

図4

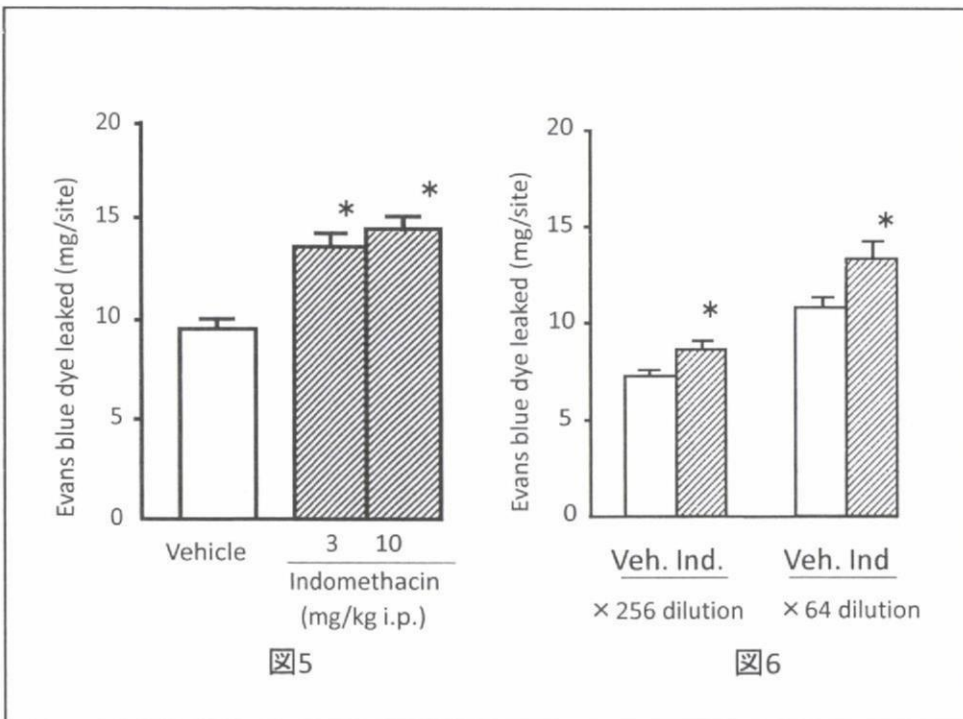
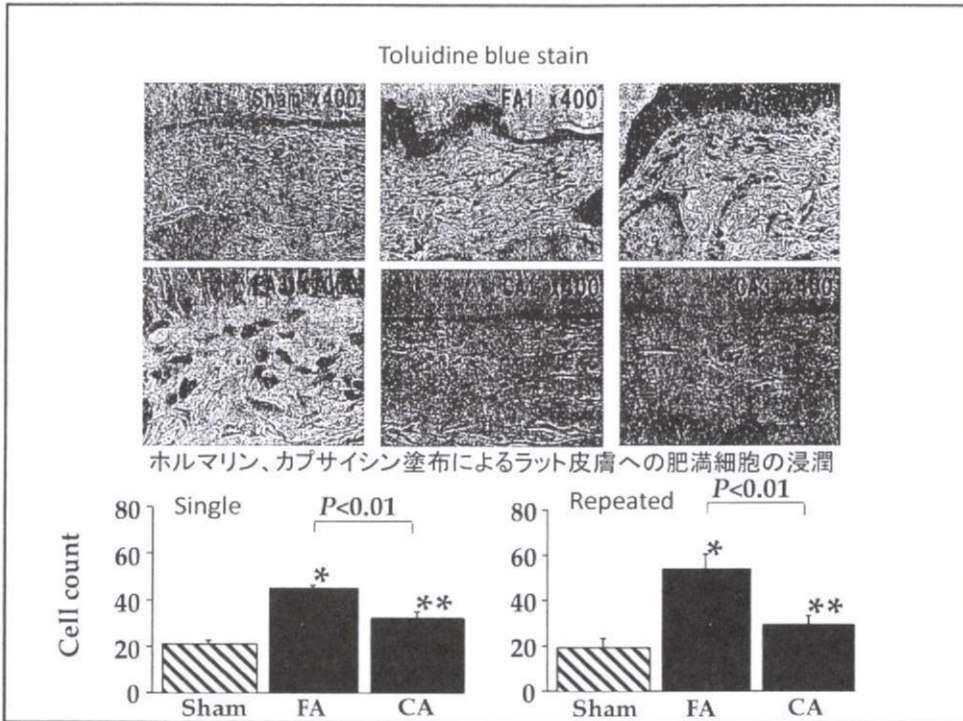


図7

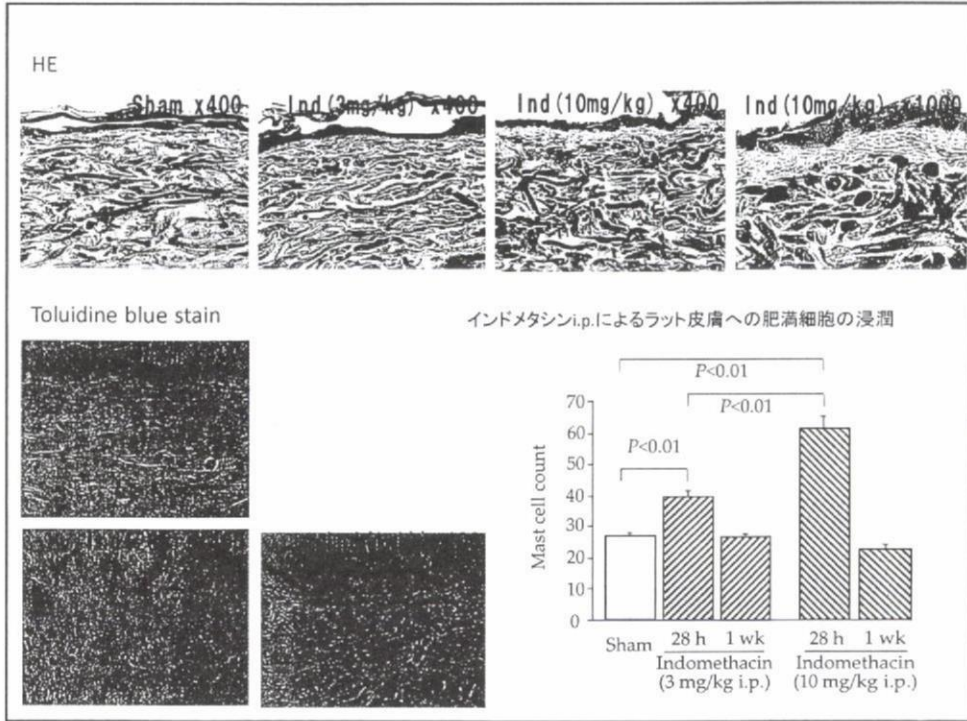
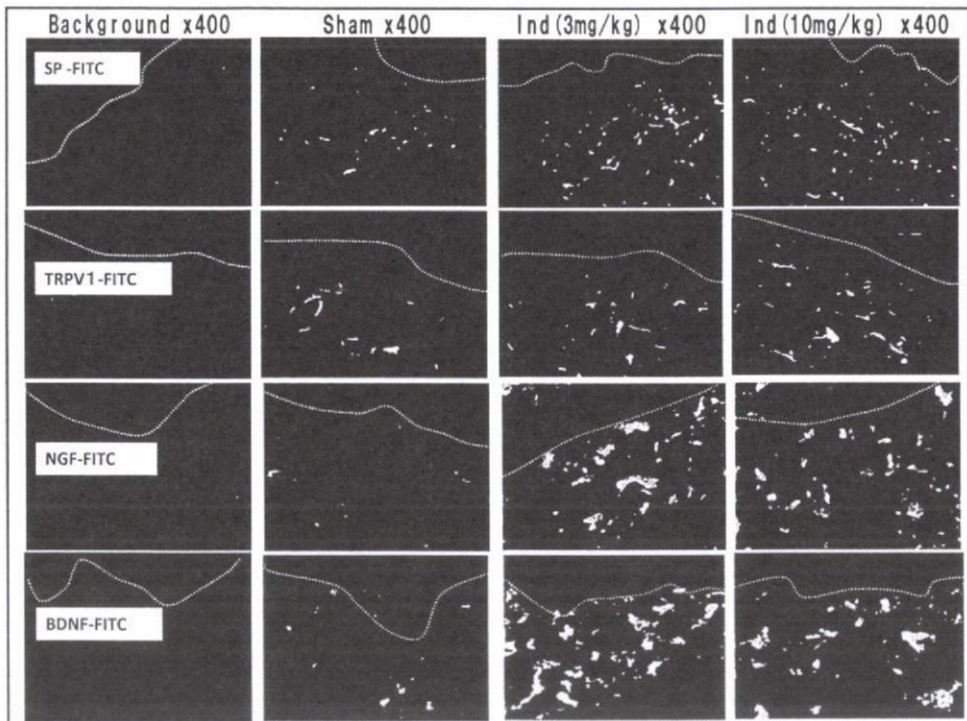
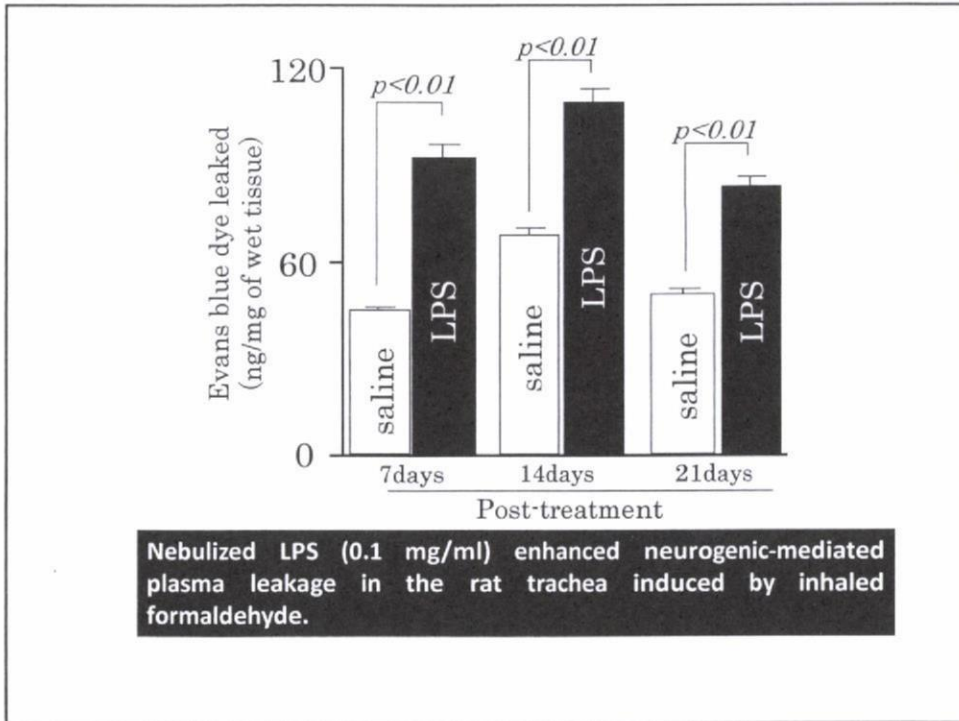


図8

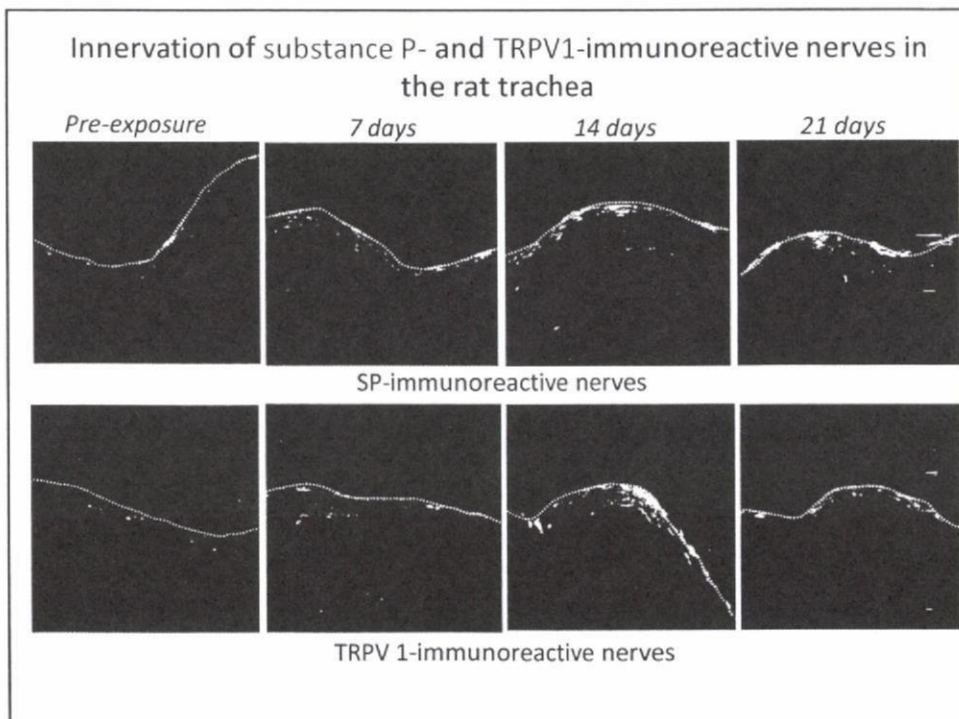


## 研究2

### 图1

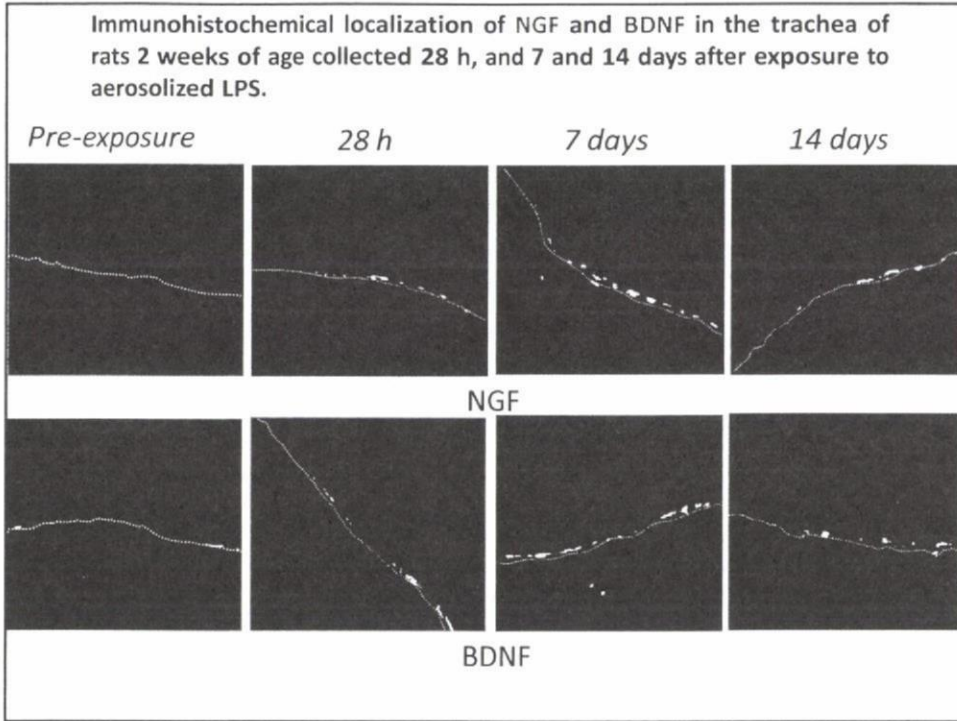


### 图2





### 图3



### 图4

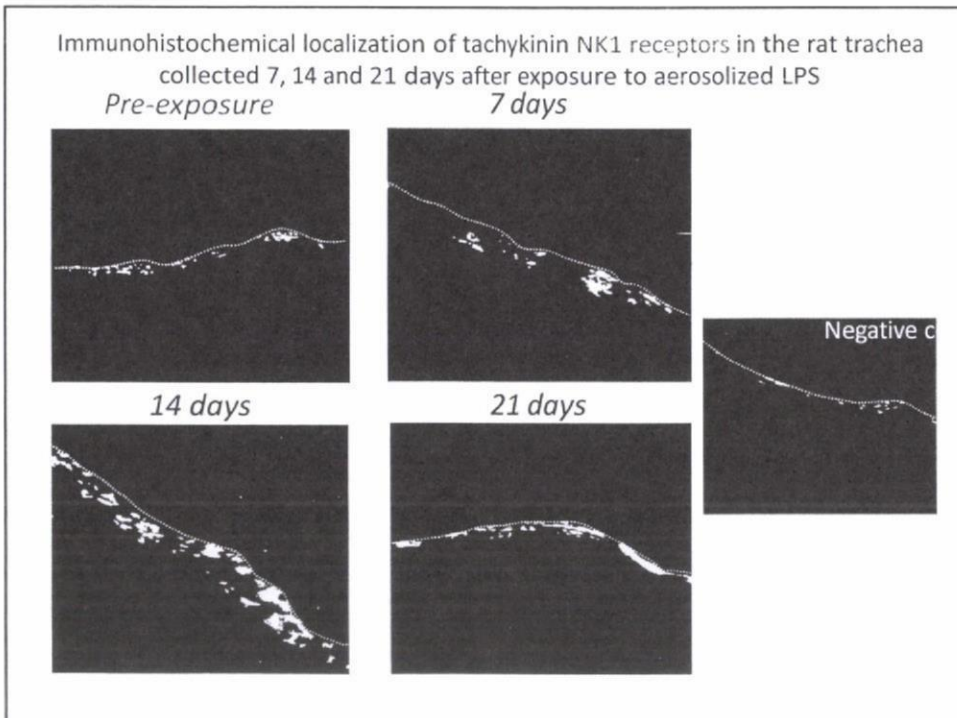


図5

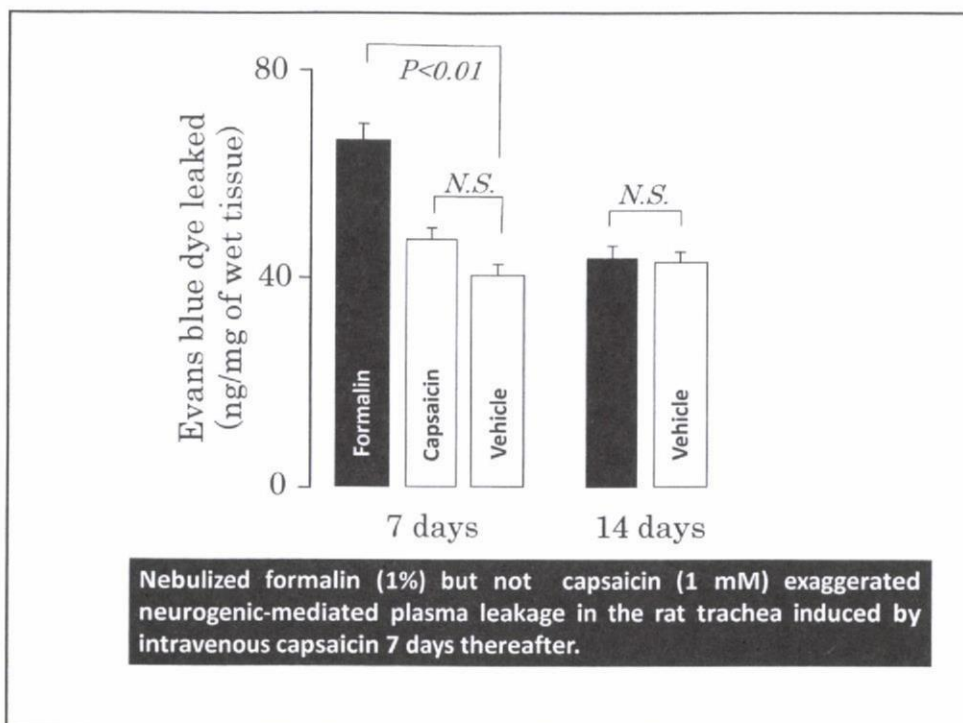


図6

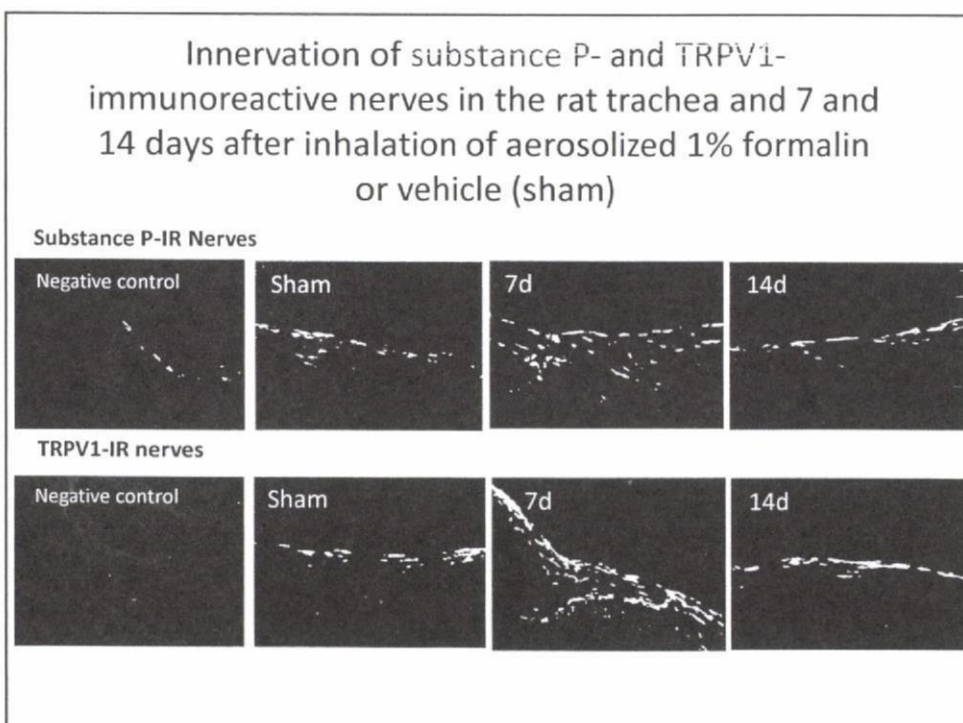


图7

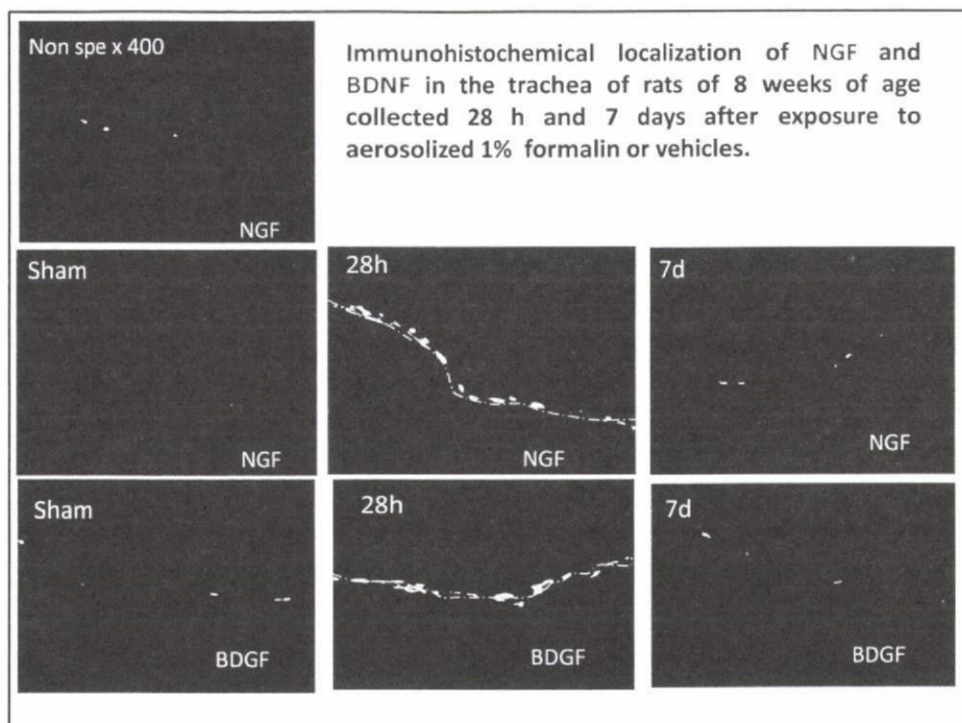
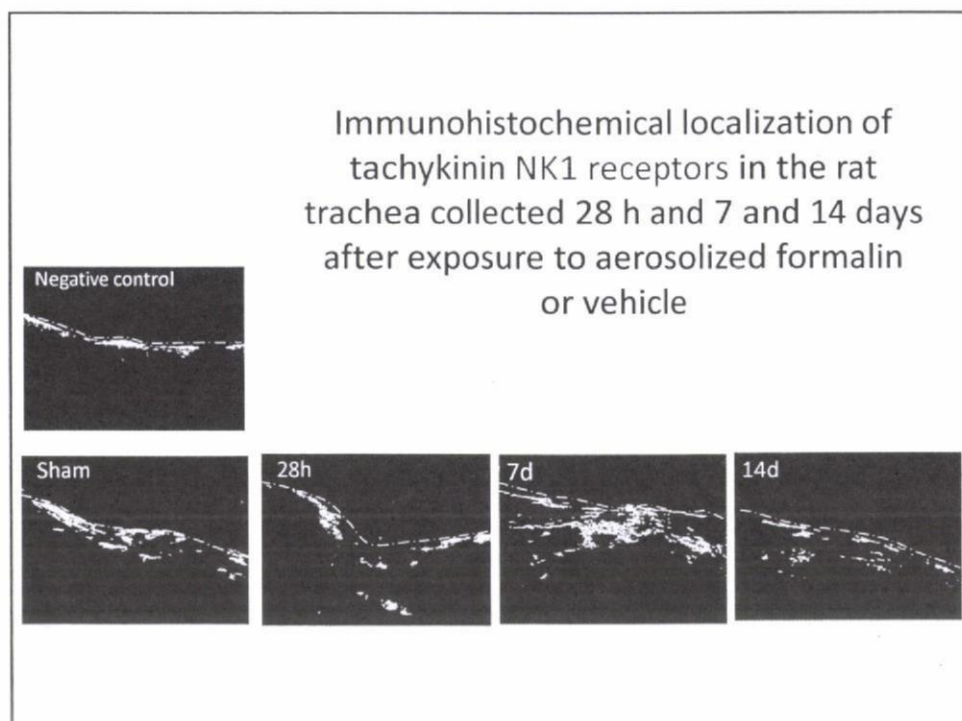


图8





## 揮発性有機化合物の反復塗布によるマウス皮膚に及ぼす影響

研究分担者 田中 宏幸 (岐阜薬科大学 機能分子大講座 薬理学研究室 准教授)

**研究要旨** これまでに分担研究者らは、シックハウス症候群の発症ならびに病態形成の機序の解明を目的とし、ホルムアルデヒド (FA) に対するマウス皮膚反応について検討を行ってきた。その結果、FA (2・10%) の反復塗布により耳介腫脹が生じることを明らかにした。そこで、本研究では FA 誘発皮膚炎の病態形成における機能分子の探索を行った。すなわち、マウスの耳介の表裏に 1 %あるいは 5 %の FA (溶媒: アセトン) を週 1 回、計 5 回反復塗布し、最終塗布 24 時間後の耳介組織における各種機能分子の mRNA 発現を real time RT-PCR 法を用いて解析したところ、FA の濃度に依存した interleukin-4 (IL-4)、および各種神経栄養因子ならびに侵害刺激の受容体である transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) の mRNA 発現の亢進が認められた。そこで、これら機能分子の病態形成における意義を検討する目的で、NGF の低親和受容体 p75<sup>NTR</sup>、IL-4、IL-13 または TRPV1 いずれかの遺伝子を欠損 (KO) させたマウスおよびそれぞれの野生型 (WT) マウスに FA を反復塗布し、生じた耳介腫脹の程度を比較したところ、WT マウスに比し、いずれの KO マウスにおいても耳介腫脹の減弱が認められた。さらに、NGF の高親和性受容体である trkA の tyrosine kinase 阻害薬である AG879 および k252a または TRPV1 受容体拮抗薬である capsazepine をマウスへ処置することによって、FA 反復塗布による耳介腫脹が有意に抑制された。以上の成績より、FA 反復塗布によって誘発される皮膚炎には Th2 優位な免疫反応ならびに神経栄養因子、TRPV1 を介した神経原性炎症が関与している可能性が推察された。一方、シックハウス症候群の治療的観点から免疫抑制剤であるプレドニゾロンおよび FK506 が FA 反復塗布による皮膚炎に及ぼす影響について検討を行ったところ、両薬物は本反応を用量依存的且つ有意に抑制した。さらに、FK506 投与群では vehicle のみを投与した群に比し、NGF および TRPV1 の mRNA 発現の減弱が認められた。したがって、FK506 は、NGF や TRPV1 を介した神経原性炎症を抑制することで薬効を発揮することが示唆された。

### 研究協力者

稲垣直樹 (岐阜薬科大学 機能分子大講座 薬理学研究室 教授)・臼田春樹 (岐阜大学大学院 連合創薬医療情報研究科 博士後期課程 1 年)・遠藤拓末 (岐阜薬科大学大学院 薬学研究科 修士 1 年)

### A. 研究目的

シックハウス症候群の主要な原因のひとつとして揮発性有機化合物 (VOCs) がよく知られている。中でもホルムアルデヒド (FA) は、建材、塗料、衣料品、紙など広範に使用されており、日常的に接触・曝露される機会が多いと考えられる。

また、皮膚や粘膜への刺激性や発がん性など、さまざまな毒性が指摘されてきたことから、FA がシックハウス症候群の病態形成にも関与していることが示唆されてきた。しかし、FA がシックハウス症候群を引き起こす機序はもとより、接触による皮膚症状の程度・閾値ならびに機序に関しても未だ不明である。

分担研究者らは、VOCs が皮膚へ曝露された際の影響を明らかにするため、これまでに BALB/c マウスの両耳介に FA を反復塗布した際に生じる皮膚反応について検討を行ってきた。その結果、2 回目の FA (2・10 %) 塗布により塗布 1 時間後をピークとする一過性の腫脹が観察され、3 回目の塗布以降では、1 および 24 時間後をピークと

する 2 相性の皮膚反応が観察された。さらに、これらの反応は FA の塗布濃度に依存した増大が認められた。また、RT-PCR 法を用いた検討から、FA の最終塗布 24 時間後の耳介において、Th2 サイトカインである IL-4、NGF をはじめとする神経栄養因子ならびに多モード侵害受容体として知られる TRPV1 の mRNA 発現の亢進が認められたことから、FA 反復塗布による皮膚炎には Th2 免疫応答および神経原性炎症が関与していることが推察された。

さらに、本反応で認められた様々な表現系が、他の多くの VOCs で共通に観察されるか否かについて検討を行ったところ、FA に比し、トルエンあるいはキシレンの反復塗布によって引き起こされた耳介腫脹反応は非常に弱く、かつ、50 および 100 % という非常に高濃度の曝露を要したことから、VOCs の中でも FA は皮膚に対する非常に強い起炎性を有することが明らかになった。

そこで、本研究ではシックハウス症候群の病態解明と治療標的の探索を目的とし、より定量性の高い real time RT-PCR 法を用いて耳介組織における種々の機能分子の mRNA 発現を解析した。さらに、それら機能分子が本反応の表現型に及ぼす影響を明らかにするために、IL-4 または IL-13、NGF 低親和性受容体である p75<sup>NTR</sup> あるいは TRPV1 の遺伝子を欠損 (KO) させたマウスにおける皮膚反応の観察、ならびに NGF の高親和性受容体である trkA の tyrosine kinase 阻害薬および TRPV1 受容体拮抗薬の FA 誘発皮膚炎に及ぼす影響について検討を行った。また、シックハウス症候群の治療的側面から、ステロイド薬であるプレドニゾロンならびに免疫抑制薬である FK-506 を用いた検討も併せて行った。

## B. 方法 (図 1)

### 1. FA 反復塗布曝露および耳介組織における mRNA 発現

雌性 BALB/c マウスの両耳介の表裏に 1 % および 5 % の FA を週 1 回、計 5 回反復塗布し反応を惹起した。最終 FA 塗布 24 時間後に耳介組織を採取し、real time RT-PCR 法により、IL-4、IFN- $\gamma$  および神経栄養因子である nerve growth factor (NGF)、brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、neurotrophin-3 (NT-3) ならびに glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)、

侵害刺激の受容体である TRPV1 の mRNA 発現を解析した。

### 2. 各種 KO マウスを用いた検討

NGF 低親和性受容体である p75<sup>NTR</sup> KO マウス (129Sv 系マウス: Jackson Laboratory, USA)、TRPV1 KO マウス (C57BL/6 系マウス: 自然科学研究機構岡崎バイオサイエンスセンター細胞生理部門 富永真琴教授より供与)、IL-4 KO マウス (BALB/c 系マウス: Jackson Laboratory, USA)、IL-13 KO マウス (BALB/c 系マウス: MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, UK、Andrew N.J McKenzie 博士ならびに佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医科学分野 出原賢治教授より供与) およびそれぞれの野生型 (WT) マウス両耳介の表裏に 5 % FA を週に 1 回計 5 回反復塗布し、生じた耳介腫脹反応の程度を各 KO マウスとそれぞれの WT マウスで比較した。TRPV1 KO マウスについては、最終 FA 塗布 24 時間後に耳介組織を採取し、real time RT-PCR 法により各種機能分子の mRNA 発現の解析を行った。

### 3. trkA tyrosine kinase 阻害薬の影響

NGF 高親和性受容体 trkA の tyrosine kinase 阻害薬である AG879 および k252a の影響を検討した。すなわち、AG879 および k252a は、エタノールに溶解し、FA の塗布前日から、連日 5 日間、FA の塗布日は FA 塗布 1 時間前にマウスの両耳介の表裏に 25  $\mu$ L ずつ、計 100  $\mu$ L を塗布した。

### 4. TRPV1 受容体拮抗薬 capsazepine の影響

TRPV1 受容体拮抗薬である capsazepine の影響を検討した。すなわち、capsazepine は 0.5 % CMC-Na-PBS 溶液に懸濁し、FA 塗布 30 分前に 30 mg/kg または 100 mg/kg の用量を皮下投与し、5 % FA 反復塗布による耳介腫脹に対する影響を検討した。

### 5. FA 反復塗布マウス皮膚炎に及ぼすステロイド薬ならびに免疫抑制薬の影響

免疫抑制剤である prednisolone (1 mg/kg、5 mg/kg) および FK506 (1 mg/kg、3 mg/kg) はそれぞれ精製水に溶解または CMC-Na-PBS 溶液に懸濁した。それぞれの薬物は FA 塗布 1 時間前に経口投与し、FA 反復塗布による耳介腫脹に対す



る影響を検討した。FK506 については最終 FA 塗布 24 時間後に耳介組織を採取し、real time RT-PCR 法により各種機能因子の mRNA 発現を解析した。

#### (倫理面への配慮)

なお、本実験における実験の取り扱いならびに実験方法に関しては、本学「動物実験の実施に関する規定」(平成 20 年 5 月 20 日制定)を遵守して実験を行った。また、遺伝子改変動物を用いた実験に関しては、本学バイオセーフティー委員会の承認を受け、その規約を遵守した。

### C. 結果

#### 1. 耳介組織における mRNA 発現 (図 2)

real time RT-PCR を用いて、IL-4、IFN- $\gamma$ 、NGF、BDNF、NT-3、GDNF および TRPV1 の mRNA 発現を定量的に解析したところ、いずれの mRNA 発現も FA の濃度に依存して亢進しており、その発現強度は IL-4 $\gg$  NGF $\gg$  BDNF、GDNF、TRPV1 $>$  NT-3、IFN- $\gamma$  の順であった。

#### 2. 各種 KO マウスを用いた検討

##### a) IL-4 KO マウスおよび IL-13 KO マウスにおける耳介腫脹反応 (図 3)

IL-4 KO マウスおよび IL-13 KO マウスの WT マウスでは 5 % FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察された。さらに、3 回目以降の塗布では即時性の腫脹に加え、塗布後 24 時間をピークとする 2 相性の皮膚反応が観察された。一方、IL-4 KO マウスおよび IL-13 KO マウスでは、それぞれの WT マウスに比し、2 回目以降の塗布 1 時間後および 3~5 回目の塗布 24 時間後の耳介腫脹の有意な減弱または減弱傾向が認められた。

##### b) p75<sup>NTR</sup> KO マウスにおける耳介腫脹反応 (図 3)

WT マウスでは 5 % FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察され、さらに 4 回目以降の塗布では即時性の腫脹に加え、塗布後 24 時間をピークとする 2 相性の皮膚反応

が観察された。これに対し、p75<sup>NTR</sup> KO マウスでは WT マウスに比し、3 回目以降の塗布 1 時間後および 3~5 回目の塗布 24 時間後の耳介腫脹の有意な減弱または減弱傾向が認められた。

##### c) TRPV1 KO マウスにおける耳介腫脹反応 (図 3 および 4)

WT マウスでは 5 % FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察された。さらに、3 回目以降の塗布では即時性の腫脹に加え、塗布後 24 時間をピークとする 2 相性の皮膚反応が観察された。一方、WT マウスに比し、TRPV1 KO マウスでは、2 回目以降の塗布 1 時間後および 3~5 回目の塗布 24 時間後の耳介腫脹の有意な減弱または減弱傾向が認められた。耳介における mRNA 発現の解析では、WT マウス、TRPV1 KO マウスいずれにおいても FA 塗布による IL-4 および IFN- $\gamma$  の mRNA 発現の亢進が認められたが、両マウス間でこれらの mRNA の発現強度に差は認められなかった。一方、WT マウスに比し TRPV1 KO マウスの FA 塗布群では、NGF、サブスタンス P のレセプターである NK-1 およびニューロキニン A のレセプターである NK-2 の mRNA 発現の減弱が認められた。

##### 3. trkA の tyrosine kinase 阻害薬の影響 (図 5)

対照マウスでは、5 % FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察され、この腫脹反応は塗布回数に依存して増大した。これに対し、trkA の tyrosine kinase 阻害薬は 5 回目の FA 塗布後に観察される耳介腫脹を有意に抑制した。

##### 4. TRPV1 受容体拮抗薬 capsazepine の影響の検討 (図 6)

対照マウスでは、5 % FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察され、この腫脹反応は塗布回数に依存して増大した。これに対し、capsazepine は FA 塗布によって誘発された耳介腫脹反応を用量依存的に抑制した。

##### 5. FA 反復塗布マウス皮膚炎に及ぼす免疫抑制剤の影響の検討 (図 7 および 8)



Prednisolone および FK506 の vehicle 投与群では 5% FA 反復塗布により 2 回目の塗布 1 時間後から即時性の腫脹が観察され、3 回目以降の塗布では即時性の腫脹に加え、塗布 24 時間後をピークとする 2 相性の皮膚反応が観察された。これに対し、プレドニゾロン投与群では vehicle 投与群に比し、3 回目以降の FA 塗布 1 時間後ならびに 24 時間後の耳介腫脹を用量依存的、かつ、有意に抑制あるいは抑制する傾向を示した。一方、FK506 投与群ではコントロール群に比し、3 回目以降の FA 塗布 1 時間後および 24 時間後の耳介腫脹の減弱または減弱傾向が認められた。この検討では、3 回目の FA 塗布における FK506 による耳介腫脹の抑制が用量依存的であったのに対して、4 回目および 5 回目の FA 塗布では、1 mg/kg、3 mg/kg いずれの用量でもほぼ同等の腫脹の減弱が認められた。さらに、耳介における mRNA 発現の解析を行ったところ、vehicle 投与群に比し、FK506 投与群では NGF および TRPV1 の mRNA 発現の減弱ならびに IL-4 の mRNA 発現の増強が観察された。

#### D. 考察

本研究では、FA 誘発皮膚炎の病態形成に関与すると思われる機能分子の探索を行った。また、シックハウス症候群の治療的観点から、本反応におけるステロイド薬ならびに免疫抑制薬の効果を検討した。

その結果、FA 反復塗布を行った BALB/c マウスの耳介局所において、IL-4 の mRNA の顕著な発現亢進が認められ、さらに WT マウスに比し、IL-4 KO マウスならびに IL-13 KO マウスにおいて FA 反復塗布による耳介腫脹反応の減弱が認められた。したがって、FA 反復塗布により誘発される皮膚炎には Th2 優位な免疫反応が関与していることが示された。周知のように IL-4 はナイーブ CD4<sup>+</sup> T 細胞からの Th2 細胞への分化、B 細胞における immunoglobulin E (IgE) のクラススイッチならびに炎症性細胞の組織浸潤などに寄与することが知られているが、これまで当研究室で行った検討において、FA 反復塗布を行ったマウスの血液中に FA 特異的 IgE は認められなかった。したがって、本モデルにおいては、IgE が FA 塗布後に認められる一過性の浮腫反応に関与している可能性は低いと考えられる。Th2 サイトカインがどのような機序で FA 反復塗布による皮膚炎に寄与するのかわからないが、皮膚に対する

ハプテンである fluorescein isothiocyanate (FITC) は、本モデルと同様に Th2 免疫応答を介した皮膚反応を生じることが報告されている。すなわち、FITC で感作およびチャレンジを行ったマウスで生じる耳介腫脹反応は IL-4 および IL-5 に対する抗体の投与および IL-4 の転写因子である stat6 の遺伝子を欠損したマウスにおいて減弱することが報告されている。しかし、FITC 塗布による皮膚反応は塗布後 24 時間をピークとする反応であり、即時性の腫脹は認められないことから、FA が Th2 免疫応答を誘導するハプテンとして機能するのかわからないについては今後さらなる検討が必要であると思われる。

一方、BALB/c マウスへの FA 反復塗布により、耳介において NGF、BDNF、GDNF および NT-3 の mRNA 発現の亢進が認められた。また、これらの神経栄養因子の共通の受容体である p75<sup>NTR</sup> の KO マウスでは WT マウスに比し、耳介腫脹反応の減弱が観察された。さらに、NGF の高親和性受容体である trkA のシグナル伝達に参与するチロシンキナーゼを阻害する AG-879 および k252a はいずれも FA 反復塗布によって誘発される耳介腫脹を有意に抑制した。従って、FA 反復塗布による皮膚炎には上述の神経栄養因子が関与することが示され、その機序として知覚神経の伸長による知覚過敏を介した神経原性炎症の誘発および増悪が推察される。一方、NGF をはじめとする神経栄養因子はアトピー性皮膚炎患者で発現が増加することが報告されている。また、当研究室で以前に行った卵白アルブミンに対するマウス喘息モデルの検討において、p75<sup>NTR</sup> KO マウスでは WT マウスに比し、アセチルコリンに対する気道過敏性の低下および気管支肺胞洗浄液中の炎症性細胞数の減少が観察されている。これらの知見から、神経栄養因子は神経原性炎症に関与するのみならず、Th2 優位な免疫応答に影響を及ぼす可能性が推察される。従って、今後 p75<sup>NTR</sup> KO マウスにおける FA 皮膚炎モデルをさらに詳細に解析することにより、FA 誘発皮膚炎における Th2 反応と神経栄養因子との関与が明らかにすることができるものと思われる。

本研究では耳介局所において侵害受容体である TRPV1 の mRNA 発現亢進が認められた。また、WT マウスに比し、TRPV1 KO マウスにおいて耳介腫脹反応の減弱が認められ、さらに TRPV1 のアンタゴニストである capsazepine でも耳介腫脹反応が抑制された。以上の成績から TRPV1 が FA 反復塗布による皮膚炎に重要な役割を果たしていることが示された。TRPV1 は知



覚神経のC線維に分布しており、活性化をうけると感覚神経終末からサブスタンスPやCGRPなどの神経ペプチドが放出され、それらによる神経原性炎症を起こす可能性が示唆されている。本反応においてTRPV1がFAによって直接活性化されるか否かは不明であるが、FA刺激によってアラキドン酸代謝物などの内因性TRPV1リガンドが放出され、それらがTRPV1を活性化して神経原性炎症が生じた可能性が考えうる。また、FA反復塗布を行ったTRPV1 KOマウスでは、WTマウスに比し、NGF、NF-1 およびNK-2のmRNA発現の減弱が認められたことから、本反応ではTRPV1が神経栄養因子や神経ペプチドレセプターの発現に影響を及ぼす可能性が推察される。しかし、NGFが受容体への結合を介してTRPV1の細胞表面への発現を亢進するという報告は数多くなされているものの、逆にTRPV1がNGFの発現を調節するのか否かについては知見が乏しく定かではない。従って、神経栄養因子とTRPV1との相互作用については、前述のp75 KOマウスにおけるFA皮膚炎モデルの解析をはじめとして、さらに検討を行う必要がある。

一方、シックハウス症候群の治療的観点から、ステロイド薬であるprednisoloneおよび免疫抑制薬FK506がFA反復塗布による皮膚炎に及ぼす影響を検討したところ、いずれの薬物もFAによる耳介腫脹反応を用量依存的、かつ、有意に抑制した。以上の成績より、ステロイド薬ならびに免疫抑制薬がFAによって生じる皮膚炎に有効であることが示された。また、FK506投与群ではvehicle投与群に比し、FA塗布後の耳介におけるNGFおよびTRPV1のmRNA発現の減弱が認められた。FK506が免疫抑制作用を発揮する機序としてT細胞のシグナル伝達分子であるカルシニューリンを阻害することがよく知られているが、アトピー様皮膚炎を自然発症したNC/NgマウスにFK506を塗布することにより、病変部表皮への神経線維の浸潤が抑制されることが報告されている。また、臨床においてもアトピー性皮膚炎の患者へのFK506製剤の塗布により無疹部および皮疹部のNGFタンパク発現が減弱することが報告されていることから、FK506は免疫細胞だけでなく神経細胞にも影響を及ぼすことが考えられる。従って、本反応においてFK506はNGFやTRPV1の発現を抑制することで、これらの分子を介した神経原性炎症を抑制することが推察される。

## E. 結論

FA反復塗布によって誘発される皮膚炎にはTh2優位な免疫反応ならびにNGF等の神経栄養因子やTRPV1を介した神経原性炎症が関与している可能性が推察された。また、ステロイド薬ならびに免疫抑制薬はFAによって生じる皮膚炎に有効であることが示された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 東 明香、齋藤朝香、田中宏幸、稲垣直樹、永井博弼: ホルムアルデヒド (FA) 反復塗布マウス皮膚炎モデルの解析 第56回日本アレルギー学会総会 一般演題11 2006. 11. 2. 東京
- 2) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博弼: 揮発性有機化合物の反復塗布によるマウス皮膚炎モデルの解析 第57回日本アレルギー学会総会 シンポジウム7 2007. 6. 11. 横浜
- 3) 下内鮎美、田中宏幸、齋藤朝香、稲垣直樹、永井博弼: ホルムアルデヒド(FA)反復塗布マウス皮膚炎モデルの解析 第57回日本アレルギー学会総会 一般演題95 2007. 11. 1. 横浜
- 4) 遠藤拓未、田中宏幸、下内鮎美、白田春樹、齋藤朝香、稲垣直樹、永井博弼: ホルムアルデヒド(FA)反復塗布誘発マウス皮膚炎モデルにおける侵害刺激受容体の影響 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 一般演題179 2008. 11. 28. 東京

### 3. 総説

田中宏幸、稲垣直樹、永井博弼: シックハウス症候群の発症 - マウス皮膚炎モデル - 臨床免疫・アレルギー科 46: 188-192: 2006

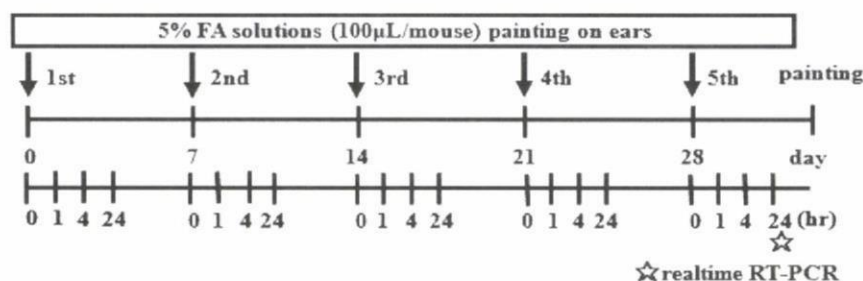
## G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。



①

Experimental Protocol (FA painting protocol)



②

Experimental Protocol (tyrosin kinase inhibitor administration protocol)

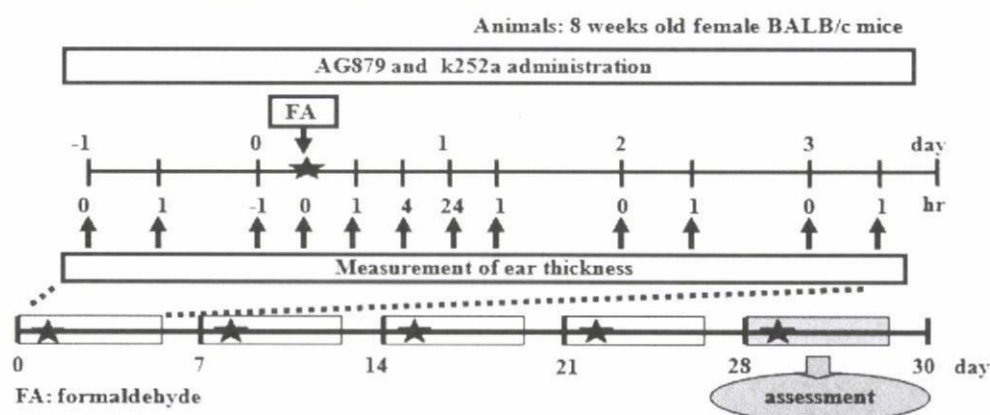


図 1 実験プロトコール

FA 反復塗布実験①ならびに NGF 高親和性受容体 *trkA* の tyrosine kinase 阻害薬の影響②を検討した際のスケジュール。FA の塗布は週に 1 回計 5 回行い、それぞれの塗布直前 (0 時間)、塗布 1、4、24 時間後に耳介の厚さを測定した。また、mRNA 発現の解析を行った検討では 5 回目の FA 塗布 24 時間後に耳介組織を採取した。AG879 および k252a は、FA の塗布前日から連日 5 日間、FA の塗布日は FA 塗布 1 時間前にマウスの両耳介の表裏に 25  $\mu$ L ずつ、計 100  $\mu$ L を塗布した。

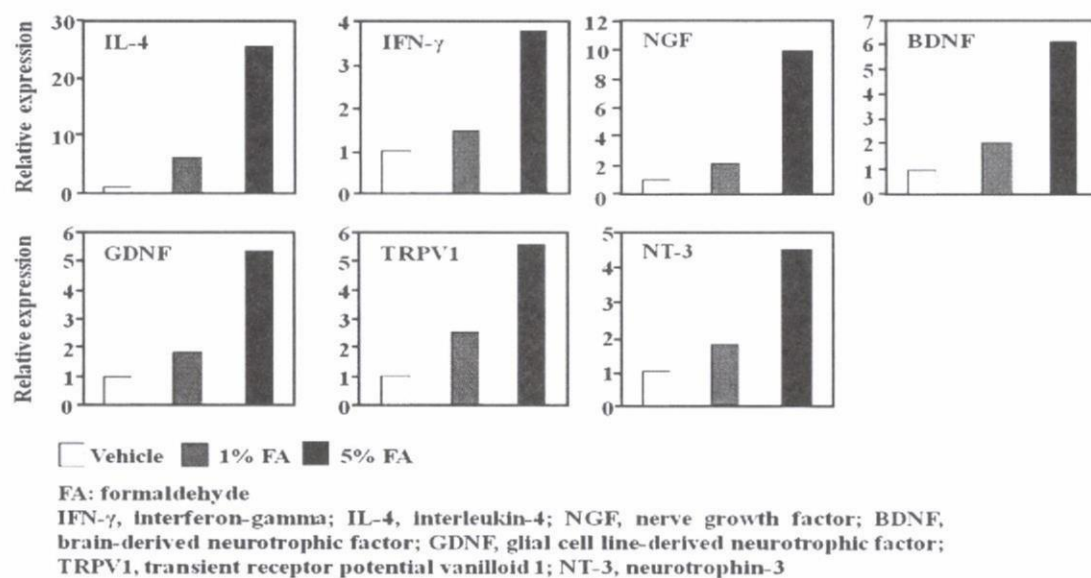


図 2 5回目のFA塗布24時間後のBALB/cマウス耳介におけるmRNA発現  
 各群6ないし7匹より調整したcDNAを等量ずつプールしたものをテンプレートとしてreal time RT-PCRを行った。グラフ縦軸はvehicle群の発現を1とした際の発現強度を示す。発現強度はIL-4  
 ≫ ≫ NGF ≫ BDNF、GDNF、TRPV1 > NT-3、IFN- $\gamma$ の順であった。

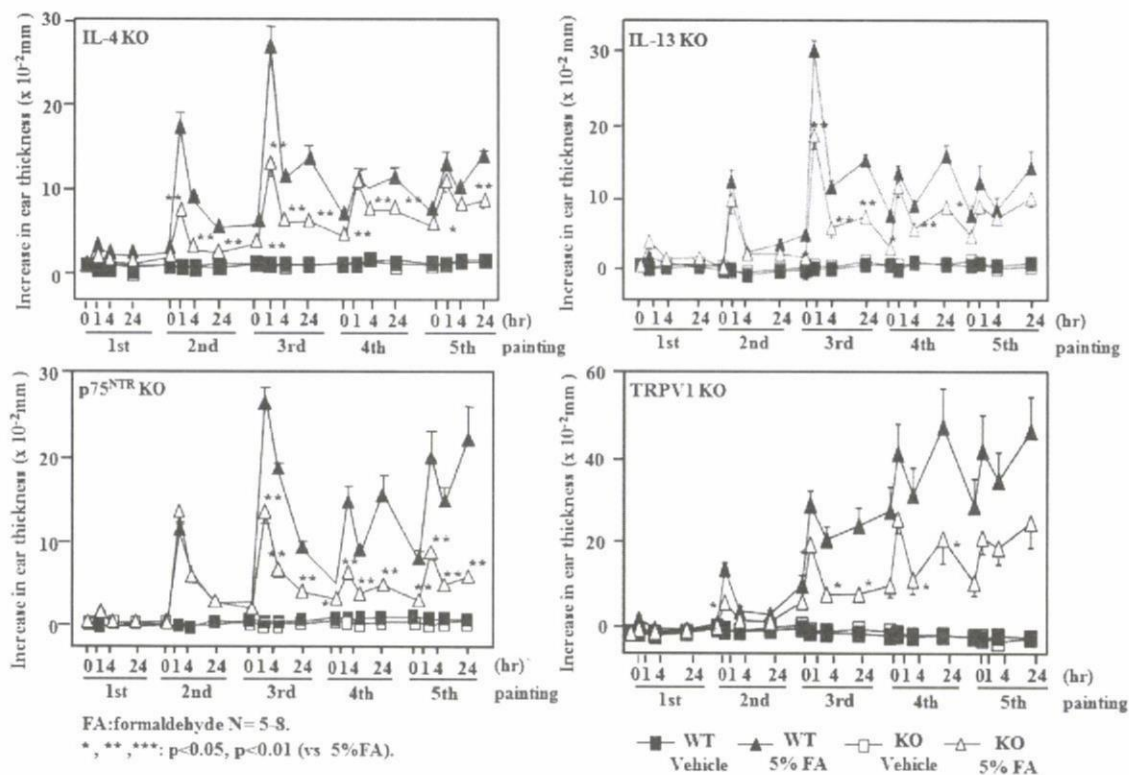
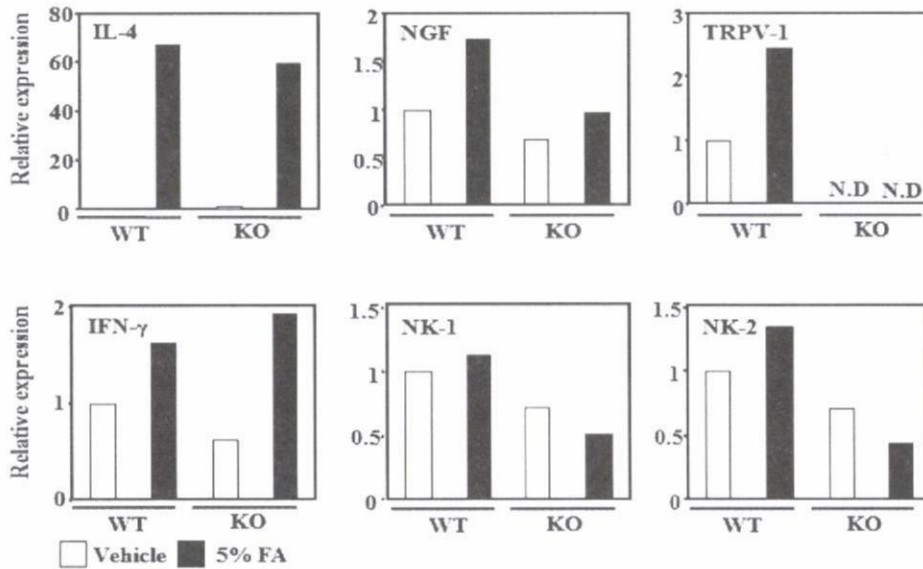


図 3 IL-4、IL-13、p75<sup>NTR</sup> および TRPV1 それぞれの遺伝子欠損 (KO) マウスへの FA 反復塗布による耳介腫脹反応

5% FA を週に 1 回計 5 回塗布し、それぞれの塗布直前 (0 時間)、塗布 1、4、24 時間後に耳介の厚さを測定した。グラフは各種機能因子の遺伝子を欠損させたマウスにおける耳介腫脹反応の経時変化を示す。IL-4、IL-13、p75<sup>NTR</sup> および TRPV1 いずれの KO マウスにおいても WT マウスに比し、耳介腫脹反応の減弱が認められた。





FA, formaldehyde; IFN- $\gamma$ , interferon-gamma; IL-4, interleukin-4; NGF, nerve growth factor; TRPV1, transient receptor potential vanilloid 1; NK-1, neurokinin-1; NK-2, neurokinin-2

図 4 5回目のFA塗布24時間後のTRPV1 KOマウスおよびWTマウス耳介におけるmRNA発現

各群5ないし7匹より調整したcDNAを等量ずつプールしたものをテンプレートとしてreal time RT-PCRを行った。グラフ縦軸はWTマウスのvehicle群の発現を1とした際の発現強度を示す。TRPV1 KOマウスではWTマウスに比し、FA塗布後の耳介においてNGF、NK-1およびNK-2のmRNA発現の減弱が認められた。

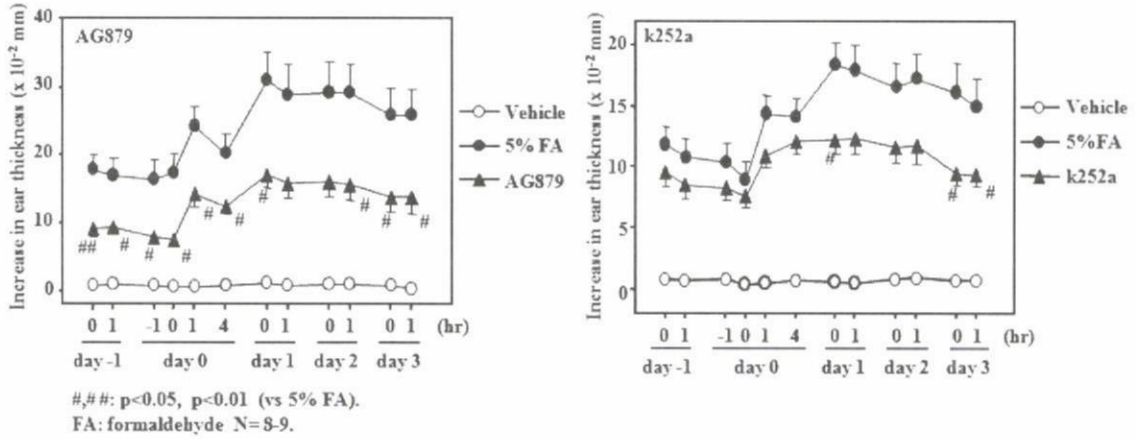


図 5 trkA tyrosine kinase 阻害薬 AG-879 および k252a が FA 誘発耳介腫脹反応に及ぼす影響

グラフはそれぞれ AG-879 (左) および k252a (右) 処置を行ったマウスおよび対照マウスにおける 5 回目の FA 塗布前日から 3 日後までの耳介腫脹の成績を示す。両薬物は FA 塗布後に観察される耳介腫脹を有意に抑制した。

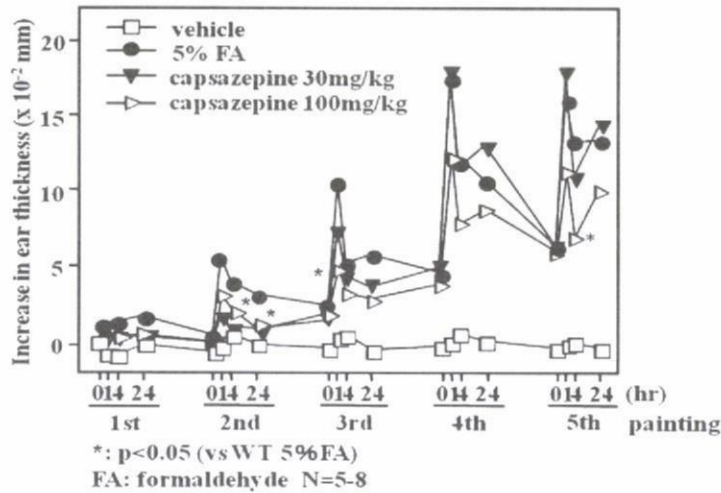


図 6 TRPV1 受容体拮抗薬 capsazepine が FA 誘発耳介腫脹反応に及ぼす影響

グラフは capsazepine 処置を行ったマウスおよび対照マウスにおける耳介腫脹反応の経時変化を示す。capsazepine は用量依存的に FA 塗布による耳介腫脹反応を抑制した。

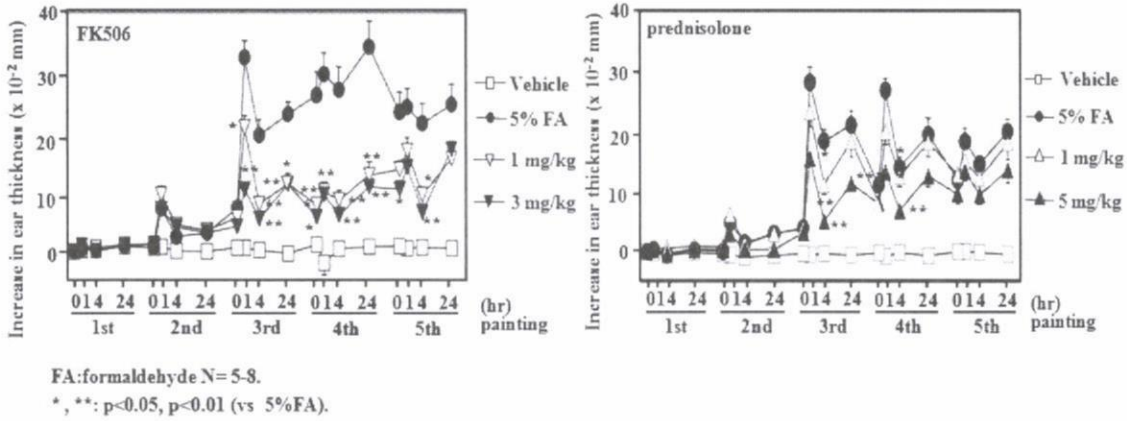


図 7 FA 反復塗布による耳介腫脹反応に及ぼす免疫抑制剤の影響

グラフは FK506 (左) および prednisolone (右) 投与を行ったマウスとそれぞれの対照マウスにおける耳介腫脹反応の経時変化を示す。両薬物とも FA によって生じた耳介腫脹反応を用量依存的に抑制した。

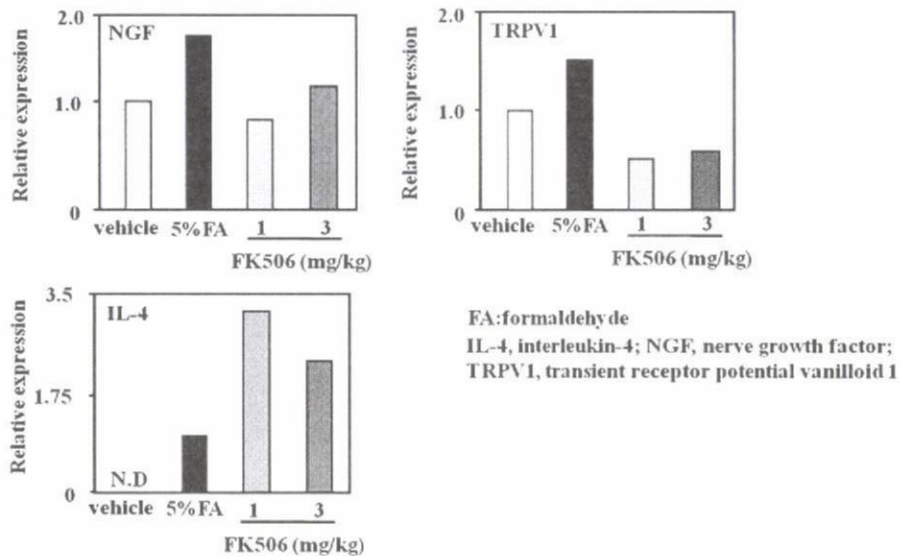


図 8 5 回目の FA 塗布 24 時間後の FK506 投与群および対照群における mRNA 発現

各群 5 ないし 8 匹より調整した cDNA を等量ずつプールしたものをテンプレートとして real time RT-PCR を行った。グラフ縦軸は vehicle 群の発現を 1 とした際の発現強度を示す。FK506 投与群では対照群に比し、NGF、TRPV1 の mRNA 発現の減弱が認められた。



### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
木村五郎 高橋 清	シックハウス症候群	宮本昭正	臨床アレルギー学 改訂第3版	南江堂	東京	2007	458-460
長谷川眞紀	化学物質過敏症	杉本恒明、 矢崎義雄編	内科学	朝倉書店	東京	2007	1973-1976

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
長谷川眞紀	シックハウス症候群 ・化学物質過敏症の 診療	医療	63	11-17	2009
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.	Toxicology	255	100-106	2009
長谷川眞紀	シックハウス症候群 ・化学物質過敏症研 究の現状と今後の展 望	アレルギーの臨床	28	237-238	2008
久満美奈子、茶菌英明、 岡本美孝	ホルムアルデヒド暴 露の影響のfunctiona l MRIを用いた検討	アレルギーの臨床	28	482-485	2008
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
内尾英一	小児結膜アレルギー の病態とは？	Q&Aでわかるアレル ギー疾患	4	460-461	2008
秋山一男	解説 室内環境におけ るアレルギー疾患の現 状—真菌アレルギーを 中心に—	室内環境	10	11-16	2007
木村五郎、岡田千春、宗 田 良、高橋 清	シックハウス症候群	総合臨床	56	1845-1847	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
鳥居新平、平山耕一郎、 秋山一男、池澤善郎、 内尾英一、岡本美孝、 小倉英郎、高橋清、 西間三馨	シックハウス症候群と 未分類の多種化学物質 過敏症の分離の試み— シックハウス症候群の 定義および症状—	アレルギー	55	1515-1530	2006
木村五郎	シックハウス症候群の 診断—負荷テストの現 状と問題点	臨床免疫・アレルギー科	46	170-174	2006
木村五郎	シックハウス症候群最 新情報 (第1回)	食べもの通信	428	25	2006
木村五郎	シックハウス症候群最 新情報 (第2回)	食べもの通信	429	24	2006
木村五郎	シックハウス症候群最 新情報 (第3回)	食べもの通信	430	24	2006
高橋一夫	環境化学物質とアトピ ー性皮膚炎	皮膚の科学	5	24-28	2006
田中宏幸、稲垣直樹、 永井博弐	シックハウス症候群の 発症 —マウス皮膚炎モデル —	臨床免疫・アレルギー科	46	188-192	2006
長谷川真紀	シックハウス症候群と アレルギーの関連	臨床免疫・アレルギー科	46	165-169	2006
長谷川真紀	シリーズ・アレルギー 疾患及び関連疾患 シ ックハウス症候群・化 学物質過敏症	医療の広場	46	10-13	2006
長谷川真紀	特集「環境と皮膚アレ ルギー」 化学物質過 敏症	皮膚アレルギーフ ロンティア	4	135-139	2006
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