

—原 著—

アレルギー性接触皮膚炎の感作相は少なくとも2つのステップより構成され、その完成は皮膚の抗原に対する反応性の向上に重要である

金森 幸男¹ 金子 勝美¹ 渡理 英二² 川名 誠司¹¹日本医科大学皮膚科学²日本医科大学微生物学・免疫学

The Sensitization Phase of Allergic Contact Dermatitis Consists of at Least 2 Steps and Its Completion Plays a Crucial Role in the Response to All Antigens

Sachio Kanamori¹, Katsumi Kaneko¹, Eiji Watari² and Seiji Kawana¹¹Department of Dermatology, Nippon Medical School²Department of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School

Abstract

We examined whether 0.1% 2,4-Dinitrofluorobenzene (DNFB), which is a concentration insufficient to induce contact dermatitis with a single application, can induce dermatitis with repeated applications. 0.1% DNFB was painted on the shaved backs of C57BL/6 mice 2 consecutive days a week and 6 applications (3 weeks) induced allergic contact dermatitis. A hapten-specific lymphocyte proliferative response was observed in regional lymph node cells obtained 2 applications (1 week) of 0.1% DNFB. Four applications (2 weeks) of 0.1% DNFB did not elicit dermatitis, despite the appearance of hapten-specific lymphocytes; therefore, immunological memory is not sufficient to complete the sensitization phase. Interferon (IFN)- γ was produced at 1 week and in significantly higher amounts at 2 weeks. The redox status of regional lymph node cells was examined, because reductive cells have been reported to produce IFN- γ . The number of reductive cells was also increased at 1 week and significantly higher at 2 weeks. Most of the increased reductive cells were considered to be antigen non-specific because even repeated immunization can not induce such a high number of antigen specific cells. If the higher number of antigen non-specific reductive cells play a crucial role in completing the sensitization phase, even irrelevant antigens could induce dermatitis after 4 applications (2 weeks) of DNFB. Although 2.5% or 3.5% oxazolone could not induce dermatitis with a single application, it could induce dermatitis, if applied following 4 applications (2 weeks) of 0.1% DNFB. These results demonstrate that the sensitization phase of allergic contact dermatitis consists of at least 2 steps: the first step, which is antigen specific, is the appearance of antigen specific lymphocytes in regional lymph nodes, and the second step, which is antigen non-specific, is increases in IFN- γ production and the number of reductive cells. Entry of an antigen to the skin plays a crucial role in the response to all antigens.

(日本医科大学医学会雑誌 2012; 8: 199-206)

Key words: sensitization phase, antigen specific step, antigen non-specific step, susceptibility

Correspondence to Sachio Kanamori, Department of Dermatology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8603, Japan

E-mail: kanamori@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

抄 録

Hapten を使用して接触皮膚炎を作製する実験においては、多くの場合1回または2回の塗布にて皮膚炎が発症する濃度が使用されている。DNFB の場合には、0.5% の濃度で2日間連続塗布する方法がよく使用されている。今回われわれは、1回の塗布では皮膚炎を惹起し得ない低濃度の0.1%DNFBを1週間ごとに2日間、連続して塗布することにより、皮膚炎が発症するか否かを検討した。2週目までは塗布した皮膚に何ら変化が認められなかったが、3週目で初めて皮膚炎が発症した。アレルギー性接触皮膚炎は、感作相と惹起相の二つの phase から成り立っている。どの時点で感作相が完了したのかを明らかにするために、hapten specific lymphocyte proliferative assay を使用した。1週目で、hapten specific proliferation が認められ ($P < 0.01$)、感作が成立していることが明らかとなった。感作成立から接触皮膚炎へと進行する。この時のサイトカインの変化を調べた。その結果、IFN- γ が1週目より産生され ($P < 0.01$)、2週目でさらに増加することが判明した ($P < 0.01$)。またその他の cytokines である IL-2、IL-10 および IL-4 は変化が認められなかった。IFN- γ 産生はリンパ球の還元型である reductive cells によって産生されると報告されている。このため所属リンパ節細胞の redox 状態について調べた。Reductive cells は、1週目より増加した ($p < 0.01$)。免疫することによって得られる抗原に対する特異性を持った細胞の出現頻度から考えてこの reductive cells の増加の大部分は抗原に対して特異性を持たない細胞である。そしてこの reductive cells の増加は、それまで塗布に使用された DNFB とは無関係な抗原である OX に関しても単独塗布では皮膚炎を惹起できない低濃度で皮膚炎を発症させた。感作相は抗原を認識したリンパ球の出現と言う抗原に対して特異性を持つ step と、さらなる抗原刺激によって引き起こされる IFN- γ と reductive cells の増加と言う抗原特異性のない2つの step より構成される。そして感作相が完成されると、免疫に使用した抗原とは無関係のすべての抗原に対して反応性が高まることが示された。すなわち、皮膚に対する抗原刺激は皮膚の免疫応答の反応性の維持に重要な役割を担っていることが証明された。

緒 言

アレルギー性接触皮膚炎は感作相と惹起相より構成されている。Hapten が皮膚に塗布されると、Langerhans cells がこの抗原を補足する。Langerhans cells は抗原に出会う前は未熟であり、抗原を補足する能力が高いが、Tリンパ球に抗原情報を伝える能力は低い。皮膚に塗布された hapten を捕捉した後、成熟する。成熟するに従い抗原の捕捉能が減少し、Tリンパ球への抗原提示能が上昇する¹。Hapten 情報を持って所属リンパ節に移動し、成熟した後、リンパ節で抗原情報を Tリンパ球に伝えることにより感作相が完了とされている²。しかしこれだけでは、皮膚に何の変化も出現するわけではなく、どの時点で感作相が成立したかは明らかではない。これまで行われた多くの実験では、hapten の濃度が、1回または2回の塗布によりアレルギー性接触皮膚炎を惹起し得る濃度であった^{3,4}。皮膚炎が発症すれば感作相と惹起相の両方が終了したことが明らかとなるが感作相が皮膚炎発症の前のどの時期に完成し、惹起相へ進行するためにはいかなる変化が必要なのかを解析するには不向きな実験系であったと思われる。今回われわれは、hapten-specific lymphocyte proliferative assay を用いることにより、皮膚に何の変化もない状態であっても、どの時点で hapten を認識したリンパ球が出現したか、すなわち感作が成立したかを明らかにすることができる考えた。この実験系を使用することにより、hapten を認識したリンパ球出現後、感作相が完成し惹起相に進行するまでの cytokines およびリンパ節細胞の redox 状態の変化を調べることが可能となり、かつ興味深い結果を得たのでここに報告する。

材料および方法

マウス

日本医科大学動物実験委員会にて承認された後実験を行った。雌の C57BL/6 (B6) マウスを日本クレアより購入し、6~8 週齢で使用した。個々の実験において各グループ4から5匹のマウスを使用した。各実験は少なくとも3回施行し、常に同様の結果を得た。

Haptens

2,4-Dinitrofluorobenzene (DNFB : $C_6H_3FN_2O_4$; MW 186.1) と oxazolone (OX : 4-ethoxymethylene-2-phenyl-2-oxazolin-5-one : $C_{12}H_{11}NO_3$; MW 217.2) は

Sigma Chemical Co. (St Louis, MO) より購入した。

細胞培養液

$5 \times 10^{-5} \text{M}$ 2-mercaptoethanol, 100 mg/ml streptomycin, 100 u/ml penicillin, 1 mM L-glutamine と補体を非働化した10% 牛胎児血清を含むRPMI 1640 (Grand Island Biological Co. Grand Island, NY) を、培養液として使用した。

アレルギー性接触皮膚炎の誘導

Phanuphak³および Suzuki ら⁵の方法に準じて行った。Acetone と olive oil を 4:1 に混合した溶液に DNFB の濃度が 0.1% となるように調整し、剃毛したマウスの背部に 25 μl を 2 日連続で塗布した。さらにその 1 週間後および 2 週間後にも同様に 2 日連続で塗布した。

Hapten を pulse した抗原提供細胞

B6 マウスより脾臓を摘出し細胞浮遊液を作製。Red cell lysis solution (Sigma) を加えて赤血球を溶血、Hanks' balanced salt solution (Gibco) にて 3 回洗浄した後 3000R の irradiation した。各々 hapten とともに 37°C, 10 分間培養して抗原提供細胞として使用した。

リンパ球の proliferative assay

hapten 塗布後 4 日目に所属リンパ節細胞を摘出した。96 well の平底 microculture plate (Falcon) を使用して、well 当たり 2×10^5 の hapten を pulse した抗原提供細胞と 4×10^5 のリンパ節細胞を加えて 3 日間培養した。³H-thymidine を 1 μCi (37 kBq)/well 加えてさらに 24 時間培養後 harvest し、liquid scintillation counter にて DNA 合成に取り込まれた ³H-thymidine を測定した。すべての培養は triplicate で施行し、counts per minute (cpm) の平均値を記載した。

サイトカインの測定

hapten 最終塗布後 4 日目に所属リンパ節を摘出した。リンパ球の proliferative assay と同様に 2×10^5 の抗原提供細胞と 4×10^5 のリンパ節細胞を培養し 3 日後に培養上清を採取した。培養上清中の各サイトカインは sandwich ELISA kit (Endogen) により測定した。これらの assay による sensitivities は以下の通りである: IL-2, <3 pg/ml; IL-4, <5 pg/ml, IL-10, <12 pg/ml and IFN- γ , <10 pg/ml。

リンパ節細胞の redox 状態

リンパ節細胞を $3 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し、Lab-Tek Chamber Slide (Nunc) に 300 μl 加えて 37°C で 3 時間培養した。300 μl の 10 μM Monochlorobimane を加えてさらに 30 分培養後⁶, fluorescence microscopy にて観察し、luminosity にて reductive cells を測定した。

結果

DNFB を使用した接触皮膚炎発生の実験では、多くの場合 0.5% の濃度を使用している³⁴。この濃度では 1 回または 2 回の塗布にて皮膚炎が発症する。しかしながら実際に臨床で観察されるアレルギー性接触皮膚炎は、感作が成立し皮膚炎の発症がみられるまでは特別な場合を除いて、少なくとも数回の接触および数週間の期間が必要である。われわれは実際に臨床で観察される皮膚の炎症に近い発症を実現するために通常使用されている濃度より低い濃度の DNFB を使用して皮膚炎が発症するかどうかを検討した。

1 週間に 2 日だけ連続して塗布する方法³⁵で 0.1% の DNFB を使用した場合、2 回塗布 (1 週目) と 4 回塗布 (2 週目) では塗布部位に何ら変化を認めなかったが (Fig. 1b, c), 3 週間塗布すると皮膚炎が発症することが判明した (Fig. 1d)。すなわち 0.1% の DNFB を 1 週間ごとに 2 日連続で塗布すると、3 週間で感作相と惹起相が完了し、その結果皮膚炎が発症することが明らかとなった。

この実験では 3 週間の間に 0.1% の DNFB を計 6 回塗布したことにより皮膚炎が発症した。このことは、毎回塗布した DNFB が蓄積されて結果として 0.6% の DNFB 1 回塗布と同じことになったということではない。なぜなら DNFB を塗布前に常にその前に塗布された DNFB を洗浄することによって洗い落としても同じ結果となったことより明らかである。

しかしながら、この実験では感作相はいつ完了したのかは不明である。従来用いられてきた皮膚炎の発症や ear swelling および foot pad swelling で delayed type hypersensitivity を検査する方法³⁷⁻⁹ではこの問題を解決することはできない。われわれは、hapten specific lymphocyte proliferative assay を使用することにより感作が成立した時期を明確にできると考えた。

剃毛した背部に 0.1% の DNFB を 1 週間に 1 回、2 日連続で塗布し、最終塗布後 4 日目に所属リンパ節細胞を取り出した。抗原提供細胞として normal の B6

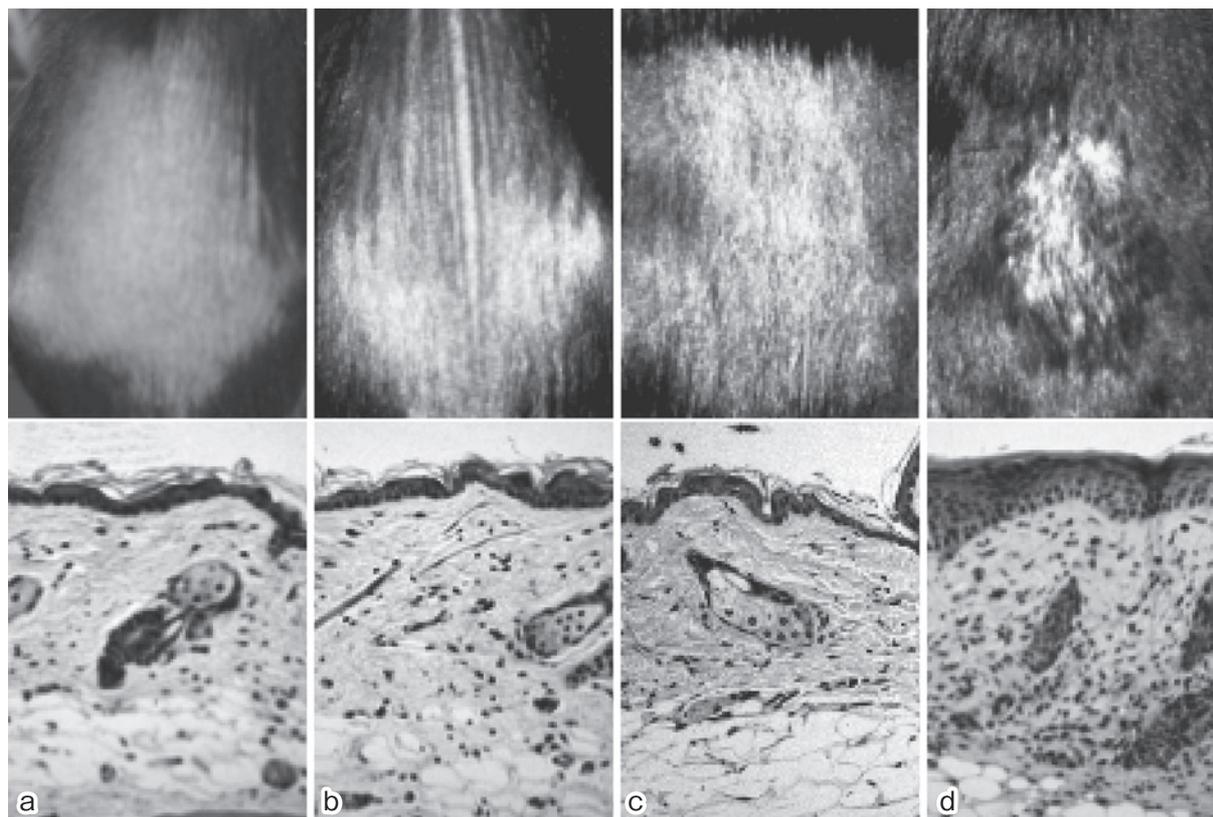


Fig. 1 Macroscopic and histological findings of the shaved dorsa of B6 mice.

(a) a normal mouse. (b) a mouse treated with 0.1% DNFB two consecutive days a week. (c) a mouse treated with 0.1% DNFB for two weeks. (d) A mouse painted with 0.1% DNFB for 3 weeks developed contact dermatitis.

Table 1 The hapten specific lymphocyte proliferative response

		APC pulse		
		Non	DNFB	Ox
DNFB application	1W	2,434	13,777	2,665
	2W	2,577	27,436	3,934
	3W	2,629	17,835	2,518

0.1% DNFB was painted on the shaved back 2 consecutive days a week. Regional lymph nodes were obtained 4 days after the last DNFB application. 4×10^5 lymph node cells were cultured with 2×10^5 hapten-pulsed antigen presenting cells (APC) for 4 days. Twenty-four hours before harvesting, 1 μ Ci (37 kBq) of 3 H-Thymidine was added to each well. The data reported represent the mean counts per minute (cpm).

の spleen 細胞を irradiation して使用した. hapten で pulse 後リンパ節細胞とともに培養した. **Table 1** に示すように DNFB 0.1% 1 週間塗布のマウスからのリンパ節細胞は DNFB に pulse された抗原提供細胞と

ともに培養することによりチミジンの有意に高い取り込みが認められ ($P < 0.01$), この時点で感作が成立したことが証明された.

DNFB に pulse された抗原提供細胞が non-specific に stimulate したのではないことは, この抗原提供細胞を normal のリンパ節細胞とともに培養してもチミジンの高い取り込みは認められないことより明らかである (data not shown).

感作が成立した後も連続して同一刺激が加えられている場合, 何が変わることによって惹起相へと進行し皮膚においてアレルギー性接触皮膚炎として認識されるようになるのかを検索するためにまず 0.1% の DNFB を 1 週, 2 週および 3 週間塗布したマウスの regional lymph node からのリンパ球と DNFB を pulse した抗原提供細胞を培養してその培養上清中に産生される cytokine を検索した. Interleukin (IL)-4 と 10 は 1 から 3 週まで control と同様に産生は認められなかった (**Table 2**). IL-2 は産生が認められたが, 抗原特異的に増加することはなかった. しかしながら Interferon- γ (IFN- γ) は感作が成立した 1 週より有意に上昇し ($P < 0.01$), 2 週目でさらに高い産生 ($P <$

Table 2 Cytokines production by regional lymph node cells

DNFB application	1W			2W			3W			
	APC pulse	non	DNFB	Ox	non	DNFB	Ox	non	DNFB	Ox
IFN- γ		15	195	5	10	595	10	30	240	15
IL-2		100	71	75	70	78	16	100	77	16
IL-4		0	0	0	0	0	0	0	0	0
IL-10		0	0	0	0	0	0	0	0	0

0.1% DNFB was painted on the shaved back two consecutive days a week. Regional lymph nodes were obtained four days after the last DNFB application. 4×10^5 lymph node cells were cultured with 2×10^5 hapten-pulsed antigen presenting cells (APC). After three days, culture supernatants were harvested and the concentrations of various cytokines were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The lowest detection levels of these cytokines are as follows: IL-2, <3 pg/ml; IL-4, <5 pg/ml; IL-10, <12 pg/ml; and IFN- γ , <10 pg/ml.

0.01) が認められた (Table 2). 感作成立から皮膚炎へ進行する時には, lymphocyte の産生する IFN- γ が増加することが明らかとなった.

この IFN- γ 産生の増加が IFN- γ 産生細胞の増加によってもたらされている可能性を検討するために細胞の redox 状態を調べた. 細胞内の glutathione 濃度が高くなると還元型となり低い場合は酸化型となる. そして還元型が多くなると IFN- γ が産生され, 酸化型が多くなると Th2 サイトカインが産生されやすくなると報告されている^{10,11}. この IFN- γ 産生の増加がリンパ節細胞中の還元型である reductive cells の増加によってもたらされているかを検討した. 所属リンパ節より single cell suspension を作成し, monochlorobimane を加え, fluorescent intensity にて還元型と酸化型に分類した. Fig. 2 に示すように reductive cells は白色調の細胞として観察された. 1 週目より細胞内 glutathione の多い reductive cells が増加し ($P < 0.01$), 2 週目で最大となった (Fig. 2 and Table 3).

DNFB を 1 週目および 2 週目と塗布することにより免疫しても, この増加した細胞のすべてが抗原に対して特異性を保持していると考えにはあまりにも多すぎる¹². この IFN- γ の産生増加は, その大部分が抗原に対して特異性のない細胞の増加によってもたらされていると考えられる. 感作相の完了時に抗原に対して特異性を持たない reductive cells の増加が重要であるならばこの時感作に使用された抗原とは無関係の抗原に対しても感受性が亢進している可能性が高い. この可能性を調べるために, DNFB とは無関係の hapten である OX を使用した. 2.5% および 3.5% の低濃度の OX を使用した場合, 1 回塗布では皮膚炎は

惹起されない (Fig. 3, Table 4). しかしながら 0.1% の DNFB を 2 週間塗布した後にこれらの濃度の OX を塗布することによって皮膚炎が惹起された.

これらの結果は皮膚にある抗原刺激が加わるとその抗原とは無関係な抗原に対しても反応性が高まることを示している.

考 察

低濃度の DNFB を使用し, 1 週間に 2 日連続塗布することにより 3 週間で皮膚炎が発症する系を確立した. Lymphocyte proliferative assay を使用して, hapten 塗布後 1 週間にて所属リンパ節に DNFB を認識するリンパ球が出現することを明らかにした. すなわち感作が成立していることが証明された. アレルギー性接触皮膚炎の感作相は抗原が皮膚バリアーを通過し, 皮膚内に侵入した抗原はランゲルハンス細胞や真皮樹状細胞に取り込まれる. 抗原提供細胞は所属リンパ節に遊走し, T リンパ球に抗原情報を提示し, 感作リンパ球が誘導されることにより成立するとされている^{2,13}. したがって 0.1% DNFB 塗布後 1 週間で感作相が完了したこととなる. それでは 2 週目より惹起相に入ったと考えて良いのかという疑問が残る. 惹起相は, 感作が成立している個体の皮膚内に再び同じ抗原が侵入すると, 抗原提供細胞により捕捉され, T 細胞に提示され, 抗原特異的 T 細胞との結合が生じるとサイトカインあるいはケモカインが産生され炎症が誘導されるとある¹⁴. 今回の実験系においては第 2 週目で感作の成立した個体に同じ抗原が侵入し, サイトカインが産生されたが皮膚炎は認められなかった. 感作が成立した時点で感作相が完了したと考えるなら

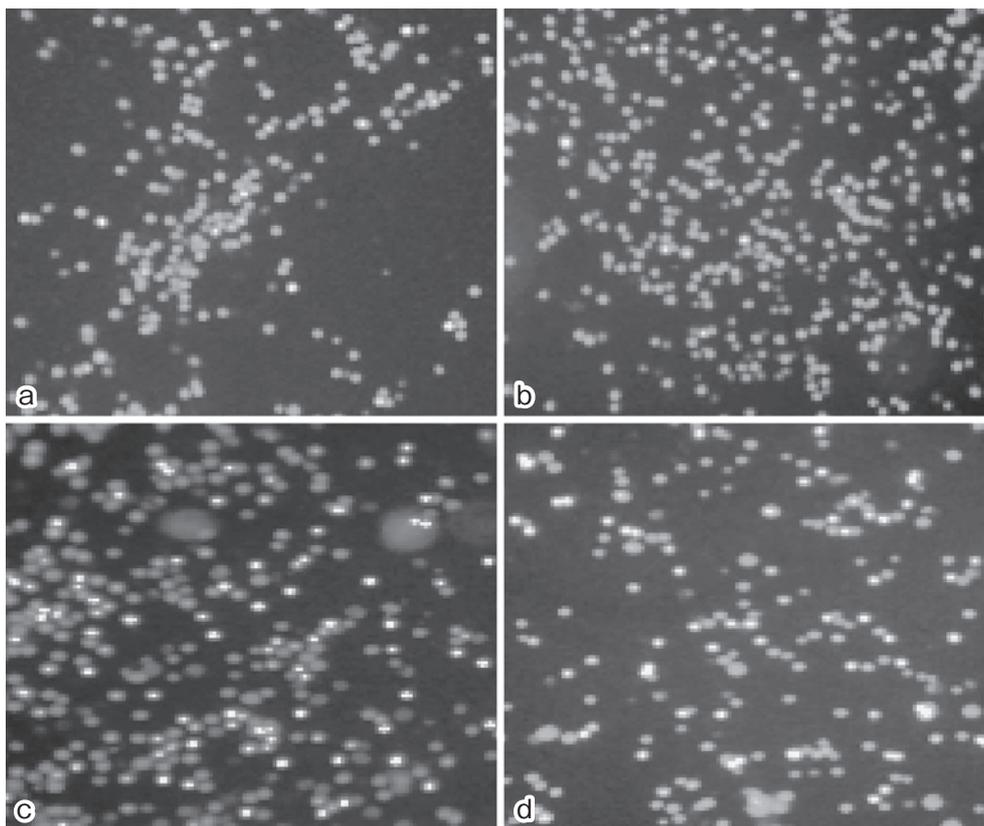


Fig. 2 The redox status of regional lymph node cells

The redox status of lymphocytes was indexed by intracellular content of glutathione and cells with elevated intracellular glutathione were referred to as reductive cells. 0.1% DNFB was painted on the shaved back two consecutive days a week. Regional lymph node cells from (a) normal mice, (b) mice treated with 0.1% DNFB for one week, (c) two weeks and (d) three weeks were obtained four days after the last DNFB application. 300 μ l of a lymph node cell suspension adjusted to a density of 3×10^6 cells/ml were added to Lab-Tek Chamber Slide (Nunc) and incubated for 3 h. After washing, 300 μ l of 10 μ M monochlorobimane was added and incubated for 30 min. The white color indicates the presence of abundant intracellular glutathione.

Table 3 The change of reductive cells ratio in regional lymph node cells after DNFB application

	Lymph node cells	ratio of reductive cells (%)
	Non	4.6
DNFB application	1W	32.3
	2W	60.9
	3W	19.7

The results of Fig. 2 were analyzed by NIH image and percentage of reductive cells in regional lymph node was shown.

ば、抗原刺激を受けても皮膚炎を惹起しない惹起相が存在することとなる。さらに皮膚炎を惹起しない惹起相の存在を認めたとしても惹起相の完成には24~48時間を要するとされており¹⁴やはり矛盾が起きる。こ

れらのことより、0.1%のDNFBによる免疫第2週目も感作相ととらえるべきと思われる。第1週目の免疫が終了し、所属リンパ節に抗原を認識するリンパ球が出現し、感作が終了しても感作相の完成には不十分である。さらなる抗原刺激によりIFN- γ の産生が高まって感作相が完成すると考えられる。そしてこのIFN- γ は接触皮膚炎の成立に必須なサイトカインと報告されている^{15,16}。接触皮膚炎の成立に十分なIFN- γ が産生され、それに続く抗原刺激により皮膚炎が惹起可能となって感作相が完成すると考えられる。すなわちアレルギー性接触皮膚炎の感作相は少なくとも2つのステップが必要である。1つは感作が成立すること、2つめは皮膚炎の発症が可能となる分量のIFN- γ が産生されることである。

細胞のredox状態とは細胞の還元型と酸化型のことであり、還元型細胞数は1週目より増加し2週目で

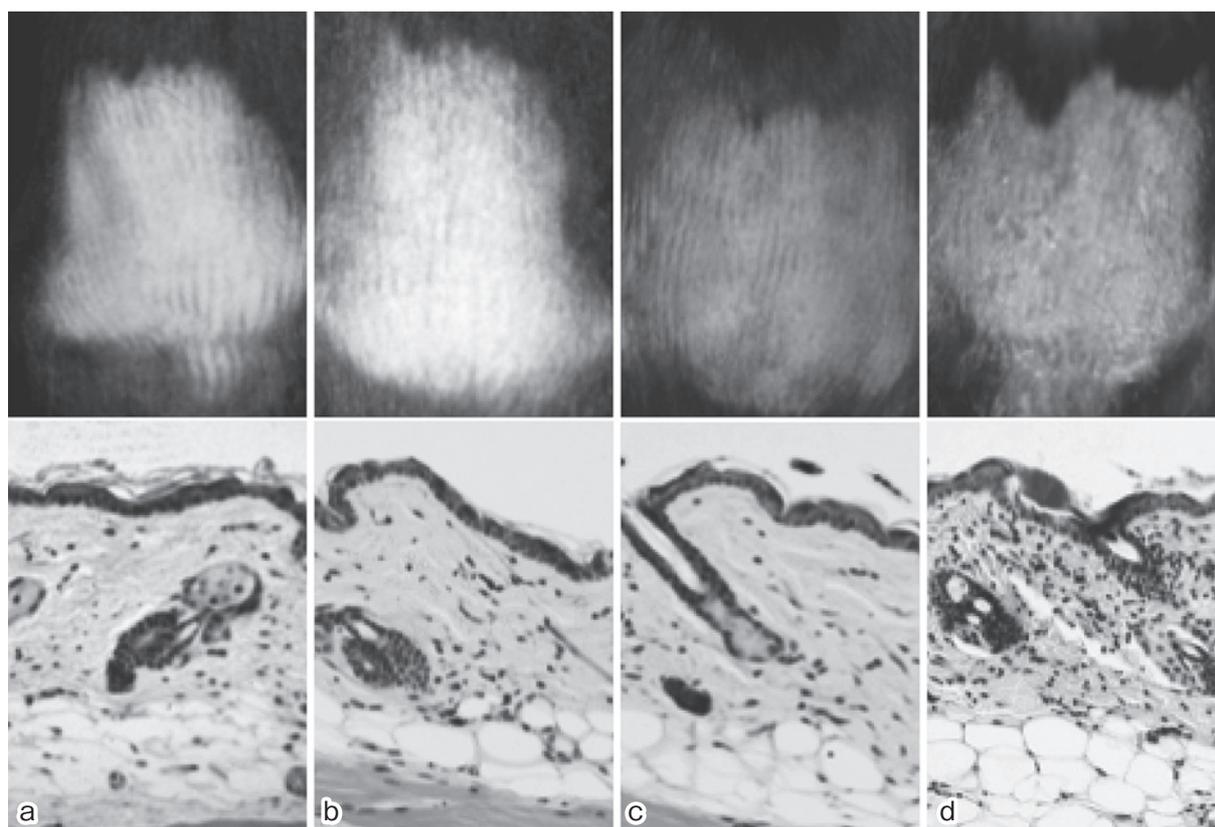


Fig. 3 Induction of contact dermatitis by 2.5% OX after DNFB application

Macroscopic and histological findings of the shaved dorsa of (a) a normal mouse, (b) a mouse painted with 25 µl of 2.5% OX, (c) a mouse painted with 25 µl of vehicle (acetone 4: olive oil 1) for 2 weeks and 25 µl of 2.5% OX and (d) a mouse painted with 0.1% DNFB for two weeks and 25 µl of 2.5% OX.

Table 4 Elicitation of contact dermatitis by low concentration of haptens

1W	Application 2W	3W	Dermatitis
(-)	(-)	2.5% OX	(-)
(-)	2.5% OX	2.5% OX	(-)
2.5% OX	2.5% OX	2.5% OX	(+)
(-)	(-)	3.5% OX	(-)
(-)	3.5% OX	3.5% OX	(+)
vehicle	vehicle	2.5% OX	(-)
0.1% DNFB	0.1% DNFB	2.5% OX	(+)
vehicle	vehicle	3.5% OX	(-)
0.1% DNFB	0.1% DNFB	3.5% OX	(+)

The shaved backs of B6 mice were painted with low concentration of DNFB, OX or both. It was examined whether allergic contact dermatitis was induced.

さらに増加した (Fig. 2 and Table 3). この変化は IFN-γ 産生の変化とほぼ同様であり, 還元型細胞の増加が IFN-γ の産生を高めるとする従来の報告を支持する結果である.

免疫することによって得られる抗原に対する特異性を持った細胞は 1.3×10^3 に 1 個と報告されている¹². すなわち 2 週にわたって免疫して感作相は完成するが, その完成に寄与する細胞の大部分は抗原に対する特異性を持たない細胞である. さらに, IFN-γ は抗原特異的に産生されたとしても, 産生された IFN-γ には抗原特異性はない. 感作相の完了時には IFN-γ 産生が高値になっていることも免疫に使用した抗原と全く関係のない抗原に対しても反応性が高まることを示唆している. Table 4 と Fig. 3 に示したように 1 回の塗布では接触皮膚炎を惹起しえない低濃度である 2.5% および 3.5% の OX を 0.1% DNFB 2 週塗布後に使用することで皮膚炎が発症する. このように感作相の完成は免疫に使用した抗原と無関係な抗原に対しても反応性を高めていることは幾つかの臨床的事実によっても証明されている. すなわち多剤アレルギーの患者さんは健常者と比較して感作されやすく, また症状も強いと報告されている¹⁷. また eczema populations は一般に比多くのアレルギーを持つ¹⁸などの報告も見られる. また今回のわれわれの実験は, これらの臨床的事

実の根拠を説明するものである。

結 論

アレルギー性接触皮膚炎は、感作相と惹起相から構成されている。そして感作相は従来から言われていた haptent を認識するリンパ球が出現し感作が成立する抗原特異性を示す第1の段階とその後に続く IFN- γ 産生の増加と還元型細胞の増加による抗原に対する特異性の無い第2の段階の少なくとも2つの steps より構成されている。そして感作相が完成することにより皮膚は種々の抗原に対する反応性を高めていることが証明された。

文 献

- Wilson NS, Villadangos JA: Lymphoid organ dendritic cells: beyond the Langerhans cells paradigm. *Immunol Cell Biol* 2004; 82: 91-98.
- 横関博雄: 皮膚科セミナー第65回皮膚炎, 2. 接触皮膚炎の病態. *日皮会誌* 2010; 120: 2009-2014.
- Phanuphak P, Moorhead JW, Claman HN: Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice. I. In vitro detection by ear swelling and correlation with in vitro cell stimulation. *J Immunol* 1974; 112: 115-123.
- Toews GB, Bergstresser PR, Streilein JW, Sullivan S: Epidermal Langerhans cell density determines whether contact hypersensitivity or unresponsiveness follows skin painting with DNFB. *J Immunol* 1980; 124: 445-453.
- Suzuki K, Kanamori S, Takada K, Kawana S: Divergence of contact hypersensitivity in vivo compared with haptent-specific lymphocyte proliferation and interferon- γ production in vitro following ultraviolet B irradiation: the possibility that UVB does not affect the sensitization phase of contact hypersensitivity. *Immunology* 2003; 108: 570-578.
- Murata Y, Amano M, Hamuro J: Sequential conversion of the redox status of macrophages dictates the pathological progression of autoimmune diabetes. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1001-1011.
- Schwarz A, Krone C, Trautinger F et al: Pentoxifyline suppress irritant and contact hypersensitivity reactions. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 549-552.
- Kurimoto I, Streilein W: Studies of contact hypersensitivity induction in mice with optimal sensitizing dose of haptent. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 132-136.
- Askenese PW, Van Loverent H: Delayed-type hypersensitivity; activation of mast cells by antigen-specific T cell factors inhibites the cascade of cellular interactions. *Immunol Today* 1983; 4: 259-264.
- Dobashi K, Aihara M, Araki T et al: Regulation of LPS induced IL-12 production by IFN- γ and IL-4 through intracellular glutathione status in human alveolar macrophages. *Clin Exp Immunol* 2001; 124: 290-296.
- Jeannin P, Delneste Y, Lecoanet-Henchoz S et al: Thiols decrease human interleukin (IL) 4 production and IL-4 induced immunoglobulin synthesis. *J Exp Med* 1995; 182: 1785-1792.
- Tse H, Schwarz RH, Paul WE: Cell-cell interactions in the T cell proliferative response. I. Analysis of the cell types involved and evidence for nonspecific T cell recruitment. *J Immunol* 1980; 125: 491-500.
- 海老原全: 皮膚科セミナー第28回皮膚炎 1. 接触皮膚炎—最近の動向—. *日皮会誌* 2007; 117: 1411-1415.
- 梶島健治: 接触皮膚炎の病因論 2010. *日皮会誌* 2010; 120: 3217-3220.
- Wang B, Fujisawa H, Zhuang L et al: CD4+ Th1 and CD8+ Type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity. *J Immunol* 2000; 165: 6783-6790.
- Xu H, Heeger PS, Fairchild RL: Distinct roles for B7-1 and B7-2 determinants during priming of effector CD8+ T cell and regulatory CD4+ Th2 cells for contact hypersensitivity. *J Immunol* 1997; 159: 4217-4226.
- Moss C, Friedmann PS, Shuster S, Simpson JM: Susceptibility and amplification of sensitivity in contact dermatitis. *Clin Exp Immunol* 1985; 61: 232-241.
- Carlson BC, Menne T, Tohausen JD: 20 years of standard patch testing in an eczema population with focus on patients with multiple contact allergies. *Contact Dermatitis* 2007; 57: 76-83.

(受付: 2011年8月15日)

(受理: 2012年2月28日)