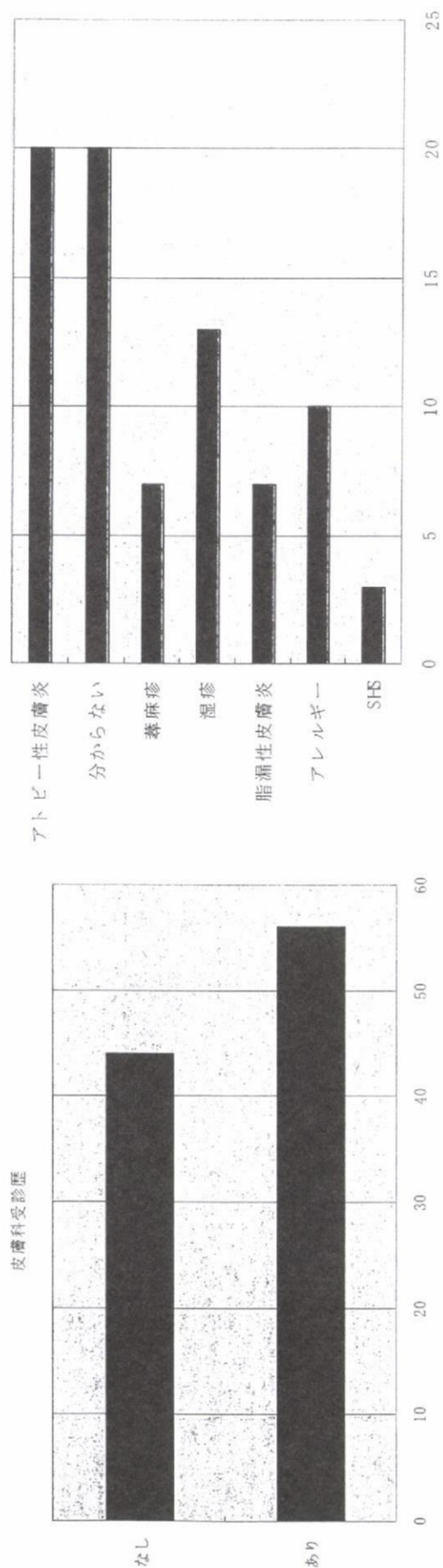
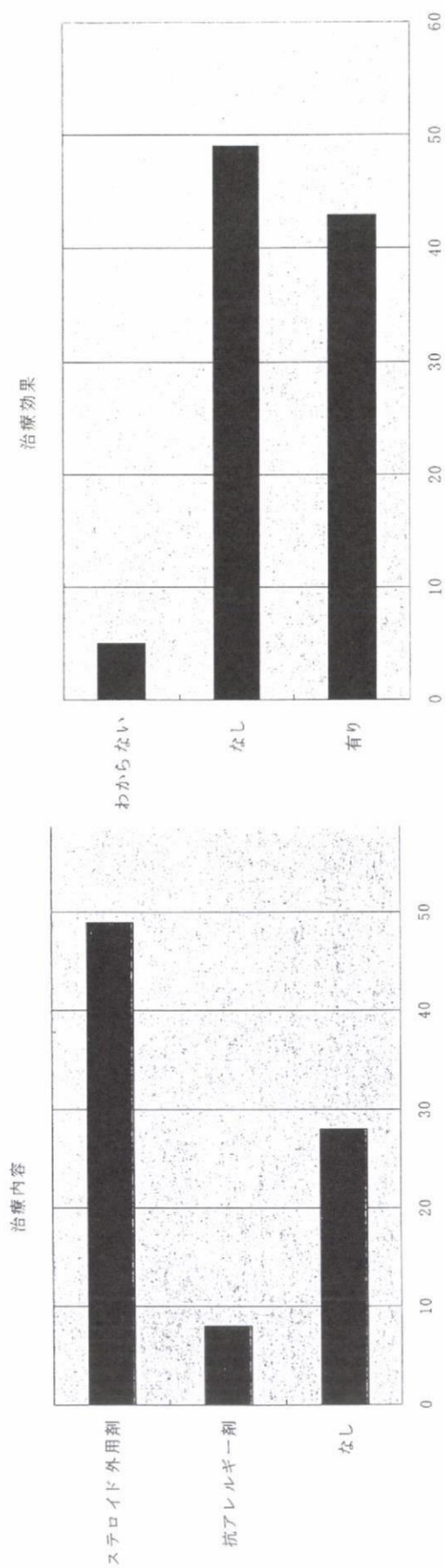


# 図9：皮膚科受診の有無、受診時の診断



# 図10: 治療内容、治療効果



## シックハウス症候群の診断・治療法及び具体的方策に関する研究

研究分担者 内尾英一 (福岡大学医学部教授)

### 研究要旨

シックハウス症候群(SHS)において、眼症状は観察、評価が比較的容易にできる所見である。今回はまず、ラット及びモルモット動物モデルを用いて、全身曝露下で眼症状の出現するホルムアルデヒド閾値濃度や前感作の症状発現との関連、臨床症状の特徴、予防点眼の時期、至適回数などを解析した。ラットはホルムアルデヒド 0.16ppm 以上の曝露により明らかな眼引っ掻き行動数の増加が見られた。ブランクプロフェン点眼による予防作用は見られなかった。モルモットでは、眼引っ掻き行動は、0.64ppm 以上で著しい増加が見られ、結膜充血、流涙などの眼局所所見はほぼ濃度依存性に増加していた。デキサメタゾン点眼薬は結膜充血、流涙を 0.64ppm 以上の濃度で有意に抑制させた。これらの結果により、SHS の重要な原因物質とされるホルムアルデヒドによる、眼症状の実験モデルがより詳細に再現された。また、臨床例についても、その病態のアレルギー性炎症パラメータの中から、涙液 IgE および ECP(eosinophil cationic protein)濃度を検討した。対象として SHS 症例で、13 例と通年性アレルギー性結膜炎(PAC)16 例とした。涙液総 IgE 定性検査は免疫クロマトグラフィー法(アレルウォッチ®涙液 IgE(日立化成))、涙液 ECP 値は濾紙採取した涙液から、AlaSTAT microplate ECP キット(Diagnostic Products Corporation, USA)で測定した。発症早期の臨床重症度は SHS, PAC 間に差はなかったが、経過後の軽症化は SHS が早かった。涙液総 IgE 陽性率は SHS が PAC より有意に低かった。涙液 ECP 濃度は、day7 および day14 において、SHS が PAC より有意に低値であった。

SHS の重要な原因物質とされるホルムアルデヒドによる、眼症状の実験モデルがより詳細に再現された。曝露時間など今後の検討の余地はあるが、ラット、モルモット実験モデルは SHS 眼症状を解析する上で有用なモデルであると考えられた。また、涙液総 IgE と涙液 ECP については、これまでの研究と同様に、SHS はアレルギー性眼疾患とは異なる病態に基づくことが示唆され、症状発現時に全身アレルギー性パラメータの変動も少ないことが示された。

### A. 研究目的

眼症状はシックハウス症候群(SHS)の粘膜刺激症状の代表的なもののひとつであり、われわれは今まで、SHS の眼病変は臨床的には軽度のアレルギー性病変の特徴を有し、アレルギー性結膜疾患(ACD)と比較して、結膜病変は軽度で、角膜病変が強い傾向があること、小児例は成人例より重症な傾向が見られること、涙液サイトカインでは IL-4 の有意な上昇が見られたこと、結膜炎症細胞では、マスト細胞、好酸球、好中球が正常より有意に増加があったこと、局所ケモカインおよび細胞外マトリックスについて、涙液ケモカイン Eotaxin-1 および-2 濃度の有意な上昇が見られ、特に Eotaxin-1 は ACD よりも高い傾向が見られたことなどを報告した。その一方で、末梢血における Th1/Th2 比は正常と変化が見られず、結膜 CD4 陽性細胞は Th1, Th2 のいずれも ACD より有意に少なく、涙液 MMP-1 および-9, TIMP, 活性化 MMP-1

および-9 濃度の上昇が見られないことも報告した。これらから、SHS の眼病変はアレルギー性炎症としての側面を有するものの、典型的な眼アレルギー疾患とは臨床的、アレルギー学的に異なる面があり、病態形成において、アレルギー性炎症単独で説明できるものではないと考えられた。しかし、そのメカニズムには不明な点が多かった。

これまで SHS 眼合併症の動物を用いた臨床的な解析は十分に行われていなかった。動物において、流涙、眼引っ掻き行動などは外形的にも観察、評価が容易にできる所見である。そこで、ラットは小動物であるが、ある程度の臨床所見や行動を観察することが可能であるため、まずラットにおいて眼症状の出現する揮発性有機化合物(VOCs)の中からホルムアルデヒドの閾値濃度や予防点眼の時期などをラットを用いた実験モデルによって解析した。さらに、より詳細な眼病変が臨床的に観察可能なモルモットを用いて、眼症状の出現するホルムアルデヒド



閾値濃度や前感作の症状発現との関連、臨床症状の特徴、予防点眼の時期、至適回数など眼科的な SHS の病態を解析した。一方、臨床的には、SHS 眼合併症例の涙液総 IgE を解析し、同時に SHS 眼合併症例の涙液 eosinophil cationic protein(ECP)濃度を測定して、疾患対照の通年性アレルギー性結膜炎(PAC)と比較した。これらのパラメータを臨床所見、臨床経過と比較対象して、SHSの眼合併症例における病態生理を解明することを目的として研究を行った。

## B. 研究方法

(ラット実験モデル)

### 1. 対象及び方法

動物は Lewis rat 雄で 8~9 週齢のものを用いた。合計 78 匹であった。揮発性有機化合物としては、ホルムアルデヒドを濃度 0~6.4ppm で使用した。曝露実験用装置は全身曝露方式有機溶剤曝露 chamber (SIS-G 型、柴田科学)を使用した。前感作は、完全フロイントアジュバント (CFA; *Mycobacterium tuberculosis* 2.5mg/ml 含有)をラット hind footpad に皮下注射することによって実施した。ホルムアルデヒド曝露 15 日前に前感作をした。陽性対照として、ヒスタミン点眼を行ったが、ヒスタミン二塩酸塩 (Sigma)を生理食塩水希釈し、10 $\mu$ mol/5ml に調製した。また、予防点眼治療には、プラノプロフェン(ニフラン®)点眼薬を用い、4 回/日点眼した。観察項目は眼引っかけ行動数(/分)であり、ケージ外から観察して行った。以下に、上記の共通条件をもとにした各実験の方法を述べる。

### 2. 実験 1

ホルマリン濃度を、0, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.48, 0.64, 0.8ppm と変化させ、各群 6 匹ずつとした。前感作の有無で CFA(+群, CFA(-)群)に分け、さらに Control 群はホルムアルデヒド吸引なしである。同時に、陽性対照実験として、ヒスタミン点眼のみを行った。

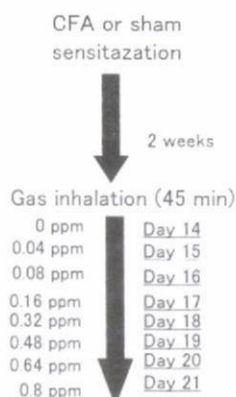


図 1. 実験 1 の投与スケジュール

実験 1 の前感作から実際の吸入スケジュールを図 1 に示した。動物は Day 14 から、1 日ずつ濃度を上げたホルムアルデヒドを 1 日 1 回、45 分吸引することを最大濃度 0.8ppm の Day 21 まで行っていった。陽性対照群では CFA もガス吸引もなく、点眼のみであった。

### 3. 実験 2

実験 2 では、高濃度のホルムアルデヒド吸引を Day 13 に 5 分間だけ行った。濃度は 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 ppm の各濃度で、各群 6 匹ずつで観察した。Day 14 以降の 45 分間のホルムアルデヒド吸引は実験 1 と同様に行った。

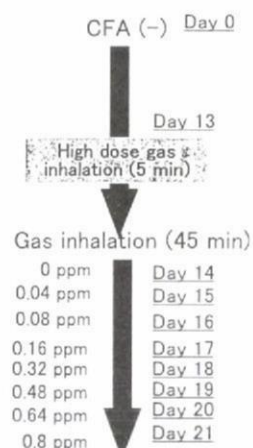


図 2. 実験 2 の投与スケジュール

### 4. 実験 3

実験方法は実験 1 で、CFA なしのものであるが、予防的に非ステロイド系抗炎症薬点眼治療が有効かどうかを調べるために、プラノプロフェン点眼薬を 4 日間 (Day 11-14), 7 日間 (Day 8-14), 14 日間 (Day 1-14) の 3 群 (各群 n=6) に分けて、それぞれ 1 日 4 回点眼しながら、ホルムアルデヒドを吸引させて眼引っかけ行動を観察した。投与スケジュールを図 3 に示す。

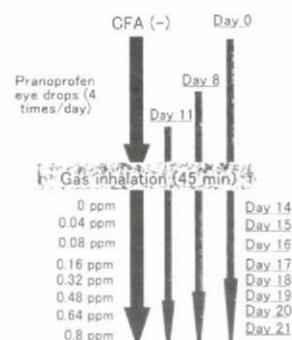


図 3. 実験 3 の投与スケジュール

(モルモット実験モデル)

### 1. 対象および方法

動物はモルモット(Slc:Hartley)雄性, 感作時 5~6 週齢のものを用いた。揮発性有機化合物としては, ホルムアルデヒドを 0~1.28ppm の範囲でチャンバー内で変化させた。曝露実験用装置には, 有機溶剤曝露チャンバー (ステンレス・ガラス製全身暴露用吸入チャンバー(トキワ科学器械株))を使用した。

前感作は卵白アルブミン(OVA)25mg に水酸化アルミニウム 100mg を加えた溶液を腹腔内注射した。予防点眼治療としては, プラノプロフェン(ニフラン®)点眼薬を 1 日 4 回ないしデキサメタゾン(オルガドロン 0.1%®)点眼薬を 1 日 4 回行った。観察項目は眼引っ掻き行動数(/分), 結膜充血および流涙で行った。

気体曝露方法は, 吸入チャンバーへの空気供給量は 320 L/分(換気回数約 13 回/時)で, 空気またはガス化したホルムアルデヒドを全換気方式で暴露させ, 各設定濃度に達した後, 一定濃度を 30 分間維持した。チャンバー排気中ガス濃度を炭化水素計 (HCM-1B, 株式会社島津製作所)で連続測定した。気体曝露は前感作後 14 日に行った。動物は 3 群とし, 1 群は OVA 感作+空気曝露, 2 群は OVA 感作+ホルムアルデヒド曝露, 3 群は OVA 非感作+ホルムアルデヒド曝露とした。

臨床所見の観察に関しては, 眼引っ掻き行動数を計測するとともに, 結膜充血と流涙について, 表 1 に示す方法で記録した。

表 1. 臨床所見の重症度グレーディング法

結膜充血
なし(0)
軽度(1) 眼球結膜の 1/3 までの血管拡張
中等度(2) 1/3 から 2/3 までの血管拡張
重度(3) 2/3 以上の範囲の血管拡張
流涙
なし(0)
軽度(1) 涙液が眼瞼の 1/2 以下の範囲に付着
中等度(2) 眼瞼の 1/2 以上付着するが不連続
重度(3) 連続的に流出

予防点眼治療時は前述の第 2 群(OVA 感作/ホルムアルデヒド曝露)に投与し, 臨床観察項目は前述と同様に行った。

(臨床症例に関する研究)

### 1. 対象および方法

対象は, SHS13 例(男:女=2:11)で, 相澤斑, 秋山斑診断基準により診断されたもので, 眼症状を有する症例である。平均年齢±SD=47.8±11.2 歳で, SHS 症状出現場所の内訳は, 自宅が 9 例, 職場が 4 例であった。またアレルギー性結膜疾患は, PAC16 例(男:女=7:9)で, 平均年齢±SD=48.5±13.5 歳であり, 両群間に年齢差はなかった。涙液総 IgE 定性検査は「アレルウォッチ®涙液 IgE」(日立化成)を用いた。これは免疫クロマトグラフィー法で, 涙液を採取した濾紙上で IgE の存在を判定するものである。検査時間は約 12 分を要する。結果は陽性と陰性と判断された。涙液 ECP 値の測定には, 涙液分泌検査用の Shirmer 試験紙に涙液を採取し, ディープフリーザー内で凍結保存をした。解凍後, 0.5M NaCl+0.1% Tween20 添加 PBS で抽出し, ECP 溶出液とした。AlaSTAT microplate ECP キット(Diagnostic Products Corporation, USA)で測定した。これは ELISA 法の定量検査であり, 測定範囲は 3.3~180µg/L であった。

評価方法としては, 既報に準じて, 臨床重症度評価を行い, 上述の涙液総 IgE 検査, 涙液採取(ECP 用)さらに血液採取を, 無症状時, 発症直後(当日ないし 1 日後), 発症 3~4 日後, 発症 7 日後および発症 14 日後に実施した。

## C. 結果

(ラット実験モデル)

ホルムアルデヒド吸引下のラットは, 0.04ppm 以下では, 眼引っかき行動はほとんど観察されなかった。0.16ppm 以上の曝露により明らかな眼引っ掻き行動数の増加が見られるようになった。非吸入群 (0ppm)と比較すると, 0.08ppm 以上との間に, 有意差が見られた(vs 0.08ppm で  $p<0.05$ , vs 0.16ppm 以上との間に  $p<0.01$ )。CFA 投与群と非投与群との間には眼引っかき行動数の差はなく, CFA 前感作はホルムアルデヒド誘発眼刺激反応に影響を与えなかった。ヒスタミン点眼による眼引っかき行動は平均 62 回/分と多く, ホルムアルデヒド誘発眼引っ掻き行動よりも有意に多く, ホルムアルデヒドによる誘発反応はヒスタミン点眼誘発よりも少なかった。



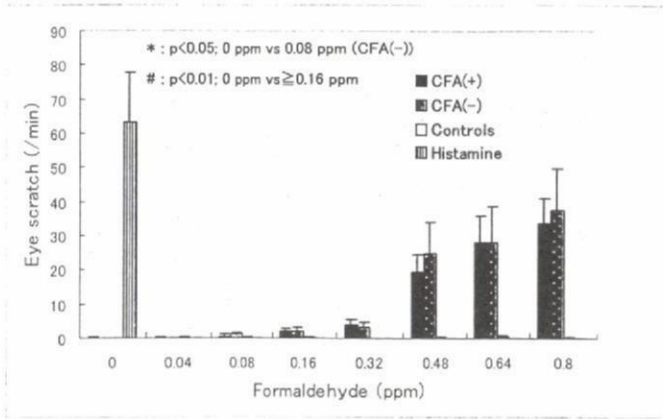


図 4. 前感作の有無およびホルムアルデヒド濃度と眼引っかき行動(実験 1)

ホルムアルデヒド 1.6ppm および 3.2ppm の高濃度短時間前曝露により、0.32ppm 以上の曝露の際に有意な眼引っかき行動数の増加が見られた。

8ppm 以下の濃度の前曝露では、非曝露の場合との間に眼引っかき行動数の増加は認めなかった。また 6.4ppm の最大濃度の前曝露では、3.2ppm よりも、眼引っかき行動数は減少する傾向が見られた。

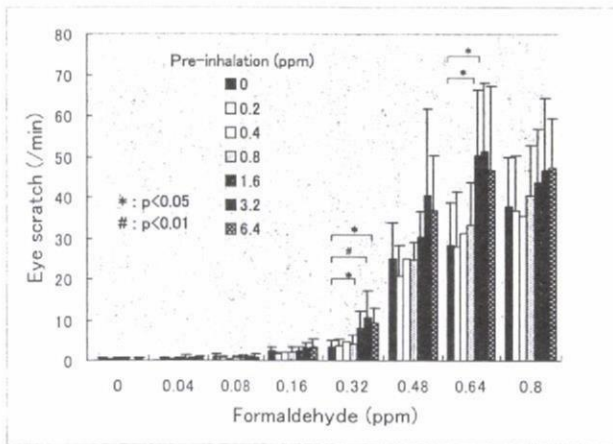


図 5 ホルムアルデヒド高濃度前曝露の有無と眼引っかき行動

ガス吸入前からの予防と吸入期間中の治療目的でプラノプロフェン点眼治療を行って、眼引っかき行動が、減少するかどうかを観察したが、治療期間 4, 7 および 14 日間点眼のいずれの群も眼引っかき行動の減少は見られなかった(図 6)。

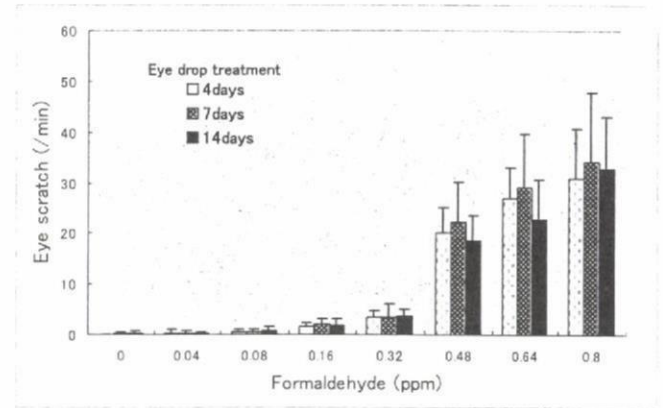


図 6. プラノプロフェン予防点眼治療による効果

(モルモット実験モデル)

### 1. ホルムアルデヒド濃度と眼引っかき行動数

ホルムアルデヒド吸引下のモルモットは、0.16ppm 以上から徐々に眼引っかき行動が見られるようになったが、著しく増加を見たのは、0.64ppm 以上であり、0.32ppm と 0.64ppm の間には大きな差が見られた。OVA 前感作あり群が眼引っかき行動は、OVA 前感作なし群よりも多かったが、両群間に有意差はなかった(図 7)。

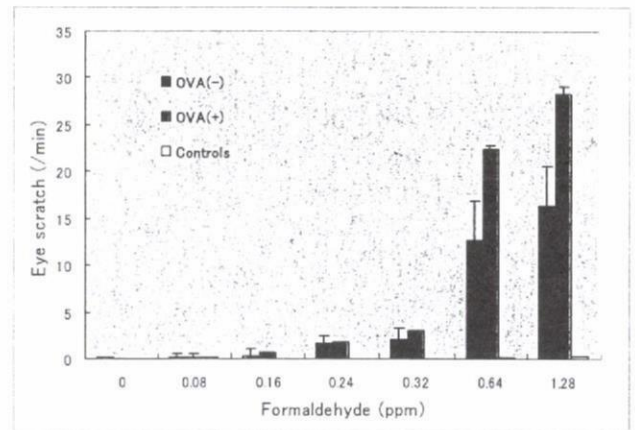
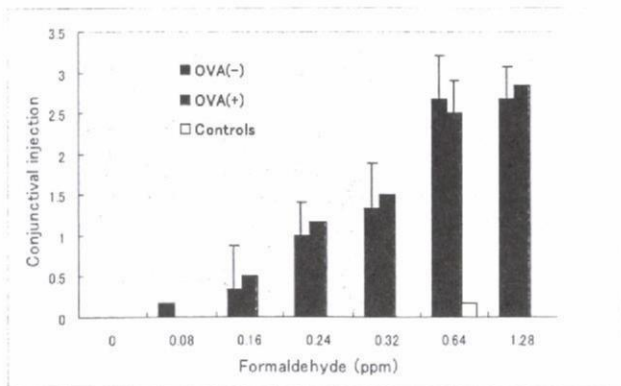


図 7. ホルムアルデヒド濃度と眼引っかき行動数

### 2. ホルムアルデヒド濃度と結膜充血

ホルムアルデヒド濃度 0.08ppm から結膜充血は見られるようになり、眼引っかき行動数よりはその閾値が低いようであった。全体としてはほぼ濃度依存性に、結膜充血の程度は増加していた。0.64ppm 以上の範囲ではそれ以上の増加傾向は見られなかった。また前感作との関係では、眼引っかき行動数と異なり、前感作の有無では全く差は見られなかった。



0 図 8. ホルムアルデヒド濃度と結膜充血

### 3. ホルムアルデヒド濃度と流涙

流涙も結膜充血とほぼ同様の傾向を示していた。全体的には濃度依存性の傾向は見られたが、0.32ppm と 0.64ppm の濃度間に飛躍があり、0.64ppm という濃度に達すると臨床的な影響が著しくなることが考えられた。OVA 前感作については同様であった(図 9)。

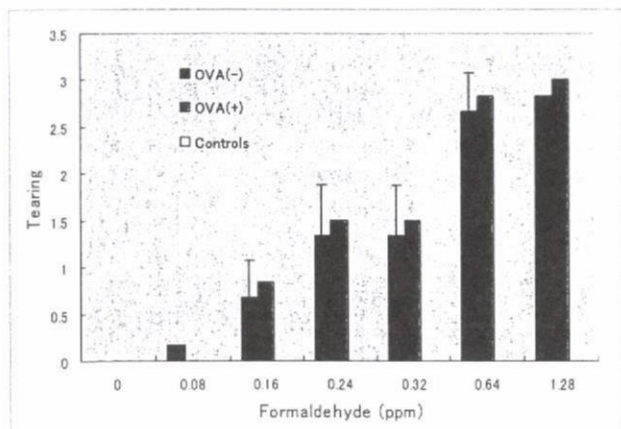


図 9. ホルムアルデヒド濃度と流涙

### 4. 予防点眼効果の検討

予防点眼の有無と臨床所見との関係を解析したが、眼引っ掻き行動数については、いずれの点眼治療を行っても、その減少は見られず、効果は確認できなかった。詳細に見ると、プラノプロフェン点眼群でやや眼引っ掻き行動が増加している結果であった(図 10)。

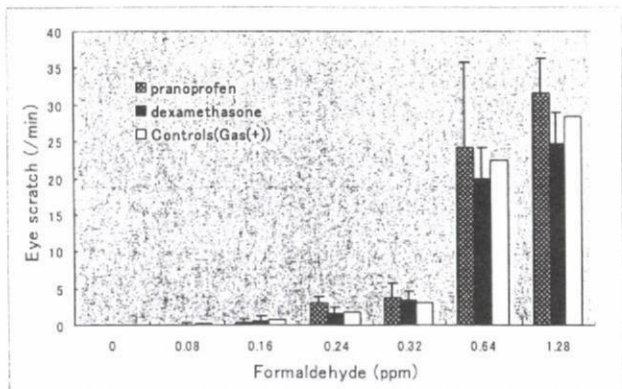


図 10. 予防点眼効果(眼引っ掻き行動)

一方、流涙については傾向が異なっていた。図 11 に見られるように、プラノプロフェン点眼群では、対照群と同じように、濃度依存性の増悪傾向が見られたが、デキサメタゾン点眼群では、0.32ppm 以上の濃度では悪化傾向が鈍化し、この範囲では対照群に対してデキサメタゾン点眼群の結膜充血は有意に抑制されていた。流涙についても結膜充血とほぼ同様に、プラノプロフェン点眼群における抑制作用は見られなかったが、0.64 および 1.28ppm の高濃度曝露域においては、デキサメタゾン点眼群は流涙が有意に対照群よりも少ない結果であった(図 12)。

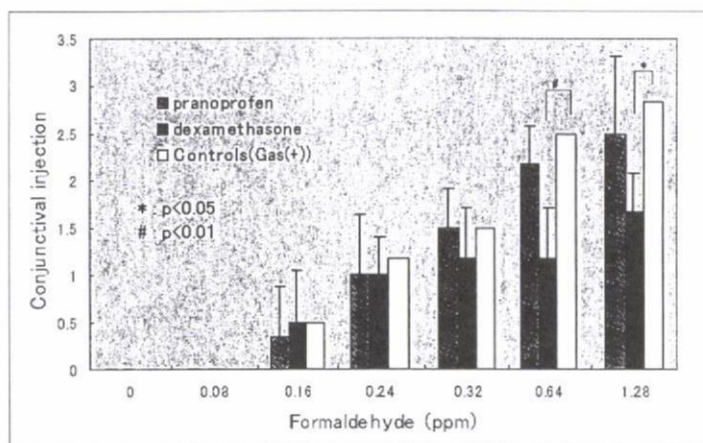


図 11. 予防点眼効果(結膜充血)

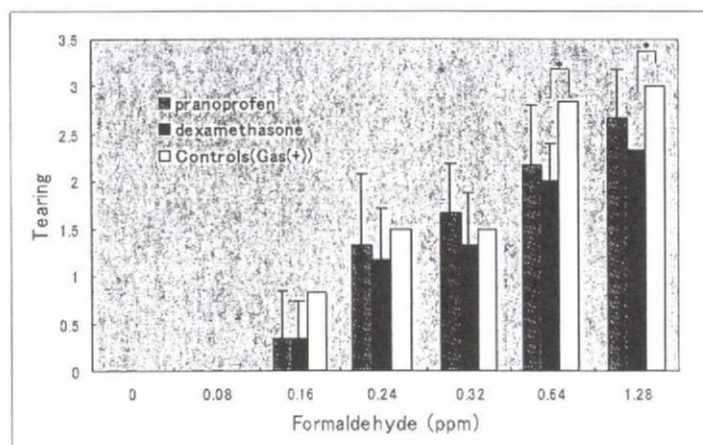


図 12. 予防点眼効果(流涙)

ただ重要なことは、ステロイド点眼薬であるデキサメタゾンに症状抑制作用は見られたが、それ以下の低濃度では効果はなく、眼症状そのものの発症を抑制することはできなかったことは今回の結果から明らかになった。



(臨床症例に関する研究)

1. 臨床重症度

Day3-4 までは SHS の眼症状の重症度がやや高かったが、Day7 以降は AC の方が高い傾向が見られ、SHS が暴露後速やかに症状が軽快する傾向が見られた。なお、臨床重症度はいずれの時点でも、両群間に有意な差は見られなかった(図 13)。

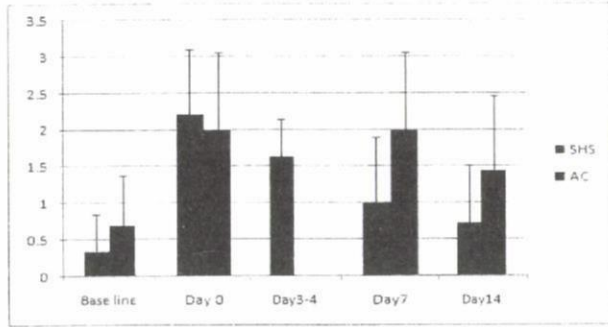


図 13. SHS と AC の臨床重症度比較

2. 涙液総 IgE 陽性率

SHS は発症前には涙液中に IgE は陰性だが、day0 には 31%が陽性となった。Day3-4 までは 18%陽性であったが、それ以後は陽性例はなく、臨床重症と同じように、速やかにアレルギー炎症が消退する傾向が見られた。一方、AC では症状出現前にも 31%の症例で涙液中 IgE が陽性で、経過を通して高い水準が続いていた。

	Base line	Day 0	Day 3-4	Day 7	Day 14
SHS	0/13 0%	4/13 31%	2/11 18%	0/10 0%	0/11 0%
AC	5/16 31%	11/16 69%		8/16 50%	4/14 29%

表 2. 涙液総 IgE 陽性率の比較

P<0.05:base line, P<0.01:day0 および day7

両群間には base line, day0, day7 の時点で有意差があり、AC の方が高かった。しかし、涙液中 IgE が陽性であったということは、SHS の眼炎症がアレルギー性であったことを示唆するものであった(表 2)。

3. 涙液 ECP

涙液 ECP 濃度は base line では AC が高く、day0 では逆に SHS が高かったが、有意なものではなかった。Day7 と 14 では SHS の涙液 ECP が著しく低下し、AC の方が有意に高値であった(図 14)。

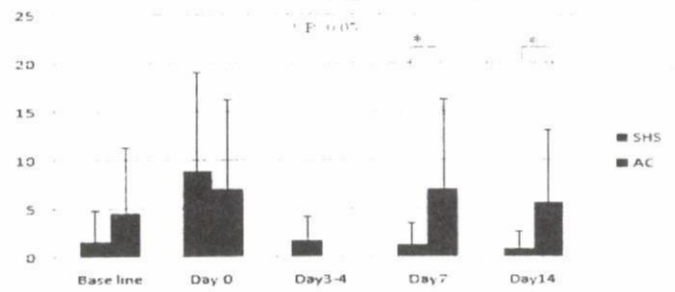


図 14. 涙液 ECP 濃度の比較

4. 血清総 IgE 値

Base line, day0 までは SHS が高い傾向が見られた。Day7 以降は差は縮小していた(図 15)。両群間にいずれの時点でも有意な差は認められなかった。

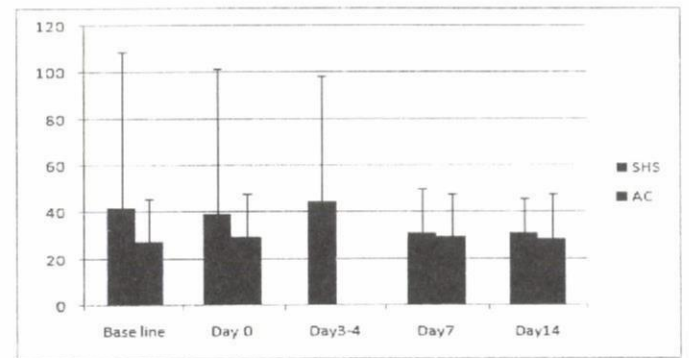


図 15. 血清総 IgE 値の比較

5. 末梢血好酸球

どの時点においても SHS の方が、AC よりも高い傾向が見られた。ただしこれらは有意な差ではなかった(図 16)。

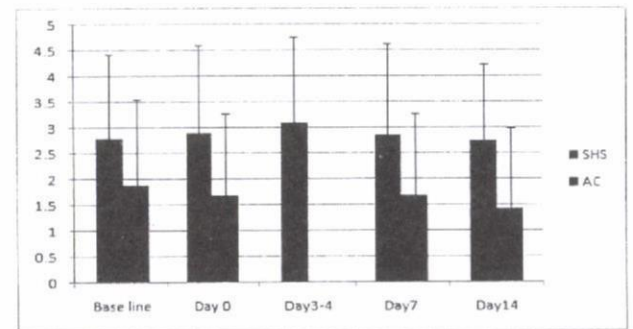


図 16. 末梢血好酸球(%)の比較

D. 考察

SHS の病変は全身にわたって、複合的な症状が同時あるいは多発的に出現する特徴があるが、それぞれの症状は非特異的なものも多く見られる。しかし特定の建物内でそれらの症状、臨床所見が出現するというのが、本疾患を特徴づける最も重要な要素である。SHS の眼症状について、筆者らはこれまでの研究を通して、アレルギー性炎症としての側面を有するものの、典型的な眼ア



アレルギー疾患とは臨床的、アレルギー学的に異なる面があり、病態形成において、アレルギー性炎症の関与はあるが、アレルギー性炎症単独で説明できるものではないと考えられことを報告した。

動物実験モデルの確立と症状発現の閾値、予防点眼の可能性などについて研究した結果についてまず考察したい。

ラットはさまざまな眼疾患の研究、特に感染症、ぶどう膜炎、アレルギー性結膜疾患などの炎症性眼疾患の実験に使用されているために、今回 Lewis ラットを用いたが、ホルムアルデヒド非曝露と比較して、0.08ppm で、眼引っ掻き行動の有意な上昇が見られたことは環境濃度の 0.08ppm が、動物においてもひとつの重要な指標濃度となっていることを示すものといえる。ただ、0.48ppm 以上の濃度で見られた眼引っ掻き行動数はそれ以下と比して、さらに明らかな増加が見られるために、臨床症状の発現や自覚所見の出現などを考える上では、環境濃度以上の濃度に臨床的な意義を考える必要があることが推測された。今回、ラットにおいて眼刺激感によると考えられる眼引っ掻き行動が、全身曝露条件下で見られたことはラットによって SHS の臨床所見を再現する実験モデルを作ることが可能であることを示すものと考えられた。ホルムアルデヒド 1.6ppm 以上の高濃度短時間前曝露により、その後のホルムアルデヒド吸入時に、有意な眼引っ掻き行動数の増加が見られたことは、正確な機序は不明であるが、SHS の発症が反復曝露によって、生じていくことを反映している可能性が考えられた。高濃度曝露は 5 分間という短時間であるが、それによってその後の同じ気体の吸飲曝露によって、増幅した反応が生じることは、通常免疫反応によるものとしての説明が困難であり、今後詳細に検討する必要があるが、化学物質過敏症としての性格を有している SHS の病態の理解と有効な治療法を考えていく上で重要なことと思われる。発症の予防手段として、今回は消炎薬の中で、NSAID に属するブラノプロフェン点眼薬による治療を行って解析したが、予防効果だけでなく、治療効果も認めることができなかった。この理由としては、ブラノプロフェンの抗炎症効果自体が弱かったことが考えられた。眼以外の臓器、皮膚、耳鼻咽喉領域、呼吸器において、どのような臨床所見が生じているかについては、さらに検討して行かなくてはならないが、

本モデルは実験モデルとして再現性のあるものであり、今後の応用が可能と考えられた。

モルモットモデルでも、多くの点ではラットモデルと同様の結果であった。前感作がモルモットでも結膜充血と流涙に影響を及ぼさなかったが、このことは免疫学的な感作を行わなくても、SHS 症状が出現しうることを示しており、SHS 眼症状がアレルギー炎症によるものではない可能性を支持する結果であった。しかし、眼引っ掻き行動数は OVA 前感作によって有意に増加しており、動物モデルによる差がその理由である可能性はあるが、免疫反応を基盤として SHS の眼刺激感が生じていることは完全には否定できないと考えられた。臨床所見とホルムアルデヒド濃度については、眼引っ掻き行動は 0.64ppm 以上で著しい増加が見られたのに対し、結膜充血、流涙などの眼局所所見はほぼ濃度依存性に増加しており、異なる傾向が見られた。濃度の上昇の過程で、症状に飛躍が見られたのはラットにおいても眼引っ掻き行動と同様の結果があり、眼引っ掻き行動と眼局所所見はそれぞれの機序において、異なる背景があることが推測された。眼引っ掻き行動は全身症状を反映するものと考えられる面もあり、鼻、口腔などを介して全身的に吸収される気体によるものと、眼局所すなわち結膜から入る気体ではその症状発現のメカニズムが異なることは、SHS の病態と予防や治療を考える上で重要なことと考えられる。発症予防の解析では、モルモットモデルでも、ブラノプロフェンはラットモデルと同様に今回も治療効果も認めることができなかったが、ステロイド薬のデキサメタゾン点眼薬は眼引っ掻き行動は抑制できなかったが、結膜充血と流涙 0.64ppm 以上の高濃度環境下では有意な抑制作用が見られた。これから考えられることは、第一にはステロイド薬が NSAID よりもその抗炎症作用が強力であることによることであるが、点眼という局所治療を行ったことを併せて考えると、前もって眼局所の免疫系をステロイド薬で抑制しておけば、SHS の眼症状が抑えられることを意味しており、SHS の症状がアレルギー反応など広義の免疫反応によって生じていることを示唆すると考えられた。

ヒトの SHS 症例における眼合併症についての研究では、発症早期の臨床重症度は SHS、AC 間に差はなかったが、経過後の軽症化は SHS が早かったことと、涙液 ECP 濃度も SHS が早期に発症前の値に戻っていること

は共通した結果であり、特定の建物において症状が発現し、そこから出ると軽減するというSHSの臨床的な特徴をよく反映していることが示唆された。一方、涙液総IgE陽性率の傾向もこれらに類似していたが、観察期間を通して、SHSがACより有意に低いことが示されており、SHSの病態がアレルギー性疾患とは異なり、可逆性が強く見られることを示唆するものと考えられた。全身のパラメータである血清総IgE値、末梢血好酸球については、異なる傾向を示していたのが、今回の結果の中でも注目すべき点であると考えられた。臨床症状には発症からの日数で大きな変動があり、涙液中のパラメータも変動していたが、血清総IgE値、末梢血好酸球には症状と関連しての変動は見られなかった。どちらの値もACよりSHSが有意ではなかったものの高値の傾向が見られ、全身疾患としてはSHSの方がその特徴が強いことが示唆された。SHSの原因と推定されるホルムアルデヒドなどの有機性物質は眼表面だけでなく、鼻、口腔などを介して全身的に吸収されるものであり、眼局所すなわち結膜からの抗原による側面が強いACとは病態が異なることが示されたといえる。SHSは慢性、反復性の病態をとるが、組織の不可逆性変化や増殖性変化といったアレルギー炎症にみられるような病態とは機序が大きく異なることが考えられ、その治療においても、即効性の薬物を主として局所と全身の両面から行うべきという方向性が示唆された。

## E. 結論

SHSの眼病変の実験モデルとして、ホルムアルデヒドを閉鎖ケージ内に投与する全身曝露形式でラット及びモルモットにSHS眼症状に類似した眼引っかき行動や結膜充血、流涙などの眼アレルギー症状を主な特徴とする実験モデルを作成することができた。眼局所所見については、濃度依存性の傾向が見られたが、眼引っかき行動数の明らかな増加は0.64ppmで観察された。非ステロイド消炎点眼薬によってはSHS眼所見の抑制は見られなかったが、ステロイド点眼予防治療では眼引っかき行動以外の眼局所所見に対する予防作用が見られた。以上からSHS動物実験モデルとして、ホルムアルデヒド吸入によるラット、及びモルモット実験系はその病態や予防、治療を検討する上で有用なことが確認され、これを用いて、眼局所におけるSHSの病態形成メカニズムはさらに検討を

要すると考えられた。

またSHSの眼病変においては、発症早期にはアレルギー性疾患を上回る臨床所見を呈するが、その後は速やかに消退する傾向を示し、眼局所の免疫学的パラメータも同様の経過を示すことが明らかになった。しかし、涙液中にIgEやECPの上昇傾向が見られることから、アレルギー性炎症が関与していることは否定できず、好酸球を解する反応が病態に関与していることが考えられた。全身的にもアレルギー性疾患としての性格は見られており、治療、管理上は局所だけでなく、全身的予防・治療の必要性があることが示唆された。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Fujishima H, Fukagawa K, Takano Y, Okamoto S, Nakagawa Y, Uchio E, Yokoi N, Fukushima A, Takamura E: The early efficacy of topical levocabastine in patients with allergic conjunctivitis. *Allergol Int* 55: 301-303, 2006

内尾英一: アレルギー性結膜炎のリモデリング-サイトカインの面から-. *アレルギー・免疫* 13: 1148-1153, 2006

Uchio E, Itoh Y, Kadonosono K: Topical bromfenac sodium for long-term management of vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmologica* 221: 153-158, 2007

大野重昭, 内尾英一, 高村悦子, 西田輝夫, Jones RL, Kurata F, Abelson M: 日本人のアレルギー性結膜炎に対する0.1%塩酸オロパタジン点眼液の有効性と使用感の検討. *臨床眼科* 61: 251-255, 2007

井上浩利, 門之園一明, 内尾英一: シックハウス症候群の眼症状の臨床的・アレルギー学的解析. *臨床眼科* 62: 719-722, 2008

Uchio E, Kimura R, Migita H, Kozawa M, Kadonosono K: Demographic aspects of allergic conjunctival diseases and evaluation of new criteria for clinical assessment of ocular allergy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 246:

291-296, 2008

## 2. 学会発表

井上浩利, 門之園一明, 内尾英一: シックハウス症候群における結膜炎細胞の免疫学的解析. 第 42 回日本眼炎症学会, 2008 年 7 月, 福岡市

Huang JY, Uchio E, Kadonosono K: The epidemiology and the evaluation of the new criteria for clinical assessment in allergic ocular diseases. 79<sup>th</sup> ARVO, 2008 年 4 月, 米国 Fort Lauderdale

鈴木岳人, 門之園一明, 内尾英一: 小児におけるアレルギー性結膜疾患の臨床像と疾患別比較. 第 62 回日本臨床眼科学会総会, 2008 年 10 月, 東京都

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## シックハウス症候群の疾患概念に関する基礎的動物研究

(研究分担者)	坂本龍雄	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 准教授)
(共同研究者)	三宅美緒	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 実験助手)
	大島美穂子	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 大学院生)
	武田将典	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 大学院生)
	木村量子	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 大学院生)
	武藤太一朗	(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 大学院生)

**研究要旨** シックハウス症候群の診断・治療を向上させるためには、この症候群の病態解明をいっそう進める必要がある。本研究では、シックハウス症候群の病態のひとつである知覚神経刺激に対する過剰反応(いわゆる知覚神経過敏)を有する動物モデルの作成を試みた。

**【研究 1】**ラットにホルマリン塗布及びインドメタシン全身投与を行うと、皮膚の知覚神経 C 線維から遊離されるタキキニンによる神経原性皮膚血漿漏出が増強される(予備実験結果)が、このような神経原性炎症の増強は主に C 線維の増生によって引き起こされると推定される。そこで、ホルマリン塗布及びインドメタシン腹腔内投与により皮膚の神経栄養因子(NGF・BDNF)の産生が増加し、その結果、C 線維の増生が誘導される可能性について検討した。Wistar ラットの腹部を剃毛し、片側にホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)を塗布し、反対側にそれぞれの溶解液を塗布した。1 週間後、全身麻酔下にエバンスブルーを静注し、剃毛したラット腹部皮膚にカプサイシン(10mM)を塗布し、40 分後に皮膚標本を採取した。皮内に漏出したエバンスブルーをホルマミドで抽出し、血漿漏出量の指標とした。次に、ホルマリン塗布またはインドメタシン腹腔内投与 28 時間後または 1 週間後に腹部皮膚を採取し、皮膚組織中の NGF およびサブスタンス P(C 線維)を蛍光免疫染色法を用いて検出した。ホルマリン塗布及びインドメタシン腹腔内投与のいずれにおいてもカプサイシン塗布による皮膚血漿漏出を増強した。また、いずれの刺激も 28 時間後の真皮層における NGF の産生増加、1 週間後の真皮層の C 線維の増生を引き起こした。一方、カプサイシン塗布はこれらの皮膚反応を著しく減弱した。ホルマリン塗布及びインドメタシン腹腔内投与は皮膚の C 線維の増生を促進し、カプサイシンによる神経原性炎症を亢進させたと考えられた。

**【研究 2】**リポ多糖(LPS)は気道炎症や気道反応性亢進を惹起・増悪させる。幼若ラットを用いて LPS 吸入が気道の神経原性血漿漏出を増強させるか否かを検討した。2 週齢の Wistar ラットに大腸菌由来 LPS(0.1mg/ml)を 30 分間ネブライザー吸入し、7 日、14 日、21 日後のホルムアルデヒド吸入による下部気管の神経原性血漿漏出をエバンスブルー法にて測定した。また、蛍光免疫染色法を用いて下部気管の C 線維(サブスタンス P 抗体結合線維)の分布と、神経栄養因子(NGF・BDNF)の発現を観察した。LPS 吸入は、7~21 日間にわたり下部気管の神経原性血漿漏出を有意に増強した。また、7 日後をピークに気道上皮細胞に NGF・BDNF の発現増強が観察された。C 線維の増生は 7 日後から観察され、14 日後がピークで、さらにその 7 日後も認められた。健常の幼若ラットでは成熟ラットよりも気道の神経原性血漿漏出が惹起されにくい。LPS 吸入は幼若ラットにおいても気道の神経原性血漿漏出を著しく増強し、その効果は少なくとも 2 週間持続した。また、成熟の Wistar 雄性ラット(8 週齢)にホルマリン(1%)を 30 分間吸入し、その 1 週間後にカプサイシン(75  $\mu$ g/kg)静注による下部気管への血漿漏出量を測定した。その結果、ホルマリン吸入群では有意に血漿漏出量が増大した。また、蛍光免疫染色法を用いた検討では、神経栄養因子 NGF・BDNF の発現、C 線維の分布、タキキニン NK1 受容体の発現のいずれもホルマリン吸入群で増強した。

## 研究1:ホルマリン及びインドメタシンを用いたラット皮膚知覚過敏モデルの作成

### 【研究1】

#### 研究目的

シックハウス症候群の診断・治療を向上させるためには、この症候群の病態解明をいっそう進める必要がある。本研究では、シックハウス症候群の病態のひとつである知覚神経刺激に対する過剰反応(いわゆる知覚神経過敏)を有する動物モデルの作成を試みた。ラットにホルマリン塗布及びインドメタシン全身投与を行うと、皮膚の知覚神経 C 線維から遊離されるタキキニンによって惹起される血漿漏出が増強される(予備実験結果)が、このような神経原性炎症の増強は主に C 線維の増殖・過剰分布によって引き起こされる。そこで、ホルマリン塗布により皮膚の神経栄養因子(NGF・BDNF)の産生が増加し、その結果、C 線維の増生が誘導される可能性について検討した。

(論理面への配慮)以下の実験は、名古屋大学の動物実験指針に従って実施された。

#### 研究方法

Wistar 雄性ラットに(6 週齢、SPF) の腹部を剃毛し、片側にホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)を塗布し、反対側にそれぞれの溶解液を塗布した。1 週間後、全身麻酔下にエバンスブルーを静注し、カプサイシン(10mM)を左右 1 箇所ずつ円形(直径 15mm)に塗布し、40 分後にその部位を採取した。皮内に漏出したエバンスブルーをホルマミドで抽出し、血漿漏出量の指標とした。さらに、ホルマリン(10%)とカプサイシン(10mM)を用いた最終処置 28 時間後または 1 週間後に皮膚を採取し、ヘマトキシリン・エ

オジン染色およびトルイジンブルー染色を行った。さらに、NGF・BDNF とサブスタンス P の組織中の発現を測定するため、それぞれの抗体を用いた蛍光免疫染色法を行った。各処置群の数は 5~8 匹であった。

#### 研究結果

ホルマリン塗布は、単回・反復のいずれにおいてもカプサイシン塗布により血漿漏出を増強した。一方、カプサイシン塗布はこの皮膚反応を減弱した(図 1、2)。ホルマリン塗布により、表皮の肥厚と表皮細胞の過増殖、真皮へのマクロファージ・リンパ球・好酸球・肥満細胞の浸潤を認めた(図 3)。なお、この組織変化は反復塗布でより著明であった。一方、カプサイシン塗布は明らかな組織変化を引き起こさなかった。前処置 1 週間後のトルイジンブルー染色標本では、ホルマリン塗布・カプサイシン塗布のいずれにおいても肥満細胞の真皮層への浸潤が観察された(ホルマリン>カプサイシン、図 4)。サブスタンス P 抗体により C 線維が描出されるが、ホルマリン塗布後、真皮層で C 線維がより密集して分布していた(反復塗布≧単回塗布、図 3)。NGF・BDNF はリンパ球を除く浸潤細胞と一部の線維芽細胞に発現を認めた(反復塗布>単回塗布、図 3)。一方、カプサイシン塗布部位には C 線維の分布は疎であり、NGF・BDNF の発現を認めなかった。

#### 考察

ホルマリン塗布は皮膚の C 線維の増生を促進し、神経原性炎症の増強(知覚過敏)を引き起こしたと考えられる。カプサイシン塗布は



皮膚の C 線維末端部からタキキニンを遊離して急性の血漿漏出を惹起する。その後、同様の刺激を反復しても C 線維末端部のタキキニンが枯渇してしまうため、急性の血漿漏出は起こらないか著しく減弱する。ホルマリン塗布も同様の作用を皮膚の C 線維に及ぼすはずであるが、塗布 1 週間後のカプサイシン塗布に対する反応は予想に反して増強していた。その理由は十分には解明できていないが、おそらくホルマリン塗布が C 線維以外の皮膚の構成細胞(線維芽細胞・肥満細胞など)に作用し、NGF などの神経栄養因子や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインを遊離させた可能性が考えられる。前者は直接 C 線維の増生を促進し、後者は構成細胞の活性化や炎症細胞の組織浸潤を惹起し、これらの細胞から神経栄養因子を遊離させたと推測される。

## 【研究 2】

### 研究目的

インドメタシンをはじめとする NSAIDS は消化管粘膜に炎症を起こし、時に潰瘍性病変を引き起こす。本研究では、ラットにインドメタシンを腹腔内投与し、ホルマリン塗布と同様に内因性タキキニンによる皮膚血漿漏出の増強が得られるか否かを検討した。また、インドメタシン投与後に皮膚を採取し、神経成長因子(NGF・BDNF)の発現と知覚神経 C 線維の分布を免疫組織学的に検討した。

### 研究方法

Wistar 雄性ラット(6 週齢・SPF)にインドメタシン(3mg/kg、10mg/kg)またはその溶解液を 1ml ずつ腹腔内注射した。1 週間後、全身麻酔下にエバンスブルーを静注し、カプサイ

シン(10mM)を左右 1 箇所ずつ円形(直径 15mm)に塗布し、40 分後にその部位を採取した。皮膚に漏出したエバンスブルー量を測定し、これを血漿漏出の指標とした。次に、最終処置 28 時間後と 1 週間後に腹部皮膚を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびトルイジンブルー染色を行った。さらに、サブスタンス P・TRPV1・NGF・BDNF の組織中の発現を蛍光免疫染色法を用いて検討した。

### 研究結果

インドメタシンを全身投与すると、3mg/kg・10mg/kg のいずれにおいてもカプサイシン塗布による血漿漏出を増強した(図 5)。また、ラットのオボアルブミン特異 IgE 抗体を用いた PCA 反応を有意に増加した(図 6)。組織学的検討では、インドメタシンは表皮の肥厚などのリモデリングは惹起しなかったが、真皮層へのマクロファージ・リンパ球・好中球・好酸球の浸潤を認めたが 1 週間後には無処置群と同じレベルにまで減少した(図 7)。サブスタンス P 抗体により C 線維が抽出されるが、主に真皮層でこれらの神経線維がより密集して分布していた(図 8)。また、TRPV1 抗体で同様に C 線維の分布を観察したが、サブスタンス P 抗体を用いた場合と同様の結果が得られた(図 8)。NGF と BDNF の発現は全身投与 28 時間後の皮膚線維芽細胞に認められた(図 8)。しかし、これらの神経栄養因子の発現は 1 週間後の組織標本では観察されなかった。

### 考察

インドメタシンを全身投与すると皮膚の線維芽細胞から NGF・BDNF が産生・遊離され、



その結果、C線維の過剰分布を生じると考えられた。また、由来は不明であるが、炎症性メディエーターを産生し、わずかではあるが、単核球・好中球・好酸球の浸潤を引き起こしたと推測される。インドメタシン全身投与は1週間後にPCA反応の増強をもたらしたが、この時点では浸潤肥満細胞は消退しており、個々の肥満細胞が活性化されていた可能性が考えられる。本研究では、インドメタシンは皮膚の神経原性炎症とともに、アレルギー性炎症を増悪させる可能性が示唆された。

#### 図1-8の説明

図1:ラットの腹部皮膚にホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)を塗布し、カプサイシン塗布(10mM)による皮膚血漿漏出反応が1週間後にどのように修飾されるのかを観察した。 $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$  v.s control

図2:ラットの腹部皮膚へのホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)塗布がカプサイシン塗布(10mM)による皮膚血漿漏出反応に及ぼす影響—単回塗布と反復塗布の比較検討。反復塗布をしても、単回塗布と比べて有意差を認めなかった。

図3:ホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)をラットの腹部皮膚に単回または反復塗布し、1週間後に皮膚標本を採取してヘマトキシリン・エオジン染色で組織変化を観察した。また、FITC標識したサブスタンスP抗体で皮膚組織中の知覚神経C線維を検出した。さらに、28時間後に採取した皮膚標本を用いてFITCを標識したNGF・BDNF抗体でNGF・BDNF産生細胞を検出した。

図4:ホルマリン(10%)またはカプサイシン(10mM)をラットの腹部皮膚に単回または反復塗布し、1週間後に皮膚標本を採取してトルイジンブルー染色で皮膚組織中の肥満細胞の分布を観察した。下図は一定の広さの皮膚における肥満細胞数を示したものであるが、ホルマリンもカプサイシンも単回、反復塗布にかかわらず肥満細胞数が増加した( $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$  v.s sham)。しかし、この反応はホルマリン塗布でより著明であった。

図5:ラットにインドメタシン(3mg/kg、10mg/kg)またはその溶解液を腹腔内投与し、カプサイシン塗布(10mM)による皮膚血漿漏出反応が1週間後にどのように修飾されるのかを観察した。 $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$  v.s vehicle

図6:ラットにインドメタシン(10mg/kg)またはその溶解液を腹腔内投与し、1週間後にPCA反応に及ぼす影響を検討した。 $*P<0.05$  v.s vehicle

図7:ラットにインドメタシン(3mg/kg、10mg/kg)またはその溶解液を腹腔内投与し、1週間後に採取した皮膚標本を用いてヘマトキシリン・エオジン染色とトルイジンブルー染色で組織変化を観察した。右図は一定の視野における肥満細胞数を示したものであるが、インドメタシン前処置の28時間後に肥満細胞数は増加し、1週間後にはshamと同レベルまで減少した。

図8:ラットにインドメタシン(3mg/kg、10mg

/kg)またはその溶解液を腹腔内投与し、1週間後に採取した皮膚標本を用いて FITC を標識したサブスタンスP抗体・TRPV1 抗体で皮膚組織中の知覚神経C線維を検出した。

また、28 時間後に採取した皮膚標本を用いて FITC を標識した NGF・BDNF 抗体で皮膚組織中の NGF・BDNF 産生細胞を検出した。

## 研究2:ホルムアルデヒドおよびリポ多糖吸入曝露による神経原性気道炎症の増幅モデルの作成

### 研究目的

シックハウス症候群の診断・治療を向上させるためには、この症候群が包含する多様な病態をひとつひとつ基礎的に解明することが必要である。本事業において、ホルムアルデヒド(FA)およびリポ多糖(LPS)の吸入曝露が、神経原性炎症の起こりやすさを規定する知覚神経 C 線維の分布、タキキニン NK1 受容体の分布、神経栄養因子の発現などに及ぼす影響を検討した。さらに、ラット気道におけるこれらの要因の加齢差を生理学的・組織学的に検討した。

### 【研究1】

#### 研究目的

幼若および成熟ラットを用いて、LPS 吸入曝露後の神経原性気道血漿漏出の増強の有無を検討した。

#### 研究方法

幼若(2週齢)および成熟(8週齢)の Wistar 雄性ラットに、超音波ネブライザーを用いて、大腸菌由来 LPS (0.1mg/ml) を曝露チャンパー内で 30 分間曝露した。対照群には、同様の方法で生理食塩水を曝露した。1~3 週間後、全身麻酔(チトゾール腹腔内投与)と人工換気を施行し、NEP 阻害薬であるホス

ホラミドン(2.5mg/kg)を静注した後、ホルムアルデヒドガスを吸入した。10 分後に下部気管を摘出した。血漿漏出をエバンスブルー法にて測定した。次に、吸入曝露 28 時間後と 1~3 週間後に下部気管を摘出し、ホルマリン固定・パラフィン包埋標本を用いて、蛍光免疫染色法により、サブスタンス P 抗体と TRPV1 抗体により C 線維の分布を、また、タキキニン NK1 受容体抗体を用いてタキキニン NK1 受容体の分布を観察した。さらに、NGF と BDNF 抗体を用いて、下部気管におけるこれらの神経栄養因子の発現を観察した。

#### 研究結果

■ホルムアルデヒド吸入による下部気管における神経原性血漿漏出:幼若ラットにおいては、LPS 吸入曝露後 1~3 週間にわたり、ホルムアルデヒド吸入による神経原性気道血漿漏出の増強が観察された(図 1)。

■知覚神経 C 線維の分布:幼若ラットにおいては、LPS 吸入曝露後 1~3 週間にわたり、C 線維が気道上皮内とその直下により濃密に分布していた。ピークは 2 週間後であった(図 2)。

■神経栄養因子の発現:幼若ラットにおいては、LPS 吸入曝露後 28 時間から、気道上

皮細胞の NGF と BDNF の発現が増強され、増強効果は 2 週間に及んだ(図 3)。

■タキキニン NK1 受容体の分布:幼若ラットにおいては、粘膜固有層の血管内皮細胞上のタキキニン NK1 受容体の発現は、LPS 吸入曝露後 1~2 週間にわたり増強された。ピークは 2 週間後であった(図 4)。

■幼若ラットと成熟ラットの気道反応の比較:離乳前の幼若ラットでは成熟ラットに比べて、LPS 吸入曝露後の神経原性気道血漿漏出およびその増幅機構がより強く、より長期にわたり増強された。

		28h後	7日後	14日後	21日後
ホルムアルデヒド吸入による神経原性血漿漏出の増強	成熟		+	±	
	幼若		+	++	+
知覚神経C線維の分布	成熟		+	±	
	幼若		+	++	+
タキキニンNK1受容体の発現	成熟		+	±	
	幼若		+	++	+
NGF/BDNFの分布	成熟	+	±		
	幼若	+	++	+	

## 【研究 2】

### 研究目的

成熟ラットモデルを用いてホルムアルデヒド吸入曝露が気道神経原性炎症に影響を及ぼすか否かを検討した。

### 研究方法

Wistar 雄性ラット(8 週齢)に超音波ネブライザーを用いて、曝露チャンバー内で 1%ホルマリンを 30 分間曝露した。対照群には、同様の方法で 0.4%メタノールを含む生理食塩水を曝露した。1 週間後、全身麻酔(チトゾール腹腔内投与)、人工換気を施行し、NEP 阻害薬であるホスホラミドン(2.5mg/kg)を静注したのちカプサイシン(75 μg/kg)を

静脈内投与した。10 分後に下部気管を摘出し、エバンスブルー法にて血漿漏出を測定した。次に、吸入曝露 28 時間後と 1 週間後に下部気管を摘出し、ホルマリン固定・パラフィン包埋処理後に蛍光免疫染色法により、サブスタンス P 抗体と TRPV1 抗体を用いて C 線維の分布を、タキキニン NK1 受容体抗体を用いてタキキニン NK1 受容体の発現を観察した。また、NGF と BDNF 抗体を用いて、下部気管のこれらの神経栄養因子の発現を同様の方法で観察した。

### 研究結果

■カプサイシン静注による下部気管の神経原性血漿漏出 :ホルマリン(1%)吸入曝露群では 0.4%メタノールを含む生理食塩水吸入曝露群と比較して、下部気管の血漿漏出が有意に増強した(図 5)。

■知覚神経 C 線維の分布:ホルマリン(1%)吸入曝露 7 日後では、C 線維が気道上皮内とその直下に幅広く、より濃密に分布していた(図 6)。

■神経栄養因子の発現:ホルマリン(1%)吸入曝露後 28 時間後、気道上皮細胞上における NGF と BDNF の発現が増強された(図 7)。

■タキキニン NK1 受容体の分布:タキキニン NK1 受容体は、ホルマリン(1%)吸入曝露前より気道粘膜固有層の血管内皮細胞に観察された。ホルマリン吸入曝露後、7 日後をピークに、著しい発現の増強を認めた(図 8)。

### 論文発表

1) Futamura M, Goto S, Kimura R, Kimoto I, Miyake M, Sakamoto T. Differential effects of topically applied formalin and aromatic



compounds on neurogenic-mediated microvascular leakage in rat skin. *Toxicol* 255; 100-106: 2009

2) Morii S, Kondo F, Ikai Y, Miyake M, Futamura M, Ito K, Sakamoto T. Tacrolimus hydrate ointment inhibits skin plasma extravasation in rats induced by topical *m*-xylene but not capsaicin. *Eur J Pharmacol* (in press)

#### 学会発表

1) Sakamoto T, Miyake M, Kimura R, Morii S, Ito K.

Exaggerated neurogenic and allergic inflammation in the skin of rats treated with systemically administered indomethacin. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting, San Diego 2007, 2, 23-27.

2) Morii S, Kondo F, Ikai Y, Miyake M, Futamura K, Ito K, Sakamoto T.

Tacrolimus hydrate ointment inhibits skin plasma extravasation induced by topically applied *m*-xylene but not capsaicin in rat. American Academy of Allergy Asthma & Immunology Annual Meeting, San Diego 2007, 2, 23-27.

3) Sakamoto T, Takeda M, Muto T, Oshima M, Miyake M.

Formaldehyde causes a dense network of sensory C-fibers in rat airway, resulting in exaggerated neurogenic airway microvascular leakage.

13<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Bangkok 2008, 11, 19-22.

4) Sakamoto T, Kimura R, Muto T, Takeda

M, Oshima M, Ito K. Montelukast reduces neurogenic-mediated indomethacin in the rat airway.

American Academy of Allergy Asthma & Immunology Annual Meeting, Washington DC 2009, 3, 13-17.

5) Muto T, Takeda M, Miyake M, Oshima M, Ito K, Sakamoto T.

Effect of procaterol, a  $\beta$ 2- adrenoceptor agonist, on proliferation of airway sensory C-fibers after lipopolysaccharide inhalation in rats.

American Academy of Allergy Asthma & Immunology Annual Meeting, Washington DC 2009, 3, 13-17.

6) 坂本龍雄、三宅美緒、森井志歩、木村量子、広瀬 泉、二村昌樹、伊藤浩明

ミニシンポジウム「アトピー性皮膚炎」  
ラット皮膚へのホルマリン塗布は内因性タキキニンによる皮膚血漿漏出反応を増強する  
第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006. 11.2-4.

7) 三宅美緒、坂本龍雄、森井志歩、木村量子、広瀬 泉、二村昌樹、伊藤浩明

ミニシンポジウム「アトピー性皮膚炎」  
ラット皮膚へのホルマリン塗布は内因性タキキニンによる皮膚血漿漏出反応を増強する—その機序の解明

第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006.11.2-4.

8) 坂本龍雄、三宅美緒、森井志歩、木村量子、広瀬 泉、二村昌樹、伊藤浩明、森下雅史

ラット皮膚へのホルマリン塗布は皮膚知覚神経 C 線維を増生させる—薬物制御の試み  
第 43 回日本小児アレルギー学会、幕張、2006.11.25-26.

9) 森井志歩、三宅美緒、木村量子、広瀬 泉、  
二村昌樹、伊藤浩明、近藤文雄、猪飼誉友、  
坂本龍雄

タクロリムス軟膏はラット皮膚へのキシレン塗布  
による血漿漏出を制御するがカプサイシン塗  
布による血漿漏出を抑制しない

第 43 回日本小児アレルギー学会、幕張、  
2006.11.25-26.

10) 武田将典、木村量子、大島美穂子、三宅  
美緒、二村昌樹、伊藤浩明、坂本龍雄

気道の神経原性炎症における加齢変化-動物  
モデルを用いた基礎研究

第44回日本小児アレルギー学会総会、名古  
屋、2007.12.8-9.

11) 武田将典、三宅美緒、木村量子、大島美  
穂子、二村昌樹、伊藤浩明、坂本龍雄

ホルムアルデヒド吸入曝露はラット気道の神経  
原性炎症を増強する

第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会  
2009.6.12-14(発表予定)

#### 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得(なし)
2. 実用新案登録(なし)
3. その他(なし)

# 研究1

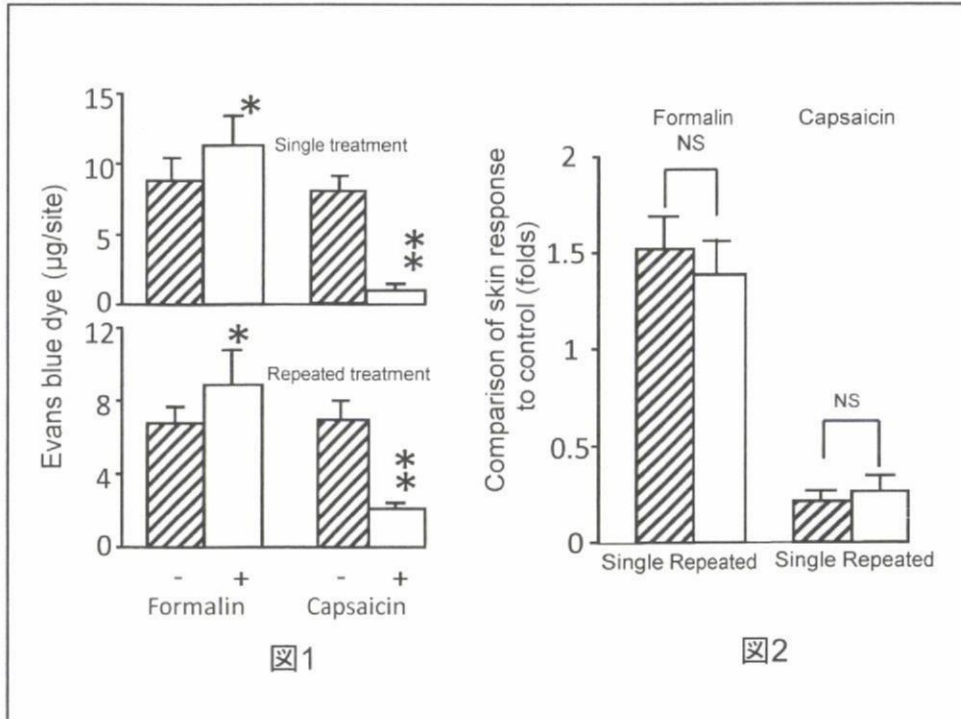


图3

