

氏 名 (本籍) : 高橋 春江

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第607号

学位授与年月日 : 平成24年3月27日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Nickel allergy-promoting effects of microbial or inflammatory substances at the sensitization step in mice (マウスにおけるニッケルアレルギー：感作過程における各種菌体成分と炎症性物質の効果)

論文審査委員 : (主査) 教授 佐々木 啓一

教授 菅原 俊二 教授 島内 英俊

教授 小笠原 康悦

論文内容要旨

【背景】金属アレルギーは最も一般的な接触過敏症の一つであり、様々なアレルギー性疾患（掌跖膿疱症、扁平苔癬など）さらには癌との関連性も示唆されている。現在、金属アレルギーは他の接触過敏症と同様にT細胞主役の疾患と考えられているが、その発症メカニズムは明らかではない。佐藤らは *E. coli* LPS と Ni を併用投与することにより、マウスにおいて Ni アレルギーを引き起こすことに成功した。LPS が促進するこの Ni アレルギーは T 細胞を欠損するヌードマウスでも発症する。これは T 細胞の非存在下または LPS の存在下において、T 以外の細胞がアレルギーを惹起し得る可能性を示し、その発症メカニズムが有機化合物ハプテンによる接触過敏症とは異なる可能性も示す。このモデルにおいては、TLR4 や IL-1 などの自然免疫関連分子が重要な役割を果たしている。金属は医療分野を含め生活に広く普及しており、Ni はその中でも最も高頻度なアレルゲンである。一方、ヒトは口腔・皮膚を含め様々な場で多様な菌に曝されており、Ni と菌体成分に同時に触れる可能性は高い。また、これら菌体成分は自然免疫関連の種々のレセプター (TLRs, NLRs など) によって認識される。そこで本研究では、これらレセプターに認識される種々の菌体成分、および化学物質などの他の炎症性物質が、Ni アレルギーの感作過程においてアジュバント活性を示すかどうかを検索した。

【方法】1mM の NiCl_2 + 被検物質の混合溶液を BALB/c マウスに腹腔内注射 (0.1 ml/10g) した。10 日後、5mM NiCl_2 溶液を耳介に皮内注 (20 μ l/ear) し、発症する炎症 (腫脹) を測定した。

【結果】口腔グラム陰性菌 *P. intermedia* LPS (TLR4 または 2 ligand)、真菌 *S. cerevisiae* 膜成分 mannan (TLR2 または 4 ligand)、グラム陽性菌ペプチドグリカン構成単位 MDP (NOD-2 ligand)、 $\text{Pam}_3\text{Cys-SK}$ (合成 TLR2- ligand)、合成 2 重鎖 RNA polyIpolyC (TLR3 ligand)、concanavalin A (T 細胞マイトゲン)、*P. acnes* (グラム陽性菌加熱死菌体)、炎症性副作用をもつ骨吸収抑制薬 alendronate および zoledronate はいずれも、*E. coli* LPS (TLR4 ligand) と同様にアジュバント活性を示した。*E. coli* LPS と

同様 mannan のアジュバント活性は C3H/HeJ (TLR4 変異) マウスにおいて有効, TLR2 欠損マウスでは無効だったが, 逆に *P. int* LPS は C3H/HeJ マウスにおいてアジュバント活性を示し, TLR2 欠損マウスでは無効であった。

【考察および結論】これらの結果は, マウスにおける Ni アレルギーの成立において, 自然免疫系 (TLRs, IL-1 などを含む) が感作過程で重要な役割を果たすことを意味する。また, *P. int* は TLR2 を介して, また, mannan は TLR4 を介して Ni アレルギーを促進する可能性を示唆する。

審 査 結 果 要 旨

金属アレルギーは最も一般的な接触過敏症の一つである。掌跡膿疱症, 扁平苔癬などさまざまなアレルギー性疾患との関連性, さらには癌との関連性も示唆されている。現在のところ, 金属アレルギーは他の接触過敏症と同様に, T 細胞主役の疾患と考えられているが, その発症メカニズムは明らかではない。

一方, 申請者らの研究グループでは, *E. coli* LPS と Ni を併用投与することにより, マウスにおいて Ni アレルギーを引き起こすことに成功した。LPS が促進するこの Ni アレルギーは T 細胞を欠損するヌードマウスでも発症することから, 申請者らは, T 細胞の非存在下または LPS の存在下において, T 以外の細胞がアレルギーを惹起し得る可能性, その発症メカニズムが有機化合物ハプテンによる接触過敏症とは異なる可能性を重要視している。

このモデルでは, TLR4 や IL-1 などの自然免疫関連分子が重要な役割を果たしている。金属は医療分野を含め生活に広く普及しており, Ni はその中でも最も高頻度なアレルゲンである。一方, ヒトは口腔・皮膚を含め様々な場で多様な菌に曝されており, Ni と菌体成分に同時に触れる可能性は高い。また, これら菌体成分は自然免疫関連の種々のレセプター (TLRs, NLRs など) によって認識される。

本論文では, これらレセプターに認識される種々の菌体成分, および化学物質などの他の炎症性物質が, Ni アレルギーの感作過程においてアジュバント活性を示すか否かを検討している。実験では, 1mM の NiCl₂ + 被検物質の混合溶液を BALB/c マウスに腹腔内注射 (0.1 ml/10g) し, 10 日後, 5mM NiCl₂ 溶液を耳介に皮内注 (20 μl/ear) し, 発症する炎症 (腫脹) を測定した。

口腔グラム陰性菌 *P. intermedia* LPS, 真菌 *S. cerevisiae* 膜成分 mannan, グラム陽性菌ペプチドグリカン構成単位 MDP, Pam3Cys-SKKKK (合成 TLR2- ligand), 合成 2 重鎖 RNA polyIpolyC (TLR3 ligand), concanavalin A (T 細胞マイトゲン), *P. acnes* (グラム陽性菌加熱死菌体), 炎症性副作用をもつ骨吸収抑制薬 alendronate および zoledronate はいずれも, *E. coli* LPS (TLR4 ligand) と同様にアジュバント活性が示された。*E. coli* LPS と同様, mannan のアジュバント活性は C3H/HeJ (TLR4 変異) マウスにおいて有効, TLR2 欠損マウスでは無効だったが, 逆に *P. intermedia* LPS は C3H/HeJ マウスにおいてアジュバント活性を示し, TLR2 欠損マウスでは無効であることを明らかにした。

これらの結果は, マウスにおける Ni アレルギーの成立において, TLRs, IL-1 などを含む自然免疫系が感作過程で重要な役割を果たすこと, また *P. intermedia* は TLR2 を介して, mannan は TLR4 を介して Ni アレルギーを促進する可能性があることを明らかにしたものであり, 本論文は, 博士 (歯学) に相応しいものと判断する。