

2223 GATA-3 遺伝子改変動物を用いた金属アレルギー誘導能の検討 —Th2 型免疫反応は金属アレルギーを惹起する—

○玉内秀一（北里大・医・微生物）、新山史朗（北里大・医・皮膚科）、水谷正義（独理化研）

松村有希子（慶應大・理工・機械工）、正 小茂鳥潤（慶應大・理工・機械工）

Examination of Metallic allergy inducement ability in GATA-3 transgenic mice

Hidekazu TAMAUCHI¹⁾, Shiro NIIYAMA²⁾, Yoshimasa MIZUTANI³⁾,

Yukiko MATSUMURA⁴⁾, Jun KOMOTORI⁴⁾

¹⁾Department of Microbiology and ²⁾Dermatology, Kitasato University School of Medicine, 1-15-1 kitasato, Sagami-hara, 228-855 Kanagawa, Japan

³⁾Materials Fabrication Laboratory, RIKEN (The institute of Physical and Chemical Research), 2-1, Hirosawa, Wakou-shi, Saitama 351-0198, Japan

⁴⁾Department of Mechanical Engineering, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Kouhoku-ku, Yokohama, 223-8552 Kanagawa, Japa

1 緒言

我々を取り巻く環境には様々な金属が存在し、近年それら金属を原因とする接触性皮膚炎が注目されている。代表的な金属アレルギーとしてニッケル、クロム、コバルト、水銀、金などが知られている。特にニッケルは、ニッケルメッキ、ニッケル合金として数多くの製品に使用されていることから感作される機会が多く、ニッケルアレルギーの急増が深刻な問題となっている。¹⁾ 金属アレルギー発症の根本的予防法は、金属と直接接触しないことであるが、我々の日常生活において接触から逃れられることは不可能である。また、金属が生体材料として医療分野において利用される頻度が高まりつつあり、例えば歯科領域ではインプラント・歯列矯正ワイヤ、成形外科領域には人工関節へ応用されている。これらの事実から、多くの金属種が我々の日常生活に入り込むと同時にその金属に対するアレルギーが重要な問題となっていることも事実である。

金属アレルギーや薬剤アレルギーは、ツベルクリン反応を代表とする Th1 型免疫を主体とするアレルギー反応と考えられているが、近年薬剤アレルギー反応に喘息を制御する Th2 型免疫反応も関与していることが明らかにされた。²⁾ そこで、我々は金属アレ

ルギーにおける Th2 型免疫反応の関与を GATA-3 遺伝子導入トランスジェニックマウスを用いて明らかにすると共に、本トランスジェニックマウスを用いたアレルギー誘導能の観点から生体材料開発評価システムを構築出来ないかを検討した。

2 材料及び実験方法

2.1 GATA3-Tg マウス の作製

GATA-3 遺伝子導入マウス (GATA-3Tg)は、C57BL/6 マウスと交配し、DNA-PCR 法にて導入遺伝子の有無を確認した。³⁾

2.2 抗原・感作及び惹起

Ni-Ti（未処置）もしくは酸素拡散処理 Ni-Ti 試験片を用いた。試験片は直径 3mm 厚さ 2mm に加工した Ni-Ti 合金 (Ni-49.2at%Ti) を用いた。また、酸素拡散処理前段階処理として、耐水エメリー紙 (#320-#1200) とアルミナ粉末 (0.3 μm) を用いて鏡面状に仕上げた後、500℃の温度において 30 分の酸素拡散処理を施した(TO500)。なお、その際の炉内の雰囲気は窒素 80%、酸素 20%tp なるように調節した。試験片は GATA-3Tg 及び WT マウスをペントバルビタール (80mg/Kg)で麻酔し、背部被毛をバリカンにて剃毛した。剃毛部をイソジン消毒液にて消毒後メスにて部分的に切開し、試験片を皮下に移入した後、外科用クリップにて切開部を縫合した。試験片移植後より、1

ヶ月経過した GATA-3Tg 及び WT マウスの左耳介皮内に 10 μ l の Ni 金属溶液(1000ppm)を投与し、経時的に腫脹を dial Thickness gauge にて測定した。

2.3 血中抗体量の測定

各々の抗原で感作されたマウスの血清中のアイソタイプ抗体価(総 IgE, IgG1, IgG2a)を ELISA 法にて測定した。

3 結果

3.1 Ni-Ti 試験片移植 GATA-3Tg マウス耳介腫脹反応の経時的観察

Ni-Ti 試験片移植 GATA-3 Tg マウス耳介への Ni 水溶液再度刺後の経時的耳介腫脹は、接種後 1 時間から 3 時間目に最初のピークを認め、その後反応は減退した。このピークにおける腫脹反応は GATA-3 Tg マウス及び非遺伝子導入対照マウス (WT) マウスにおいても同程度の腫脹で明らかな差は認められなかった。しかし、24 時間以降 GATA-3 Tg マウスにおいて、WT マウスの約 3 倍の腫脹反応が 72 時間後まで最大の腫脹反応が観察された(Fig.1)。

3.2 Ni-Ti 試験片移植 GATA-3Tg マウス血中抗体量

Ni-Ti 試験片移植 GATA-3Tg マウス血中総 IgE 抗体量は、試験片を移植されていない GATA-3Tg マウスの同抗体量と比較して約 2 倍高かった。しかし、WT マウスにおいては試験片の移植の有無に関わらず総 IgE 抗体量に有意差は認められなかった。また、IgG1 及び IgG2a についても同様に検討したが、GATA-3Tg 及び WT マウスの間に有意差を認めなかった。

3.3 TO500 試験片移植 GATA-3Tg マウスの耳介腫脹反応及び血中抗体価の検討

酸素拡散処理 Ni-Ti 試験片を同様に GATA-3Tg マウス皮下に移植感作した後、Ni 水溶液にて再刺激して腫脹反応を測定した。その結果、耳介腫脹は同じように推移するにも関わらず腫脹反応の程度は、未処置 Ni-Ti 試験片に比して約 1/5 倍減少 (80%の抑制)

した(Fig.1)。また、総 IgE 抗体量は、有意ではないが未処置 Ni-Ti 移植 GATA-3Tg マウスのそれよりも低い傾向が観察された。

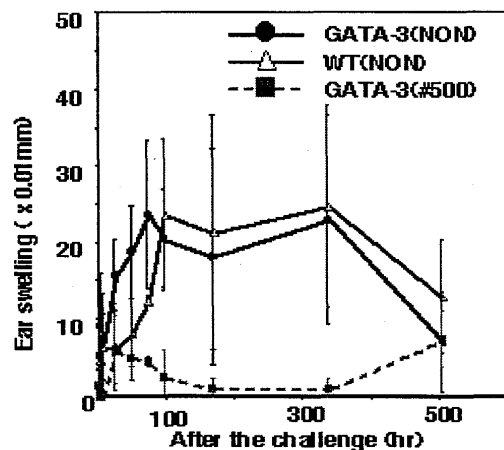


Fig.1 Immunological response of Ni-Ti tablet transplanted GATA-3 Tg mice after the challenge of Nickel solution

4 考察

以上の結果、GATA-3Tg マウスに Ni-Ti 合金に対する Ni アレルギーを誘導し、その反応に Th2 型免疫反応が関与することが示唆された。また、酸素拡散処理 Ni-Ti 合金では Ni に対するアレルギー誘導著明抑制された。これらの事実は、GATA-3Tg マウスを用いて生体材料のアレルギー誘導能を in vivo レベルで検索出来、生体材料開発に大きく貢献できる可能性が示唆された。現在、アレルギー誘導機序等について詳細に検討中である。

参考文献

- 1 Suzuki M., Hayakawa R. HIFU 34: 35-43 (1992)
- 2 Yokozeki H, Ghoreishi M, Takagawa S, Takayama K, Satoh T, Katayama I, Taketa K, Akira S, Nishioka K. J.Exp.Med. 191:995-1004 (2000)
- 3 Tamauchi H., Terasima M., Ito Mamoru., Maruyama H., Ikewaki N., Inoue M., Gao X., Hozumi K., Habu S. Int. Immunol. 16:179-187 (2004)