

Title	The antihistamine olopatadine regulates T cell activation in palladium allergy
Author(s)	井口, 直彦
Journal	歯科学報, 117(6): 512-513
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/4421">http://hdl.handle.net/10130/4421</a>
Right	
Description	

氏名(本籍)	井口直彦 (広島県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第2107号(甲第1320号)
学位授与の日付	平成27年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	The antihistamine olopatadine regulates T cell activation in palladium allergy
掲載雑誌名	International Immunopharmacology 第35巻 70-76頁 2016年 doi : 10.1016/j.intimp.2016.03.021
論文審査委員	(主査) 井上 孝教授 (副査) 片倉 朗教授 吉成 正雄教授 笠原 正貴教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

近年、歯科領域ではパラジウム(Pd)アレルギー患者の増加が指摘されている。しかし、金属アレルギー発症においてT細胞が重要な役割を担うことは知られているが、適切な動物モデルが存在せず未だ詳しい分子機構は不明である。また、近年、Histamineが免疫応答におけるT細胞の機能を調節することが報告されている。そこで本研究では、新たなPdアレルギーモデルマウスの作製および、そのモデルを用いPdアレルギーにおけるHistamineの関与についてT細胞に着目し検証した。

#### 2. 研究方法

Pdアレルギーモデルマウスの作製では、金属は塩化パラジウム(PdCl<sub>2</sub>)、マウスはBALB/cを用いた。感作はPdCl<sub>2</sub>とリポ多糖(LPS)の混合液をマウス鼠径部へ2回、7日おきに皮内注射した。惹起は2回目の感作より7日後にPdCl<sub>2</sub>溶液を足底に皮内注射し、感作2回・惹起1回でPdアレルギーの発症を図った。コントロール群は、感作をPBS(リン酸緩衝生理食塩水)、惹起をPdCl<sub>2</sub>溶液とし同様の操作を行った。評価として足蹠測定(Footpad test)を行った。また、Pdアレルギーにおける膝窩リンパ節細胞のサイトカイン産生をフローサイトメトリーにて解析した。次に、T細胞におけるHistamineの関与をin vitroにて検証した。検体は、健常マウス脾細胞からT細胞を濃縮、培養を行い、Histamineおよび抗Histamine薬(H1受容体拮抗薬：Olopatadine Hydrochloride)の効果をサイトカイン産生にて評価した。最後に、Pdアレルギーモデルマウスにおける抗Histamine薬(Olopatadine Hydrochloride)の効果を検証した。薬剤投与法は、感作前日より惹起当日まで連日腹腔内注射を行った。また、感作、惹起当日は、感作、惹起を行う1時間前に薬剤投与を行った。コントロール群としてPBSを同様に投与した。評価として足蹠測定(Footpad test)、サイトカイン測定を行った。

#### 3. 研究成績および結論

Pdアレルギーモデル作製において、足蹠腫脹(Footpad test)はPd惹起後24時間で最大となり、コントロール群と比較し有意差が認められた( $P < 0.05$ : t検定)。サイトカイン測定ではIFN- $\gamma$ に関してPd惹起後15時間でコントロール群と比較し有意な産生の差を認めた( $P < 0.05$ : t検定)。また、IFN- $\gamma$ 産生細胞の約90%がCD8<sup>+</sup>T細胞であった。これよりPdアレルギーモデルマウスの作製およびフローサイトメトリーでの確認が行

えた。次に, in vitro にて Histamine は CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を促進させた。また, 抗 Histamine 薬 (Olopatadine Hydrochloride) は CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を抑制した。最後に, Pd アレルギーモデルマウスにおいて抗 Histamine 薬 (Olopatadine Hydrochloride) は, コントロール群と比較し有意に足蹠腫脹および, Pd 惹起後15時間で CD8<sup>+</sup>T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を抑制した ( $P < 0.05$ : t 検定)。

以上のことから, Histamine は T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を促進し, Pd アレルギー発症に関与することが示唆された。

## 論文審査の要旨

近年, 歯科領域ではパラジウム (Pd) アレルギー患者の増加が指摘されている。しかし, 金属アレルギー発症において T 細胞が重要な役割を担うことは知られているが, 適切な動物モデルが存在せず未だ詳しい分子機構は不明である。また, 近年, Histamine が免疫応答における T 細胞の機能を調節することが報告されている。

本研究は, 新たな Pd アレルギーモデルマウスの作製および, そのモデルを用い Pd アレルギーにおける Histamine の関与について T 細胞に着目し検証したものである。

実験では, PdCl<sub>2</sub> 溶液を用いマウス鼠径部 (感作), 足蹠 (惹起) へ皮内注射を行い, Pd アレルギーモデルマウスを作製し, 足蹠測定およびサイトカイン測定にて Pd アレルギー発症が確認できた。また, in vitro にて T 細胞に対し Histamine, 抗 Histamine 薬 (H1 受容体拮抗薬: Olopatadine Hydrochloride) 刺激を行い, フローサイトメトリーにてサイトカイン産生を評価した。さらに, 本モデルにおいて抗 Histamine 薬 (H1 受容体拮抗薬: Olopatadine Hydrochloride) の効果を検証した。その結果, Pd アレルギーマウスモデルにおいて Histamine が T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を調節していることが in vitro, in vivo で確認された。これらの結果から, Histamine が T 細胞からの IFN- $\gamma$  産生を促進し, Pd アレルギー発症に関与していることが有意差をもって確認された。また, H1 受容体の遮断により IFN- $\gamma$  産生および Pd アレルギーマウスの足蹠腫脹を抑制することができた。

本審査委員会では, 1) これまで報告された Pd アレルギーモデルマウスの問題点・本モデルの改良点 2) モデルマウス作製においてコントロール群でも足蹠腫脹を認める理由 3) Pd 以外の金属アレルギーにおける Histamine の関与 に関して質疑が行われ, 1) 過去に2種類モデルが報告されており, 1 種目は, 耳を評価するものであり注射・測定など手技が困難であること, 2 種目は, 足に惹起を3回行うため純粋な金属アレルギーを誘導できているか疑問が残るといった問題点がある。また, 本モデルは, 感作2回・惹起1回とし, 足に金属アレルギーを誘導することでこれらの問題点を改善した 2) 惹起として PdCl<sub>2</sub> 溶液を足底に皮内注射しており, 金属刺激により一時的に急性炎症が起るため 3) Ni アレルギーにおいて Histamine 合成酵素: histidine decarboxylase (HDC) 欠損マウスではアレルギー発症が軽微であることが報告されているとの回答を得た。また, 論文タイトル, 文章構成, 英語表現, 図表の表記, 参考文献の追加などの修正すべき点についても指摘がなされ, 修正が行われた。

以上より, 本研究で得られた結果は今後の歯科医学の進歩, 発展に寄与すること大であり, 学位授与に値するものと判定した。