



Title	ナノ微粒子曝露に着眼したアレルギー誘発要因の解明
Author(s)	平井, 敏郎
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52251
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (平井敏郎)	
論文題名	ナノ微粒子曝露に着眼したアレルギー誘発要因の解明
論文内容の要旨 金属アレルギーは、アレルギー性の接触過敏性皮膚炎を主な症状とする非常に身近なアレルギー疾患の一つである。金属の中では、ニッケルに対するアレルギーが最も多く、世界各地の調査をまとめると、一般人口における有病率は、患者数の多い女性で最大17%、男性でも3%がニッケルアレルギーであるとの報告がなされている。しかし、身近なアレルギーであるにも関わらず、金属に対する獲得免疫の成立（感作）から、実際の病態発症に至るまで、病態の機序はほとんど理解されていない。金属アレルギーの病態解明が遅れている最大の要因は、再現可能な金属アレルギーのマウスモデルが存在しないことにある。金属アレルギー発症の要因となるのは、前述の通り、身の回りの金属への接触であるが、これらの金属は、そのままでは当然体内に侵入できない。そのため、実際に我々が曝露する対象は、汗などによって溶け出したイオンであると考えられている。また、最終的な病態は、イオンが体内でハプテンとして働くことで、主にT細胞を主体とした免疫応答が惹起されることにより引き起こされる。しかし、病態発症の原因と考えられる金属イオンを単に投与しても、マウスにおいて金属に対する獲得免疫応答を誘導（感作）できない。この事実は、金属アレルギー発症のトリガーとなる、未知の因子の存在を想起させる。特に金属という観点では、近年、金属から溶け出したイオンが再結晶化することで、ナノ粒子が自然発生することが明らかとなってきた。このような状況は、例えば、装着したイヤリングから、自然とナノ粒子が発生し、我々が日常的にナノ粒子を曝露していることを意味している。ナノ粒子はこれまでに、吸入・経口経路の他、傷ついた皮膚は勿論、正常な皮膚であっても、一部はバリアを突破し、体内に吸収されることが示されている。即ち、我々の体内に侵入してくる金属の形態として、イオンだけではなく、ナノ粒子を考慮に入れるべきである。本観点を踏まえ、感作性を有する金属であり、かつ高い分散性を保持する銀ナノ粒子をモデルとして、金属ナノ粒子が金属アレルギー発症に及ぼす影響を評価した。前述の通り、金属アレルギーでは、金属を曝露することで感作が成立した後、再度曝露した際に、金属が本来有する起炎性が獲得免疫依存的に増幅し、病態が発症する。本実験では、あらかじめ金属をナノ粒子あるいはイオンの状態で投与しておいたマウスに、再度同じ金属をナノ粒子あるいはイオンの状態で投与し、それぞれに対する炎症応答の変化を指標として、ナノ粒子とイオンの感作における寄与を比較した。具体的には、一次粒子径が10 nmの銀ナノ粒子（nAg10）、あるいはイオンの対照群として使用した硝酸銀溶液（Ag⁺）を、免疫活性化剤として用いたLPSと共に投与した。最終投与の一週間後、今度は耳介にnAg10あるいはAg⁺を皮内投与した。この後、nAg10あるいはAg⁺による耳介の腫れを経時的に測定し、銀ナノ粒子あるいは銀イオンの前投与による銀への感作成立を評価した。この結果、Ag⁺ではなく、nAg10を前投与していたマウスでのみ、nAg10、Ag⁺のいずれによる耳介の腫れも、溶媒のみを前投与していたマウスと比較して有意に増強された。従って、nAg10の前投与により、nAg10と共に、Ag⁺に対する起炎性も増強されることが明らかとなった。また、生体内において、銀ナノ粒子から新たにイオンが放出されることが知られることを踏まえると、nAg10の前投与は、Ag⁺に対する獲得免疫応答を誘導していることが予想された。従って、イオンではなく、ナノ粒子を投与することで、投与金属に対するアレルギー応答が誘導できることが示唆された。金属アレルギーを含むアレルギー性の接触皮膚炎は、一般に、T、B、NK細胞の関わる獲得免疫応答によって誘導されることが知られている。そこで、nAg10の前投与による影響が、獲得免疫によって引き起こされる反応であるかどうかを検証した。T細胞およびNK細胞を中和抗体にて除去した際の、nAg10前投与により誘導されるnAg10に対する耳介の腫れの増強作用を評価した結果、CD4⁺細胞の除去によってのみその増強作用が消失し、CD8⁺細胞やNK細胞の除去は、nAg10前投与による作用にはほとんど影響を与えないことが示された。従って、nAg10の前投与はCD4⁺T細胞依存的な獲得免疫応答を誘導していることが示唆された。また、各サイトカインの中和抗体を投与した際の、nAg10によるアレルギー反応への影響を評価した結果、少なくともIL-17AがnAg10による耳介の腫れに大きく寄与していることが示された。従って、nAg10により誘導されるアレルギー応答は、Th17性の免疫応答であることが示唆された。ヒトの金属アレルギー病変では、CD4⁺T細胞の浸潤が、CD8⁺T細胞よりも圧倒的に多く観察されること、IFN-γやIL-17産生細胞が多いことなどが報告されている。このことから、nAg10によるアレルギー応答は、ヒトの金属アレルギー病態で観察される免疫応答に近い可能性が示唆された。また、本現象の普遍性を検討するため、ニッケル、金、非金属である、非晶質シリカのナノ粒子を用いてその感作性を評価した。その結果、金属アレルギーの最大の原因金属であるニッケルにおいて、イオンではなく、ナノ粒子を投与することで、マウスへのニッケルに対する感作を成立させられることが示された。一方で、イオン放出量の少ない金、あるいは非金属であるシリカに対しては、獲得免疫応答の誘導は検出されなかった。従って、本実験系において、ナノ粒子であることに加え、イオンを放出する作用を持つことが、感作成立に重要な働きをしていることが考えられた。さらに、感作成立の場である所属リンパ節への銀ナノ粒子の移行性を、経時的・定量的に評価した。その結果、イオンと比べてナノ粒子が高い感作性を示す点は、リンパ節への高い移行性と、リンパ節におけるイオンの放出作用によるものであることが示唆された。即ち、ナノ粒子がイオンのキャリアとして働くことが、ナノ粒子が強い感作性を示す機序であることが考えられた。以上、本研究では、動物レベルでの感作成立が困難であったことから、その発症機序が不明であった金属アレルギーにおいて、新たな発症機序を提示するに至った。今後、ナノ微粒子による金属アレルギー発症の寄与をヒトにおいて検証していくことが重要ではあるものの、本モデルを用いて金属アレルギー病態の解明が進み、その治療や予防に重要な知見が得られることを期待している。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (平 井 敏 郎)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 堤 康央
	副 査	教 授 辻川 和丈
	副 査	教 授 中川 晋作

論文審査の結果の要旨

本論文は、いまだ発症・悪化メカニズムが十分に理解されていない「金属アレルギー」に焦点をあて、金属ナノ粒子への曝露の観点から、アレルギー誘発のメカニズムを追究、新たなメカニズム・概念を提示したものであり、以下の結論を得られている。

1. ナノ粒子の皮膚からの曝露とアトピー性皮膚炎の関連について、ナノ粒子が多量に体内に侵入する環境があれば、自然型経路の亢進により、アトピー性皮膚炎の悪化が引き起こされる可能性がある。しかし、現実の曝露環境下では、その作用は極めて弱いと予想される。
2. アレルゲンを吸着したナノ粒子の凝集体を曝露することで、現実のアレルギー患者で観察されるIgE偏向性の免疫応答が誘導され、IgE性のアレルギー発症に関する感受性が亢進する状況がある。
3. 低用量のアレルゲン曝露は、IgE抗体との競合作用を示すIgG抗体 (blocking IgG) をほとんど誘導しないため、逆にアレルギー発症を促進する。
4. 金属アレルギーにおいて、金属イオンではなく、金属ナノ粒子が発症のトリガーとして働いている可能性がある。
5. マウスにおいて、少なくともヒト金属アレルギー病態と一定の免疫学的共通性を有する金属アレルギーモデルを初めて確立した。
6. 金属ナノ粒子は、金属イオンを運ぶキャリアとして働くことで、金属に対する感作成立に促進的に働いている可能性がある。

以上は、新たな「金属アレルギー」の発症・悪化のメカニズムを提唱するものであり、ナノ科学の進展のみならず、免疫学の発展にも寄与するものであり、特に、「金属アレルギー」の治療法開発や安全な金属ナノ粒子の開発にも直結するものである。

今後のNano-Safety Science: ナノ安全科学、Nano-Safety Design: ナノ最適デザイン、Sustainable Nanotechnology: 安全かつ有効に持続利用可能なナノテクノロジーに向けた興味深い知見であり、博士(薬科学)の学位を授与するにふさわしいものと考えられる。