

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 高岡 由梨那
学位 博士 (歯学)
学位記番号 新大院博 (歯) 第447号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 金属アレルギーと乾癬との関連に関する基礎的研究

論文審査委員 主査 教授 佐伯 万騎男
副査 教授 田沼 順一
副査 教授 魚島 勝美

博士論文の要旨

緒言：乾癬は炎症性皮膚炎に分類され、全身の皮膚に紅斑、肥厚、鱗屑などの症状を呈し、かゆみや紅斑によって、患者の生活の質(QOL; quality of life)を低下させる。発症原因は不明で、難治性皮膚疾患と考えられている。乾癬は真皮樹状細胞が TNF/iNOS 産生樹状細胞(TIP-DC)となり、17 型ヘルパーT (Th17)細胞分化を誘導し、インターロイキン(IL)-17 がケラチノサイトを活性化することで病態が形成される。一方、乾癬を発症している患者のうち、金属アレルギーを疑う患者では、口腔内のアレルギー被疑金属を除去することで乾癬症状が改善したとする報告がある。しかし、歯科金属アレルギー被疑金属除去置換療法と乾癬症状改善の関連や、機序は不明である。金属アレルギーの原因や発症機序はほとんど不明であるが、ニッケルアレルギーモデル動物による実験では、ニッケル溶液によって金属アレルギーを惹起させたマウスの表皮に TIP-DC や IL-17 が集積することが示されている。乾癬に対する金属アレルギーの関与はこれまで明らかにされていないが、TIP-DC や IL-17 の関与が両者共通に認められることから、乾癬発症や増悪に金属アレルギーが関与している可能性が考えられる。したがって、本研究では金属アレルギーが乾癬病態の増悪因子として働くという仮説を立て、ニッケルを用いた金属アレルギーモデル動物と、乾癬様症状を発症するイミキモド誘導性乾癬モデル動物を使用して検証した。

材料と方法：実験には雌性 SD ラットを使用した。金属アレルギーモデルは塩化ニッケル溶液を4週齢ラット腹腔内に注射して感作させることにより作製した。感作から7日目に塩化ニッケル溶液を耳介に注射することでアレルギー反応が惹起できた。また5週齢ラットの背部皮膚を剃毛してイミキモドクリームを1日1回、6日間連続塗布することで、イミキモド誘導性乾癬モデルを作製した。ニッケルアレルギーと乾癬様症状を複合したモデルでは、4週齢ラットのニッケルによる感作後7日目に耳介への塩化ニッケル溶液注射による惹起と、背部皮膚剃毛後のイミキモドクリーム塗布を開始した。評価としては、背部皮膚剃毛部の肉眼的観察、同部位パラフィン切片のヘマトキシリン-エオジン染色、蛍光免疫組織染色を行った。さらに背部皮膚、脾臓における IL-17、IL-23 の遺伝子発現を解析した。

結果：イミキモド塗布群では、背部皮膚の乾癬様症状がイミキモドクリーム塗布後3日より肉眼的に観察され、塗布終了後3日以降には症状の寛解傾向が認められた。一方、ニッケルアレルギー惹起・イミキモド塗布群では、背部皮膚における乾癬様症状がイミキモドクリーム塗布終了後12日まで維持された。組織学的観察では、ニッケルアレルギー惹起・イミキモド塗布群では表皮の肥厚、真皮の CD11c 陽性細胞数および IL-17 陽性細胞数の増加が塗布終了後も継続して

いることが確認された。ニッケルアレルギー惹起・イミキモド塗布群において、背部皮膚と脾臓における IL-17, IL-23 の遺伝子発現上昇が確認された。

考察：本研究ではニッケルアレルギー惹起により、イミキモドクリーム塗布による乾癬様症状の延長が観察されたが、PASI score および組織学的観察では乾癬症状の増悪・重症化は認められなかった。免疫染色の結果、真皮の CD11c 陽性細胞、IL-17 陽性細胞の出現がニッケルアレルギー惹起により延長され、表皮と真皮の乾癬様症状延長はこれらの細胞によるものと推測される。遺伝子発現解析より、真皮における CD11c 陽性細胞、IL-17 陽性細胞発現上昇がニッケルアレルギー惹起による脾臓由来の IL-23, IL-17 の遊走、またはこれらのサイトカイン産生能を有する細胞の遊走が原因である可能性が示唆された。

結論：本研究における限られた条件下では、金属アレルギーと乾癬症状延長との関係性を十分に説明するには至らないが、本研究結果から、ニッケルアレルギーが TIP-DC より産生される IL-23, Th17 細胞より産生される IL-17 を介してニッケルアレルギーが乾癬病態の延長因子となっている可能性が示唆された。また、IL-23 や IL-17 が乾癬の発症に関連することから、少なくともニッケルアレルギーが乾癬発症そのものにも関与している可能性がある。今後は他の金属イオンによる接触性皮膚炎においても、TIP-DC や Th17 細胞の集積が見られるかを検証する必要がある。

審査結果の要旨

乾癬は組織学的に角化亢進を伴う原因不明の難治性の皮膚疾患であり、患者の QOL 低下は著しく、治療法は対処療法が中心となっている。発症因子は様々な説があり、不明であるが病態機構に関しては一部判明しており、病態の維持には皮膚に存在する形質細胞様樹状細胞が TNF- α によって TIP-DC に分化することが起点と考えられている。その後 TNF- α によりオートクライムの病的に病変が維持されている。角化亢進は TIP-DC による IL-23 が Th17 細胞の IL-17 発現を亢進しケラチノサイトを活性化されることで起こると考えられている。

金属アレルギーの感作、惹起機序の詳細は不明だが、金属が接した皮膚より金属イオンが体内に侵入し、ハプテンとして標的蛋白質と結合することで抗原化して感作、惹起を引き起こすと考えられている。金属アレルギー動物モデルはすでに確立されており、多くの研究が実施され、病態解析が進んでいる。

IMQ クリーム塗布による乾癬様症状形成モデルは多くの文献において確立、検証済みである。TNF- α や IL-17 の産生による角化の亢進、表皮の剥離など、ヒト乾癬の臨床症状に組織学的にも免疫学的にも極めて類似した症状を示す。

結果として、金属アレルギー惹起・乾癬複合モデルの肉眼観察および組織学的観察より、ニッケルアレルギー惹起が CD11c 陽性細胞の TIP-DC の集簇促進と Th17 細胞による IL-17 産生増加を促し、金属アレルギー惹起・乾癬複合モデルにおいて乾癬病態維持に関わっている可能性が強く示唆された。

背部皮膚は病態形成部位として、また脾臓はアレルギーに関わる免疫機能解析部位として Total RNA を回収し、Real Time PCR による遺伝子発現解析を行った。IL-17 は背部皮膚への IMQ クリーム塗布直後より遺伝子発現が上昇しており、また発現量は背部皮膚で IMQ 塗布群、Ni 感作・IMQ 塗布群、Ni 惹起・IMQ 塗布群の順に発現量が増加している。脾臓では IMQ 塗布群、Ni 感作・IMQ 塗布群に差がなく、Ni 惹起・IMQ 塗布群で最も遺伝子発現量が増加している。IMQ 塗布による乾癬様症状形成には背部皮膚での IL-17, IL-23 発現が寄与しており、ニッケルアレルギー惹起による乾癬様症状の延長には脾臓で生成された IL-17, IL-23、またはその産生細胞が疾患部位に遊走して症状維持に関わっているものと思われる。

実際のアレルギーにおいては、アレルギー反応性のリンパ球は所属リンパ節や脾臓において

産生されると考えられている。本研究においても、惹起部位(耳介)から遠隔の臓器(脾臓)において、アレルギー反応性の樹状細胞産生促進, Th17 細胞産生促進を示す遺伝子発現が観察された。これは金属アレルギー惹起・乾癬複合モデルの病態部位で観察される CD11c 陽性細胞, IL-17 陽性細胞が, IMQ クリーム塗布に反応して皮下組織で増殖しただけではなく, アレルギー性に所属リンパ節, あるいは脾臓で産生され遊走した可能性が高い。

本研究における肉眼観察, 組織学的観察, 遺伝子発現解析の結果により, ニッケルアレルギー惹起により脾臓または所属リンパ節で産生される樹状細胞, Th17 細胞または各細胞が産生する IL-23, IL-17 が病態部皮下に供給され, TIP-DC, Th17 細胞による乾癬病態の維持に寄与したことが明らかになった。学位論文として価値あるものと認める。

学位論文に関して、主査副査による以下の質疑応答を行った。

1. リアルタイム PCR の他の方法について。
2. IL17 の一般的な働きについてと、なぜ今回注目したのか。
3. Th1 と Th17 のバランスと現在明らかになっていること、パラジウムアレルギーとの関係性について。
4. なぜ金属アレルギーと乾癬の関係について着目し研究したか。
5. 金属アレルギーと乾癬の病態機構に共通因子があるならば、乾癬を発症している人は金属アレルギーなのか。またその逆もありえるか。
6. 乾癬病態モデル動物はいくつかあるが、今回イミキモド誘導性乾癬モデル動物を選択した理由は何か。
7. 遺伝子発現解析に背部皮膚と脾臓を選択した理由は何か。
8. 金属アレルギーの金属種をニッケルにした理由は何か。