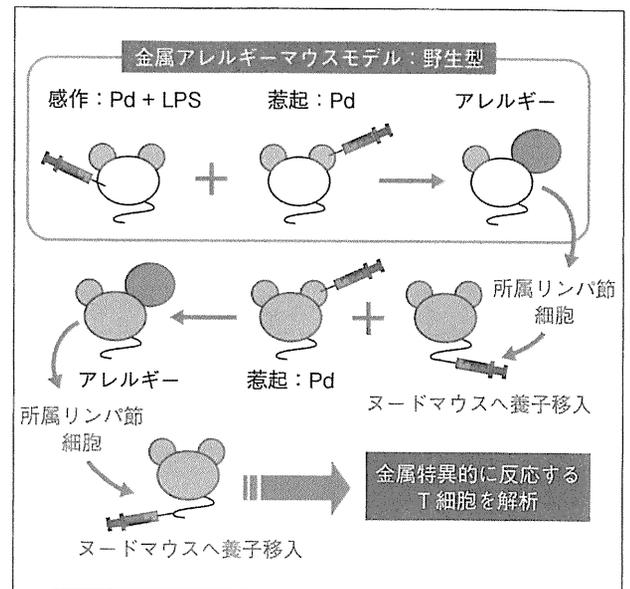


図4 金属特異的惹起モデルの作成

パラジウム感作の成立しているマウスの所属リンパ節細胞を、ハプロタイプの同じヌードマウスに養子移入して、金属アレルギー反応が惹起されるかを調べた。さらにヌードマウスへの移入をくりかえしてエフェクターT細胞を濃縮したうえで、金属に反応するT細胞を解析した。

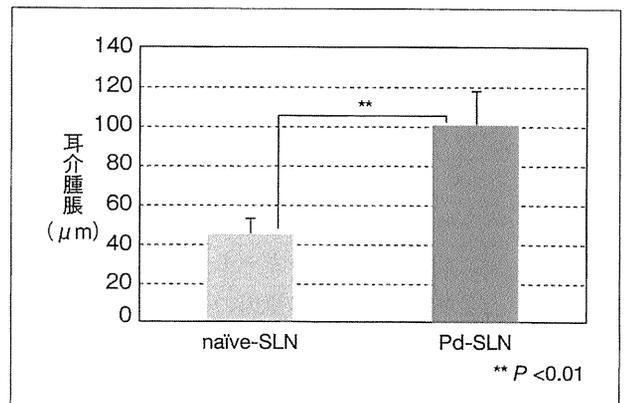


図5 金属特異的惹起の系を用いた耳介の腫脹

図4の系を用いて作成したマウスは、感作の操作を行うことなく感作が成立した。しかし、同様の操作をナイーブなマウス所属リンパ節細胞(*naïve*-SLN)を用いて行ったところ、金属アレルギーは誘導できなかった。

関与しては1種類のレパトアが金属アレルギーの発症に関与している可能性を見出した。このことから、T細胞による特異的な反応が金属アレルギーの発症に深く関与していることが明らかとなった。

今後は、この金属アレルギー特異的なT細胞による応答を詳細に解析することで、金属アレルギーの診断お

■ 金属アレルギーの免疫学 Up-to-date

よびその予測・治療までを視野に入れた包括的な研究を進めている。

■ 今後の展望

これまで金属アレルギーは、ステロイドの投与が一定の効果を示すため、臨床的にも研究が進んでいるとはいいがたかった。われわれの動物モデルにより、金属特異的に反応するT細胞レパトアが同定できれば、金属アレルギー特異的T細胞の存在を提示でき、金属イオンと抗原ペプチド、金属イオンと免疫シナプスとの関係が明らかになるものと推察される。

さらに、金属特異的T細胞の解析は、T細胞レパトアを用いた新たな診断法の可能性をも期待させるものである。すなわち、将来の金属アレルギー発症の可能性をT細胞のレパトアを解析することで、危険金属の種類を予測することが可能となり、その金属に接触しないような生活を心がけることで金属アレルギーの患者数を大幅に減少させることができると考えられる。つまり、事前

診断による金属アレルギーの予防が実現可能となる。さらに、金属アレルギー特異的T細胞の金属特異性と交叉反応性を調べることにより、より安全な生体金属材料の開発も進むことが期待される。

文献

- 1) Gell PGH, Coombs RRA: Clinical Aspects of Immunology, 1st ed, Blackwell, Oxford, 1963
- 2) Faurschou A et al: Contact Dermatitis 64: 185, 2010
- 3) Raap U et al: Contact Dermatitis 60: 339, 2009
- 4) Romagnani S: J Allergy Clin Immunol 105: 399, 2000
- 5) Figdor CG, van Kooyk Y, Adema GJ: Nat Rev Immunol 2: 77, 2002
- 6) Guermonprez P et al: Annu Rev Immunol 20: 621, 2002
- 7) Garrigue JL et al: Contact Dermatitis 30: 231, 1994
- 8) Lass C, Merfort I, Martin SF: Exp Dermatol 19: 1007, 2010
- 9) Inagaki N et al: Eur J Pharmacol 546: 189, 2006
- 10) Gamerding K et al: J Exp Med 197: 1354, 2003
- 11) Keller M et al: Clin Exp Allergy 40: 257, 2010
- 12) Werfel T et al: J Immunol 158: 2500, 1997
- 13) Hashizume H et al: J Immunol 181: 8096, 2008
- 14) Artik S et al: J Immunol 163: 1143, 1999
- 15) Kinbara M et al: Br J Dermatol. 164: 356, 2011

Visual Dermatology

Back Issue

2008年3月号

Vol.7 No.3

Visual Dermatology

ヴィジュアル・ダーマトロジー

株式会社 学研メディカル秀潤社

特集・皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか? 検査方法と生活指導

■責任編集: 矢上 晶子 (国立成育医療センター 免疫アレルギー研究部)

◆総論: 皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか? ◆Part.1 即時型アレルギー: 1. 原因物質=食物: 多種類の野菜・果物に症状を呈した花粉・食物アレルギー症候群/子どもの魚アレルギー/ナッツ類/スライス/小麦による食物依存性運動誘発アナフィラキシー 2. 原因物質=ラテックス: ヘベインによるラテックスアレルギー 3. ラテックス・フルーツ症候群: ラテックス・フルーツ症候群 4. 原因物質=薬剤: 皮内テスト・誘発テストを用いて原因検索を行った薬剤アレルギー/ DLST を用いて原因検索を行った薬剤アレルギー/ 皮内反応で確認できたスルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウムによるアナフィラキシー型薬疹/塩酸セフォチアムによる接触麻疹症候群 ◆Part.2 遅延型アレルギー: 1. 原因物質=アレルギー性接触皮膚炎: 抗原テストクマツ/めがね/点眼薬/口紅/インプラント/染毛剤/全身型金属アレルギーの特徴/フェイスマスクによる接触皮膚炎-提供された成分が表示成分と違っていた事例- 2. 原因物質=光アレルギー性接触皮膚炎: ケトプロフェン ◆Dermatological View: 即時型アレルギーの抗原解析 (in vitro)-イムノブロッティング法を中心に-皮膚感作性試験代替法の現状

■定価 2,625円(5%税込) ISBN978-4-87962-582-3

<http://gakken-mesh.jp/>

