

## プログラム

開会、本研究事業の概要 研究代表者 小笠原康悦 13:30-13:40  
東北大学加齢医学研究所・生体防御学

### 研究成果および研究計画の発表

#### セッション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の病態解析」  
川野 光子 (代理・研究代表者 小笠原康悦) 13:45-14:05  
東北大学加齢医学研究所・生体防御学

「Pdにおける金属アレルギーマウスモデルの確立」  
鈴木 隆二 (分担研究者) 14:10-14:30  
国立病院機構相模原病院・臨床研究センター

**本研究事業の連絡事項 (協力研究者は退出)**  
小笠原康悦 (研究代表者) 14:35-14:55  
東北大学加齢医学研究所・生体防御学

Break 14:55-15:15

#### セッション2.

「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と HDC レポーターマウスの作製」  
大津 浩 (分担研究者) 15:15-15:35  
東北大学大学院工学研究科・応用量子医工学

「金属の溶出評価と金属アレルギーへの進展機構の解析」  
平澤 典保 (分担研究者) 15:40-16:00  
東北大学大学院薬学研究科・生活習慣病治療薬学分野

Break 16:00-16:20

#### セッション3.

「**金属アレルギーを示す皮膚疾患とその病態**」

戸倉 新樹 (分担研究者)

16:20-16:40

浜松医科大学・医学部・皮膚科

「**金属アレルギーにおける皮膚免疫細胞の役割とその制御機構の解明**」

宮地 良樹 (分担研究者)

16:45-17:05

京都大学・医学研究科・皮膚科

Break

17:05-17:25

「**金属パッチテストを用いた金属アレルギー診断方法確立とその教育**」

松永 佳世子 (分担研究者)

17:25-17:45

藤田保健衛生大学・医学部・皮膚科

総合討論

17:45-18:15

発表は時間厳守でお願いいたします。目安として、発表時間15分、質疑応答5分、計20分と考えております(演題の間に5分の余裕はありますが、時間厳守でお願いいたします)。スライドはパワーポイントファイルで作成し発表してください。

## マウス金属アレルギーモデルを用いた金属アレルギーの病態解析

分担研究者	小笠原 康悦	東北大学加齢医学研究所・生体防御学分野	教授
研究協力者	川野 光子	東北大学加齢医学研究所・生体防御学分野	助教
	笹月 健彦	国立国際医療センター	名誉総長
	成島 尚之	東北大学大学院工学研究科・医用材料工学分野	教授
	西屋 禎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・薬効解析学分野	准教授
	中山 勝文	東北大学加齢医学研究所・生体防御学分野	助教
	渡邊 真通	東北大学加齢医学研究所・生体防御学分野	博士研究員
	園淵 和明	東北大学大学院医学系研究科・整形外科学分野	大学院生
	中村 生	東北大学大学院医学系研究科・生体防御学分野	大学院生
	樋口 繁仁	東北大学加齢医学研究所 生体防御学分野	非常勤講師
	佐藤 直毅	東北大学加齢医学研究所 生体防御学分野	非常勤講師
	鈴木 忍	東北大学加齢医学研究所 生体防御学分野	非常勤講師

### A. 研究目的

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。本研究では、①金属ワイヤーを埋入した組織における PAI-1 の発現評価、②抗原ペプチドを捉えることを目的として肝臓および脾臓から抽出したパラジウム結合性のタンパク質を用い、金属に反応性を有する T 細胞を *in vitro* で再刺激・評価するための条件検討を行った。

### B. 方法

- 6) C57BL/6 マウスの背部皮下に各種金属ワイヤー (Ni, ultra low Ni CCM, ultra low Ni CCM+Zr, CCM) を埋入し、3 日目に組織を採取、total RNA を抽出後、cDNA を合成し、PAI-1 および GAPDH の発現を real time PCR を用いて評価した。
- 7) C57BL/6 マウスから肝臓および脾臓を採取後、タンパク質を抽出し、Pd を結合させたキレートカラムにより Pd 結合性タンパク質を精製した。Pd+LPS 投与により腹腔浸出性マクロファージ (Pd/LPS-PEC) を回収、接着した細胞のみを抗原提示細胞として用い、足蹠部に Pd アレルギーを誘導した C57BL/6 マウスの膝窩リンパ節の細胞 (Pd-PLN) をエフェクター細胞として用いた。Pd 結合性タンパク質で PEC を処理後、PLN +/- PEC 共培養系 (PLN : PEC=2 : 1) に添加し、48 時間後に培養上清を回収し、ELISA にて IL-2 産生を定量・評価した。

### C. 結果

- 6) Ni ワイヤーを埋入した群では、PAI-1 の発現が有意に増加した。ultra low Ni-CCM および CCM ワイヤーを埋入した場合には、PAI-1 の発現はそれほど増加しなかったが、ultra low Ni-CCM における発現量は、CCM に比べて有意差をもって低発現であった。
- 7) PLN と PEC の共培養系に各組織から抽出した Pd 結合性タンパク質を添加することで、IL-2 の産生の増加は、見られなかった。

### D. 考察

- 6) ワイヤーに含まれる Ni の量 (つまりワイヤーから溶出される Ni の量) に応じて PAI-1 の発現が誘導される可能性が示唆された。
- 7) 組織特異的な反応性の差を捉えることはできなかった。

### E. 結論

- 3). Ni が含まれる金属ワイヤーを生体に埋入することで、埋入部分において PAI-1 の発現が誘導される。

- 4). 肝臓および脾臓組織に存在する Pd 結合性タンパク質は Pd アレルギーにおける抗原ペプチドのソースである可能性は低い。

**F. 今後の方針**

- ③ PAI-1 が発現している細胞を同定する。
- ④ PAI-1 の inhibitor が生体埋入金属による炎症を抑えることができるか否か検討する。
- ⑤ Pd アレルギーを起こしたマウスの皮膚および血清等から Pd 結合性タンパク質を抽出し、抗原ペプチドのソースとなるタンパク質の同定を試みる。

## Pdにおける金属アレルギーマウスモデルの確立

分担研究者：

鈴木 隆二

独立行政法人国立病院機構相模原病院・臨床研究センター 室長

研究協力者：

○江口 貴紀・重松 宏昭

独立行政法人国立病院機構相模原病院・臨床研究センター 研究員

鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座・大学院

小林 浩

厚生連 長野松代総合病院

熊谷 賢一

独立行政法人国立病院機構相模原病院・臨床研究センター 研究員

鶴見大学歯学部口腔顎顔面外科学講座・助教

### A. 研究目的

金属アレルギーは身の回りには様々な金属によって惹起される疾患である。中でもパラジウム(Pd)は数多くの歯科金属補綴物に含有され、口腔粘膜に直接接触する機会の多い金属である。前回我々はPdを用いて病理学的にヒト金属アレルギーに類似したマウスモデルを報告した。今回我々は、本マウスモデルを用いて、TCR レパトア解析、及び各種サイトカインの発現解析結果を基にヒト金属アレルギーの病態と比較検討し、金属アレルギーの病態解明に寄与することを目的とした。

### B. 方法

Pd アレルギーマウスモデルにおける足底部組織の各種サイトカインプロファイル (T cell markers, Th1, 2-type cytokines, and apoptosis factors) 及び組織学的変化(HE, CD3, CD4, CD8)を定量PCR法・免疫組織化学的染色法にて経時的に評価した。また、同時にTCR レパトア解析を行った。

### C. 結果

誘導注射(10 mM PdCl<sub>2</sub>, 25ml i. d.)後1週間のマウス足底部組織ではCD3, CD4, CD8を始めとするT細胞マーカーの有意な上昇が認められた。また、Th1/Th2 バランスにおいてはTh1 サイトカインの優位な上昇を認め、アポトーシス因子においてはperforin, granzymeA, B に差異は認められないもののFasLにおいて有意な上昇を認めた。病理組織的所見においては、誘導注射後1週間のマウス足底部組織はT細胞の明らかな上皮内・上皮浸潤と上皮組織構造の破壊を認めた。細胞浸潤は経時的に認められ、CD4陽性T細胞が主をなしていた。また、浸潤したT細胞のTCRはV $\alpha$ 18.1、及びV $\beta$ 8.2のskewが確認され、V $\alpha$ 18.1ではクローナルな増殖を認めた。

### D. 考察

我々の作製したPdアレルギーマウスモデルは

- ・病変部へのT細胞浸潤像と上皮組織破壊像の出現
- ・限局した特異的なT細胞の局所への浸潤
- ・Th1タイプCD4依存性の過敏反応を起こしている可能性

といった特徴を有しており、ヒトの金属アレルギーの報告と類似していた。

### E. 結論

我々の作製したマウスモデルは、病理組織学的、及び金属特異的なT細胞の存在からヒトの金属アレルギーに近似したモデルであった。本マウスモデルを応用することによって様々な金属アレルギーの病態解明に寄与することが可能であると示唆された。

### F. 今後の方針

本マウスモデルを応用しNi, Co, Crなど、異なる金属でマウスモデルを作成し、TCR解析を基盤として金属による相関、及び差異を評価していく。

## 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と HDC レポーターマウスの作製

分担研究者 大津 浩 東北大学大学院工学研究科・応用量子医工学 教授  
研究協力者 佐藤 睦 東北大学大学院工学研究科・応用量子医工学 技術補佐員

### A. 研究目的

1. 金属アレルギーの際に金属の腐食とともに溶出した金属濃度を定量的に測定できるシステムがあると診断や重症度、治療効果、予後の判定などに大いに役立つため、工学的機器により測定し、実際の臨床に役立たせる。
2. ヒスタジン脱炭酸酵素 (HDC) は、生体内における唯一のヒスタミン合成酵素であり、金属による炎症反応においてその遺伝子発現が誘導されることが示されている。BAC (大腸菌人工染色体) を利用して HDC 遺伝子のレポーター動物を作製し、金属アレルギー関連の研究に貢献する。

### B. 方法

#### 1. ヒトのサンプルの金属濃度測定：

**添加実験：**人乳中のニッケル(Ni)およびパラジウム(Pd)濃度測定のため、予備実験として市販の牛乳を用いて Ni および Pd の添加実験をおこなう。Ni 標準液あるいは Pd 標準液を牛乳に添加し最終濃度を 0ppb、1ppb、10ppb、100ppb、1000ppb(=1ppm)に調整する。マイクロ波試料分解装置で前処理 (Sample : 1ml、HNO<sub>3</sub> : 4ml、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : 1 ml の割合で混合した後に、マイクロウェーブで 140°C5 分、230°C45 分の条件で分解) を行い、牛乳が完全に分解していることを確かめて ICP-MS にて測定する。

**実際のサンプル：**加古川医療センター皮膚科足立厚子先生に検体を送ってもらい冷凍保存中である。サンプルの分析は工学研究科技術部合同計測分析班の ICP-MS にておこなう。

サンプル 2 例を ICP-MS にて測定予定。

1 例：母乳採取し (20ml) 冷凍保存。

1 例：掌蹠膿疱症の中年女性 ニッケルパラジウム強陽性 1 カ月制限後の汗を再度採取し、冷凍保存。

#### 2. レポーターマウスの作製：

HDC-BAC (HDC 遺伝子上流 120Kb および下流 146Kb を含む) を BDF1 マウス受精卵にインジェクションし、レポーターマウスを作成した (HDC-GFP BAC mice と命名)。マウスは 2 系統 (Line#1, Line#2) を維持している。HDC の実際の発現を再現するラインを見出すために、マウス脳、胃組織などの切片を作製し、GFP の免疫染色をおこない実際の HDC の遺伝子発現と相関性があるかどうかについて検討を行なう。GFP の免疫染色は一次抗体には抗 GFP rabbit IgG 抗体、二次抗体に Peroxidase labeled anti-rabbit goat IgG を用い、その後 DAB 染色を行なう。

**腹膜炎モデル：**以前に HDC-KO mice では腹腔内に注入した大腸菌(XL-1 blue)の排除が wild type mice に比べて遅いことを明らかにしている(腹膜炎モデル J Immunol 2002)。その結果から考えると野生型マウスでは腹腔内にヒスタミンが産生されるとが予想されるが、産生細胞は明らかではなかった。そこで HDC-GFP BAC mice に腹膜炎モデルを作製し、実際のヒスタミン産生細胞を検出することが出来るかどうかについて検討してみた。そこで、①大腸菌 XL-1blue を 10<sup>8</sup> コ腹腔内に注入し、4 時間後に腹腔内から細胞を採取し FACS にて GFP 蛍光強度と細胞数の関係について解析する (*in vivo analysis*)。②次に HDC-GFP BAC マウスの腹腔細胞をあらかじめ採取し、10<sup>8</sup> コの大腸菌と一緒に培養液中で振盪培養したのちに FACS 解析を行う (*in vitro analysis*)。

### C. 結果

1. これまでの ICP-MS の予備実験の結果は個々のデータのバラつきが多く、前処理の条件が適していないことがその原因として考えた。そこで、今回は牛乳が分解されやすいように前回使った硝酸ばかりでなく、過酸化水素も使い、有機物を完全に分解した。また ICP-MS 装置の試料から生成したイオンを真空部へ送る部分 (interface) の材質に Ni, Pd を含まない素材を使った結果データの安定性が増した。

2. マウス脳、胃切片に GFP の免疫染色を行った結果、Line#2 マウスで視床下部の TMN (結節乳頭核) 細胞、胃の ECL 細胞が特異的に染まった。これらの細胞は脳、胃でそれぞれ HDC を発現することが以前より明らかになっている細胞であり、今回の GFP の発現が HDC の遺伝子発現を模倣していることが確認できた。さらに、腹膜炎モデルにおいて *in vivo*, *in vitro analysis* にて腹膜炎を誘導すると GFP の発現量の増加が FACS の解析で確かめられた。

### D. 考察

1. ICP-MS による測定系において、試料の前処理と interface の材質を変えたことで測定値が安定してきた。これから実際のサンプルの測定を行う予定である。

2. HDC reporter mouse に関しては、脳視床下部吻側の TMN (結節乳頭核) や胃の ECL 細胞において GFP 蛋白が免疫染色されたために、Line#2 は HDC の内在性遺伝子の発現を再現すると考えられた。腹膜炎モデルにおいて腹腔細胞の GFP の発現量が増加したため、実際の HDC の発現が増加することが予期される。今後、quantitative RT-PCR 法にて腹腔細胞における HDC を始めとした遺伝子群の発現量を測定するとともに、GFP 発現細胞の identity を決定する予定である。

### E. 結論

金属アレルギー患者サンプルにおいて、実際に食物から入った金属を検知できる測定系を確立した。また BAC によるリポーター動物の作製に成功したと考えられる。

### F. 今後の方針

実際の臨床サンプルでの測定をして、病勢と測定金属濃度との間の関係について考察する。

HDC-GFP BAC マウスを用いて金属ワイヤーの植え込み実験をおこなう。

## 金属の溶出評価と金属アレルギーへの進展機構の解析

分担研究者 平澤典保 東北大学大学院薬学研究科・生活習慣病治療薬学分野 教授

### A. 研究目的

金属アレルギーの第一段階は金属の溶出にあるが、溶出した金属がどのように免疫系を活性化するかは不明な点が多い。今回はニッケルイオンに初めて暴露されたときに生じる炎症・免疫応答を *in vivo* ならびに *in vitro* で解析した。また生体試料中の金属測定を臨床での金属アレルギーの診断に応用することを目指し、アトピー性皮膚炎患者の汗中の金属イオン、ならびに口中に扁平苔癬が認められる患者の唾液中の溶出金属を測定した。

### B. 方法

#### 1) ニッケル線埋入モデルにおける炎症性タンパク質の発現

雄性 C57BL/6 マウス (6 wks) の背部皮膚に Ni 線を埋入し、経時的に埋入部位の組織を摘出し、種々の炎症性タンパク質の mRNA 発現を解析した。

#### 2) ニッケルイオンのマクロファージの機能に対する作用

マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞を、塩化ニッケル単独、あるいは lipopolysaccharide (LPS) とともに刺激し、サイトカイン産生量を測定した。

#### 3) 汗ならびに唾液中の金属イオン濃度の測定

アトピー性皮膚炎患者より得た汗中の Ni, Co, Cr 濃度、ならびに扁平苔癬患者等より採取した唾液中の Ag, Al, Au, Co, Cr, Hg, In, Ir, Ni, Pd, Pt, Sn 濃度を ICP-MS により測定した。

### C. 結果

5) Ni 線を埋入後、組織中のニッケル濃度、浮腫は 4 時間後から認められた。IL-6 ならびに MCP-1 mRNA も 4 時間後から増加し、やや遅れて TNF- $\alpha$  mRNA が増加した。

6) RAW264 細胞を塩化ニッケル単独で刺激してもサイトカイン産生は認められなかった。一方、LPS 刺激により IL-6 ならびに TNF- $\alpha$  の産生が誘導されるが、塩化ニッケルを添加すると、IL-6 の産生のみが低下した。

7) アトピー性皮膚炎の患者 (本年度 7 人) 中の金属イオンの濃度は IgE レベルとは相関せず、IgE レベルが低い患者の中に金属アレルギーが疑われるヒトが多いことが示唆された。またこれまで総計 38 人の汗中の金属イオンの濃度を測定した結果から、Ni, Co, Cr の濃度には相関性は見られないこと、最も変化が顕著なのは Ni であることが明らかになった。

8) 健常人 (20 人)、ならびに扁平苔癬あるいはアレルギー患者 (15 人) の唾液中の金属イオン濃度を測定し、患者において特に Ag, Pd, Ni, Sn, Au で高値を示す患者が多かった。

### D. 考察

生体内においてニッケルは、新たな抗原を形成するだけでなく、直接炎症・免疫細胞を活性化あるいは活性化を制御する作用があることが示唆された。また、汗、唾液中の複数の金属イオンを同時に測定することが可能になった。

### E. 結論

金属アレルギーの診断、そして治療薬の開発に金属の高感度測定が有用である事が示唆された。

### F. 今後の方針

金属アレルギーの臨床診断においてパッチテストとともに、金属イオンを測定することの意義を明らかにするため、さらに測定例を増加し、病態との関連を解析するとともに、健常人での正常範囲と、金属アレルギーを誘発する濃度を明確にする。

## 金属アレルギーを示す皮膚疾患とその病態

分担研究者	戸倉 新樹	浜松医科大学医学部皮膚科学 教授
研究協力者	山口 隼人	浜松医科大学皮膚科診療従事者
	坂部 純一	浜松医科大学医学部皮膚科学特任助教
	椛島 利江子	産業医科大学病院 皮膚科助教
	尾藤 利憲	神戸大学大学院 皮膚科学講師

### A. 研究目的

アトピー性皮膚炎 (AD) には外因性 (extrinsic) と内因性 (intrinsic) がある。外因性は血中 IgE が高く、喘息や鼻炎を合併しやすい。内因性は IgE が正常域で特異的 IgE 感作を示さない。この両者は、皮膚バリア障害、免疫変調の方向性、金属アレルギーにおいて異なる。内因性 AD は非アレルギーではなく、Th1 も誘導する何らかの抗原が増悪因子になっている。またその他の皮膚疾患においても金属がアレルギーの観点から、患者情報の集積と病態について検討を加える。

### B. 方法

1. 内因性 AD 患者の決定基準と集積：総 IgE 値が 200 IU/ml 未満、または 200 IU/ml 以上 500 IU/ml 未満かつヤケヒョウヒダニ・コナヒョウヒダニの特異的 IgE が class 0 か 1、として集積した。
2. フィラグリンの遺伝子変異同定のシステム確立：外界からの金属に対する皮膚反応は皮膚バリアの破綻に影響されないという仮説を我々はもっている。皮膚バリアの重要な因子としてフィラグリンがあり、患者を解析する上で、必須の情報となるため、日本人にみられる 8 種の遺伝子変異を同定するルーティンシステムを構築した。
3. 金属アレルギー：17 種の金属をパッチテストし、陽性率を検討した。加えて金属が多量に含まれる汗について、金属濃度を計測した。

### C. 結果

1. フィラグリン遺伝子変異は 16.6% に認められた。内因性 AD での変異率は外因性に比べ低率であった。
2. 産業医大の症例に加え、新たに浜松医大で金属パッチテストを内因性 AD と他の皮膚疾患例で実施した。内因性 AD 患者では有意に Co の陽性率が高く、Ni も高い傾向にあった。汗中の金属濃度の測定も神戸大尾藤講師の協力で行なった。

### D. 考察、結論

フィラグリンが正常でバリア機能が保たれている内因性 AD では金属アレルギーが高頻度である。

### E. 今後の方針

内因性 AD に対し、金属アレルギーの経皮接触の回避および経消化管吸収の制限、減感作療法をはじめとする新たな治療展開の可能性を考えたい。



## 金属アレルギーにおける皮膚免疫細胞の役割とその制御機構の解明

分担研究者	宮地 良樹	京都大学・医学研究科・皮膚科	教授
研究協力者	梶島 健治	京都大学・皮膚科	准教授
	野村 尚史	京都大学・皮膚科	講師
	大塚 篤司	京都大学・皮膚科	特別研究員

### A. 研究目的

金属アレルギーは皮膚免疫反応の代表的疾患であり、接触皮膚炎の一つの表現型である。これまでの研究から我々は次の3点を明らかにした。(1) ランゲルハンス細胞 (LC)、ランゲリン陽性真皮樹状細胞 (L<sup>+</sup>dDC)、ランゲリン陰性真皮樹状細胞 (L<sup>-</sup>dDC) が接触皮膚炎の感作を成立させる。(2) 低容量抗原による感作成立には LC、L<sup>+</sup>dDC が必要である。(3) 反復抗原暴露による皮膚の Th2 反応は、好塩基球が誘導する。以上の結果を踏まえ、本研究では、接触皮膚炎を抑制する機構について検証することを研究目的とした。

### B. 方法

免疫応答を抑制する機構は複数存在する。今回我々はその中で最も良く理解されている Foxp3<sup>+</sup> 制御性 T 細胞 (Treg) に着目した。抗ヒト CD2 抗体で Treg を任意に除去できる Foxp3<sup><human CD2/human CD52></sup> マウス (Foxp3-hCD2 マウス) を用いて、DNBF ハプテンに対する接触皮膚炎に Treg が果たす役割を検証した。さらに Helios 遺伝子の発現を指標に、皮膚に浸潤する Treg サブセット (Helios<sup>+</sup>胸腺型、Helios<sup>-</sup>誘導型) の動態を解析した。

### C. 結果

Treg 非存在下では、接触皮膚炎は増悪・遷延した。一方 Treg は非炎症下では CD4<sup>+</sup>T 細胞の 10% を占めていたが、炎症下では 40-50% を占めた。その 80% は Helios<sup>+</sup>胸腺型だった。

### D. 考察

Treg は接触皮膚炎の炎症強度を監視しており、炎症の遷延化を抑制することが明らかになった。Treg は皮膚炎初期から浸潤しており、Helios<sup>+</sup>サブセットが優位であることから、免疫抑制活性の強い胸腺型 Treg が皮膚炎の制御に重要であると考えられる。金属アレルギーも Treg により同様に制御されていると考えられる。

### E. 結論

Treg は接触皮膚炎を反応初期から抑制しており、過剰な免疫応答を抑制していることが明らかになった。

### F. 今後の方針

Treg による免疫抑制を応用して免疫寛容を誘導できるか検討する。さらに今回の現象を金属アレルギーモデルでも検証し、金属に対する皮膚免疫寛容も誘導できるか検討する予定である。

## 金属パッチテストを用いた金属アレルギー診断方法確立とその教育

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
研究協力者	鈴木 加余子	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	客員准教授
		刈谷豊田総合病院	皮膚科	部長	
	矢上 晶子	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	准教授
	鶴田 京子	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	准教授
		藤田保健衛生大学坂分種報徳会病院	皮膚科		
	伊佐見真実子	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	助教
		藤田保健衛生大学坂分種報徳会病院	皮膚科		
	佐野 晶代	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	助教
	田中 紅	藤田保健衛生大学	医学部	皮膚科学	助教

### A. 研究目的

平成 24 年度は、金属のパッチテスト(PT)診断方法を確立し、医療者に教育・普及すること、金属アレルギーの Q&A 集を作成し広く国民に情報を提供することを目的とする。

### B. 方法

1. 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会員を対象に、平成 23 年 4 月から平成 24 年 3 月までの 1 年間の金属アレルギーの実態を全国規模で調査する。
2. 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会と共催で年 3 回の金属アレルギー診断を含めた皮膚アレルギーテストのワークショップ・セミナーを全国規模で行う。
3. チタンのアレルギー試薬の国際的な研究に協力する。
4. 一般国民向けの金属アレルギーの啓発教育用 Q & A を作成する。

### C. 現時点までの進捗状況・E. 今後の予定

1. ジャパニーズスタンダードアレルゲン(JSA)2008 の平成 23 年度陽性率は 81 施設、2227 例を集計した。JSA2008 に含まれる金属アレルゲンの陽性率は、硫酸ニッケル 15.3%、重クロム酸ナトリウム 7.0%、塩化コバルト 8.8%、塩化第二水銀 6.1%、金チオ硫酸ナトリウム 4.5%であった。
2. 平成 23 年度は沖縄(1/15)・仙台(3/25)でセミナーを開催し、平成 24 年度は平成 25 年 2 月に小倉、3 月に千葉で開催予定である。
3. チタンについては藤田保健衛生大学では金属 PT を施行する際に titanium・IV・oxide0.1%pet、チタン粉末 20%pet, チタン錯体 0.157%aq を貼布し、平成 24 年 4 月から T.R.U.E. Test のチタン PT の試作品 3 濃度を貼布しているが、いずれのチタン試料においても未だにアレルギー反応を認めていない。
4. 一般国民向けの金属 Q&A については、質問事項を設定し、現在回答を作成中である。

Q1. 金属アレルギーとは何ですか？、Q2. どのような金属が原因ですか？、Q3. 装飾品はどのようなものが原因ですか？、Q4. 金属アレルギーの症状はどのようなものですか？、Q5. 金属アレルギーの診断方法は？、Q6 何科を受診すれば良いですか？、Q7. 金属アレルギーは年代や性別で

違いがありますか？、Q8. どうして金属アレルギーになるのですか？、Q9. 金属アレルギー症状はどれくらい続くのですか？、Q10. 金属アレルギーは完治しますか？ (以上)

## IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	掲載
1	Nakayama M, Kurokawa K, Nakamura K, Lee BL, Sekimizu K, Kubagawa H, Hiramatsu K, Yagita H, Okumura K, Takai T, Underhill DM, Aderem A, Ogasawara K.	Inhibitory receptor paired Ig-like receptor B is exploited by <i>Staphylococcus aureus</i> for virulence.	J. Immunol.	189 (12)	5903-5911	2012	*
2	Fujii Y, Kitaura K, Matsutani T, Shirai K, Suzuki S, Takasaki T, Kumagai K, Kametani Y, Shiina T, Takabayashi S, Kato H, Hamada Y, Kurane I, Suzuki R.	Immune-related gene expression profile in laboratory common marmosets assessed by an accurate quantitative real-time PCR using selected reference genes.	PLoS One.	8 (2)	e56296	2013	*
3	Wake M, Hamada Y, Kumagai K, Tanaka N, Ikeda Y, Nakatani Y, Suzuki R, Fukui N.	Up-regulation of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor-A in the synovial fluid of temporomandibular joints affected by synovial chondromatosis.	Br J Oral Maxillofac Surg.	51 (2)	164-9	2013	
4	Kobayashi H, Kumagai k, Gotoh A, Eguchi T, Yamada H, Hamada Y, Suzuki S, Suzuki R.	Upregulation of epidermal growth factor receptor 4 in oral leukoplakia.	Int J Oral Sci	In press		2013	
5	Kitaura K, Fujii Y,	A new method for	J Immunol	384	81-91	2012	

	Matsutani T, Shirai K, Suzuki S, Takasaki T, Shimada S, Kametani Y, Shiina T, Takabayashi S, Katoh H, Ogasawara K, Kurane I, Suzuki R.	quantitative analysis of the T cell receptor V region repertoires in healthy common marmosets by microplate hybridization assay.	Methods.				
6	Yamada H, Hamada Y, Fujihara H, Fukami K, Mishima K, Nakaoka K, Kumagai K, Imamura E.	Solitary fibrous tumor of the buccal space resected in combination with coronoidectomy.	Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.	114 (1)	9-14	2012	
7	Hu WW, Fang Q, Xu ZH, Yan HJ, He P, Zhong K, Fan YY, Yang Y, Zhang XN, Zhang CY, Ohtsu H, Xu TL, Chen Z.	Chronic H1-Antihistamine Treatment Increases Seizure Susceptibility After Withdrawal by Impairing Glutamine Synthetase.	CNS Neurosci. Ther.	18	683-690	2012	
8	Matsushita, A. Seike, M. Okawa, H. Kadawaki, Y. Ohtsu, H.	Advantages of histamine H4 receptor antagonist usage with H1 receptor antagonist for the treatment of murine allergic contact dermatitis	Exp Dermatol	21	714-715	2012	
9	Chepkova, A. Yanovsky, E. Parmentier, R. Ohtsu, H. Haas, H. L. Lin, J. S. Sergeeva, O. A.	Histamine Receptor Expression, Hippocampal Plasticity and Ammonia in Histidine Decarboxylase Knockout Mice.	Cell Mol Neurobiol	32	17-25	2012	
10	He, G. Hu, J. Li, T. Ma, X. Meng, J. Jia, M. Lu, J. Ohtsu, H. Chen, Z. Luo, X.	The arrhythmogenic effect of sympathetic histamine in mouse hearts subjected to acute ischemia.	Mol Med	18	1-9	2012	

11	Ohtsu, H.	Pathophysiologic Role of Histamine; Evidence Clarified by Histidine Decarboxylase Gene Knockout Mice.	Int Arch Allergy Immunol (minireview)	158	2-6	2012	*
12	Nijima-Yaoita, F. Tsuchiya, M. Ohtsu, H. Yanai, K. Sugawara, S. Endo, Y. Tadano, T.	Roles of Histamine in Exercise-Induced Fatigue: Favouring Endurance and Protecting Against Exhaustion.	Biol Pharm Bull	35	91-97	2012	
13	Ohsawa, Y., Hirasawa, N.	The antagonism of histamine H1 and H4 receptors ameliorates chronic allergic dermatitis via anti-pruritic and anti-inflammatory effects in Nc/Nga mice.	Allergy	67	1014-1022	2012	*
14	Satou, N., Ishihara, K., Hiratsuka, M., Tanaka, H., Endo, Y., Saito, S., Iwatate, Y., Leonard, W.J., Hirasawa, N.	Induction of thymic stromal lymphopoietin production by xylene and exacerbation of picryl chloride-induced allergic inflammation in mice.	Int. Arch. Allergy Immunol.	157	194-201	2012	
15	Mizuno, N., Suzuki, T., Hirasawa, N., Nakahata, N.	Hetero-oligomerization between adenosine A1 and thromboxane A2 receptors affects cellular signal transduction on stimulation with high and low concentrations of agonists for both receptors.	Eur. J. Pharmacol.	677	5 - 14	2012	
16	McGill N-K, Vyas J, Shimauchi T, Tokura Y, Piguet V:	HTLV-1 Associated Infective Dermatitis: Updates on the Pathogenesis.	Exp Dermatol.	21	815-821	2012	
17	Fukamizu H, Fujiwara M, Kim T,	Development of three-microneedle device	Plast Reconstr	130	451-455	2012	

	Matsushita Y, Tokura Y:	for hypodermic drug delivery and clinical application.	Surg.				
18	Kabashima-Kubo R, Nakamura M, Sakabe JI, Sugita K, Hino R, Mori T, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Ogasawara K, Nomura Y, Nomura T, Akiyama M, Shimizu H, Tokura Y:	A group of atopic dermatitis without IgE elevation or barrier impairment shows a high Th1 frequency: Possible immunological state of the intrinsic type.	J Dermatol Sci.	67	37-43	2012	*
19	Atarashi K, Takano M, Kato S, Kuma H, Nakanishi M, Tokura Y:	Addition of UVA absorber butyl methoxy dibenzoylmethane topical ketoprofen formulation reduces ketoprofen photoallergic reaction.	J Photochem Photobiol B.	113	56-62	2012	
20	Sawada Y, Nakamura M, Kabashima-Kubo R, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y:	Defective epidermal innate immunity and resultant superficial dermatophytosis in adult T cell leukemia/lymphoma.	Clin Cancer Res.	18	3772-3779	2012	
21	Asai J, Takenaka H, Hirakawa S, Sakabe J, Hagura A, Kishimoto S, Maruyama K, Kajiya K, Kinoshita S, Tokura Y, Katoh N:	Topical simvastatin accelerates wound healing in diabetes by enhancing angiogenesis and lymphangiogenesis.	Am J Pathol .	181	2217-2224	2012	
22	Nagase H, Nakachi Y, Ishida K, Kiniwa M, Takeuchi S, Katayama I,	IL-4 and IL-12 Polymorphisms are Associated with Response to Suplatast Tosilate, a Th2	Open Dermatol J.	6	42-50	2012	



	Matsumoto Y, Furukawa F, Morizane S, Kaneko S, Tokura Y, Takenaka M, Hatano Y, Miyachi Y:	Cytokine Inhibitor, in Patients with Atopic Dermatitis.					
23	Kasuya A, Fujiyama T, Shirahama S, Hashizume H, Tokura Y:	Decreased expression of homeostatic chemokine receptors in intravascular large B-cell lymphoma.	Eur J Dermatol .	22	272-273	2012	
24	Sugita K, Kabashima K, Tokura Y:	Characterization of Peripheral Natural Killer Cells and their Reduction in Drug-induced Hyper-sensitivity Syndrome.	Acta Derm Venereol .	92	83-84	2012	
25	Ohmori S, Hino R, Kobayashi M, Nakamura M, Tokura Y:	Inflammatory cytokine expression in the skin lesions of tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome.	Rheumatology (Oxford).	51	196-199	2012	
26	Ohmori S, Hino R, Nakamura M, Tokura Y:	Heparin serves as a natural stimulant of the inflammasome and exacerbates the symptoms of tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS).	J Dermatol Sci .	66	82-84	2012	
27	Kito Y, Ito T, Hashizume H, Tokura Y:	High-dose Intravenous Immunoglobulin Monotherapy for Drug-induced Hypersensitivity Syndrome.	Acta Derm Venereol.	92	100-101	2012	
28	Kito Y, Hashizume H, Tokura Y:	Rosacea-like demodicosis mimicking cutaneous lymphoma.	Acta Derm Venereol.	92	169-170	2012	
29	Hashizume H,	Epstein-Barr Virus-positive	Acta Derm	92	276-277	2012	

	Uchiyama I, Kawamura T, Suda T, Takigawa M, Tokura Y:	Mucocutaneous Ulcers as a Manifestation of Methotrexate-associated B-cell Lymphoproliferative Disorders.	Venereol.				
30	Majima Y, Hirakawa S, Kito Y, Suzuki H, Koide M, Fukamizu H, Tokura Y:	Twist1 as a possible biomarker for metastatic basal cell carcinoma.	Acta Derm Venereol.	92	621-622	2012	
31	Kasuya A, Hashizume H, Tokura Y:	Haemodialysis-induced pseudoporphyria successfully treated with glutathione.	Eur J Dermatol.	22	137-138	2012	
32	Ikawa T, Kasuya A, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	Intramuscular metastasis of malignant melanoma mimicking leg cellulitis.	Eur J Dermatol.	22	156-157	2012	
33	Hayami C, Ishiguro N, Fukuya Y, Tokura Y, Kawashima M:	Churg-Strauss syndrome presenting with severe cutaneous and intestinal ulcers.	Eur J Dermatol.	22	397-398	2012	
34	Fukamachi S, Kawakami C, Kabashima R, Sawada Y, Sugita K, Nakamura M, Yatera K, Tokura Y:	Tuberculosis verrucosa cutis with elevation of circulating Th1 and Th17 cells and their reductions after successful treatment.	J Dermatol.	39	507-509	2012	
35	Sakabe J-I, Yoshiki R, Sugita K, Haruyama S, Sawada Y, Kabashima R, Bito T, Nakamura M, Tokura Y:	Connexin 26 (GJB2) mutations in keratitis-ichthyosis-deafnes s (KID) syndrome presenting with squamous cell carcinoma.	J Dermatol.	39	814-815	2012	
36	Ito T, Tokura Y:	Alopecia areata triggered or exacerbated by swine flu virus infection.	J Dermatol.	39	863-864	2012	

37	Tatsuno K, Yagi H, Tokura Y:	Eruptive milium-like syringoma showing eccrine duct origin of milia.	J Dermatol.	39	878-879	2012	
38	Sawada Y, Nakamura M, Hama K, Hino R, Tokura Y:	A high serum concentration of chemerin in pustular dermatitis paradoxically induced by etanercept.	J Am Acad Dermatol.	66	182-184	2012	
39	Ohmori S, Mori T, Haruyama S, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Tokura Y:	Occupational skin cancer arising in a patient with a high frequency of circulating regulatory T cells.	Int J Dermatol.	51	1104-1106	2012	
40	Kaku Y, Tanizaki H, Tanioka M, Sakabe J, Miyagawa-Hayashino A, Tokura Y, Miyachi Y, Kabashima K:	Sebaceous carcinoma arising at a chronic candidiasis skin lesion of a patient with keratitis-ichthyosis-deafness (KID) syndrome.	Br J Dermatol.	166	222-224	2012	
41	Nishida K, Tateishi C, Tsuruta D, Shimuchi T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	Contact urticaria caused by a fish-derived elastin-containing cosmetic cream.	Contact Dermatitis.	67	171-172	2012	
42	Sasada K, Sakabe JI, Tamura A, Shimauchi T, Kasuya A, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	Photosensitive drug eruption induced by bicalutamide within the UVB action spectrum.	Eur J Dermatol.	22	402-403	2012	
43	Ikeya S, Urano S, Tokura Y:	Linear IgA bullous dermatosis following human papillomavirus vaccination.	Eur J Dermatol.	22	787-788	2012	
44	Kasuya A, Hirakawa S, Tokura Y: Primary cutaneous	Transformation from indolent to aggressive phase in association with	Dermatol Online J.	18	5	2012	

	aggressive epidermotropic CD8+ T-cell lymphoma:	CCR7-positive conversion.					
45	Tokura Y:	Resignation as JSID President.	J Dermatol Sci.	65	3	2012	
46	Tokura Y:	New Year's Greetings.	J Dermatol.	39	1	2012	
47	Hara-Chikuma M, Chikuma S, Sugiyama Y, Kabashima K, Verkman AS, Inoue S, Miyachi Y.	Chemokine-dependent T cell migration requires aquaporin-3-mediated hydrogen peroxide uptake.	J Exp Med.	209(10)	1743-52	2012	
48	Belsito D, Bickers D, Bruze M, Calow P, Dagli ML, Dekant W, Fryer AD, Greim H, Miyachi Y, Saurat JH, Sipes IG, Api AM	A toxicologic and dermatologic assessment of cyclopentanones and cyclopentenones when used as fragrance ingredients.	Food Chem Toxicol.	50	S517-56	2012	
49	Nakajima S, Igyártó BZ, Honda T, Egawa G, Otsuka A, Hara-Chikuma M, Watanabe N, Ziegler SF, Tomura M, Inaba K, Miyachi Y, Kaplan DH, Kabashima K.	Langerhans cells are critical in epicutaneous sensitization with protein antigen via thymic stromal lymphopoietin receptor signaling.	J Allergy Clin Immunol.	129(4)	1048-55	2012	*
50	Nakahigashi K, Doi H, Otsuka A, Hirabayashi T, Murakami M, Urade Y, Tanizaki H, Egawa G, Miyachi Y, Kabashima K.	PGD(2) induces eotaxin-3 via PPAR $\gamma$ from sebocytes: A possible pathogenesis of eosinophilic pustular folliculitis.	J Allergy Clin Immunol	129(2)	536-43	2012	
51	Akaza N, Akamatsu H, Takeoka S,	Increased hydrophobicity in <i>Malassezia</i> species	Med Mycol.	50(8)	802-810	2012	