

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 農 学 ）	氏名	森本 隆史
学位授与の要件	学位規則第4条第1・②項該当		
論 文 題 目			
皮膚感作性物質の混合影響			
論文審査担当者			
主 査	教 授	豊 後 貴 嗣	
審査委員	教 授	吉 村 幸 則	
審査委員	教 授	中 井 敏 博	
審査委員	教 授	古 澤 修 一	
審査委員	教 授	堀 内 浩 幸	
〔論文審査の要旨〕			
<p>皮膚感作性物質により引き起こされるアレルギー性接触皮膚炎（皮膚感作性反応）は、発症頻度の高い職業病である。実際の化学工場では、同時に複数の化学物質を使用したり、複数の化学物質を混合して使用する。そのため、化学物質の毒性において混合影響を予測すること、すなわち、混合操作を行うことで現れる毒性を事前に理解することが極めて重要である。しかしながら、これまでの混合影響に関する研究報告は、吸入毒性に関するものが中心で、その報告数も非常に少ない。皮膚感作性反応は化学物質に特異的な反応であり、吸入毒性とは「特異性」の点で大きく異なることから、既知の研究報告から皮膚感作性における混合影響を予想することはできない。そこで、本研究では、皮膚感作性物質を感作相において混合することの影響（皮膚感作性における混合影響）に関する検討を行なった。</p> <p>第2章第1節では、モルモットを用いて皮膚感作性における混合影響を検討した。化学物質の皮膚感作能の評価で良く利用されるマキシマイゼーション試験を用いて、皮膚感作性物質にはTh1型皮膚感作性物質としてDNCBおよびOxa、Th2型皮膚感作性物質としてPAおよびTDIを選択し、Th1型同士（DNCBとOxa）、Th1型（DNCB）とTh2型（PA）、Th2型同士（PAとTDI）を混合した。各混合液で動物を感作させた後、混合したそれぞれの皮膚感作性物質に対する皮膚感作性反応の変化にて、混合影響を評価した。Th1型同士、Th2型同士の混合では、混合操作による皮膚感作性反応の低減を認め、Th1型とTh2型の混合では、何ら変化は認めなかった。以上の結果より、皮膚感作性において混合影響の存在が明らかとなり、その影響の発現の有無は、混合する皮膚感作性物質の組み合わせにより、決定されることが明らかとなった。</p> <p>第2章第2節では、マウスを用いて皮膚感作性の混合影響を検討した。前節と同じ混合の組み合わせで、マウス耳介腫脹試験を用いて、同様に混合影響を評価した。モルモットの結果と同様に、Th1型同士、Th2型同士の混合では、混合操作による皮膚感作性反応の低減を認め、Th1型とTh2型の混合では、何ら変化は認めなかった。以上の結果から、皮膚感作性における混合影響の存在と、その影響の発現が混合する皮膚感作性物質の組み合わせにより決定されることに加え、これらはモルモットとマウスで大きな違いがないことが明らかとなった。</p> <p>これら動物実験の結果から、感作相での作用機序はTh1型（DNCB）とTh2型（PA）で異な</p>			

ることが考えられた。混合影響の発現を決定する作用機序を明らかにするため、皮膚感作性物質ごとの作用機序を比較することとした。まず、第3章では、皮膚感作性物質の抗原形成とその分類について検討を行なった。

皮膚感作性の抗原形成を模倣した *in chemico* 試験の1つであるグルタチオン結合性試験を用いて、DNCB、Oxa、PA および TDI の抗原形成について調査した。DNCB、Oxa および PA では、グルタチオンとの結合物が認められたが、TDI では結合物は認められなかった。また、グルタチオン結合物が認められた DNCB、Oxa および PA の反応性は、いずれも 80%以上と高い値を示した。以上の結果より、抗原形成において、使用した皮膚感作性物質は、「DNCB、Oxa および PA」と「TDI」に分類されることが判明した。

第4章では、皮膚感作性物質による皮膚樹状細胞の応答とその分類について検討を行なった。皮膚樹状細胞は活性化されると、抗原を皮膚からリンパ節へと運搬する役割を担っている。マウスの皮膚では、3つの樹状細胞のサブタイプ（ランゲルハンス細胞、Langerin 陽性 CD11 陽性真皮樹状細胞、Langerin 陰性 CD11 陽性真皮樹状細胞）が存在する。そこで、樹状細胞の分類マーカーとして Langerin を用いて、皮膚感作性物質塗布の部位における Langerin 変化を調査し、皮膚樹状細胞の応答を各皮膚感作性物質間で比較した。DNCB および Oxa では、表皮において Langerin の減少が認められたが、PA および TDI では減少は示されなかった。既知の研究報告から、表皮の Langerin はランゲルハンス細胞であり、その減少はランゲルハンス細胞の活性化もしくはリンパ節への移動を示していると考えられた。以上の結果から、皮膚樹状細胞の応答では、4つの皮膚感作性物質は、「DNCB および Oxa」と「PA および TDI」に分類されることが判明した。

第3章および第4章の研究結果から、感作相における作用機序では、皮膚感作性物質ごとに異なる反応が進むことが示された。とりわけ、皮膚樹状細胞の応答における違いは、第2章の結果で示された作用機序の違いを示すものであり、混合影響の発現を決定する感作相の作用機序であるものと示唆された。

本研究により、皮膚感作性における混合影響の存在と、その混合影響の発現は、混合する皮膚感作性物質の組み合わせにより決定されることが明らかとなった。混合影響の発現に影響する感作相の作用機序として、応答する皮膚樹状細胞の役割が重要であり、皮膚樹状細胞の応答によって、皮膚感作性物質を分類することで、混合影響発現の有無を予測できることが示された。

化学物質の混合影響は、まず混合影響発現の有無を予測することが重要であり、混合影響が発現する組み合わせについては、その混合濃度によって相乗的に毒性が高まることが想定されるので、事前に対処策を講ずることが可能となり、より安全な使用に繋がると期待される。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士（農学）の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。