

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659835

研究課題名(和文) 金属・レジン・感染・アレルギーの関係

研究課題名(英文) Relationship among metal, resin, infection, and allergy

研究代表者

遠藤 康男 (Endo, Yasuo)

東北大学・歯学研究科(研究院)・教育研究支援者

研究者番号：50005039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：レジンモノマー(RM)とアレルギーの関係について以下を発見した。(i) RMはニッケル(Ni)アレルギーの感作と発症の両方で、アジュバントとしてNiアレルギーを促進する。(ii) ヒドロキノン(市販RMに含まれる重合防止剤)とオキサゾロン(実験用ハプテン)によるアレルギーに対してもRMがアジュバントとして作用する。上記発見は、“従来のRMアレルギーには、RM以外の抗原によるものも含まれている”可能性を示す。今後は、RMはアレルゲンとしてのみならず、他の抗原によるアレルギーを促進するアジュバントとしても認識する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Concerning the relationship between resin monomers (RMs) and allergies, we found the followings. (i) 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and methyl methacrylate (MMA), both typical RMs, act as adjuvants that promote nickel (Ni)-allergy at the steps of both the sensitization and elicitation. (ii) RMs also promoted the allergies induced by hydroquinone (widely used as an inhibitor of RM-polymerization) and oxazolone (a hapten widely used in experiments). These findings strongly suggest that what were previously thought of as “RM-allergies” might include allergies caused by antigens other than RMs. From now, RMs should be recognized not only as antigens but also as adjuvants that promote allergies induced by other antigens.

研究分野：炎症と免疫の薬理学

キーワード：レジン アレルギー 歯科材料 免疫 炎症

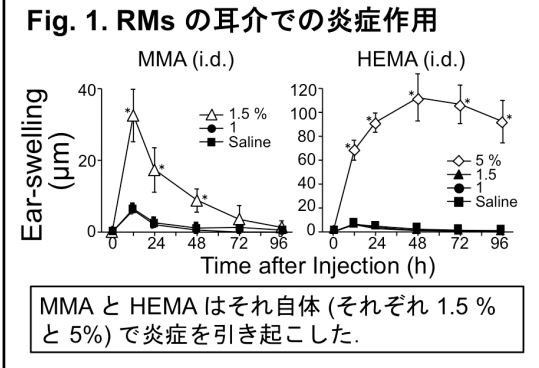
### 1. 研究開始当初の背景

私達は金属やレジンに種々の経路(生活用品, 装飾品, コイン, 携帯電話, 医・歯科材料, 職業環境など)で接触する. ニッケル (Ni) に対する感作の頻度は接触過敏症中で最も高い. 歯科医療従事者での皮膚疾患の 64% はレジンモノマー (RM) に対するアレルギーだったとの報告もある. 接触過敏症は, ハプテンと呼ばれる異物小分子と生体蛋白との複合体が抗原となり, 原提示細胞で処理 (processing) された後, T 細胞に提示され, T 細胞が記憶すると考えられている. 多くのハプテンは自己蛋白との安定な共有結合により抗原複合体になり, 抗原処理過程でも, その結合を含む構造 (エピトープ) が維持され T 細胞に提示される. しかし, 金属イオンと自己蛋白との結合は可逆的な配位結合であり, 抗原処理過程でこの結合が維持されるとは考え難い. また, RM と生体蛋白との結合様式は不明である. 従って, 金属イオンや RM の提示・認識機構が共有結合型ハプテンと同じだとの保証はない.

アレルギーには sensitization (S) と elicitation (E) の段階がある. 私達は Ni アレルギーをマウスに発症させる実験の過程で, 細菌成分の lipopolysaccharide (LPS) が Step-S と Step-E の両方で顕著なアレルギー促進作用 (アジュバント作用) をもつことを発見し, LPS と金属塩を併用した金属アレルギーのマウスモデル化に成功した. この成功により, これまで以下を明らかにした. 金属アレルギー成立には微生物環境 (自然免疫) が重要であり, T 細胞は必須ではない. アレルギーを成立させる最少有効 Ni 濃度は, Step-S では, LPS 無しで  $1 \times 10^{-2}$  M LPS 有りで  $1 \times 10^{-5}$  M, step-E では, LPS 無しで  $1 \times 10^{-6}$  M, LPS 有りで  $1 \times 10^{-12}$  M という超低濃度になる. 口腔細菌由来 LPS や LPS 以外の種々の菌体成分も金属アレルギーを促進する. 金属アレルギーの金属特異性は, 純度の低い金属塩を用いると検出できない. 金属アレルギーの予防・治療薬としてピオチンや抗ヒスタミン薬応用の可能性がある. 口腔細菌成分は卵白アルブミンに対するアレルギーも促進する.

一方, RM のアレルゲンとしての強さは, 既知の共有結合型ハプテンに比べ極めて弱く, モルモットでの報告が 1 報あるが, 条件が過酷で, 発症機序関連の研究には不適である. レジンアレルギーの成立機序や促進因子など, 殆どが未解明で, レジンの一般毒性研究に留まっている. 私達は金属アレルギーのマウスモデル化成功の経験をもとに, レジンアレルギーのマウスモデル作製に取り組んできた. しかし成功には至っていない. 研究の過程で RM は強い起炎性を持つ事に気付き (Fig. 1), もしかして, RM は LPS と同様に, アジュバントとして他の抗原によるアレルギー

ギを促進するのでは? と考えるに至った. 本研究ではこの仮説 (逆転の発想) を検証する.



### 2. 研究の目的

2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA) と methyl methacrylate (MMA) は代表的な RM である. これらの RMs がアジュバントとして他の抗原によるアレルギーの成立・発症を促進するかどうかを, 以下の 3 つの実験系で検証する.

- (1) 上記 RMs がアジュバントとして, Ni アレルギーを促進する可能性をマウスで検討する.
- (2) 市販の RMs は安定剤 (重合阻止剤) として, hydroquinone (HQ) が添加されている. HQ はハプテンとしてアレルギーを起こすことが報告されている. マウスでの HQ アレルギーを上記 RMs はアジュバントとして促進するかどうかを検証する.
- (3) Oxazolone (OX) はアレルギー研究に広く使われているハプテンである. OX アレルギーに対しても上記 RM がアジュバントとして作用するかどうかを検証する.

### 3. 研究の方法

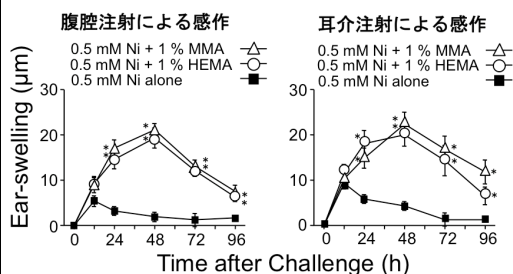
- (1) Ni アレルギーにおける RMs の効果: 毒性の無い濃度の  $\text{NiCl}_2$  と RM の混合液を耳介または腹腔に注射し, 10 日後, 種々の濃度の  $\text{NiCl}_2$  と RM の混合液を耳介に注射し, 炎症 (腫脹) を測定. 細胞移入実験においては, 感作マウス脾臓細胞を非感作マウスに静脈投与し, 24 時間後  $\text{NiCl}_2$  溶液を耳介に注射し, 炎症反応を測定.
- (2) HQ アレルギーにおける RMs の効果: HQ と RM をアセトンに溶かした混合液をマウス耳介または脇腹皮膚に塗布し, 7 日後, HQ 溶液を耳介に塗布し, 炎症反応を測定.
- (3) OX アレルギーにおける RMs の効果: OX と RM をアセトンに溶かした混合液をマウス耳介または脇腹皮膚に塗布し, 7 日後, OX 溶液を耳介に塗布し, 炎症反応を測定.

### 4. 研究成果

- (1) HEMA と MMA の Ni アレルギーにおけるアジュバント効果 (論文発表 2014):

RM は Step-S と Step-E の両段階でアジュバントとして Ni アレルギーを促進 (Fig. 2 に Step-S での RM の効果を示す)。

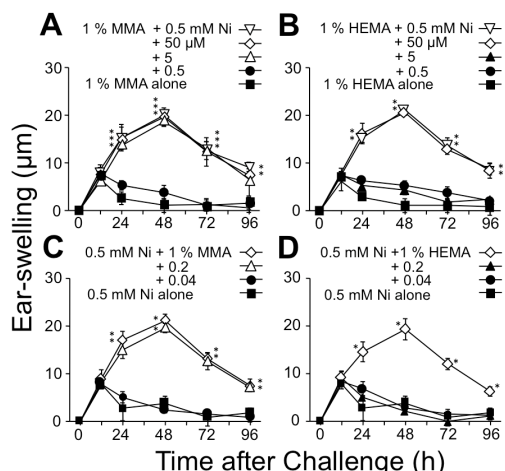
Fig. 2. RM のアジュバント効果



Ni だけではアレルギーは生じないが、毒性のない低い濃度の MMA または HEMA との併用は、腹腔注射・耳介注射に関わらず、Ni アレルギーを増強・促進した。

RM は Ni アレルギーを発症させる NiCl<sub>2</sub> 濃度を上記両段階で顕著に低下。Fig. 3 には腹腔注射による感作での、アレルギーを発症

Fig. 3. Ni アレルギーを誘導する RM と Ni の濃度：腹腔注射による感作での比較



- ・ 0.5 mM Ni のみでは Ni アレルギーは生じない。
- ・ 1% MMA との併用では 5 µM, 1% HEMA との併用では 50 µM で顕著な Ni アレルギーが発症。
- ・ MMA は 0.2% でも アジュバント効果を発揮。

させる NiCl<sub>2</sub> 濃度に対する RM の効果を示した。IL-1 欠損マウス、マクロファージ枯渇マウスを用いた実験および細胞移入実験により、上記両段階で、IL-1 が Ni-アレルギーの成立に関与することが示唆 (Fig. 4)。

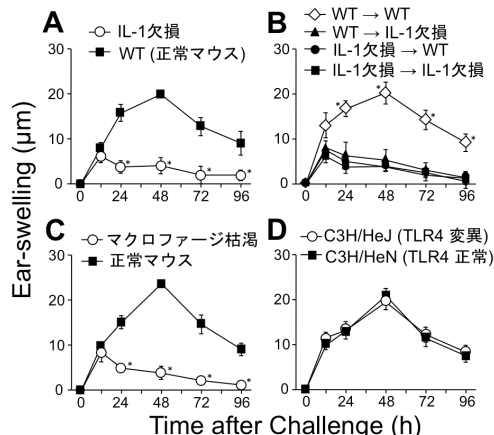
(2) HQ によるアレルギーに対しても上記 RM がアジュバントとして作用する (論文作成中)。

(3) OX によるアレルギーに対しても上記 RM がアジュバントとして作用する (論文作成中)。

**考察・結論：**これまで RM アレルギーと考えられていたアレルギーには、Ni や HQ などの RM 以外の抗原によるアレルギーが含まれている可能性がある。今後は、RM はアレルゲンとしてのみならず、他のアレルゲンによるアレルギーを促進するアジュバントとして

も認識する必要がある。

Fig. 4. 0.5 mM NiCl<sub>2</sub> + 1% MMA の腹腔注射で感作したマウスでの Ni アレルギーにおける IL-1, マクロファージ, TLR4 の効果



A, B : IL-1 が無いと Ni アレルギーは生じない。  
C : マクロファージが無いと Ni アレルギーは生じない。  
D : RM のアジュバント効果に TLR4 は関与しない。

## 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)

Resin monomers act as adjuvants in Ni-induced allergic dermatitis in vivo. Bando K, Takahashi H, Kinbara M, Tanaka Y, Kuroishi T, Sasaki K, Takano-Yamamoto T, Sugawara S, Endo Y. J Dent Res 2014;93:1101-1105. (査読あり)  
DOI: 10.1177/0022034514552674

〔学会発表〕(計 6 件)

Adjuvant effects of resin monomers on allergies induced in mice by the dental-material constituents nickel and hydroquinone. BANDO Kanan, TANAKA Yukinori, KUROISHI Toshinobu, SUGAWARA Shunji, ENDO Yasuo. Interface, 2014 年 1 月 20-21 日, 国際交流会館(仙台)

Adjuvant effects of resin monomers on allergies induced in mice by the dental-material constituents nickel and hydroquinone. BANDO Kanan, TANAKA Yukinori, KUROISHI Toshinobu, SUGAWARA Shunji, ENDO Yasuo. 日本免疫学会, 2013 年 12 月 11-13 日, 幕張メッセ(千葉県幕張)

レジモノマーはアジュバントとして歯科材料アレルゲンによるマウスでのアレルギーを促進する。坂東加南, 田中 志典, 黒石智誠, 山本照子, 菅原俊二, 遠藤康男. 歯科基礎医学会, 2013 年 9 月 20-22 日, 岡山コンベンションセンター(岡山)

平成 24 年度 (2012)

マウス金属アレルギーへのヒスタミンの

関与：金原正敬，白石大祐，黒石智誠，谷内一彦，大津 浩，山本照子，遠藤康男，菅原俊二：日本ヒスタミン学会，2012年10月19日，岡山プラザホテル（岡山）マウス金属アレルギーへのヒスタミンの関与：金原正敬，黒石智誠，山本照子，遠藤康男，菅原俊二：歯科基礎医学会，2012年09月15日，奥羽大学（郡山）  
レジンモノマー重合防止剤ハイドロキノンによるマウスでのアレルギー：坂東加南，田中志典，山本照子，菅原俊二，遠藤康男：2012年09月15日，奥羽大学（郡山）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕  
出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

遠藤康男（ENDO YASUO）

東北大学・大学院歯学研究科・教育研究支援者

研究者番号：50005039

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：