

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

アトピー性皮膚炎患者における血清中および汗中ニッケル濃度と
ニッケル高濃度含有食品負荷後の変動に関する研究

研究分担者 戸倉新樹 浜松医科大学皮膚科 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
平澤典保 東北大学大学院生活習慣病治療薬学分野 教授

研究要旨 内因性アトピー性皮膚炎の発症要因として金属の関与が推測されている。今回、内因性アトピー性皮膚炎の患者の血清中のニッケル濃度が、外因性および正常人に比べて有意に高いことを見出した。汗中のニッケル濃度は 3 群間で差を認めなかった。一日当たりの日本人のニッケル摂取量にほぼ相当する量を 4 日間負荷したチョコレートを用いた経口負荷試験前後では、汗および血清中のニッケル濃度の変化は、試験前後で有意な上昇は認めなかった。血清中に高濃度に存在するニッケルが、内因性アトピーの発症に寄与している可能性が推測された。体液中の金属という新しい着眼で検討を続けている。

A. 研究目的

我々は、内因性アトピー性皮膚炎を外因性アトピー性皮膚炎と比較し、臨床的特徴、免疫学的特徴を検討してきた。これまで IAD のニッケル、コバルト、クロムに対する金属パッチテスト陽性率は、いずれか 1 つ以上の金属に陽性を示す割合は汗中のニッケル濃度が EAD に比べて高いことを示した。IAD の組織中で認められた Th1 サイトカインの発現や高い金属パッチテスト陽性率を説明するものとして、金属やハプテンなどの小分子の関与したアレルギーは Th1 に変調しやすいことから、IAD の発症に金属アレルギーが何らかの形で関与していることを推測した。今回我々は、その仮説を検証するために、通常日本人の経口摂取するニッケルにほぼ相当する量を経口負荷し、その前後で血清および汗中のニッケル濃度を比較し、IAD における金属アレルギーの関与を解明することを試みた。

B. 研究方法

当皮膚科アトピー性皮膚炎外来を受診した AD の患者のうち 16 歳以上で、かつ同意を得られた 10 名と健常ボランティア 17 名を対象に経口負荷試験前後の血清および汗中のニッケル濃度を測定した。経口金属負荷の方法として、ニッケルを高濃度で含有する食品を用いた。簡便に入手できかつニッケルの含有量が測定（470 μ g/1 枚）されている Lindt chocolate excellence 85% cacao®（Lindt & Sprungli, Kilchberg, Switzerland）を使用し、1

日あたり 1/2 枚を 4 日間摂取させた。血清の回収は経口負荷前後に 1 回ずつ実施した。末梢血から血液を採取し、血清を分離した。負荷後血清の採取は、最終摂取してから約 3 - 6 時間後に実施した。採取した汗および血清中のニッケル濃度は東北大学にて ICP-MS 法により測定した。

C. 研究結果

金属負荷前血清ニッケル濃度（mean \pm SD, ng/ml）は IAD で 3.48 \pm 1.27, EAD で 2.13 \pm 2.39, HC で 0.40 \pm 0.93 であった。IAD は HC より有意に高く、約 8.7 倍の濃度であった。金属負荷後の血清ニッケル濃度は負荷前と同様であった。負荷前後で金属濃度の有意な上昇は認めなかった。金属負荷前汗中濃度（mean \pm SD, ng/ml）は、IAD で 62.39 \pm 13.86, EAD で 106.05 \pm 154.88, HC で 142.32 \pm 136.71 であり、3 群間で有意差は認めなかった。3 群とも金属負荷後の汗中ニッケル濃度に有意な増加は認めなかった。負荷試験中、経口摂取金属により全身性金属アレルギー様の症状が出現したものが 2 例（顔面の紅斑が増悪した IAD 患者 1 例、手掌の異汗性湿疹が増悪した EAD 患者 1 例）であった。

D. 考察

本研究では、IAD の患者では嗜好品としてコーヒーやナッツをよく摂取していることに着目し、趣味嗜好の程度で摂取されるであろう経口摂取量を再現し、皮疹の発生の機序を検討したが、直接的

な濃度の上昇は認めなかった。しかし IAD では、ニッケルは EAD や HC よりも血清中に高濃度に存在していることが示されたことから、IAD の発症機序の 1 つとして、金属アレルギーとの結びつきをより考えることができるであろう。高濃度に存在する金属が、血管内でより感作されやすい状況にあること、もしくは近年、ニッケルやコバルトは、樹状細胞を始めとした抗原提示細胞上にある TLR4 を直接刺激する機序を持っていることが明らかになっており、表皮内において抗原提示細胞を直接刺激し、皮疹の形成を担っていることも可能性の一つとして考えられた。

F . 健康危険情報
なし。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakabe JI, Yamamoto M, Hirakawa S, Motoyama A, Ohta I, Tatsuno K, Ito T, Kabashima K, Hibino T, Tokura Y: Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes. *J Biol Chem* 288: 17179-17189, 2013.
- 2) Mori T, Kabashima K, Fukamachi S, Kuroda E, Sakabe J, Kobayashi M, Nakajima S, Nakano K, Tanaka Y, Matsushita S, Nakamura M, Tokura Y: D1-like dopamine receptors antagonist inhibits cutaneous immune reactions mediated by Th2 and mast cells. *J Dermatol Sci* 71: 37-44, 2013.
- 3) Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K: Prostaglandin E2-EP3 Axis in Fine-tuning Excessive Skin Inflammation by Restricting Dendritic Cell Functions. *PLoS ONE* 8: e69599, 2013.
- 4) Yamaguchi H, Kabashima-Kubo R, Bito T, Sakabe J-I, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Hirasawa N, Ogasawara K, Tokura Y: High frequencies of positive nickel/cobalt patch tests and high sweat nickel concentration in patients with intrinsic atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 72: 240-245, 2013.
- 5) Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Sakabe JI, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu U, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K: Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production. *Sci Rep* 3: 2973, 2013.
- 6) Yamaguchi H, Tatsuno K, Sakabe J, Tokura Y: Second report of FLG R501X mutation in Japanese patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 40: 498-499, 2013.
- 7) Sakabe J, Kamiya K, Yamaguchi H, Ikeya S, Suzuki T, Aoshima M, Tatsuno K, Fujiyama T, Suzuki M, Yatagai T, Ito T, Ojima T, Tokura Y: Proteome analysis of stratum corneum from atopic dermatitis patients by hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometer. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 134: 957-967.e8, 2014.
- 8) Yamaguchi H, Hata M, Fujiyama T, Ito T, Hashizume H, Tokura Y: Psychological aspects of patients with intrinsic atopic dermatitis. *Eur J Dermatol* 24: 253-254, 2014.
- 9) Fujiyama T, Kawakami C, Sugita K, Kubo-Kabashima R, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Shimauchi T, Ito T, Kabashima K, Hashizume H, Tokura Y: Increased frequencies of Th17 cells in drug eruptions. *J Dermatol Sci* 73:85-88, 2014.
- 10) Kasuya A, Sakabe J, Tokura Y: Potential application of in vivo imaging of impaired lymphatic duct to evaluate the severity of pressure ulcer in mouse model. *Sci Rep* 4: 4173, 2014.
- 11) Yoshiki R, Kabashima K, Honda T, Nakamizo S, Sawada Y, Sugita K, Yoshioka H, Ohmori S, Malissen B, Tokura Y, Nakamura M: IL-2 from Langerhans cells is required for the development of imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis by induction of IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells. *J Invest Dermatol* 134: 1912-1921, 2014.
- 12) Fujiyama T, Ito T, Ogawa N, Suda T, Tokura Y, Hashizume H: Preferential infiltration of interleukin-4-producing CXCR4+ T cells in the lesional muscle but not skin of patients with dermatomyositis. *Clin Exp Immunol* 177: 110-120, 2014.
- 13) Tokura Y, Yagi H, Yanaguchi H, Majima Y, Kasuya A, Ito T, Maekawa M, Hashizume H: IgG4-related skin disease. *Br J Dermatol* 171: 959-967, 2014.
- 14) Ito T, Tokura Y: The role of cytokines/chemokines in T cell-mediated autoimmune inflammation: Lessons from hair loss in alopecia areata. *Exp Dermatol* 23: 787-791, 2014.
- 15) Kasuya A, Tokura Y: Attempts to accelerate wound healing. *J Dermatol Sci* 76(3): 169-172, 2014.
- 16) Nakazawa S, Moriki M, Ikeya S, Sakabe J-I, Tokura Y: Atopic dermatitis presenting as

- generalized poikiloderma with filaggrin gene mutation. *J Dermatol* 41: 230-231, 2014.
- 17) Kuriyama S, Kasuya A, Fujiyama T, Tatsuno K, Sakabe J, Yamaguchi H, Ito T, Tokura Y: Leukoderma in patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 42: 215-218, 2015.
- 18) Kamiya K, Kamiya E, Kamiya Y, Niwa M, Saito A, Natsume T, Niwa H, Tokura Y: Drug eruption to clavulanic acid with sparing of cellulitis-affecting site. *Allergology Int* (in press)
- 19) Ito T, Tatsuno K, Fujiyama T, Sakabe J, Tokura Y: Antihistaminic drug olopatadine downmodulates T cell chemotaxis toward CCL17 in patients with atopic dermatitis. *Allergology Int* (in press).
- 20) Yamaguchi H, Hirasawa N, Asakawa S, Okita K, Tokura Y: Intrinsic atopic dermatitis shows high serum nickel concentration. *Allergol Int* (in press).

2. 学会発表

- 1) Tokura Y: Proteome analysis of corneum from atopic dermatitis patients. World Rendez-vous on Dermatology. 2014.3.11. Tokyo, Japan.
- 2) Tokura Y: Proteome analysis of stratum corneum from atopic dermatitis patients by hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometer. 8th Georg Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis. 2014.5.22. Nottingham, United Kingdom.
- 3) Tatsuno K, Fujiyama T, Yamaguchi H, Tokura Y: High expression of TSLP receptors in circulating CD4+ T cells in atopic dermatitis. 2014 Annual Meeting Society for Investigative Dermatology. 2014.5.9. Albuquerque, United States of America.
- 4) Sakabe J, Kamiya K, Tokura Y: Proteome analysis of stratum corneum from atopic dermatitis patients by hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometer. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2014.12.13. Suita, Japan
- 5) Yuki T, Kusaka A, Komiya A, Tobiishi A, Ota T, Tokura Y: IL-17A weakens the tight junction (TJ) barrier in a human-skin-equivalent model: A possible mechanism of impaired TJ in atopic dermatitis. The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. 2014.12.13. Suita, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。