原	著
---	---

口腔粘膜の扁平苔癬と歯科用金属との関係についての研究

田 上 洋 三

東京医科歯科大学第2口腔外科学教室（指導：伊藤秀夫教授）

（1977年10月11日受付）

A Study on Relationship between Oral Lichen Planus and Metallic Dental Materials

Youzo Tagami

2nd Department of Oral Surgery, School of Dentistry,

Tokyo Medical and Dental University

(Director: Prof. Hideo Itoh)

要旨：口腔粘膜の扁平苔癬と歯科用金属との関係を検討するために、16種類の金属塩からなる歯科用金属系列を用いて貼付試験を行った。次に、貼付試験で陽性率の高かった Cu と、金属アレルギー性皮膚炎の原因の中で最も多いとされている Co および Ni の血中濃度を原子吸光分光分析法により測定した。さらに、本疾患の病因に細胞性免疫が介在するか否かを検討するために、マクロファージ遊走阻止試験（MIT）を行った。抗原は口腔粘膜抽出抗原（OMA）と OMA に Cu, Co, Ni, Sn および Cr⁶⁺ をそれぞれ加えた 6 種類とした。方法は寒天滴を用いた間接法である。結果は次のようであった。

1. 貼付試験

陽性率の高い金属は健康人群では Cu (22.2%), Sn および Co (11.1%) であり、患者群では Sn (35.6%), Cu (30.5%), Pt (28.8%), Zn (18.6%), Co (15.3%) であった。Sn と Zn の陽性率には両群間に有意差がみられた。

2. 全血中の重金属の定量

健康人群の定量平均値は Cu 0.95 ± 0.18 ppm, Co 13.17 ± 4.94 ppb, Ni 4.12 ± 2.06 ppb であり、患者群の定量平均値は Cu 0.88 ± 0.14 ppm, Co 11.02 ± 5.03 ppb, Ni 3.28 ± 1.66 ppb であった。いずれも患者群が若干低い値を示したが、有意差はみられなかった。

3. MIT

OMA 単独, Cu+OMA および Sn+OMA 抗原では両群間にほとんど差はみられなかった。しかし, Co+OMA および Ni+OMA の両抗原群の遊走阻止率は健康人群36%, 患者群60%であり、遊走指数 (MI) 平均値でも患者群に若干強い反応を示す傾向がみられた。Cr⁶⁺+OMA 群の遊走阻止率は健康人群57%, 患者群80%であったが、MI 平均値では両群間にほとんど差はみられなかった。

I. 緒 言

扁平（紅色）苔癬は皮膚および粘膜の原因不明の炎症性角化症の中に整理されている疾患であって、1869年の Wilson¹⁾ の記載が文献上の嚆矢とされている。口腔は本症の好発部位のひとつで、症例が比較的多いことから、口腔粘膜の扁平苔癬に関する総合的な研究業績が多く²⁻⁹⁾、その病態はかなり明らかにされてきた。しかし、病因は依然として曖昧模糊としており、また治療法に関しても決め手となるものは確立されていないのが現状である¹⁰⁻¹²⁾。

本症の成因に関する最近の研究で特に関心が持たれているのは化学薬品類との関係であって¹³⁻²⁰⁾ その中には数種の重金属についての業績^{19, 20)} も含まれている。したがって、本症の成り立ちの一部に重金属がなんらかの形で関与しているとすれば、口腔の場合には、まず歯科用金属材料との関係を検討する必要があると思われる。

そこで著者は金属塩を用いての貼付試験、全血中の金属濃度の定量、および数種の金属を抗原の一部としたマクロファージ遊走阻止試験の3種類の実験を行って、口腔の本症と歯科用金属材料との関係を検討した結果、若干の興味ある知見を得たので報告する。

II. 研究方法

A. 対 象

東京医科歯科大学第2口腔外科で臨床所見および病理組織学的所見から口腔粘膜の扁平苔癬と診断された患者を対象とし、また対照には皮膚および口腔粘膜に疾患を有しない健康人を選んだ。

B. 研究方法

I. 貼付試験

貼付試験は患者59名、健康人18名について行った。試験に用いたのは16種類の金属塩で構成される歯科用金属系列（鳥居薬品社）で、金属塩の組成と濃度は表1のようである。金属塩の形態はNo. 1からNo. 12までは水溶液、No. 13からNo. 16までは白色ワセリンを基材とした軟膏である。

表1 貼付試験試薬と濃度

番 号	試 薬	濃 度
No. 1	CuSO ₄	5.0%
No. 2	PtCl	1.0
No. 3	FeCl ₃	2.0
No. 4	CdSO ₄	1.0
No. 5	AuCl	0.2
No. 6	CrSO ₄	2.0
No. 7	SnCl ₂	3.0
No. 8	CoCl ₂	2.0
No. 9	HgCl ₂	0.1
No. 10	K ₂ Cr ₂ O ₇	0.4
No. 11	NiSO ₄	5.0
No. 12	PdCl ₂	2.0
No. 13	SbCl ₃	2.0
No. 14	ZnCl ₂	2.0
No. 15	AgBr	2.0
No. 16	MnCl ₂	2.0

水溶液の試薬は1滴、軟膏の試薬は留針頭大量を貼付試験用絆創膏（鳥居薬品社）のリント布上に塗布して、それを被験者の背部に脊柱を避けて3列に貼付した。48時間後に絆創膏を剥がし、15分経過してから貼付面の皮膚反応を観察した。15分後としたのは絆創膏剥離の直接刺激による皮膚発赤の鎮静を待つためである。皮膚反応の判定はパッチテスト研究会の基準²¹⁾（表2）に従った。この判定基準に関しては、反応が一次刺激性あるいはアレルギー性のいずれに属するものか、またどの段階で反応陽性と判定するか、などについては見解が統一されていないようであるが²²⁾、一般的には++以上の強い反応はアレルギー性とみなされている。しかし、一次性刺激によっても有意な反

表2 貼付試験の判定基準

記号	反 応
—	反応なし
±	軽微な紅班
+	紅班
++	紅班+浮腫
+++	紅班+浮腫+丘疹または小水疱
	大水疱
	壊死

応が出現することがあり、これは被験者がその試薬に対して過敏であることを示し、接触は避けるべきであるので、今回の試験では+以上の反応を陽性と判定した。

II. 全血中の Cu, Co および Ni の定量

人体組織中の重金属の濃度は Fe などの数種類を除いて極めて低濃度であるが、近年の分析技術の急速な進歩により、臨床検査項目としてこれらの金属の定量が可能になり、この結果必須微量元素(essential trace element)²³⁾ の概念も生まれてきた。しかし、人体組織中のこれら微量元素の正常域値については、報告者によってまだかなりの差があるものもあるように思われる。実際に、最も鋭敏とされる原子吸光分光分析(以下 AAS と略す)による定量でも、直接測定では定量限界以下であることが多く、対象金属のキレート化、溶媒抽出などの濃縮、増感などの処理が必要とされている²⁴⁾。

著者は被験者からの採血量に限度があることを考慮して、貼付試験で陽性率の高かった Cu と、皮膚炎の原因としての報告がみられる Ni および Co の3種類を定量の対象とした。被験者数は患者21名と健康人34名で、定量方法は次のごとくである。

a) 測定機器

測定に用いた機器は日立-Perkin Elmer 303型原子吸光分光分析器である。

b) 試薬

硝酸、過塩素酸、塩酸、アンモニア水は試薬特級(関東化学社)を用いた。sodium diethyl dithiocarbamate (以下 DDTC と略す)は原子吸光分析用試薬(和光純薬社)を用い、methyl isobutyl ketone (以下 MIBK と略す)も原子吸光分析用試薬(関東化学社)を用いた。thymol blue (以下 TB と略す)は試薬特級(小室化学社)を用いた。定量に用いる標準液は原子吸光分析用 1,000 ppm 標準液(和光純薬社)を希釈して調製した。水は蒸留後に脱イオンした精製水を用いた。

c) 定量方法

図1に示す手順で行った。すなわち、前腕正中

図1 AAS測定までの血液前処理方法

皮静脈より採血した血液を正確に 20ml とり、キエルダー フラスコに移した。これを湿式灰化するために、酸化剤として硝酸 40ml、過塩素酸 10ml を加え、内容液が淡黄色透明になるまで静かに加熱した²⁵⁾。この灰化液中には多量の鉄が含まれていて、定量感度が低下するので、除鉄処理を行った。すなわち、灰化液に塩酸と水を加え 6N 塩酸酸性とした。この条件で鉄は FeCl_4^- のイオン対となって選択的に有機溶媒に抽出できるので^{26, 27)}、これを 6N 塩酸と平衡化した MIBK で3回洗浄して鉄を除去した。残りの塩酸は、液を加熱して除去した。次いで対象金属を金属-DDTC 錯体として抽出するために、灰化-除鉄液にアンモニア水を加え、指示薬を TB として pH を 2.5 に調整した。これに DDTC を 300mg 加えて十分に攪拌してから抽出溶媒として MIBK を 15ml 加えた。振盪機で30分間激しく振盪して金属-DDTC 錯体を MIBK 中に抽出した²⁸⁾。

d) 定量条件

定量は被検液、水を血液と同じ方法で処理した盲検液、および Cu 1ppm, Co 10ppb, Ni 5ppb を含む水を血液と同じ方法で処理した標準液、の3種類について行った。盲検液および標準液は実験の都度作製した。原子吸光分光分析器の使用条件は表3のようである。

表 3 日立-Perkin Elmer 303型 AAS機器の使用条件

	Cu	Co	Ni
波 長	3247 Å	2407 Å	2320 Å
アセチレン流量	1.0-0.7 l/min	0.7 l/min	0.7 l/min
空 気 流 量	13.0 l/min	13.0 l/min	13.0 l/min
ホローカソード ランプ電流	10 mA	20 mA	20 mA
ス リ ッ ト	3	3	3
ス ケ ー ル	1	5	5

III. マクロファージ遊走阻止試験 (macrophage migration inhibition test ; 以下 MIT と略す)

MIT は患者 15 名および健康人 14 名について次により行った。

a) 抗原

抗原は口腔粘膜抽出抗原 (以下 OMA と略す), OMA+Cu, OMA+Co, OMA+Ni, OMA+Sn, OMA+Cr⁺⁶ の 6 種類とした。OMA の製法は原の方法²⁹⁾に従った。すなわち, 病理解剖時に採取した成人類粘膜を 500 IU/ml penicillin および 500 µg/ml streptomycin 添加 PBS で 5 回洗浄した。粘膜の結合織を可及的に除去してから細切し, Potter のホモジナイザーで十分ホモジナイズした。次いで, 超音波破碎装置 (ultrasonic distributor) (Tomy 社) で 10 分間処理した。位相差顕微鏡により細胞が十分破壊されたことを確認してから 1,000 rpm 30 分間遠沈し, 得られた上清に含まれる粗抽出物を OMA とした。この上清については培養試験を行い, 細菌の増殖がないことを確認した。OMA の蛋白濃度は紫外吸収スペクトル法により, 近似式 $1.45OD_{280} - 0.74OD_{260}$ mg/ml で測定算出した³⁰⁾。実験における OMA 濃度は蛋白量にして 0.05 mg/ml とした。金属は原子吸光分析用標準液を希釈して用いた。すなわち, Cu は CuCl₂, Co は CoCl₂, Ni は NiCl₂, Sn は SnCl₂, Cr は K₂Cr₂O₇ 溶液である。金属濃度はすべて 5 ppm とした。

b) 末梢血よりのリンパ球分離

リンパ球の分離は Conrey 400-Ficoll 比重遠沈法を用いた^{31, 32)}。すなわち, ヘパリン加採血した末梢血を PBS で 3 倍に希釈し, 比重 1.077 の Conrey 400-Ficoll 液上に静かに重層した。これを 400 G 30 分間遠沈して, 分離したリンパ球層を採取した。このリンパ球を Eagle MEM (日水製薬社) で 3 回遠沈洗浄した。

c) リンパ球の培養

56°C 30 分間加熱で非動化した牛胎児血清 (以下 FCS と略す) を 10% 含む Eagle MEM にリンパ球を 1×10^6 /ml となるように浮遊させた。これを 2 ml ずつスクリュウ キャップ付培養びん (日電理化学社) に分注した。これに抗原として OMA と金属を添加した。対照には PBS を添加した。培養は 5% CO₂ インキュベーター中で 120 時間行った。

d) マクロファージの採取

成熟モルモットの腹腔に高圧滅菌した流動パラフィン (Merck 社) を 20 ml 注入して 72 時間放置した。実験直前にエチルエーテルでモルモットを殺し, 開腹して腹腔を無菌的に Eagle MEM で洗浄して, 遊出しているマクロファージを捕集した。次いで培養液表面に流動パラフィンが認められなくなるまで繰り返し Eagle MEM で遠沈洗浄した。

e) MIT 方法

Clausen³³⁾ および Harrington³⁴⁾ の寒天滴を用いた方法, およびこれを改良した吉田の方法³⁵⁾を参考にして実験を行った。まず, マクロファージ浮遊 Eagle MEM 液を 1,000 rpm 5 分間遠沈して上清を除き, 遠沈管底に沈降した細胞容量を計った。0.4% に Agarose (同仁薬化学社) を溶解させた Eagle MEM 液を 40°C の温浴中に用意しておき, 細胞量と等量の Agarose-Eagle MEM 液とマクロファージを混和した。以上のようにしてマクロファージを封入した寒天液をマイクロシリンジで 2 µl ずつ培養用スライドグラス (高橋技研硝子社) のホールに滴下した。このスライドグラス (図 2) はホールの容量が 1.5 ml で, ホール底面には 3 寒天滴を滴下できる。寒天が固まった

図2 培養用スライドガラス

後、ホールを各リンパ球培養上清で満たした。培養の際に液面に動揺があると、寒天滴がガラス面より剝離して MIT の測定が不可能となるので、スライドガラス全体をシリコングリースとカバーガラスで密封した。培養は5% CO₂ インキュベーター中で振動を与えないこと、水平におくこと、に注意して24時間行った。

f) MIT の測定

ポラロイド装置を装着した実体顕微鏡を用いて、暗視野下で培養後の寒天滴を撮影した(図3および4)。遊走が著しい例でも、寒天滴の遊走前の輪郭が明瞭に認められるので、最も遠くまで遊走したマクロファージを結ぶ線で囲まれる面積と、寒天滴の面積とを写真上で複式プランメーターを用いて計測し、遊走面積倍率を算出した。次

図3 マクロファージの遊走を示す寒天滴

図4 マクロファージの遊走阻止を示す寒天滴

いで遊走指数(以下 MI と略す)を次の式により寒天滴ごとに算出した。

$$MI = \frac{\text{抗原添加遊走面積倍率}}{\text{PBS添加遊走面積倍率}} \times 100$$

III. 実験結果

1. 貼付試験結果

何らかの金属塩に対して陽性反応を示したのは患者群59名中の44名(約75%)、健康人群18名中の10名(約56%)で、前群中の15名(約25%)および後群中の8名(約44%)は16種類すべての金属塩に対して陰性であった。各金属塩に対する陽性者数は表4のようであった。すなわち、患者群で陽性率の高かったのは Sn (21名, 35.6%), Cu (18名, 30.5%), および Pt (17名, 28.8%) であり, Co および Zn も10%を超える陽性率を示した。一方健康人群中で陽性率が高かったのは, Cu の22.2%, Pt, Sn および Co の11.1%であるが, いずれも患者群より低い値であり, Fe, Cd, Au, Cr³⁺, Ni, Sb, Zn, および Mn の8種類の金属塩に対しては全例が陰性であった。両群間の差を χ^2 -test により検定すると, Sn および Zn にのみ有意差が認められた ($P < 0.05$)。

次に, 1種類の金属塩に対してのみ陽性は患者群の11名(19%), 健康人群の7名(37%)であ

表 4 貼付試験の陽性率

金属	患者群 (59名の%)	健康人群 (18名の%)
Cu	18名 (30.5%)	4名 (22.2%)
Pt	17 (28.8)	2 (11.1)
Fe	1 (1.7)	0
Cd	3 (5.1)	0
Au	1 (1.7)	0
Cr ³⁺	1 (1.7)	0
Sn	21 (35.6)	2 (11.1)
Co	9 (15.3)	2 (11.1)
Hg	5 (8.5)	1 (5.6)
Cr ⁶⁺	3 (5.1)	1 (5.6)
Ni	5 (8.5)	0
Pd	2 (3.4)	1 (5.6)
Sb	4 (6.8)	0
Zn	11 (18.6)	0
Ag	2 (3.4)	1 (5.6)
Mn	4 (6.8)	0

り、2種類の金属塩に対して陽性は患者群の16名(27%)、健康人群の2名(11%)であった。また、3種類の金属塩に対して陽性は患者群の10名(17%)、健康人群の1名(5%)であり、4種類以上の金属塩に対して陽性は患者群のみの7名(12%)であった。5種類、6種類および8種類の金属塩に対して陽性は患者群の各1名(2%)であり、9種類以上陽性反応を示した被験者はなかった。なお、5種類に陽性の内容は Pt, Sn, Zn, Ag および Mn で、6種類に陽性の内容は Cu, Pt, Co, Hg, Sb および Ag であり、8種類に陽性は Cu, Pt, Cd, Sn, Hg, Cr⁶⁺, Sb および Zn であった。

皮膚反応はほとんどが判定基準の+〜++に該当する紅斑もしくは紅斑+浮腫であったが、少数例は Cu, Pt, Sn, Co, Hg および Zn に対して++に該当する水疱形成を示した。

2. 全血中の Cu, Co および Ni の定量結果

a) 実験条件の検討の結果

まず、キレート剤として DDTc を加える時の pH と DDTc 量に関して最も高い感度を得る条件を検討した。結果は図 5 および 6 のようであったので、これと文献²⁸⁾を考慮して、pH は 2.5 とし、

DDTC 量は血液 1 ml あたり 15 mg とした。この実験条件での検量線は図 7 に示すように良好な直線性が得られた。この実験条件での変動系数 (CV) は Cu 3.40%, Co 8.57%, Ni 8.38%であった。また共存する他元素の影響についても検討したが、定量に重大な影響を与えるような著しい干渉は認められなかった。

図 5 DDTc キレート時の pH による吸光度差
吸光度は相対値で示す。

図 6 DDTc キレート時の DDTc 添加量による吸光度の変化

b) 定量値の年代的変動および性差

健康人群34名の年代構成は10歳代2名、20歳代14名、30歳代7名、40歳代4名、50歳代5名および60歳代2名で、また性別は男性21名、女性13名

図7 Cu, NiおよびCoの検量線

であった。患者群21名の構成は20歳代3名, 30歳代2名, 40歳代5名, 50歳代8名および60歳代3名であり, また性別は男性8名, 女性13名であった。健康人群の年代別の定量値平均には Cu, Co, Niとも一定の傾向は認められなかった。また健康人群での性別の定量値平均は Cu, Co, Niとも男性に若干高い値がみられたが, 有意差はなかった。

c) Cuの定量値

健康人群では最大値 1.44 ppm, 最小値 0.65 ppm, 平均値と標準偏差 0.95 ± 0.18 ppm であった。患者群では最大値 1.11 ppm, 最小値 0.61 ppm, 平均値 0.88 ± 0.14 ppm で, 健康人群より若干低い傾向がみられたが, 両群間に有意差は認められなかった (図8 t検定 $P < 0.05$)。

図8 Cuの定量値

d) Coの定量値

健康人群では最大値 26.8 ppb, 最小値 4.1 ppb, 平均値 13.17 ± 4.94 ppb であった。患者群では最大値 21.7 ppb, 最小値 3.6 ppb, 平均値 11.02 ± 5.03 ppb で, 健康人群より若干低い傾向がみられたが, 両群間に有意差は認められなかった (図9)。

図9 Coの定量値

e) Niの定量値

健康人群では最大値 9.0 ppb, 最小値 1.0 ppb, 平均値 4.12 ± 2.06 ppb であった。患者群では最大値 7.2 ppb, 最小値 1.1 ppb, 平均値 3.28 ± 1.66 ppb であり, 健康人群より若干低い傾向がみられたが, 両群間に有意差は認められなかった (図10)。

3. MITの結果

a) 抗原濃度の検討結果について

まず, $1 \times 10^6/\text{ml}$ となるようにリンパ球を浮遊させた10% FCS加 Eagle MEM に Cu, Co, Ni, Sn および Cr^{6+} をそれぞれ 5, 10, 15, 20 ppm の濃度になるように添加した。これを5% CO_2 インキュベーター中で120時間培養した後, リンパ球数を計算して生存率を計算した。結果は図11に示すようで, 各金属とも 5 ppm の濃度ではほとんど生存率に影響を及ぼさないと考えられた。

図10 Ni の定量値

図11 金属添加培養 120 時間後のリンパ球生存率

次に、実験方法Ⅲ-eで述べた培養液の10%FCS加 Eagle MEM に Cu, Co, Ni, Sn および Cr^{6+} をそれぞれ 5, 10, 15, 20 ppm の濃度になるように添加した。24時間培養後の遊走状態は各金属とも 5 ppm の濃度ではほぼ影響がみられなかった (表 5)。以上の結果から MIT に用いる各金属の濃度はすべて 5 ppm に統一した。

表 5 金属添加培養液でのマイクロファージ遊走状態

	5 ppm	10 ppm	15 ppm	20 ppm
Cu	+	±	—	—
Co	+	+	±	—
Ni	+	+	±	—
Sn	+	+	—	—
Cr	+	±	—	—

+ 遊走を示す, ± 軽度の抑制を示す, — 遊走を示さない

OMA の濃度およびリンパ球の培養時間は原の報告²⁹⁾を参考にして、リンパ球培養液に添加する OMA を 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、また培養時間は120時間とした。

b) OMA のみを抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 152, 最小値 59, 平均値 101.5 ± 22.9 で、MI が 100 以下は 47% であった。患者群では MI の最大値 145, 最小値 50, 平均値 99.7 ± 27.7 で、MI が 100 以下は 50% であった。すなわち OMA 単独の場合には両群間に差は認められなかった (図12)。

c) Cu+OMA を抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 135, 最小値 58, 平均値 95.3 ± 21.9 で、MI が 100 以下は 64% であ

図12 OMA 抗原の場合の MIT 結果

た。患者群では MI の最大値 114, 最小値 56, 平均値 87.2 ± 17.7 で, MI が 100 以下は 73% であった(図13)。すなわち, MI 平均値でも, MI が 100 以下の割合でも患者群に遊走阻止反応が若干強い傾向がみられた。しかし有意差は認められなかった。

図13 Cu+OMA 抗原の場合の MIT 結果

d) Co+OMA を抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 154, 最小値 28, 平均値 96.1 ± 40.7 で, MI が 100 以下は 36% であった。患者群では MI の最大値 154, 最小値 26, 平均値 82.3 ± 47.5 で, MI が 100 以下は 60% であった(図14)。すなわち, Co+OMA 抗原の場合にはやや強い反応を示すものが多かったが, MI 平均値にはほとんど差がなく, また MI が 100 以下の割合は患者群の方が若干高かったが, 有意差は認められなかった。

e) Ni+OMA を抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 160, 最小値 67, 平均値 106.2 ± 27.0 で, MI が 100 以下は 36% であった。患者群では MI の最大値 119, 最小値 71, 平均値 93.3 ± 17.1 で, MI が 100 以下は 60% であった(図15)。すなわち, MI 平均値および MI が 100 以下の割合から, 患者群に遊走阻止傾向が若

図14 Co+OMA 抗原の場合の MIT 結果

図15 Ni+OMA 抗原の場合の MIT 結果

干強いようであったが, Co+OMA 抗原よりも全体的に弱く, また両群間に有意差は認められなかった。

f) Sn+OMA を抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 152, 最小値 36, 平均値 71.1 ± 31.9 で, MI が 100 以下は 79% であった。患者群では MI の最大値 129, 最小値 31, 平

均値 68.1 ± 30.6 で、MI が 100 以下は 80% であった(図16)。すなわち、両群とも遊走阻止反応が比較的強くあらわれる傾向がみられた。

g) $\text{Cr}^{6+} + \text{OMA}$ を抗原とした MIT の結果

健康人群では MI の最大値 147, 最小値 51, 平均値 88.6 ± 27.8 で、MI が 100 以下は 57% であ

た。患者群では MI の最大値 130, 最小値 39, 平均値 83.0 ± 24.3 で、MI が 100 以下は 80% であった(図17)。すなわち、MI が 100 以下の割合からは患者群に遊走阻止の傾向が若干強いようであった。しかし、有意差は認められなかった。

IV. 考 察

口腔の扁平苔癬の病因に関する従来の諸説を要約すると、(1)細菌またはウイルス感染説³⁶⁾、(2)遺伝的素因説³⁷⁾、(3)神経説³⁸⁾、(4)情緒的因子説³⁹⁾、(5)代謝障害因子説⁴⁰⁻⁴²⁾および(6)薬物中毒あるいはアレルギー説の 6 項目にまとめられるが、近年もなお関心を寄せられているのは(4)～(6)の 3 項目で、その中でも特に注目されているのは(6)の薬物中毒あるいはアレルギーとの関係である。

他方、金属アレルギーによる皮膚炎についての研究は Ni, Co, Cr を中心に多数みられるが、その中には扁平苔癬に関する報告も散見される。そこで著者は歯科用金属材料に含まれている金属と口腔の扁平苔癬との関係を検討する目的で、貼付試験、全血中の金属濃度の定量および MIT の 3 種類の実験を行って、興味ある若干の結果を得たので、それらの結果に基づいて考察を試みた。

1. 貼付試験の結果について

歯科用金属系列を用いた貼付試験によって口腔の扁平苔癬と金属性補綴物との関係を検討したものに、池村ら⁴³⁾および中山ら⁴⁴⁾の業績がある。池村らは扁平苔癬 35 例、対照 62 例に貼付試験を行い、患者群に 20% 前後の高い陽性率を示した金属として、Cu, Pt および Sn をあげ、これらは対照群では約 2% の低率であったと述べている。著者の試験結果も同傾向であったが、患者群における陽性率は 30% 前後で約 10% 高く、また健康人のそれも 11～22% で、数値に若干の相違があった。貼付試験の結果と金属アレルギー疾患の成立とは必ずしも一致しないのであるが、実際の症例報告はそれほど稀ではない⁴⁵⁻⁵⁰⁾。その中で歯科用金属に関係のある症例としては、Schriver⁴⁵⁾のステンレス鋼線中の Ni, Levantine⁴⁶⁾の金属床中の Ni および Co, Elgard⁴⁷⁾の金冠中の Au, Gaul⁴⁸⁾ および

図16 Sn+OMA 抗原の場合の MIT 結果

図17 $\text{Cr}^{6+} + \text{OMA}$ 抗原の場合の MIT 結果

Thompson⁴⁹⁾ のアマルガム中の Hg, Wood⁵⁰⁾ の金属床中の Ni などがあり, これらはいずれも貼付試験で陽性反応を示し, 補綴物または充填物を除去することによって, それまで継続していた皮膚炎ないしは口内炎が治癒している。口腔の扁平苔癬については, Frykholm ら¹⁹⁾ が貼付試験で陽性を示した Cu を含む補綴物を撤去することによって, 比較的短期間に病巣が軽快した症例を報告しており, また中山ら²⁰⁾ も Hg および Sn に陽性であった患者にはアマルガムを除去し, Sn, Pt および Mn に陽性であった患者には Sn を含む充填物を除去して, それまで頑固であった病巣が比較的速やかに軽快した症例を報告している。なお, 中山ら⁴⁴⁾ は掌蹠膿疱症25例にも同様の試験を行い, 18例はなんらかの金属に強陽性反応を示したと述べている。著者は複数の金属に陽性反応を示した頑固な口腔扁平苔癬の患者3名に, すべての金属性補綴物の撤去を試みたところ, 1例は病巣が完全に治癒し, 1例は軽快したが, 他の1例は全く症状の改善がみられなかった。以上の症例は口腔の扁平苔癬の中には歯科用金属材料との関連性が疑われるものが存在することを推測させるのであるが, 金属アレルギーと判定する条件のひとつである貼付試験の際の flare up は経験されなかった。

金属性補綴物ないしは充填物によって口腔粘膜が感作されるか否かを論じる場合には, まずこれらの金属の口腔内における安定性を考える必要がある。このことについて金竹⁵¹⁾ は, 高カラット金合金以外の歯科用合金は各種の食品により腐蝕し, 減量すると述べており, また和久本⁵²⁾ は金属充填後100日間の測定で, 口腔内で起こる実際の1日当たりの平均減量は, 金合金が 0.0021 mg/cm², 銀合金が 0.0043 mg/cm², 銅合金が 0.0515 mg/cm² であったと述べている。この減量は腐蝕, 咬耗ないしは磨耗, あるいはガルバーニ電流による溶出などによると考えられているが, いずれにしても, 金属性補綴物ないしは充填物を有する人の口腔粘膜は, それが極めて微量であるにしても, 絶えず金属ないしは金属イオンに曝露されて

いる環境にあるといえよう。金属の感作能に関して, Smith⁵³⁾ は塩化 Co による接触性皮膚炎は極めて稀であり, また塩化 Co の皮下注射によって起こる反応は, 肥満細胞から血管透過性因子が遊離する一次性反応であって, アレルギー性反応とは認めがたいと述べている。これに対して, 宮沢⁵⁴⁾ はウサギの皮膚に Co 塩および Ni 塩を塗布してイオン導入を行った実験で, アレルギー性皮膚炎が惹起されたと報告しており, また原田⁵⁵⁾ もモルモットに Cr⁶⁺, Co および Ni と Freund の complete adjuvant で免疫して感作が成立したと述べている。しかし, この3種類の金属による口腔粘膜の感作の可能性については, 仲井⁵⁶⁾ が極めて低いであろうとの見解を示し, 多くは皮膚アレルギーが先行すると述べている。

歯科用金属系列による貼付試験の診断的評価については異なった意見があり, 原田⁵⁵⁾ は低濃度の試薬では偽陰性反応が多く, 高濃度の試薬では中毒的な偽陽性反応が多くなるので, 再現性に乏しいと述べている。しかし, McCarthy ら⁵⁷⁾ は貼付試験陰性の場合には当該物質に対する口腔粘膜の感受性を否定する陰性試験としての価値があり, 反応が陽性の場合には, 義歯床などを用いて試薬を粘膜に直接作用させて反応の有無を確認すべきであると述べている。著者は口腔粘膜に対する直接試験は行わなかったが, 金属アレルギーが疑われる患者に対する歯科用金属系列の貼付試験は, たとえ直接的関係の有無を決定することが困難であるにしても, 臨床検査項目のひとつとして, 有力な情報を提供するものであるし, とくに陽性反応を示す金属が存在する場合には, その金属を含む歯科補綴物を中心とした口腔の環境には十分留意する必要があるように思われる。

2. 全血中の Cu, Co および Ni の定量結果について

微量の重金属の定量分析法には比色分析法 (spectrophotometry), 炎光分光分析法 (emission spectrography), けい光分析法 (fluorescent spectrography), 原子吸光分光分析法 (AAS), および発光分光分析法 (spark emission spectrography)

などがあるが、生体試料についての分析には、感度の鋭敏性、操作の容易性などから AAS が最も広く使用されている。この AAS の開発によって従来は定量不能の濃度域にあった微量元素の量および分布が明らかにされ、またこれらの元素の生理的ならびに病的意義の検討も進捗しつつある。Underwood⁵⁸⁾ は (1)これら微量元素の摂取により成長反応が有意の差をもって観察されること、(2)欠落した食餌ではなんらかの異常ないしは疾患がみられること、(3)その場合には、血液および組織中の濃度と欠乏による異常との間に相関がみられること、の 3 要件を満たす元素で、Fe より存在量が少ないものを必須微量元素と定義している。人間を含む高等動物における必須微量元素とされている元素は (Fe), I, Cu, Zn, Mn, Mo, Co, Se, Cr および Sn⁵⁹⁾ で、その後 V および Ni が追加されている⁶⁰⁾。

著者が定量の対象にしたのは Cu, Co および Ni の 3 種類で、その理由は前述したが、この 3 種類の金属の生理的ならびに病的意義については次のように理解されている。すなわち、Cu の代謝異常による疾患としては Wilson 病⁶¹⁾が有名であるが、生理的には赤血球の成熟に不可欠な元素であり、また Cu を構成成分とする金属酵素も数種類発見されていて、その中にはコラーゲン代謝と密接に関係する酵素も含まれている⁶²⁾。一部には Zn とともに細胞性免疫への関与を推定している報告⁶³⁾もみられ、また西山ら⁶⁴⁾によると、Behçet 病患者では血清 Cu 値の上昇がみられるという。Co はビタミン B₁₂ の構成要素であるが、ビタミン B₁₂ 自体は抗貧血因子であるし、またビタミン C の代謝に関与して、コラーゲンの生合成にも影響を及ぼすとされている⁶²⁾。遊離の Co の生理的意義は不明であるが、実験的過剰投与によって血糖の上昇と高脂血症がみられるとの報告もある⁶⁵⁾。Ni は近年になって必須微量元素の範囲に加えられたもので、その生理的意義はなお不明な部分も多いが、心筋梗塞患者の血清 Ni 値は発作と一致して変動するといわれており、このことから膜透過性あるいは筋収縮などへの関与が推測されてい

る⁶⁶⁾。また実験的 Ni 欠乏症で皮膚炎をみたとの報告⁶⁷⁾もある。

血中の Cu, Co および Ni の定量には全血を検体とする場合と血清を検体とする場合とがあるので、定量値を検討する場合にはその差を考慮する必要がある。Cu については Christain^ら⁶⁸⁾の報告があり、23 例の定量結果から全血 Cu と血清 Cu の比は 1:1.1 であったと述べている。日本人の血清 Cu 値は男性では 0.82~1.34 ppm、女性では 1.03~1.59 ppm が臨床検査上の正常値とされており⁶⁹⁾、石沢^ら⁷⁰⁾の農村住民を対象とした結果では、男性 1.07±0.17 ppm、女性 1.08±0.18 ppm で、男女差および年代差は認められないようである。著者は全血について定量を行ったので、その健康人群平均値に 1.1 を乗じて血清値に換算すると、ほぼ石沢^らの報告値に一致していた。一方 Co については全血値、血清値とも変動が大きく (表 6)、また両者の比についても相反する見解がある⁷¹⁾。これは人種、居住地、食習慣などにも影響されるのであろうが、いずれにしても健康人の全血、血清正常値とも、さらに高感度のフレイムレス式 AAS などを用いて検討を加えなければならぬと思われる。Ni についても各報告者の測定値は表 7 に示すように変動が大きいが、その測定に AAS が使用されるようになってからは 10 ppb 以下の報告が多いようである。しかし、健康人の血中 Ni 正常値についても Co と同様に今後の研究を待って決定されるものと思われる。また、Ni の

表 6 各報告者による血中 Co の正常値

報 告 者	年代	検体	Co 濃度 (ppb)	例数
Wolff ⁷¹⁾	1950	全血	1.7~15	不明
Heyrovsky ⁷¹⁾	1952	全血	2.8~17	不明
Thiers ⁷¹⁾	1955	全血	0.07~0.36	2
Koch ⁷¹⁾	1956	全血	3.6~63	25
Parr ⁷²⁾	1964	血清	0.08~0.58	6
Kasperek ⁷²⁾	1972	血清	1.8±1.29	151
Ginovanetti ⁷²⁾	1976	血清	0.2±1.3	12
Verieck ⁷²⁾	1976	血清	0.0384~0.264	20
Hanskins ⁷³⁾	1976	全血	56~98	4
著 者	1977	全血	4.1~13.2	32

表7 各報告者による血中 Ni の正常値⁷⁵⁾

報 告 者	年代	検体	Ni 濃度 (ppb)	例数
Cluett	1956	血清	12	1
		全血	20~90	8
Koch	1956	血清	10~85	不明
Monacelli	1956	血清	10~60	12
Paixao	1959	血清	0~180	39
Herring	1960	血清	0~270	109
Gofman	1964	血清	0~180	39
Blutt	1964	血清	53~62	48
Zhernakhwa	1966	血清	♂ 55±28 ♀ 52±32	154
Sunderman	1967	血清	1~73	23
Schaller*	1968	血清	6~31	26
		全血	6~70	63
Mertz	1968	血清	0.6~46	59
Nomoto*	1970	血清	1.1~4.6	40
Nomoto*	1974	血清	0.3~4.8	24
著者*	1977	全血	1~9	32

* はASAによる定量値を示す

全血値と血清値の比についてはSchaller⁷⁴⁾の1:0.8との報告があるが、その分析値は近年のものに比べると非常に高いので、さらに検討を要するものであろう。

患者群についての定量結果は前述のようで、Cu, Co および Ni とともに健康人より若干低い値であった。このことは、これらの微量金属の生体内での活性および代謝などに不明な部分が多いので、何を意味するか即断することは困難であるが、(1)金属を構成成分とする酵素の量と、血中金属量との間に相関関係が認められると仮定するならば、その金属酵素を介しての皮膚代謝に及ぼす影響を示唆するようにも思われるし、また、(2)血中金属濃度の高い個体と、低濃度の個体との間の、局所的高濃度に曝露された部位での反応の相異が考慮されるかもしれない。いずれにしてもこれらの問題についてはさらに検討をすすめたいと考えている。

3. MITについて

a) 実験方法について

MITは1962年にGeorge⁷⁶⁾によりin vitroでの遅延型アレルギーの検索手段として試みられたのが、最初といわれる。その後David⁷⁷⁾によりin vivoの遅延型アレルギー反応と、in vitroのMI現象との相関が詳しく検討され、両者がよく一致することが確認された。Davidらが行ったMITはキャピラリーチューブにマクロファージを充填する方法で行っているが、この方法はマクロファージを多量に使用するし、また、採血量も多くなるのが欠点であったが、Clausen³³⁾は1973年に寒天を用いるMITのマイクロ化を考案し、その後夏梅⁷⁸⁾、吉田³⁵⁾および宮川⁷⁹⁾がさらに改良法を発表している。しかし、この寒天滴法MITには微妙な温度管理が要求されることと、培養液の動揺によって寒天滴がガラス面から剝離しやすいことなどの欠点が指摘されている。そこで著者は内容積を1.5mlに設計した培養用スライドグラスを用いて、培養液の動揺を防ぐためにカバーグラスとシリコングリースでホールを密閉したところ、この方法では寒天滴の剝離はほとんどみられなかった。また、MITにはリンパ球とマクロファージを同時に培養する直接法と、リンパ球培養とマクロファージ培養とを別々にする間接法とがある。直接法は判定までの時間が短いのが特徴であるが、リンパ球とマクロファージとの直接的反応も考慮しなければならず、結果の解析が複雑となるので、著者は間接法によって実験を行った。

b) 実験結果について

金属アレルギーとin vitroにおける遅延型アレルギーとの関係について、大城⁸⁰⁾はMITと貼付試験との結果は必ずしも一致しなかったと述べ、その原因として抗原とした金属の濃度と担体蛋白として血清蛋白を用いた点を挙げている。また、Macleud⁸¹⁾はNiについての実験で、リンパ球幼若化反応と貼付試験の結果は一致したが、白血球遊走阻止試験(leukocyte migration inhibition test, 以下LMITと略す)とは一致しなかったと述べている。しかし、Mirza⁸²⁾、Tholin⁸³⁾およびTio⁸⁴⁾の同じNiとCr⁶⁺についての

報告では、LMITと貼付試験との結果がよく一致している。このように金属を抗原とした *in vitro* の遅延型アレルギーの実験結果は報告者によって必ずしも一致しない面もあるが、この点について Macleud⁸¹⁾ は LMI を示した例では、その金属が非特異的な mitogen として働いたが、あるいは指標細胞に細胞毒的に働いたことによる偽陽性反応であろうと述べている。金属の細胞毒性については、石沢ら⁸⁵⁾ が培養 L 細胞について検討して、Cu, Co, Ni, Sn は 15 ppm でも細胞毒性は認められなかったが、Cr⁶⁺ は 4 ppm でも若干の毒性が認められたと述べている。また、川原⁸⁶⁾ は歯科用合金の線維芽細胞への影響を検討して、Cu を含む合金については線維芽細胞に増殖の抑制がみられたが、Sn を含む合金では逆に促進がみられたと述べている。著者の予備実験では、Cr⁶⁺ は 5 ppm の濃度でもリンパ球およびマクロファージに細胞毒的な反応はみられなかった。この点は石沢ら⁸⁵⁾ の報告と一致しないが、対象とした細胞が異なるのもその一因として考えられる。

著者の MIT におけるマクロファージの動態は寒天滴中より動かないもの、寒天滴の周囲にわずかに遊走したもの、粉を散布したように広く遊走したもの、および遊走したマクロファージが集塊をなすものに区別された。感作リンパ球が抗原を認識すると液性活性因子⁸⁷⁾ (lymphokines) を産生するが、この実験系に関与する液性活性因子は遊走阻止因子 (MIF)、遊走促進因子 (migration enhancement factor ; 以下 MEF と略す)、マクロファージ凝集因子 (macrophage aggregation factor) であって、本実験で示されたマクロファージの動態は培養液中のこれら因子の量を反映しているように思われる。MIF はこれらの液性活性因子の中では比較的研究が進んでおり、それを産生するのは主に細胞性免疫に関与する T 細胞とされているが、液性免疫に関与する B 細胞にも若干の MIF 産生能が認められている⁸⁸⁾。MIF はリンパ球が抗原と接触してから 6 時間で培養液中に検出されるが、Weisbert⁸⁹⁾ によると 7 日間 PPD を加えて感作リンパ球を培養すると、7 日目にもっ

とも強い MIF 活性がみられたという。また、MEF の産生は培養 2～5 日目に認められ、一時的には MIF より MEF 活性のほうが強く、マクロファージ遊走促進がみられたと述べている。このように MIT では相反する因子を同時に抱えている点を常に考慮して結果を判断する必要がある。

著者の抗原を OMA 単独とした実験では遊走阻止または遊走促進を強く示す例は極めて少数であり、全体として患者群、健康人群とも反応は弱かった。Lehner⁹⁰⁾ は胎児の口腔粘膜から作製した OMA を抗原とした再発性アフタについてのリンパ球幼若化反応で OMA に抗原性を認めているが、原²⁹⁾ は成人の口腔粘膜から作製した OMA を抗原として、再発性アフタおよび Behçet 病について同じ実験を行い、OMA にほとんど抗原性が認められない結果を示している。著者の MIT の結果でも、少数例に強い反応がみられたが、これには異種蛋白である FCS に対しての反応も考慮する必要がある、OMA に対する特異的な反応とは断定できないので、扁平苔癬患者の OMA に対する反応性は弱いものと考えられる。Cu+OMA, Sn+OMA, Cr⁶⁺+OMA を抗原とした実験でも患者群と健康人群との間にはほとんど差はみられなかったが、OMA 単独での結果と比べると全体的に若干の MI 低下の傾向が認められた。これはリンパ球およびマクロファージを死滅させるほどの強さではないが、5 ppm の低濃度でも、Cu, Sn, Cr⁶⁺ に細胞毒性が存在するか、または非特異的 mitogen としての働きを持つことを推測させるものであろうと考える。Co+OMA および Ni+OMA を抗原とした実験では、MI が 100 以下の割合は両者とも患者群が 60%、健康人群が 36% で、患者群に遊走阻止率が高い傾向がみられた。しかし、Ni+OMA では両群とも MI 値は 100 前後に集中しているので、結論的には両群間に差はないように思われた。これに対し Co+OMA では MI が 100 前後の弱い反応の例は少なく、多くの例は強い遊走阻止もしくは遊走促進反応を示し、この傾向は患者群に顕著であった。MIT を行った患者の中には貼付試験で Co 陽性を示した例がな

く、このふたつのテストの結果は一致しなかった。しかし今回の実験で MIT の一部に強い反応が認められたことは、扁平苔癬の成因の一部に、金属に対する細胞性免疫反応が存在する可能性を呈示するもののように考えられる。

扁平苔癬の病理組織学的特徴である上皮下の帯状細胞浸潤が注目されており、細胞を同定することから本疾患の病因を解析しようとする試みがある。一般に細胞浸潤はその組織学的所見、電顕的所見および酵素組織化学的所見などから、リンパ球が主体で、少数の組織球由来の細胞が混在するとの文献が多く^{4,8,9,91-93)}、池村⁸⁾はさらに電顕的所見と蛍光抗体法により、浸潤細胞は主として Ig M 陽性細胞を含むリンパ球であると述べている。また、Barnett⁹¹⁾は角化細胞に接着したリンパ球および脱顆粒を示す肥満細胞を示し、これらによる上皮破壊を示唆している。また、アレルギー性皮膚炎と一次的局所刺激性皮膚炎とはオートラジオグラフで検出される局所増殖細胞の比率が異なることを明らかにし、Lachapelle^{94,95)}はこの方法で扁平苔癬を検討して、検出された局所増殖細胞の比率はアレルギー性皮膚炎のそれに近い値であったと述べ、さらに酵素組織化学的検索で局所増殖細胞はリンパ芽球と同定している。また、Walker^{96,97)}は細胞膜の表面リセプターを利用した免疫学的手段で検討して、これら浸潤細胞は T 細胞が主体で、少数のマクロファージおよび B 細胞を含むと結論し、T 細胞が移植拒絶反応に密接に関連していることから、扁平苔癬の病因に細胞性免疫反応の関与を示唆している。実際に骨髓移植後に扁平苔癬の発症をみたという興味ある症例報告もある⁹⁸⁾。

このような浸潤細胞からの検討とは別に、上皮および基底膜の変化から病因を検討する試みもみられる。扁平苔癬における上皮層の主要な変化としては基底細胞層から角質層への移行が正常よりも急速であること、および基底細胞層を中心とした水腫性的変化がみられること、などであるが、Waisman⁹⁹⁾は基底膜に Ig G の沈着を認め、Baart¹⁰⁰⁾も基底膜および水腫性の部分に Ig G, Ig

M, Ig A, 各補体成分およびフィブリンの沈着を認めて、扁平苔癬の初期にはこれらが重要な役割を持つであろうと推測している。また、Stingl¹⁰¹⁾は基底膜にはフィブリンとフィブリノーゲンの沈着、水腫性の部分には Ig G および補体 C 3 が局在する所見を得て、血中の抗基底膜抗体の存在を推論している。扁平苔癬患者の血清免疫グロブリン量に関しては、Lehner¹⁰²⁾は Ig G の低下と Ig A の若干の上昇を報告しているが、折橋¹⁰³⁾および Griffith¹⁰⁴⁾の測定結果はこれに否定的であり、折橋は Ig M のわずかな上昇を、また大野¹⁰⁵⁾は Ig D の低下と Ig E の上昇の傾向を報告している。

以上のように近年は細胞性免疫および液性免疫の両面から扁平苔癬が検討されており、扁平苔癬と免疫反応とのなんらかの関連が示唆されている。著者が行った数種類の金属を抗原の一部とした MIT の結果でも、部分的に若干の関与を疑わせる所見が得られているので、さらに検討を加えて局所的因子を追求するとともに、非特異的 mitogen によるリンパ球幼若化反応など全身的免疫反応からの検討が必要であると思われる。

V. 結 論

歯科用金属の口腔粘膜におよぼす影響を検討する目的で、口腔扁平苔癬の患者と健康人に対し 16 種類の歯科用金属系列を用いて貼付試験を行い、陽性率が比較的高かった Cu と、金属アレルギーに関して報告の多い Co および Ni について全血中の濃度を定量した。また、扁平苔癬の病因に免疫反応が介在する可能性を考慮して Cu, Co, Ni, Sn, Cr⁶⁺ および OMA を抗原とした MIT を行った。得られた結果は以下のようであった。

1. 貼付試験

a) 健康人群中で陽性率の高かったのは Cu の 22.2%, Sn および Co の 11.1% であった。

b) 患者群で陽性率の高かったのは Sn の 35.6%, Cu の 30.5% および Pt の 28.8% であり、次いで Zn の 18.6% および Co の 15.3% であった。Sn と Zn の陽性率には健康人群と推計学的有意差が

認められた。

2. 全血中の重金属の定量

a) Cu の平均値 および 標準偏差は健康人群が 0.95 ± 0.18 ppm, 患者群が 0.88 ± 0.14 ppm であり, 両群間に有意差はなかった。

b) Co は健康人群が 13.17 ± 4.94 ppb, 患者群が 11.02 ± 5.03 ppb であり, 両群間に有意差はなかった。

c) Ni は健康人群が 4.12 ± 2.06 ppb, 患者群が 3.28 ± 1.66 ppb であり, 両群間に有意差はなかった。

3. MIT

a) OMA 単独抗原での反応は, 遊走阻止率および MI 平均値とも両群間にほとんど差はみられなかった。

b) Cu+OMA 抗原での反応は, 遊走阻止率および MI 平均値で患者群に若干強い反応がみられたが, 有意差はなかった。

c) Co+OMA 抗原での反応は, 遊走阻止率は健康人群36%, 患者群60%であった。MI 平均値でも患者群に若干強い反応を示す傾向がみられた。しかし, 有意差は認められなかった。

d) Ni+OMA 抗原での反応は, 遊走阻止率は健康人群36%, 患者群60%であった。MI 平均値でも患者群に若干強い反応を示す傾向がみられたが, c) に比べると全体的に反応は弱く, 実質的に両群間にはほとんど差はないと考えられた。

e) Sn+OMA 抗原での反応は, 遊走阻止率および MI 平均値とも両群間にほとんど差はみられなかった。しかし, 全体的に遊走阻止の傾向がみられ, これは Sn が非特異的 mitogen としてか, あるいは細胞毒的に作用することを窺わせた。

f) Cr^{6+} +OMA 抗原での反応は, 遊走阻止率は健康人群57%, 患者群80%であった。しかし, MI 平均値では両群間にほとんど差は認められなかった。

以上のように推計学的検定では有意差はみられなかったが, 部分的に患者群に強い反応がみられたことは, 扁平苔癬の成因の一部に金属に対する細胞性免疫反応が存在する可能性を呈示するもの

のように考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり, 終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜った伊藤秀夫教授, ならびにご校閲を賜った本学第一口腔外科学教室塩田重利教授, 本学歯科薬理学教室小椋秀亮教授に深甚なる感謝の意を表します。また原子吸光分光分析器の利用について便宜をお計らいいただきました本学第一保存学教室総山孝雄教授に感謝の意を表します。さらに本研究に対し, 終始ご懇切なご教示を下された昭和大学第2口腔外科南雲正男助教授に心からの謝意を表します。またご援助をいただいた第2口腔外科教室員各位に感謝いたします。

なお, 本論文の要旨の一部は, 昭和51年5月第30回日本口腔科学会総会ならびに昭和52年10月第22回日本口腔外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Wilson, E.: On leichen planus. J. Cutan. Med. Diseases Skin, 3: 117, 1869. 文献57) より引用。
- 2) Herrman, D.: Lichen ruber planus der Munds chleimhaut; Untersuchung uber Klink Histologie und Therapie an 60 Fallen. Deut. Zahnärztliche Z., 18: 346-363, 1963.
- 3) Shklar, G. & McCarthy, P. L.: The oral lesions of lichen planus OS. OM. OP., 14: 164-181, 1964.
- 4) Andreasen, J. O.: Oral lichen planus. OS. OM. OP., 25: 31-42, 1968.
- 5) Silverman, S. & Griffith, M.: Studies on oral lichen planus. OS. OM. OP., 37: 705-710, 1974.
- 6) McClatchey, K. D.: Studies on oral lichen planus. OS. OM. OP., 39: 122-129, 1975.
- 7) 橋本和明: 口腔粘膜の扁平苔癬に関する研究. 口科誌, 18: 660-685, 1969.
- 8) 池村邦男: 口腔粘膜の扁平苔癬に関する臨床的ならびに病理学的研究. 口科誌, 21: 555-574, 1972.
- 9) 丸茂町子: 口腔粘膜扁平苔癬の研究; 特に卵胞ホルモン治療について. 口外誌, 23: 97-120, 1977.
- 10) 齊藤文雄: 扁平苔癬の治療. 皮膚臨床, 3: 808-820, 1961.
- 11) 安田利顕: 紅色苔癬の治療と経過について. 皮膚臨床, 3: 821-824, 1961.
- 12) Altman, J. & Perry, H. O.: The variation and course of lichen planus. Arch. Derm., 84: 179-191, 1961.

- 13) Knudsen, E. A.: Lichen planus-like eruption caused by colour developer. Arch. Derm., 89: 357-359, 1964.
- 14) 齊藤忠雄: カラーフィルム現像者にみられた扁平紅色苔癬. 皮膚臨床, 6: 766-769, 1964.
- 15) 佐藤和三, 岡本竹春: カラーフィルム現像液による扁平苔癬. 皮膚臨床, 10: 316-322, 1968.
- 16) Staak, V. D., et al.: Lichenoid eruption after penicillamine. Dermatol., 150: 372-374, 1975.
- 17) Bazemore, J., et al.: Relation of Quinacrine hydrochloride to lichenoid dermatitis. Arch. Dermatol. Syphilol., 54: 308-324, 1946.
- 18) 小嶋理一, 他: 降圧用剤性薬疹; 特に扁平苔癬様型について. 皮膚臨床, 18: 1017-1025, 1976.
- 19) Frykholm, K. O., et al.: Allergy to copper derived from dental alloys as a possible cause of oral lesions of lichen planus. Acta. Derm. Venereol., 49: 268-281, 1969.
- 20) 中山秀夫, 他: 歯科金属のアレルギーによると思われる扁平苔癬の2例について. 耳喉, 44: 239-247, 1972.
- 21) 川村太郎, 他: 貼付反応; 応用面の検討. アレルギー, 15: 557-560, 1966.
- 22) 谷奥喜平, 山田佳也: 陽性貼付試験の判定法. 皮膚臨床, 4: 611-615, 1962.
- 23) 蟹沢成好: 必須微量金属の現況. 代謝, 12: 45-54, 1975.
- 24) 菅野三郎: 重金属(原子吸光度法). 日本臨床, 31: 1955-1965, 1973.
- 25) 長谷川敬彦, 保田和雄: 原子吸光分析. 東京, 1975, 講談社, 212-215ページ
- 26) 赤岩英夫: 抽出分離分析法. 東京, 1973, 講談社, 46-48ページ.
- 27) 後藤秀弘: メチルイソブチルケトン抽出による金属の分析. 化学と工業, 18: 1167-1172, 1962.
- 28) Everson, G. J. & Parker, H. E.: Effect of hydrogen ion concentration on the determination of lead by solvent extraction and atomic absorption spectrophotometry. Anal. Chem., 46: 1966-1970, 1974.
- 29) 原 利通: 再発性アフタに関する免疫学的研究; 慢性再発性アフタおよび Behçet 病における末梢血リンパ球幼若化現象について. 口病誌, 43: 394-409, 1976.
- 30) 副島正美: 蛋白質の定量法. 東京, 1971. 東京大学出版会, 104ページ.
- 31) Böyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 21 Suppl. 97: 77-89, 1968.
- 32) 木下喜博: リンパ球の分離法. 臨床病理, 特集号25号: 103-125, 1976.
- 33) Clausen, J. E.: Migration inhibitory effect of cell free supernatants from tuberculin-stimulated culture of human mononuclear leukocytes demonstrated by two-step MIF agarose assay. J. Immunol., 110: 546-551, 1973.
- 34) Harrington, J. T. & Stastny, P.: Macrophage migration from an agarose droplet development of a micromethod for assay of delayed hypersensitivity. J. Immunol., 110: 752-759, 1973.
- 35) 吉田 彪: Migration Inhibition Test (追加). 日本免疫学会編, 免疫実験操作法. 金沢, 1972, 481-483ページ.
- 36) Jacob, F. M. & Helmbold, T. R.: Bactriologic studies on lichen planus. Arch. Dermatol. Syphilol., 27: 472-480, 1933.
- 37) Bloom, D.: Lichen planus of the mucous membrane in two sisters. Arch. Derm. Syphil., 44: 294, 1941.
- 38) Ormea, F.: Lichen Ruber Planus Studien; Zur Histologie und Histogenese der Planus-Papel. Arch. Klin. Exp. Derm., 196: 88-109, 1953.
- 39) Tompkins, J. K.: Lichen planus; A statistical study of forty-one cases. Arch. Derm. A. M. A., 71: 515-519, 1975.
- 40) Hammer, H.: Studies on the energy metabolism in lichen planus. Br. J. Derm., 93: 667-673, 1975.
- 41) Heyden, H., et al.: Histochemical studies on lichen planus. OS. OM. OP., 37: 239-248, 1974.
- 42) Cotton, D. W. K., et al.: Lichen planus; An inborn error of metabolism. Br. J. Derm., 87: 329-341, 1974.
- 43) 池村邦男, 他: 皮膚貼付試験による口腔粘膜の扁平苔癬の検討. 口科誌, 23: 698-704, 1974.
- 44) 中山秀夫, 他: 金属アレルギーの観点から検討した掌蹠膿疱症. 皮膚臨床, 16: 313-329, 1974.
- 45) Schriver, W. R., et al.: Allergic response to stainless steel wire. OS. OM. OP., 42: 578-581, 1976.
- 46) Levantine, A. V.: Sensitivity to metal dental plate. Proc. Roy. Soc. Med., 67: 1007, 1974.
- 47) Elgart, M. L. & Higdon, R. S.: Allergic contact dermatitis to gold. Arch. Derm., 103: 649-653, 1971.
- 48) Gaul, L. E.: Immunity of the oral mucosa in epidermal sensitization to mercury. Arch. Derm., 93: 45-46, 1966.
- 49) Thomson, J. & Russell, J. A.: Dermatitis due to mercury following amalgam dental restorations. Br. J. Derm., 82: 292-297, 1970.
- 50) Wood, J. F. L.: Mucosal reaction to cobalt-chromium alloy. Brit. Dent. J., 136: 423-424,

- 1971.
- 51) 金竹哲也：歯科用金属の腐蝕に関する実験的研究；主として唾液及び食品中における変化について。歯科学報，58：289-294，1958.
- 52) 和久本貞雄：歯科鑄造修復用金属の口腔内減量について。日保歯誌，16：412-413，1973.
- 53) Smith, J. D. & Odom, R. B.: Contact urticaria from cobalt chloride. Arch. Derm., 111: 1610-1611, 1975.
- 54) 宮沢慎二：アレルギー性皮膚病変の組織学的研究；第3編ニッケル・コバルト皮膚炎の組織化学的研究動物実験編。皮膚性病誌，65：547-556，1955.
- 55) 原田昭太郎：クロム，コバルト及びニッケル皮膚炎の研究，日皮会誌，83：79-100，1973.
- 56) 仲井 厚：皮膚アレルギーと口腔粘膜アレルギーの関係の研究。日皮会誌，70：871-881，1960.
- 57) McCarthy, P. L. & Shklar, G.: Diseases of the Oral Mucosa. New York, 1964, McGraw-hill, pp. 155-159.
- 58) Underwood, E. J.: Trace element in animals. Lamb, C. C. (ed), Trace Elements. New York, 1958, Academic press. 文献 59)より引用.
- 59) 蟹沢成好：微量元素について。食衛誌，12：423-434，1971.
- 60) Schroeder, H. A.: The biological trace elements or peripatetics through the periodic table. J. Chron. Dis., 18: 217-228, 1965.
- 61) 沖中重雄：内科書。東京，京都，1971，南山堂，796-797ページ.
- 62) 野崎光洋：金属酵素研究の進歩。代謝，12：229-235，1975.
- 63) 宮本洋寿，他：癌患者血中微量金属 (Zn, Cu) と PHA, PWM などによる in vitro リンパ球幼若化反応。第35回日本癌学会総会記事，63ページ，1976.
- 64) 西山茂夫，他：Behçet病と微量金属。西日皮膚，37：7-14，1975.
- 65) 大道正義，他：塩化コバルト静注に伴う triglyceridemia に於ける血漿インスリン，血漿 FFA 及び肝の α -glycero phosphate の役割について。日衛誌，30：64，1975.
- 66) D'Alonzo, C. A., et al.: A study of trace metals in myocardial infraction. Arch. Environm. Hlth., 6: 381-385, 1963.
- 67) Nielsen, F. H.: Newer Trace Elements in Nutrition. New York & London, 1971, Marcel Dekker Inc., pp. 215-216.
- 68) Christain, G. D. & Feldman, F. J.: Atomic Absorption Spectroscopy Applications in Agriculture Biology and Medicine. New York & London, 1968, Wiley-Interscience, pp. 331-338.
- 69) 金井 泉，金井正光：臨庄検査法提要。東京，京都，1970，金原出版，正常値一覧表（別冊）3ページ.
- 70) 石沢正一，他：農村住民 (35才〜64才) の血清銅と血清亜鉛。日衛誌，30：67，1975.
- 71) Thiers, R. E., Williams, J. F. & Yoe, J. H.: Anal. Chem., 27: 1725, 1955. 文献 68)より引用.
- 72) Versieck, J., et al.: Serum cobalt. Lancet, 82: 1403, 1976.
- 73) Hanskins, J., et al.: Whole blood trace element concentrations during total parenteral nutrition. Surgery, 79: 674-677, 1976.
- 74) Schaller, K. H., et al.: Nickels als Spurenelement in menschlichen Blut. Blut, 17: 155-160, 1968.
- 75) 野本昭三：生体内ニッケルの測定とその病態生化学的研究；第一編原子吸光分析法によるニッケル定量法の検討とヒト血清中ニッケルの正常値について。信州医誌，22：25-37，1974.
- 76) George, M. & Vaughan, J. H.: In vitro cell migration as model for delayed hypersensitivity. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 111: 514-521, 1962.
- 77) David, J. R., Lawrence, H. S. & Thomas, L.: Delayed hypersensitivity in vitro. J. Immunol., 93: 264-282, 1964.
- 78) 夏梅俊之助：アガロース滴を用いるマクロファージ遊走阻止試験間接法。日本免疫学会，免疫実験操作法編，金沢，1973，709-714ページ.
- 79) 宮川幸昭，他：MIF 微量測定法。臨床免疫，7：543-550，1975.
- 80) 大城晶子，中山秀夫：Macrophage migration inhibition 現象の皮膚科領域応用への試み。臨床皮膚，27：609-614，1973.
- 81) Macleud, T. M., Hutchinson, F. & Raffle, E. J.: The leukocyte migration inhibition test in allergic nickel contact dermatitis. Br. J. Derm., 94: 63-64, 1976.
- 82) Mirza, A. M., et al.: Leukocyte migration inhibition in nickel dermatitis. Fed. Proc., 33: 728, 1974.
- 83) Thulin, A. M. & Zachariae, H.: The leukocyte migration test in chromium hypersensitivity. J. Invest. Derm., 58: 55-58, 1972.
- 84) Tio, D.: A study on clinical application of a direct leukocyte migration test in chromium contact allergy. Br. J. Derm., 94: 65-69, 1976.
- 85) 石沢正一，他：培養細胞に対する重金属の毒性。日衛誌，26：33，1971.
- 86) 川原春幸，他：金属と組織培養，通信医学，9：738-743，1957.
- 87) 矢田純一：Tリンパ球とBリンパ球。東京，1976，中外医学社，94-97ページ.

- 88) Yoshida, T., Sonozaki, H. & Cohen, S.: The production of migration inhibition factor by B and T cells of the guinea pig. *J. Exp. Med.*, 138: 784-797, 1973.
- 89) Weisbart, R. H., et al.: Migration enhancement factor; A new lymphokine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 71: 875-875, 1974.
- 90) Lehner, T.: Stimulation of lymphocyte transformation by tissue homogenates in recurrent oral ulceration. *Immunol.*, 13: 159-166, 1967.
- 91) Barnett, M. L.: The nonkeratinocyte interepithelial cell population in lichen planus. *OS. OM. OP.*, 41: 328-335, 1976.
- 92) Berger, H., Hundeiker, M. & Engerhardt, A. W.: Über das Infiltrat im Lichen ruber Herd. *Arch. Klin. Exp. Derm.*, 235: 394-399, 1969.
- 93) Ellis, F. A.: Histopathology of lichen planus. *J. Invest. Derm.*, 48: 143-148, 1967.
- 94) Lachapelle, J. M.: Comparative study of H-Thymidine labelling of skin allergic and irritant patch test reaction in man. *Br. J. Derm.*, 87: 460-465, 1972.
- 95) Lachapelle, J. M. & Brassinne, M. D. L.: The proliferation of cells in the dermal infiltrate in lichen planus lesions. *Br. J. Derm.*, 89: 137-141, 1976.
- 96) Walker, D. M.: Identification of subpopulations of lymphocytes and macrophages in the infiltrate of lichen planus lesions of skin and oral mucosa. *Br. J. Derm.*, 94: 529-534, 1976.
- 97) Walker, D. M.: The inflammatory infiltrate in lichen planus lesions. *J. Oral Path.*, 5: 277-286, 1976.
- 98) Saurat, J. H., et al.: The lichen planus-like eruption after bone marrow transplantation. *Br. J. Derm.*, 93: 675-681, 1975.
- 99) Waisman, M., et al.: Immunofluorescent studies in lichen nitidus. *Arch. Derm.*, 107: 200-203, 1973.
- 100) Baart, E. H. & Baart, H.: An immunofluorescent study of lichen planus. *Br. J. Derm.*, 90: 365-371, 1974.
- 101) Stingl, G. & Hobubar, K.: Coexistence of lichen planus and bullous pemphigoid. *Br. J. Derm.*, 93: 313-320, 1975.
- 102) Lehner, T.: Immunoglobulin estimation of blood and saliva in human recurrent oral ulceration. *Arch. Oral Biol.*, 14: 351-364, 1969.
- 103) 折橋 健: 再発性アフタにおける血清免疫グロブリンに関する研究. *口病誌*, 39: 303-322, 1972.
- 104) Griffith, M., Kaufman, H. S. & Schverman, S.: Studies on oral lichen planus. I. Serum immunoglobulin and complement. *J. Dent. Res.*, 53: 623-626, 1974.
- 105) 大野邦博: 再発性アフタにおける免疫学的研究; 慢性再発性アフタと Behçet 病における血清 Ig D および Ig E について. *口病誌*, 43: 410-427, 1976.