

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 17 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791096

研究課題名（和文）慢性金属アレルギーの誘発と内因性アトピー性皮膚炎の病態との関与

課題名（英文）Induction of chronic metal allergy and participate in intrinsic atopic dermatitis.

研究代表者

森 智子（MORI TOMOKO）

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：80399203

研究成果の概要（和文）：アトピー性皮膚炎には外因性と内因性に分けるという考えがある。外因性はIgEが高く、内因性はIgEが正常である。内因性には金属パッチテストの陽性率が高いことがわかったので、金属アレルギー発症モデルマウスの作成を行った。しかし、個体差が大きく、感作成立しないマウスも多かったため、実験系の再検討を行った。その後は金属アレルギーの検査方法を検討した。

研究成果の概要（英文）：Two types of atopic dermatitis (AD) have been proposed, the extrinsic type shows high IgE levels and the intrinsic type exhibits normal IgE levels. Because I understood that the positive percentage of the metal patch test was high in intrinsic AD. I made the allergy to metal onset model mouse. However, I performed reexamination pre-experiment because individual difference was big, and the mice which were not established had much sensitization. I examined the laboratory procedure of the allergy to metal afterwards.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：皮膚科学

科研費の分科・細目：

キーワード：金属アレルギー、内因性アトピー性皮膚炎

## 1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎は皮膚疾患のなかで大きな割合を占める。アトピー性皮膚炎の診断基

準は、1 そう痒、2 特徴的皮疹と分布、3 慢性反復性経過とされている。その中にも外因性と内因性に分けるという考えがある。外因

性は、皮膚バリアが障害され、アレルゲンが浸透することにより起こり、IgEが高い。一方内因性は、抗原特異的IgEは関与せず、IgEは正常である。

内因性はアトピー性皮膚炎患者全体の20%を占め、女性に多く、他のアレルギー性鼻炎やアレルギー性喘息を合併せず、遅発性で、中等度の病勢となるものが多いとされている。一方外因性ADは、近年フィラグリン遺伝子変異が高率に存在することが明らかになってきた。また神経知覚閾値を調べると、外因性AD患者は皮膚バリア能が低く、痒みが強いとむしろ外的刺激への感受性が減り、反対に内因性は皮膚バリアと痒み刺激に対する神経反応は保たれていることがわかった。しかしその原因が内因性的原因、機序は明らかではない。我々は内因性患者では外因性患者に比べて優位に金属アレルギーが多く存在し、内因性患者の汗に金属成分が多く含まれることを見出した。また内因性患者では金属アレルギー外因性患者では金属パッチテストの陽性率が有意にたかいこと、とくにコバルトの陽性率が高いことがわかった。また内因性患者の末梢血中リンパ球フローサイトメトリー解析では、IFN- $\gamma$ 産生細胞が、外因性のものより有意に上昇していることがわかった。

そこで、金属アレルギーモデルマウスを作成し、内因性アトピー性皮膚炎モデルマウスとなるかどうかを検討するためにこの研究を開始した。

## 2. 研究の目的

我々はIgEが高値ではない内因性アトピー性皮膚炎患者では、IgE高値の外因性アトピー性皮膚炎患者と比べ、金属パッチテストの陽性率が有意に高いことを見出している。金属は汗にも含まれるが、チョコレートや香辛料などの食事にも含有されていることが解っている。そこで金属アレルギーを発症するマウスモデルの作成を行い、内因性アトピー性皮膚炎の機序、原因等を解明したいと考えた。金属アレルギーがあれば全員が内因性ADを発症するわけではなく、金属の種類によっても考えられる。その金属の種類が判明すれば、それを除去するという治療ができるかもしれない。

またある種の金属アレルギーを反復させるとIgEの上昇をみない慢性炎症が発症すると予想される。またその時の現象が内因性ADの病態を解明する上での大きな手助けとなろうと考える。

Fig1 金属アレルギー (Ni, Co, Cr) 内因性アトピー性皮膚炎?モデルマウスの作成  
内因性アトピー性皮膚炎: 金属アレルギーが関与する可能性がある。Pseudo-atopic dermatitis (Dermatologica 1965)と報告された症例もクロムアレルギーである。本研究では女性に多いことよりコバルトにも注目した。

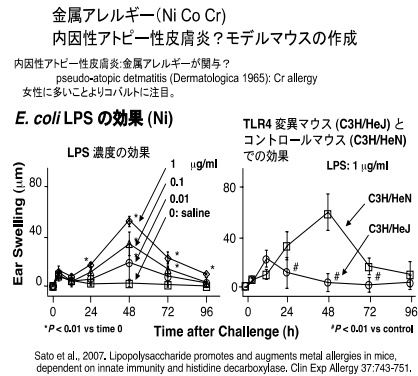
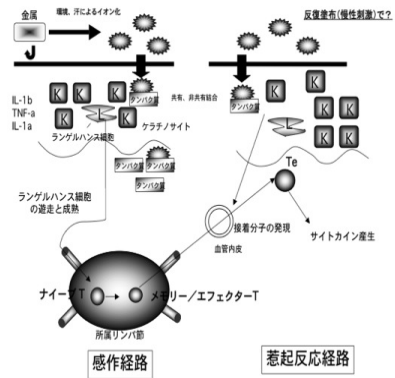


Fig2 金属アレルギーの感作と惹起反応



## 3. 研究の方法

マウスの耳翼へ金属溶液を皮内注射し、惹起反応を起こすマウスの金属アレルギーを確立させる。そのための感作方法を検討した。コバルト、クロム、ニッケルでの反復塗布や反復腹腔内投与、LPS添加後の感作なども行ったが、感作そのものが成立しないマウスも

多く個体差があり、安定しなかった。そこで、実験系の再検討を行った。

金属アレルギーの検査方法でパッチテストがあるが、アトピー性皮膚炎患者にはパッチテストをする部位のない場合もあり、他に変わる検査方法を求められる。そこで、lymphocyte transformation test (LTT) が代用できるが、感度がわるく、偽陰性となることがあり、検査方法が施設により違うこともあり、その検討を行うこととした。

#### 4. 研究成果

金属アレルギーマウスモデルでは、ニッケル、コバルト、クロム検討を行った。感作を腹腔内投与で行い、惹起を耳翼で行った。感作が成立しないマウスもあり、個体差が大きい。LPS や Alum をそれぞれ同時に投与施行したが、ばらつきがひどく、安定した結果が出なかった。また惹起の部分では、SDS を直前に塗布後外用を行ったり、皮内注を行って見たが、同様に結果を安定させることができなかった。

またニッケルにおいては B6 と BALB/c の異なるストレインについても検討した。Th1 反応の強いと考えられる B6 は、一時刺激が強すぎて、感作の成立はみることができなかった。また BALB/c では同じ濃度では刺激が入らずに変化が見られなかった。同様に個体差が大きく、結果を安定させることができなかった。

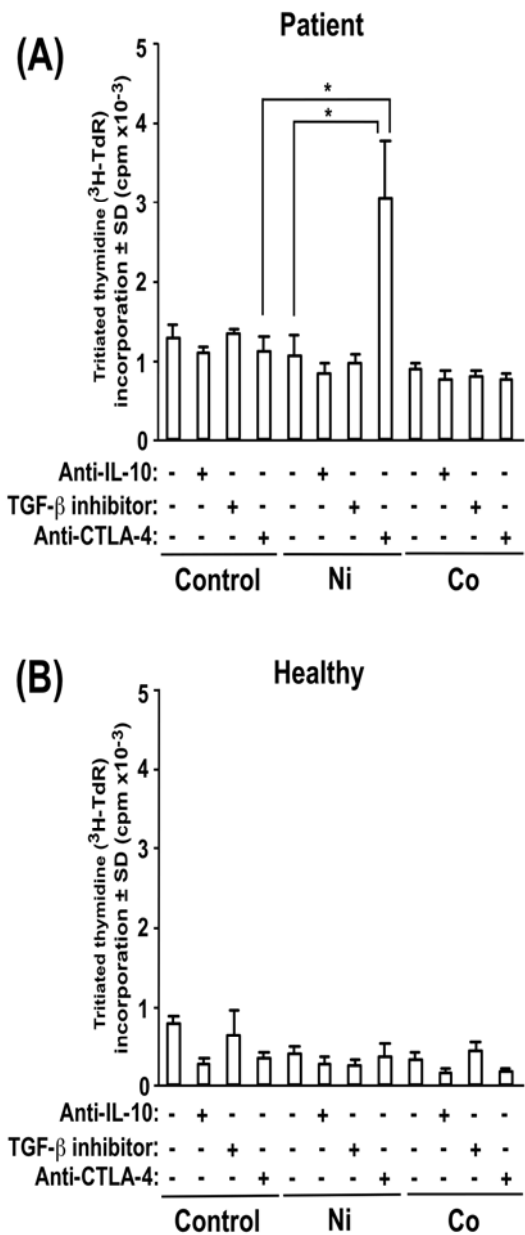
マウスでの実験結果を示しことができなかった。実験自体の計画を変更し、金属アレルギーの検査についての検討を開始した。

金属アレルギーの検査では、LTT が、患者に負担をかけることのない方法であるが、陽性率が低いというのも現状である。

これまで、調節性 T 細胞により、T 細胞の増殖が抑制されているメカニズムとして、IL-10、TGF- $\beta$ 、cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) に寄与することが報告されている。そこで、我々は、ニッケルに対するエフェクター T 細胞がいるにもかかわらず、調節性 T 細胞により、T 細胞の増殖が抑制されると考え、IL-10 と TGF- $\beta$ 、CTLA-4 の中和抗体を添加した。すると、ニッケルアレルギー患者の末梢単核球で、CTLA-4 抗体を添加すると、細胞増殖がおこることがわかった(グラフ参照)。

ニッケルアレルギー患者の LTT の方法として、中和モノクローナル抗体である CTLA-4 抗体を添加することで、陰性だった検査を陽性にする事ができた。このことは、今後 LTT 検査での金属アレルギーの診断を補佐する

重要な結果を得ることができた。



#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Kazunari Sugita, Kenji Kabashima, Yu Sawada, Sanehito Haruyama, Manabu Yoshioka, Tomoko Mori, Miwa Kobayashi, Kouetsu Ogasawara, and Yoshiki Tokura Blocking CTLA-4 on lymphocytes improves the sensitivity of lymphocyte

transformation test in a patient with  
nickel allergy European Journal of  
Dermatology 査読あり 22, 2012, 268-269

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森 智子 (MORI TOMOKO)

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：80399203