

Figure 1. 実験デザイン **【実験 A1】**

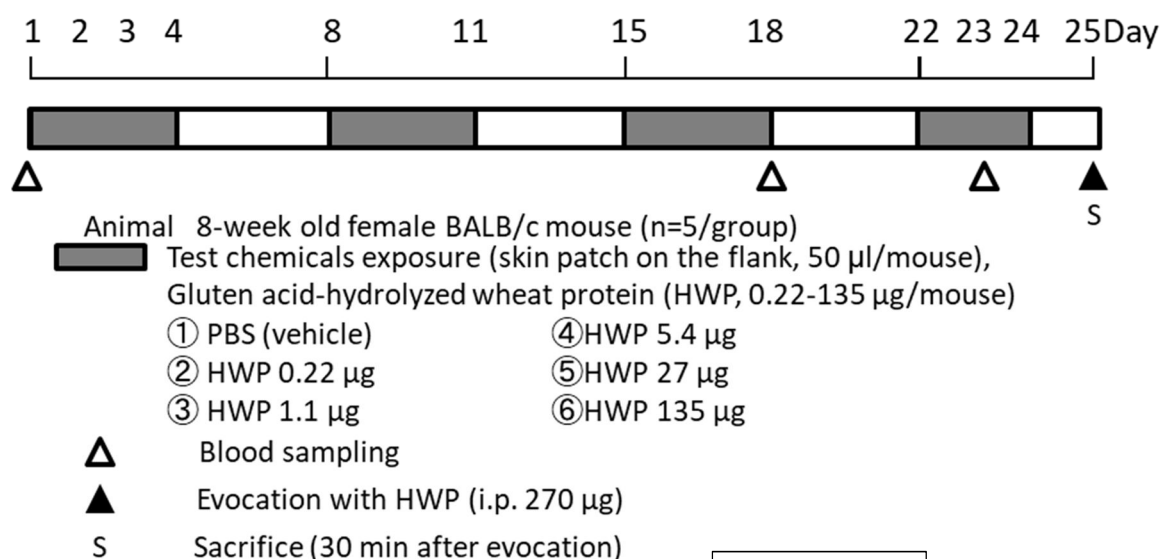


Figure 2. 実験デザイン **【実験 A2】**

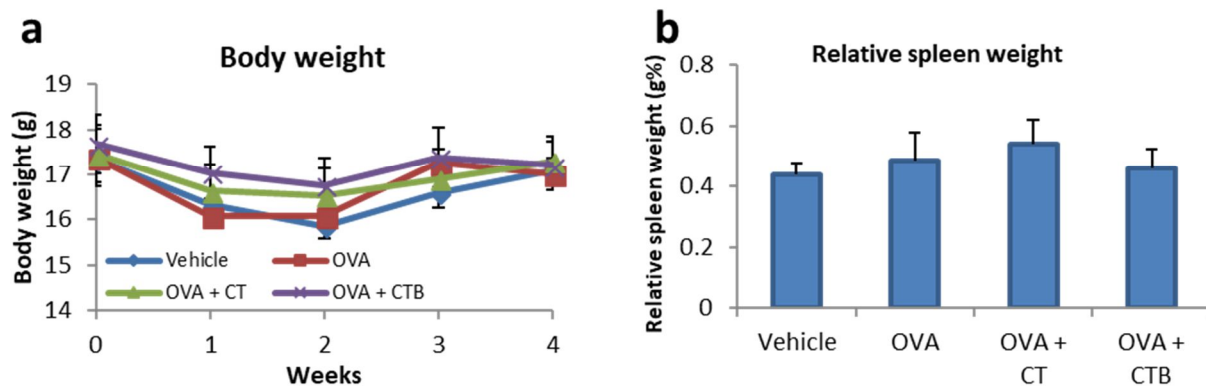


Figure 3. 体重 (a)及び相対脾臓重量 (b) **【実験 A1】**

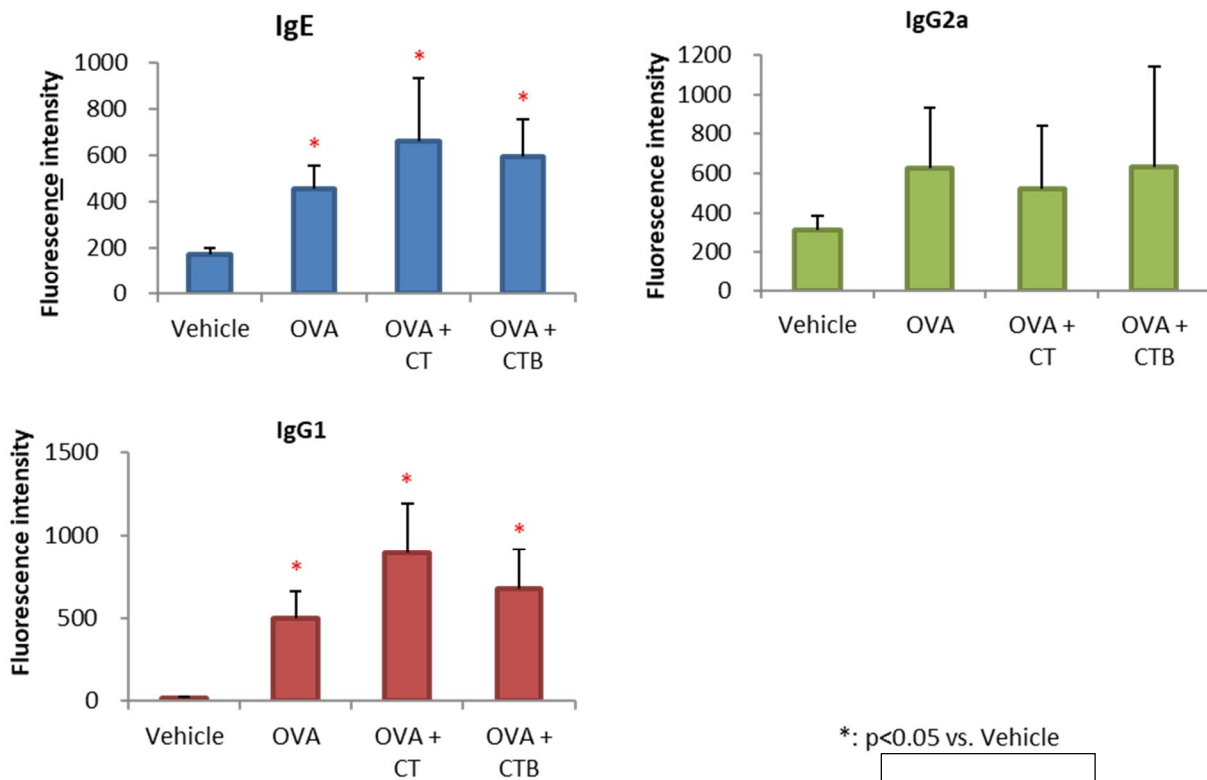
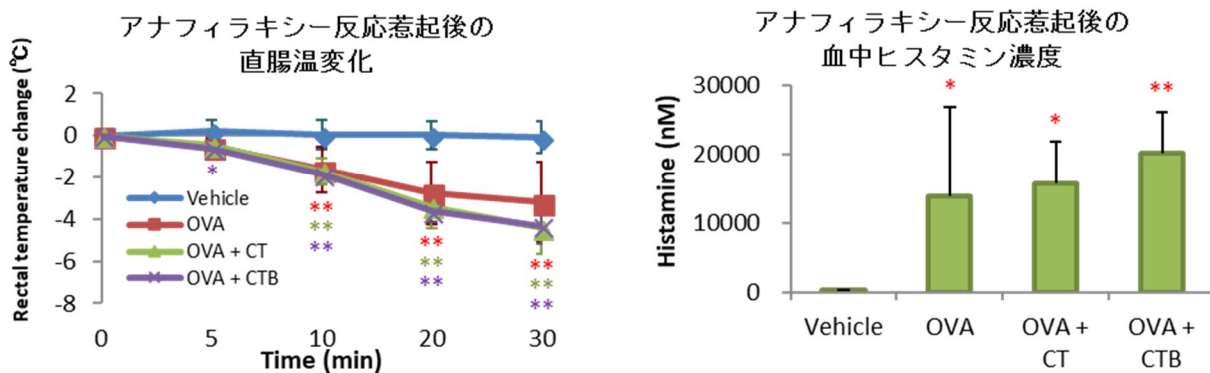
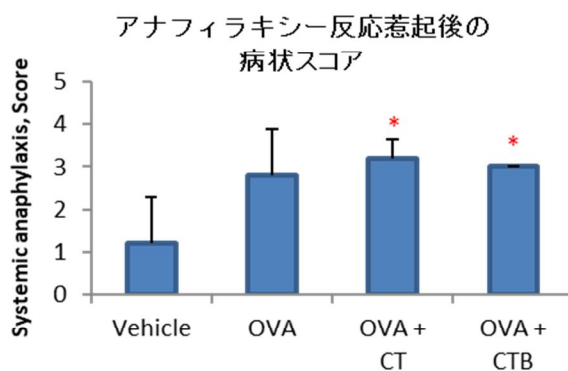


Figure 4. 血清中のOVA特異的抗体産生【実験 A1】



アナフィラキシー症状のスコアリング

- Score 0 症状なし
- 1 口、耳、鼻、頭などを掻く、後ろ肢で耳の穴を掻く
 - 2 活動低下、呼吸が速くなる、眼・鼻・口の周囲の腫脹、立毛
 - 3 1分以上動かない、うつぶせで横たわる、ゼーゼーと息を切らす、呼吸困難、口の周囲や尾のチアノーゼ、一過性の痙攣
 - 4 ひげに触れても反応しない、刺激に対する反応の低下・無反応、意識消失、震え、痙攣
 - 5 死亡



*, **: p<0.05, p<0.01 vs. Vehicle

Figure 5. アナフィラキシー反応惹起の反応【実験 A1】

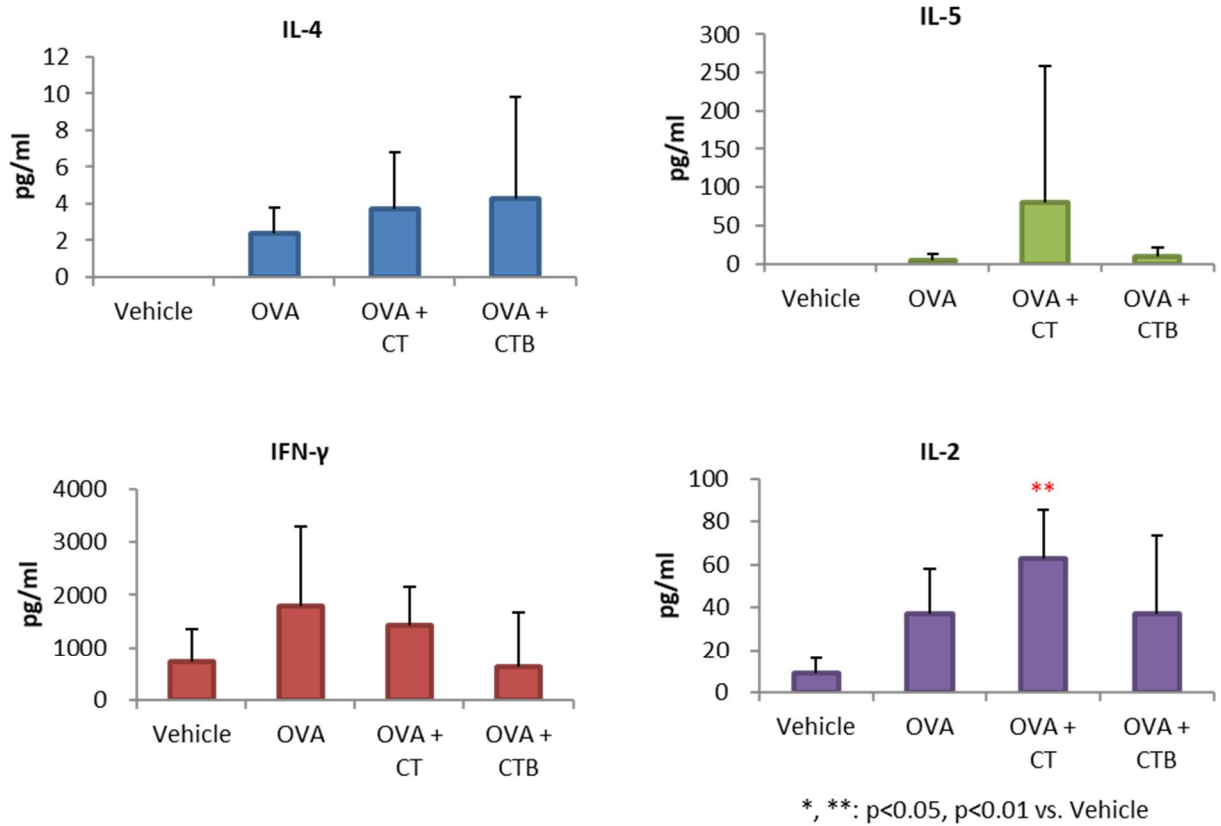


Figure 6. 抗原再暴露による感作脾臓細胞におけるサイトカイン分泌

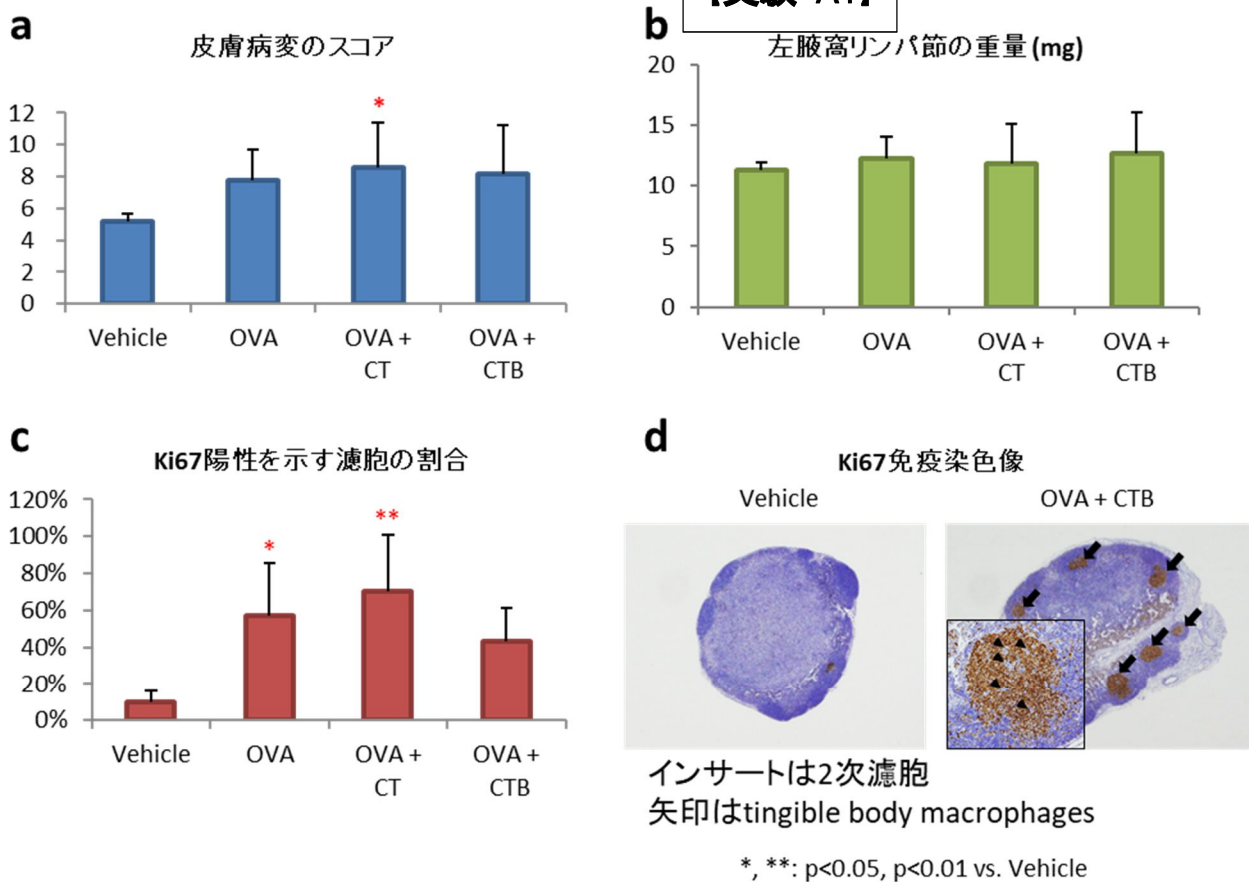


Figure 7. 皮膚病変のスコア (a)、左腋窩リンパ節の重量 (b)、細胞増殖マーカーであるKi67陽性を示す濾胞の割合 (c)及びKi67免疫染色像 (d)

【実験 A1】

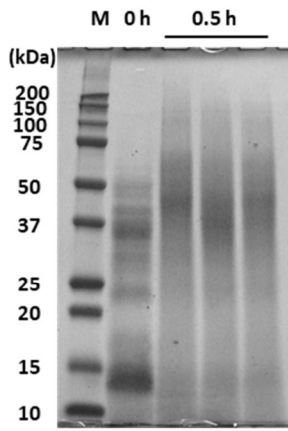


Figure 8. グルテン酸加水分解物の電気泳動像 **【実験 A2】**

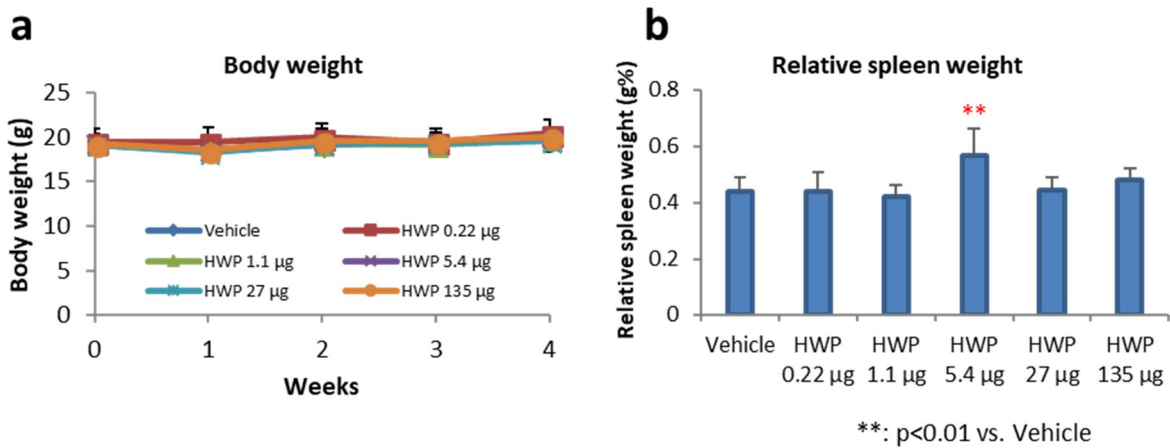


Figure 9. 体重 (a)及び相対脾臓重量 (b) **【実験 A2】**

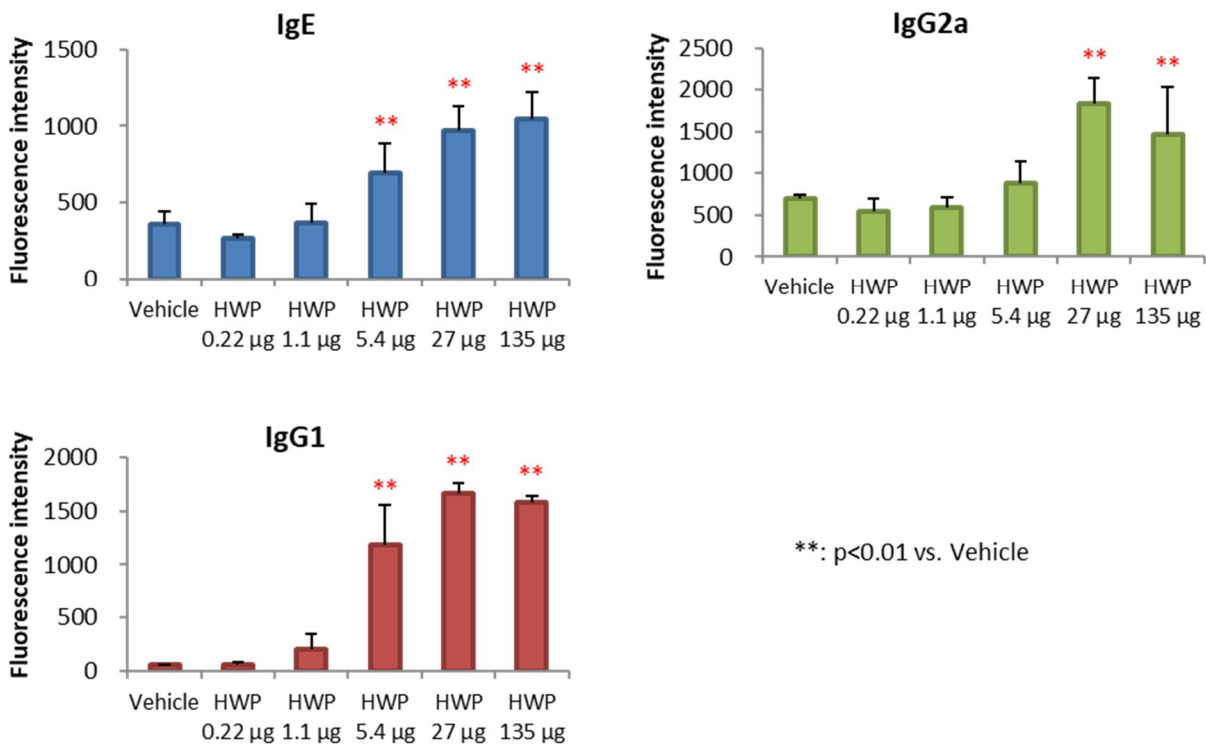
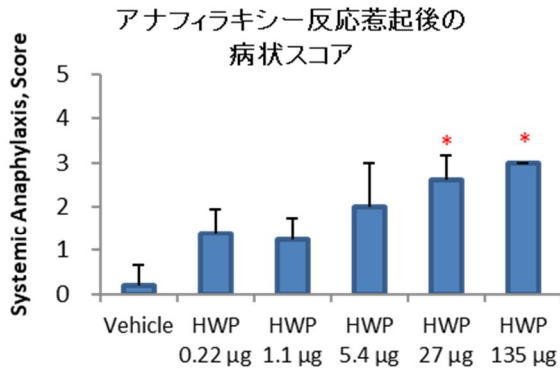
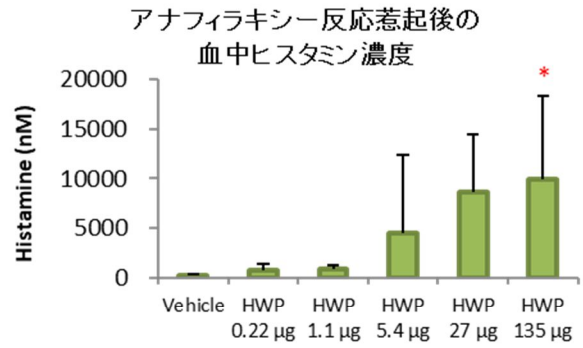
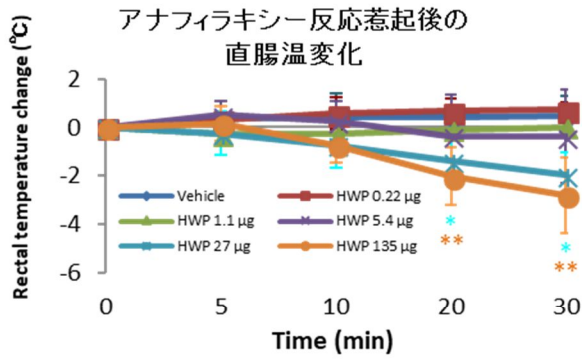


Figure 10. 血清中のOVA特異的抗体産生 **【実験 A2】**



*, **: p<0.05 and p<0.01 vs. Vehicle

Figure 11. アナフィラキシー反応惹起の反応 **【実験 A2】**

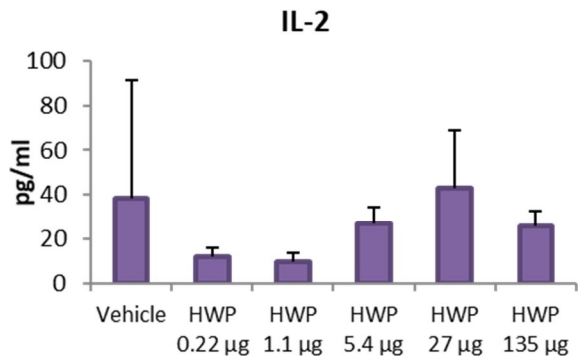
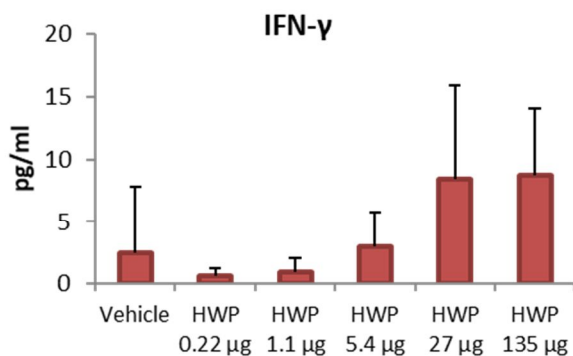
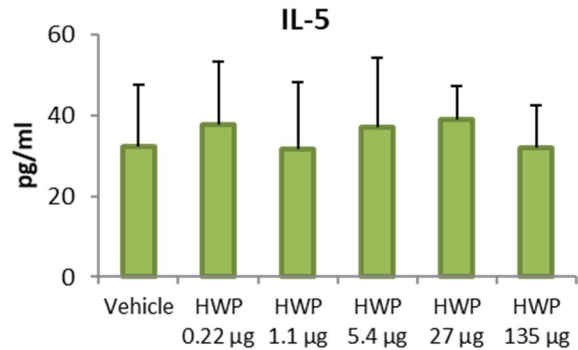
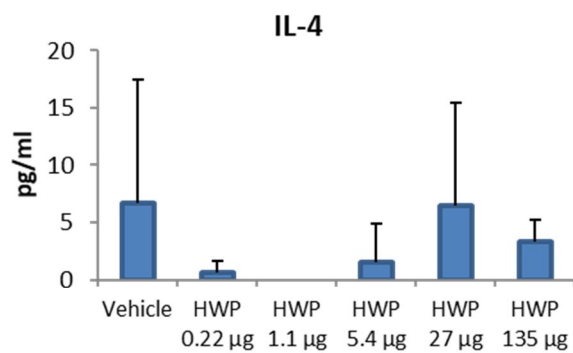
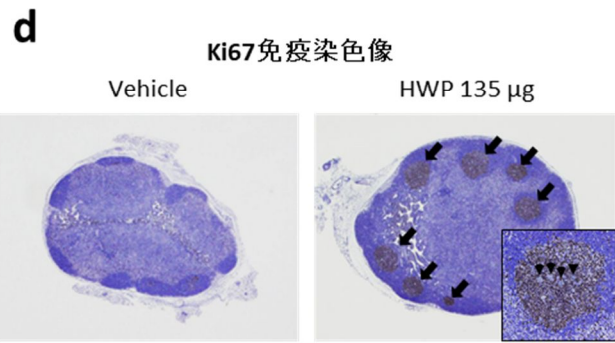
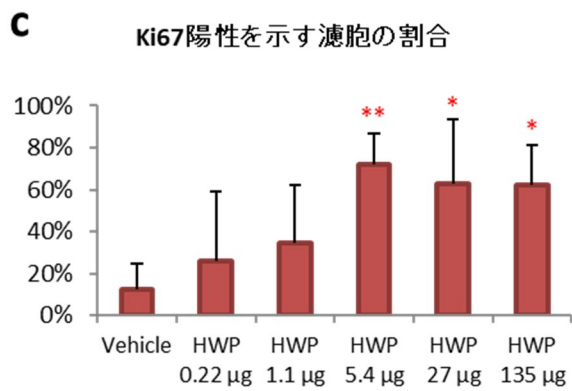
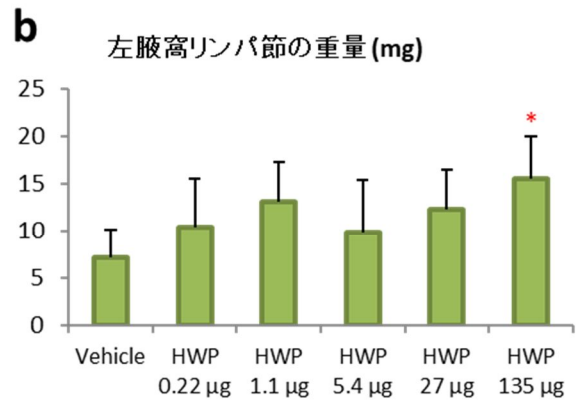
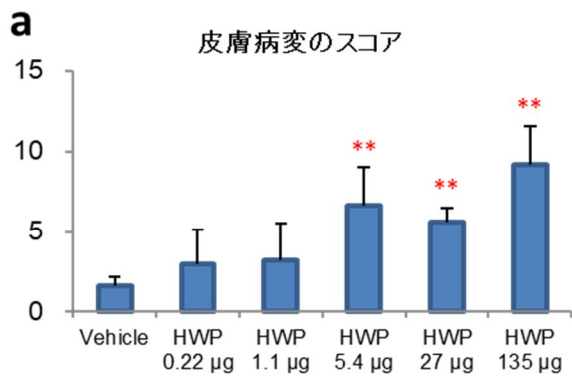


Figure 12. 抗原再暴露による感作脾臓細胞におけるサイトカイン分泌 **【実験 A2】**



矢印は2次濾胞
矢頭はtingible body macrophages

*, **: p<0.05 and p<0.01 vs. Vehicle

Figure 13. 皮膚病変のスコア (a)、左腋窩リンパ節の重量 (b)、細胞増殖マーカーであるKi67陽性を示す濾胞の割合 (c)及びKi67免疫染色像 (d)

【実験 A2】

【実験 A1】

Table 1. 病理組織学的所見 (実験1)

Treatment	No. of animal	Skin			
		Acanthosis	Hyperkeratosis	Hydropic degeneration of the basal layer	Inflammatory cell infiltration
		+ / ++ / +++	+ / ++ / +++	+ / ++ / +++	+ / ++ / +++
Vehicle	5	5/0/0	1/4/0	4/1/0	4/1/0
OVA	5	3/1/1	1/2/2	1/2/2	1/4/0
OVA + CT	5	1/1/2	3/1/1	0/1/4	0/3/2
OVA + CTB	5	2/0/3	2/0/3	1/3/1	2/2/1

Grading standard

Grade	Acanthosis	Hyperkeratosis	Hydropic degeneration of the basal layer	Inflammatory cell infiltration
+: mild	4層以上の有棘細胞層 1-3箇所	びまん性角化亢進	隣接した3個以上の細胞による病変 1-10箇所	炎症細胞が真皮に浸潤 集簇無し
++: moderate	4-6箇所	びまん性角化亢進 有棘細胞2層以上の高さ、皮脂腺 1個分以上の高さを示す限局性角 化亢進 1-3箇所	11-20箇所	炎症細胞が真皮に浸潤 限局性集簇有り
+++: severe	7箇所以上	4箇所以上	21箇所以上	炎症細胞が皮下組織まで浸潤 びまん性浸潤

【実験 A2】

Table 2. 病理組織学的所見 (実験2)

Treatment	No. of animal	Skin			
		Acanthosis	Hyperkeratosis	Hydropic degeneration of the basal layer	Inflammatory cell infiltration
		+ / ++ / +++	+ / ++ / +++	+ / ++ / +++	+ / ++ / +++
Vehicle	5	4/0/0	0/1/0	1/0/0	1/0/0
HWP 0.22 µg	5	4/0/0	1/2/0	1/1/0	3/0/0
HWP 1.1 µg	4	3/1/0	2/1/0	1/1/0	4/0/0
HWP 5.4 µg	5	2/1/1	0/1/2	1/2/1	0/5/0
HWP 27 µg	5	3/2/0	4/1/0	3/2/0	2/3/0
HWP 135 µg	5	1/0/4	0/1/3	2/0/3	0/4/1

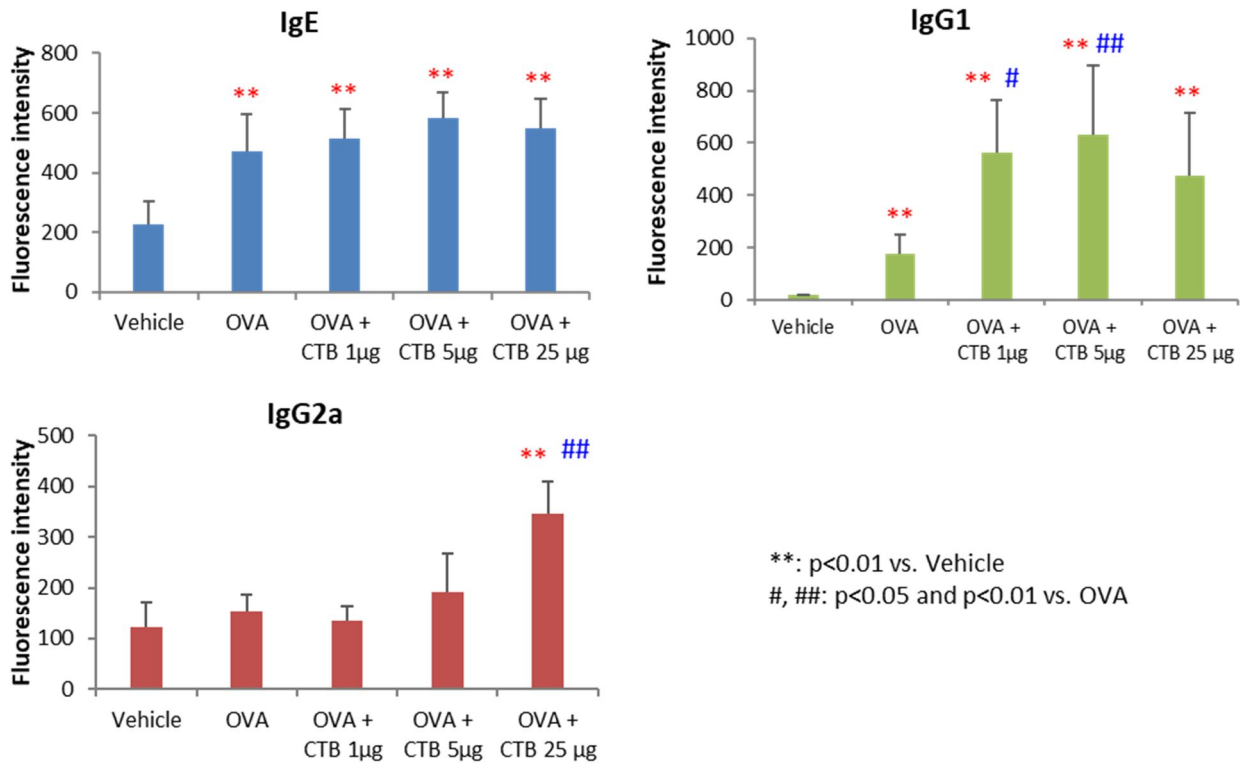


Figure 4. 血清中の OVA 特異的抗体産生 **【実験 A3】**

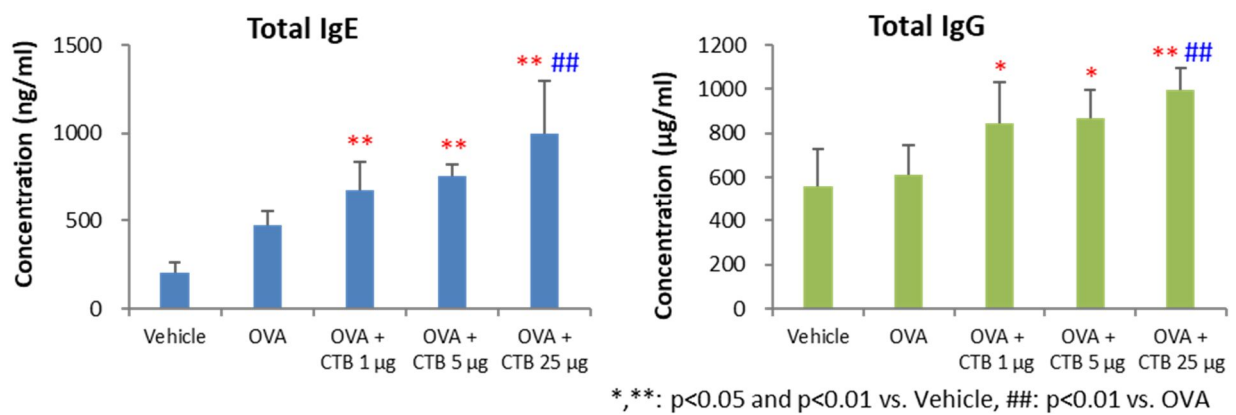
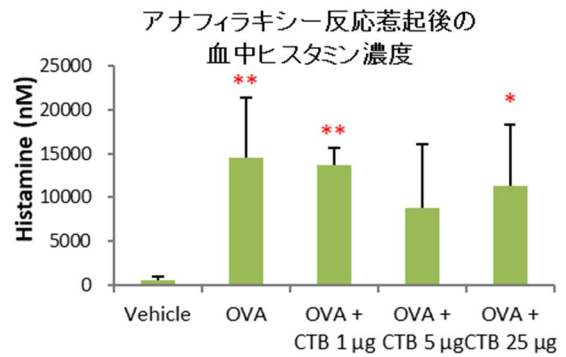
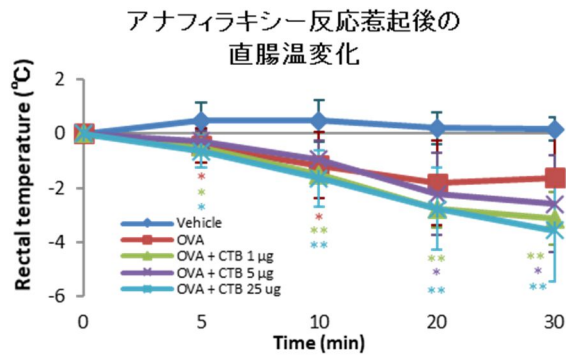
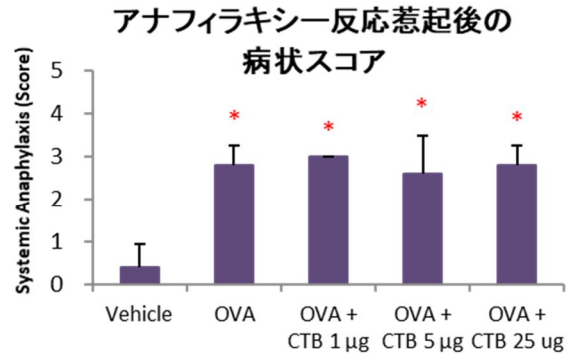


Figure 5. 血清中の総 IgE 及び総 IgG 抗体産生 **【実験 A3】**



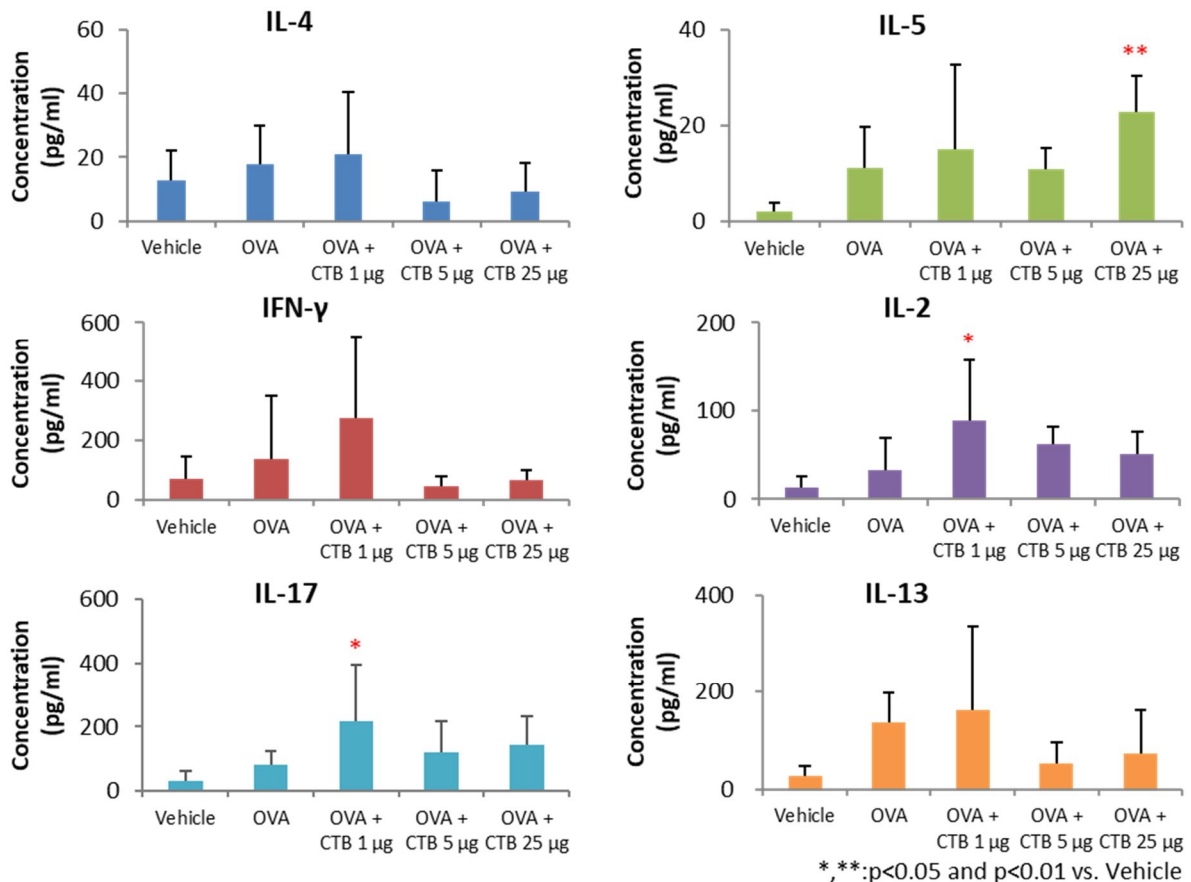
アナフィラキシー症状のスコアリング

- Score 0 症状なし
- 1 □、耳、鼻、頭などを掻く、後ろ肢で耳の穴を掻く
 - 2 活動低下、呼吸が速くなる、眼・鼻・口の周囲の腫脹、立毛
 - 3 1分以上動かない、うつぶせで横たわる、ゼーゼーと息を切らす、呼吸困難、口の周囲や尾のチアノーゼ、一過性の痙攣
 - 4 ひげに触れても反応しない、刺激に対する反応の低下・無反応、意識消失、震え、痙攣
 - 5 死亡



*, **: p<0.05, p<0.01 vs. Vehicle

Figure 6. アナフィラキシー反応惹起の反応 **【実験 A3】**



*, **: p<0.05 and p<0.01 vs. Vehicle

Figure 7. 抗原再暴露による感作脾臓細胞におけるサイトカイン分泌 **【実験 A3】**

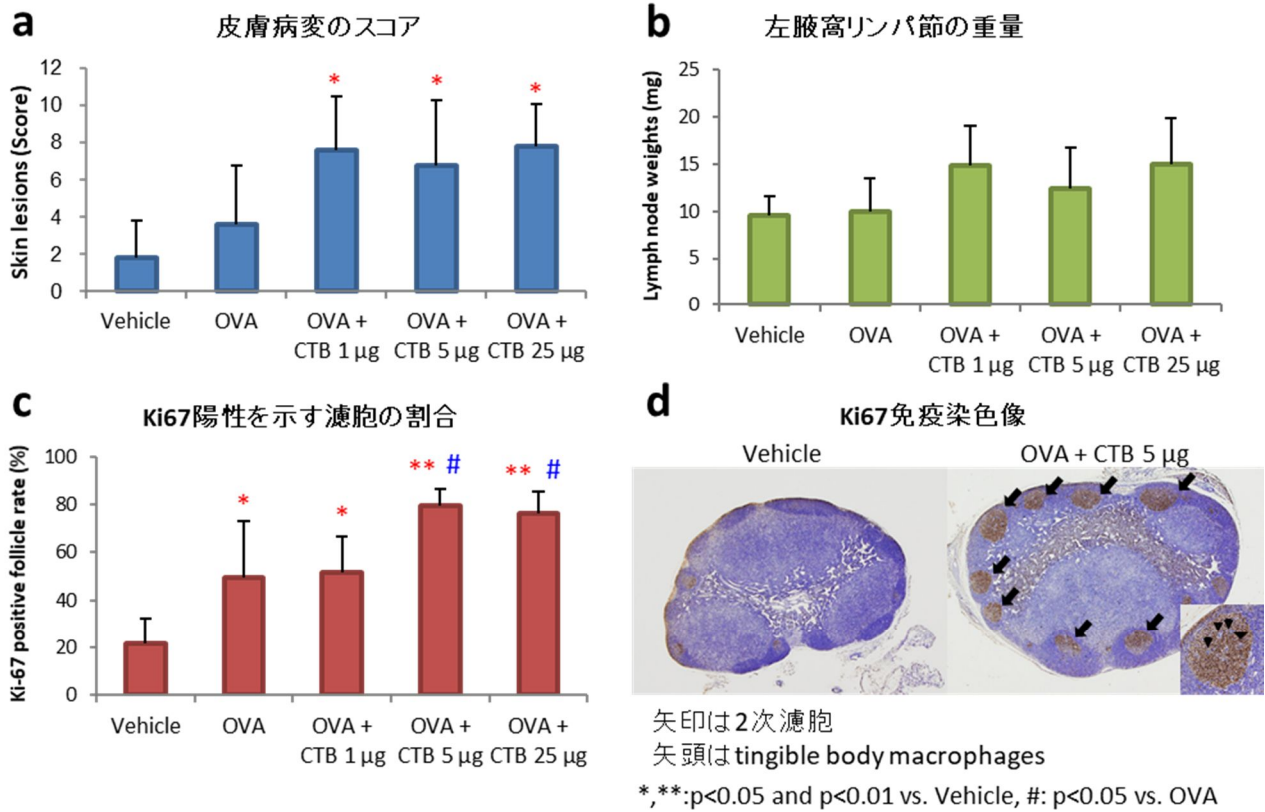


Figure 8. 皮膚病変のスコア (a)、左腋窩リンパ節の重量 (b)、細胞増殖マーカーである Ki67陽性を示す濾胞の割合 (c) 及び Ki67免疫染色像 (d)

【実験 A3】

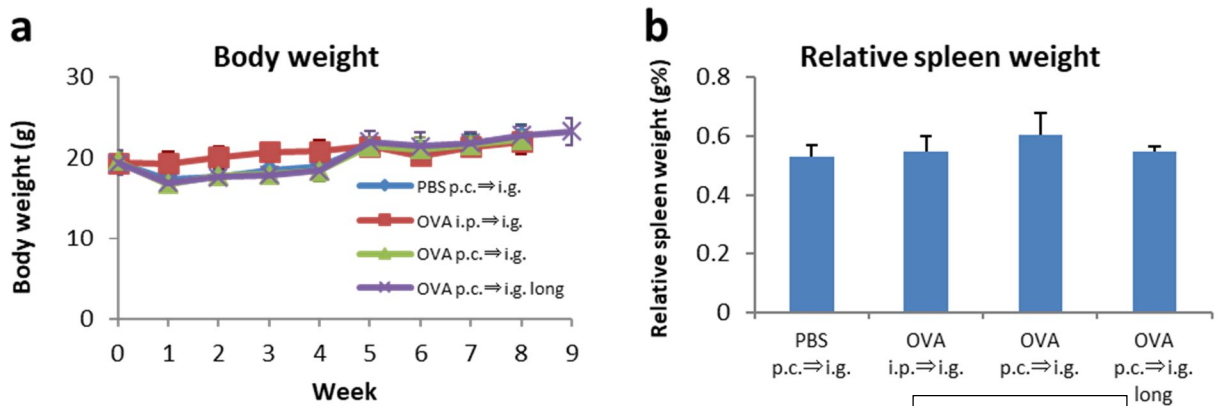


Figure 9. 体重 (a) 及び 相対脾臓重量 (b)

【実験 A4】

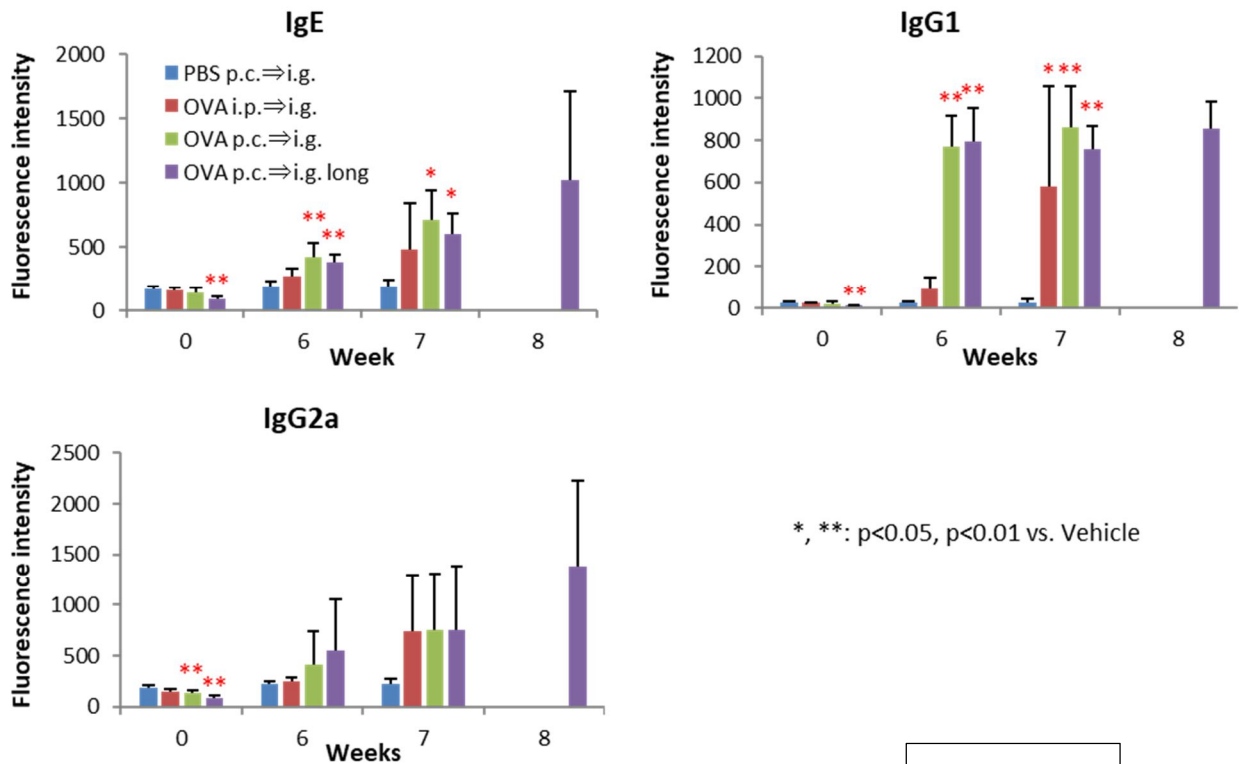


Figure 10. 血清中の OVA 特異的抗体産生 **【実験 A4】**

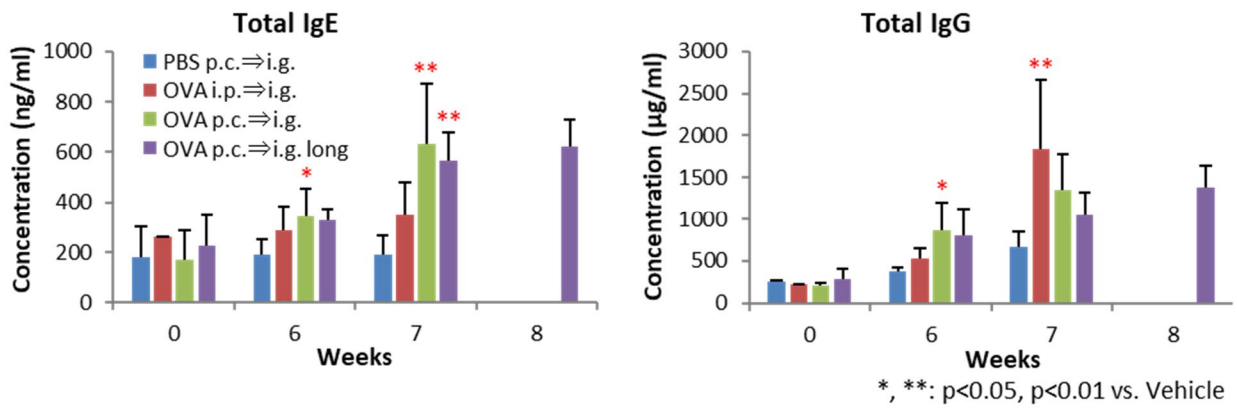
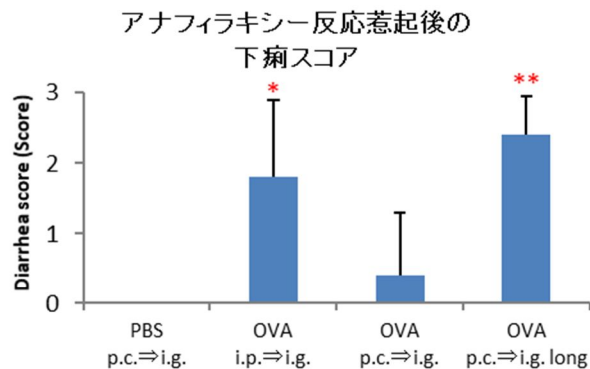
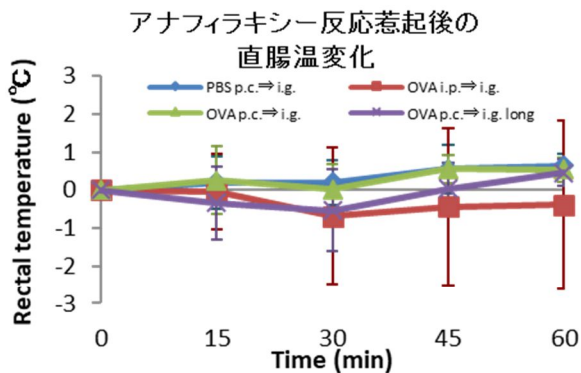


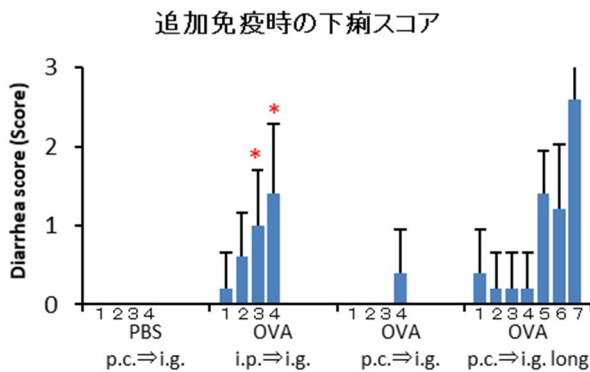
Figure 11. 血清中の総 IgE 及び総 IgG 抗体産生 **【実験 A4】**



下痢症状のスコアリング

Score 0 solid state
 1 funicular form
 2 slurry
 3 watery state

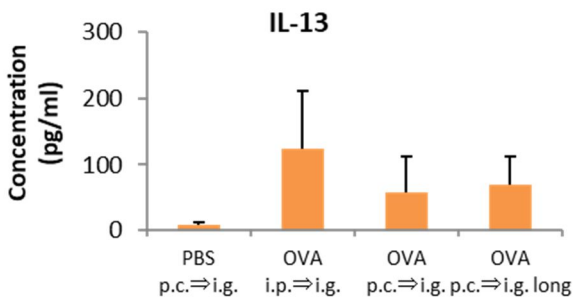
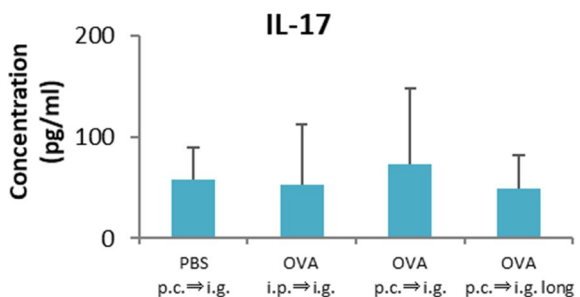
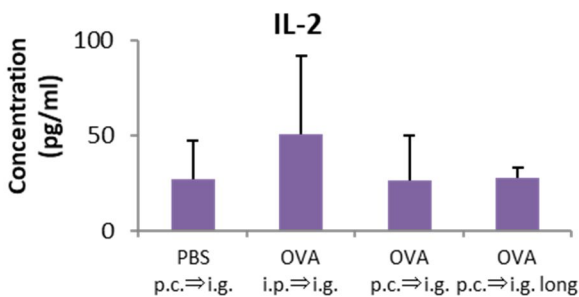
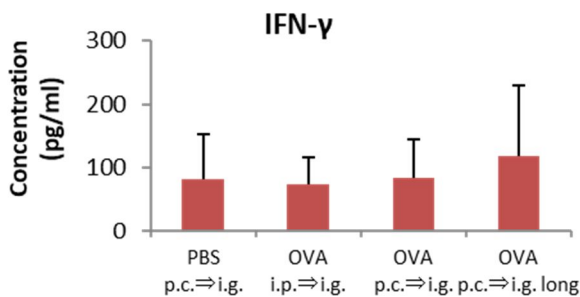
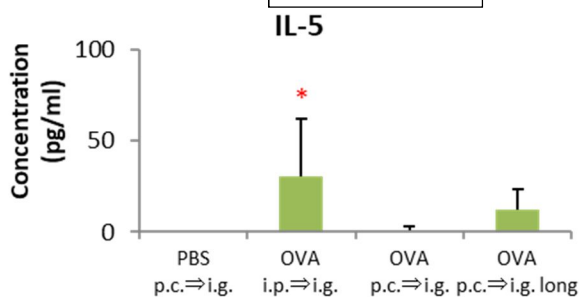
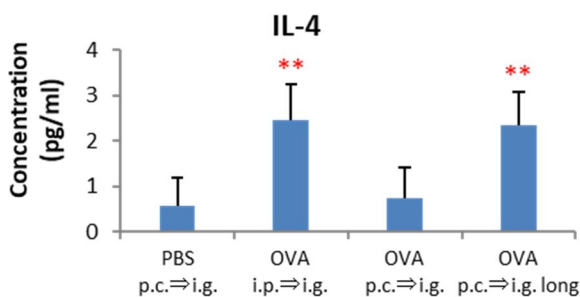
Allergy. 2012;67 (201-9)



*, **: p<0.05, p<0.01 vs. Vehicle

Figure 12. アナフィラキシー反応惹起の反応

【実験 A4】



*, **: p<0.05, p<0.01 vs. PBS p.c.=>i.p.

Figure13. 抗原再暴露による感作脾臓細胞におけるサイトカイン分泌

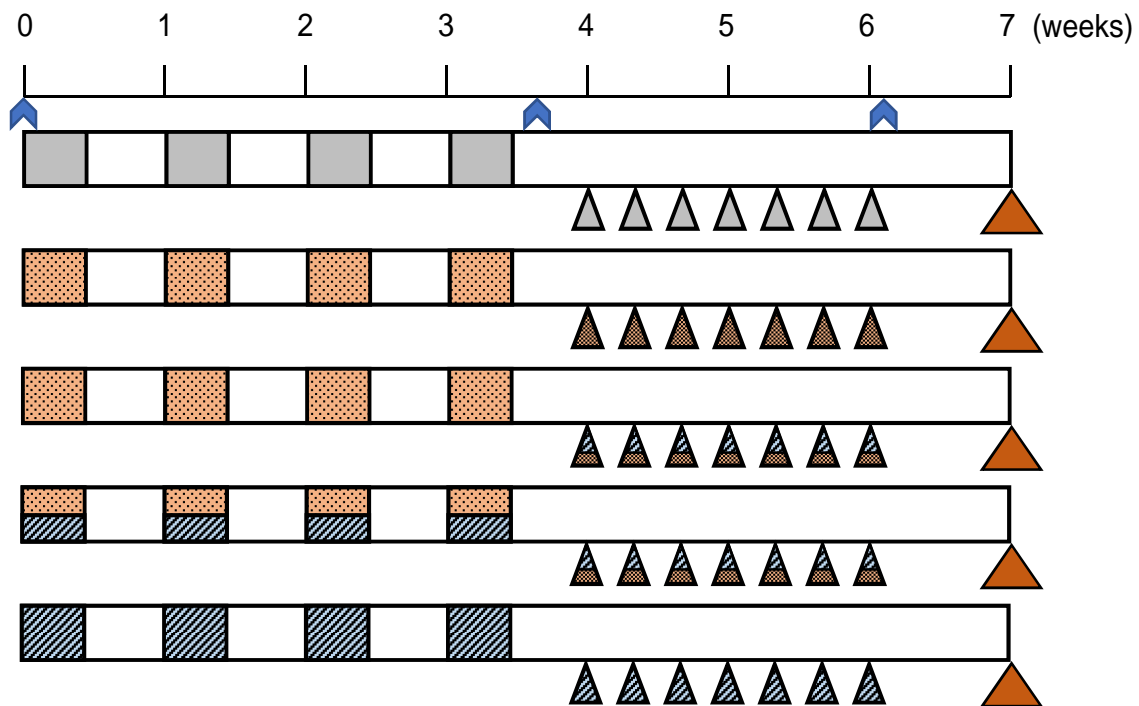
【実験 A4】

Table 1. 病理組織学的所見 **【実験 A3】**

Treatment	No. of animal	Skin				
		Acanthosis	Hyperkeratosis	Hydropic degeneration of the basal layer	Inflammatory cell infiltration	Erosion
		+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +
Vehicle	5	3/0/0	0/0/0	0/2/0	2/0/0	0/0/0
OVA	5	2/3/0	1/0/0	1/1/0	2/0/1	1/0/0
OVA + CTB 1 µg	5	1/2/2	2/2/0	1/0/3	3/2/0	1/0/1
OVA + CTB 5 µg	5	1/2/2	0/2/2	2/1/0	3/2/0	2/0/0
OVA + CTB 25 µg	5	0/2/3	0/3/1	0/3/1	3/2/0	1/0/0

Grading standard

Grade	Acanthosis	Hyperkeratosis	Hydropic degeneration of the basal layer	Inflammatory cell infiltration	Erosion
+: mild	4層以上の有棘細胞層 1箇所	びまん性角化亢進 1箇所	隣接した3個以上の細胞による病変 1-3箇所	炎症細胞が真皮に浸潤 集簇集無し	1個
++: moderate	2-3箇所	びまん性角化亢進 有棘細胞2層以上の高さ、 皮脂腺1個分以上の高さを 示す限局性角化亢進 2-3箇所	4-10箇所	炎症細胞が真皮に浸潤 限局性集簇集有り	2個
+++: severe	4箇所以上	4箇所以上	11箇所以上	炎症細胞が皮下組織まで浸潤 びまん性浸潤	3個以上



Animal : 8- week old female BALB/c mouse (n=5/group)

■ : 2 mM Citrate percutaneous (p.c.) exposure with skin patch on the flank (50 μ L/mouse)

■ : Ovalbumin (OVA 2 μ g) p.c.

■ : AgNP (10 nm, 49 μ g) p.c.

▲ : 2 mM Citrate intragastric (i.g.) with gastric tube (0.2mL/mouse)

▲ : OVA (30 mg) in citrate i.g.

▲ : OVA (30 mg) + AgNP (10 nm, 50 μ g) i.g.

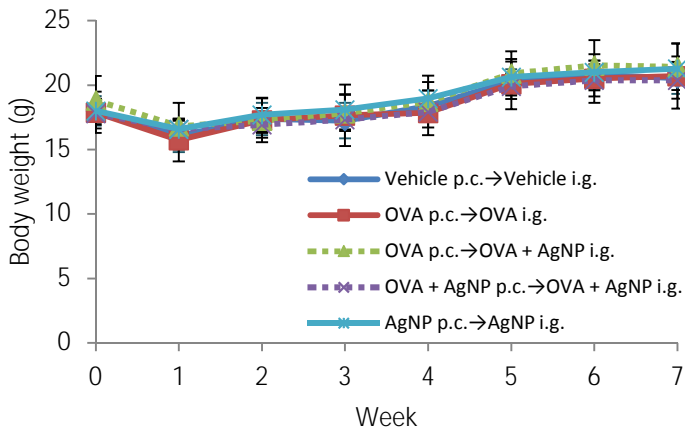
▲ : AgNP (10 nm, 50 μ g) i.g.

▲ : OVA (50 mg) in citrate i.g. with gastric tube (0.2mL/mouse)

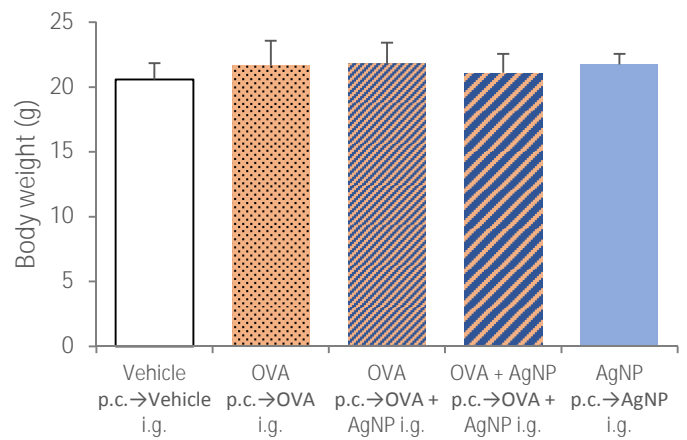
▲ : Blood sampling

Figure 1. 実験プロトコール **【実験 A5】**

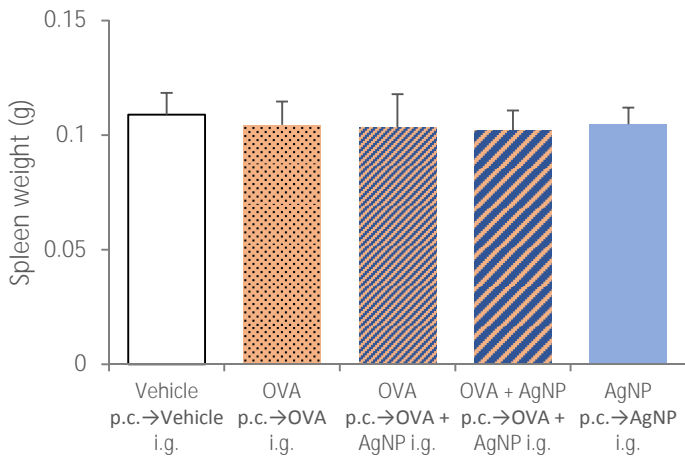
Sequential change of body weight



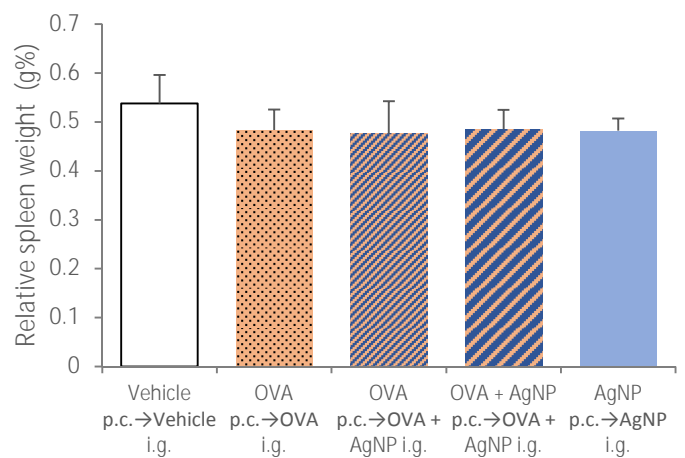
Body weight



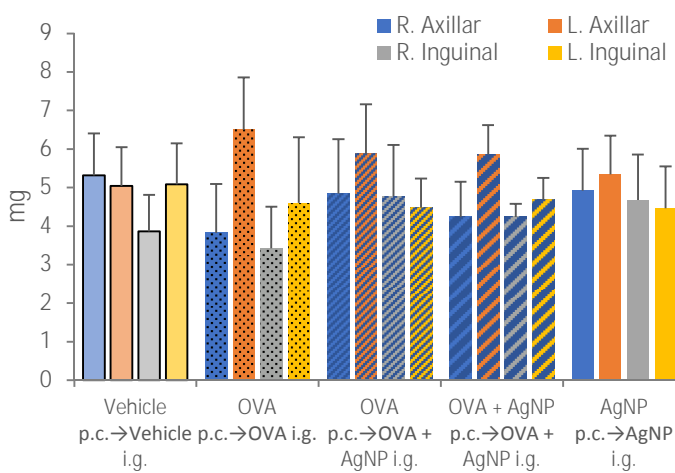
Spleen weight



Relative spleen weight



部位別のリンパ重量



Length of colon

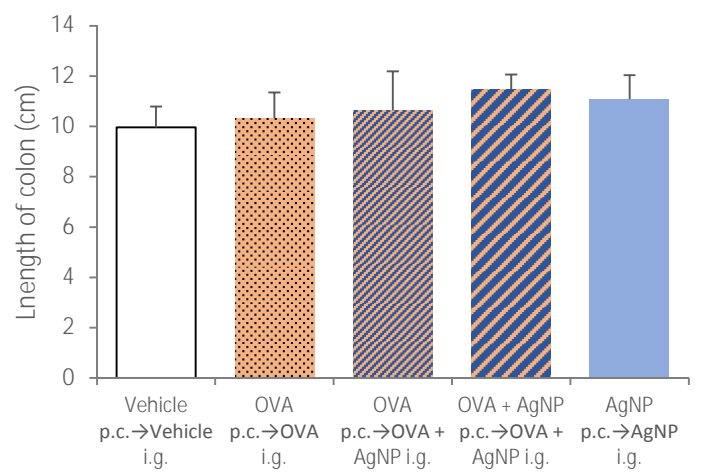
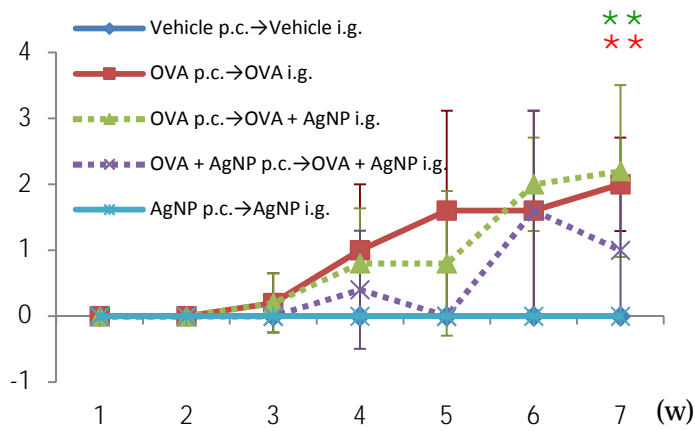
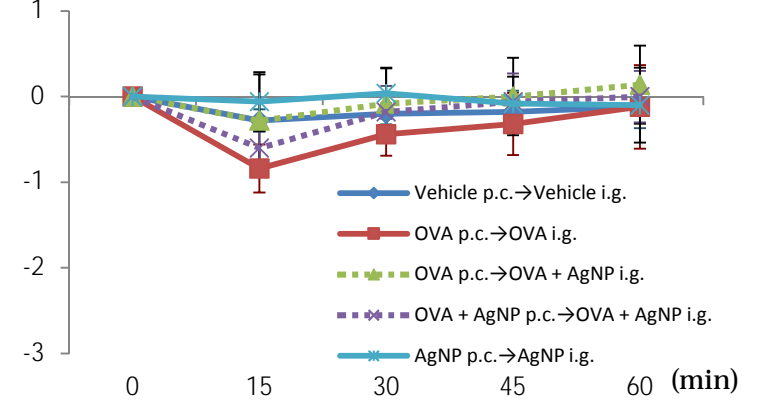


Figure 2. 体重変化・脾臓重量・リンパ節重量・大腸長 **【実験 A5】**

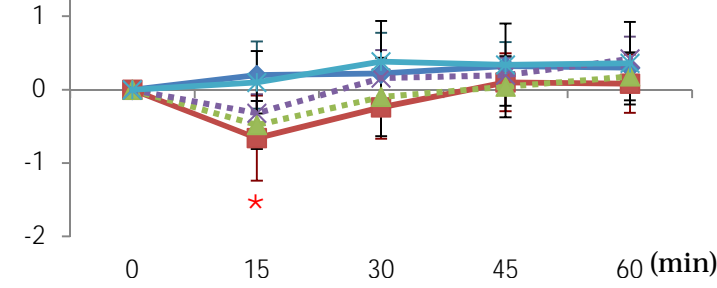
Booster時の下痢スコア推移



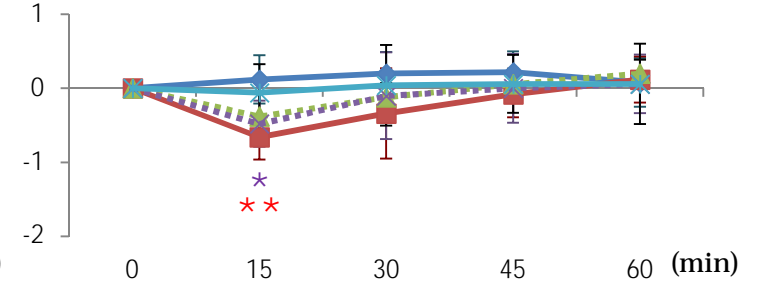
Booster Rectal temperature (1)



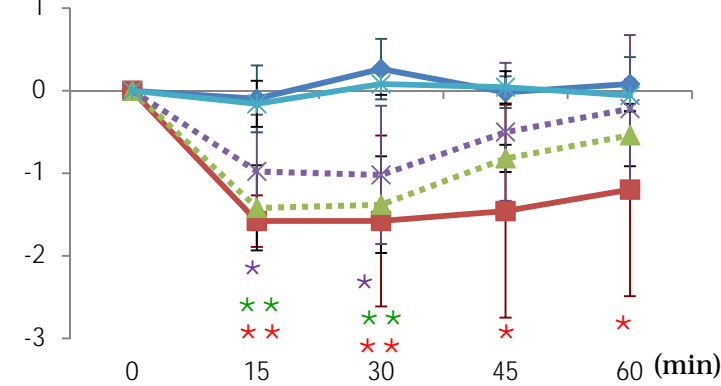
Booster Rectal temperature (2)



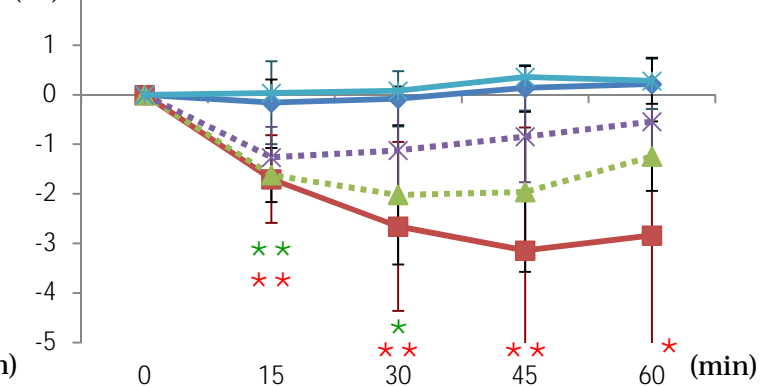
Booster Rectal temperature (3)



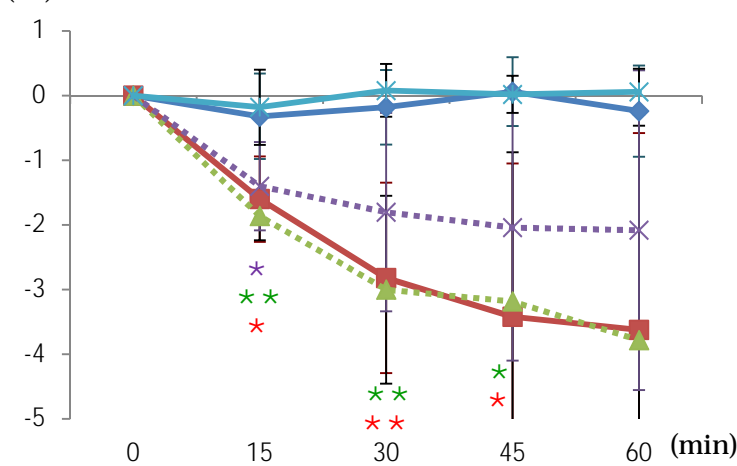
Booster Rectal temperature (4)



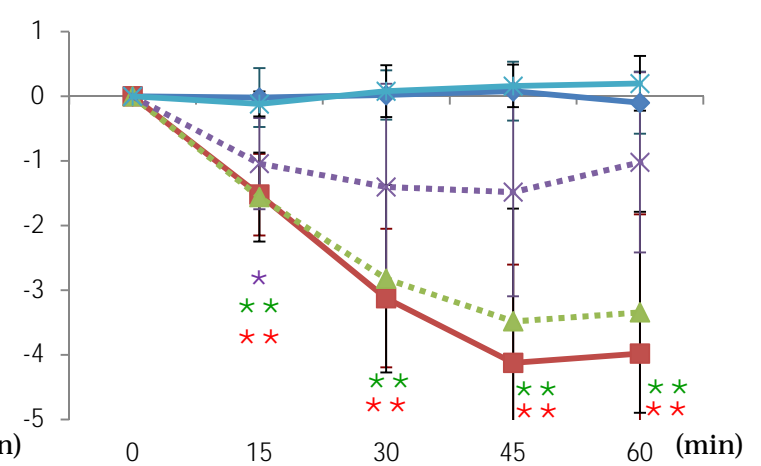
Booster Rectal temperature (5)



Booster Rectal temperature (6)



Booster rectal temperature (7)



** , * : p<0.01, 0.05 vs. Vehicle p.c.→Vehicle i.g.

Figure 3. 追加免疫時下痢スコア・直腸温の経時変化

【実験 A5】

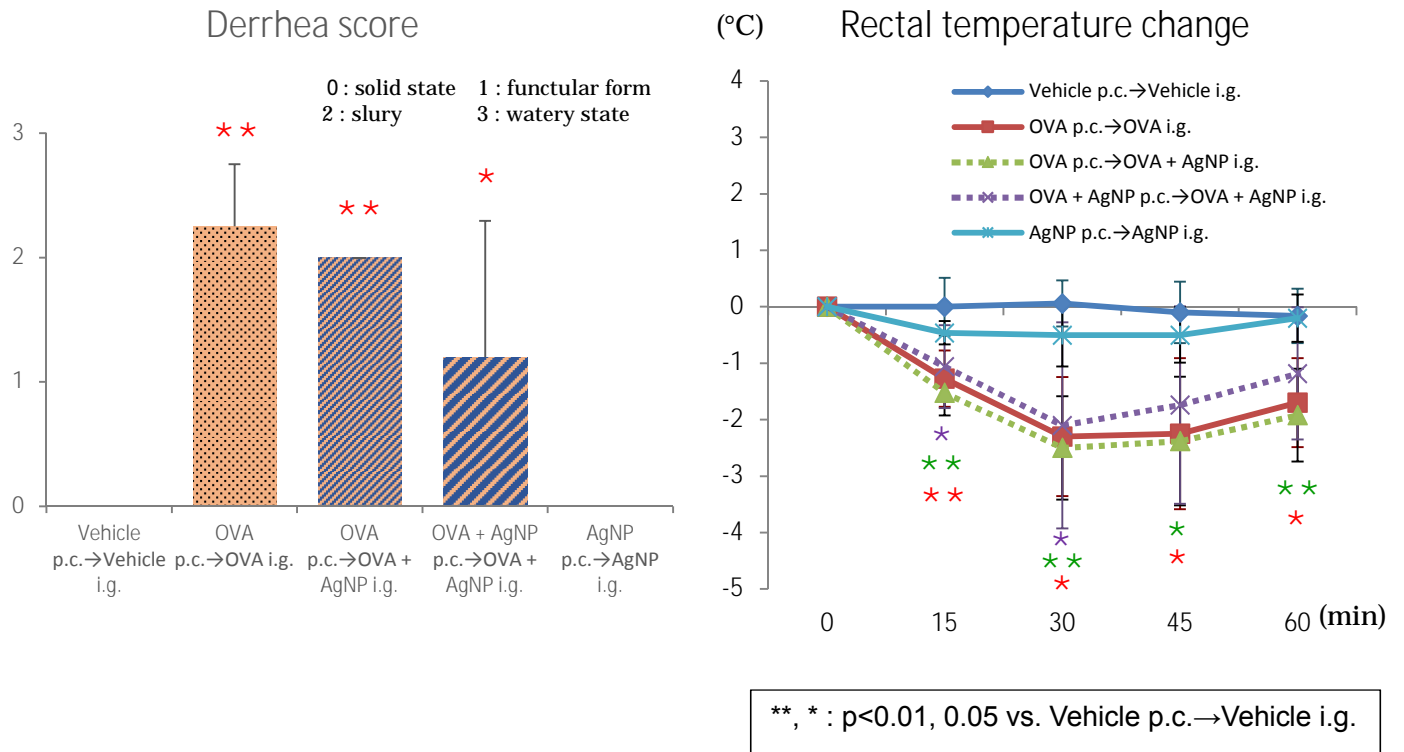


Figure 4. 惹起後下痢スコア・直腸温の経時変化【実験 A5】

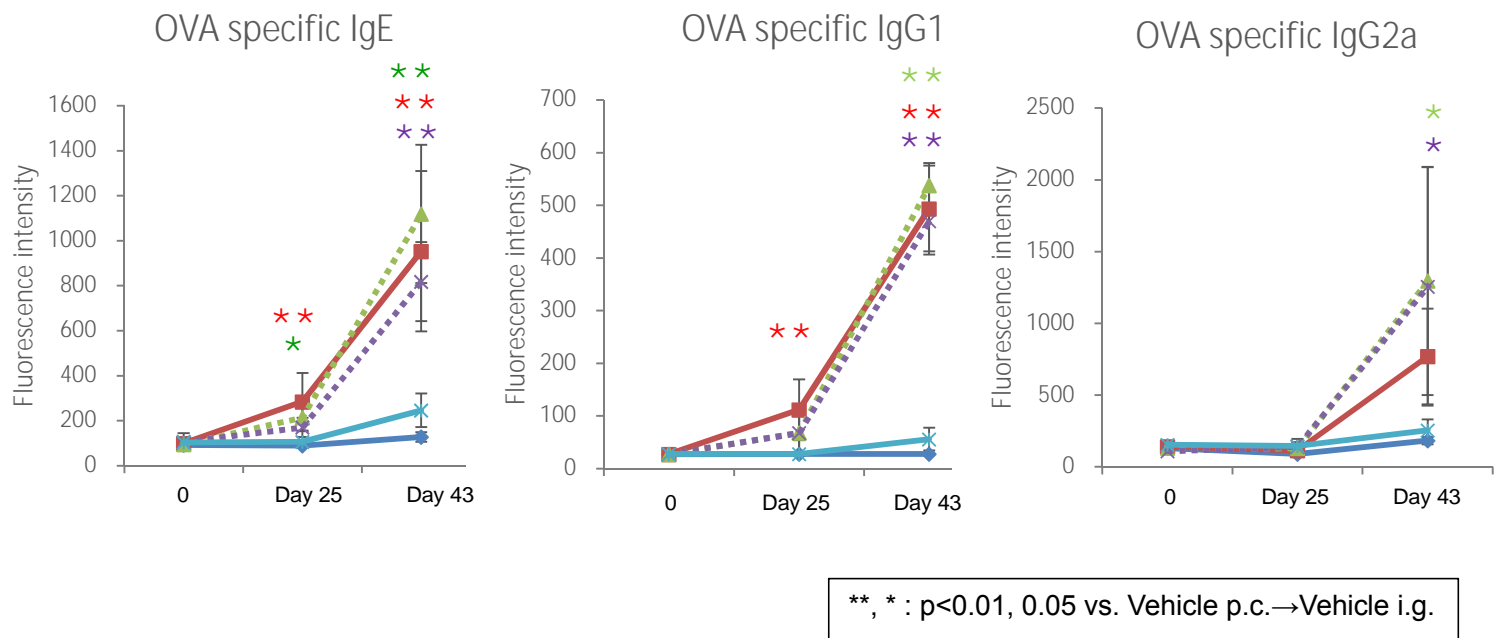
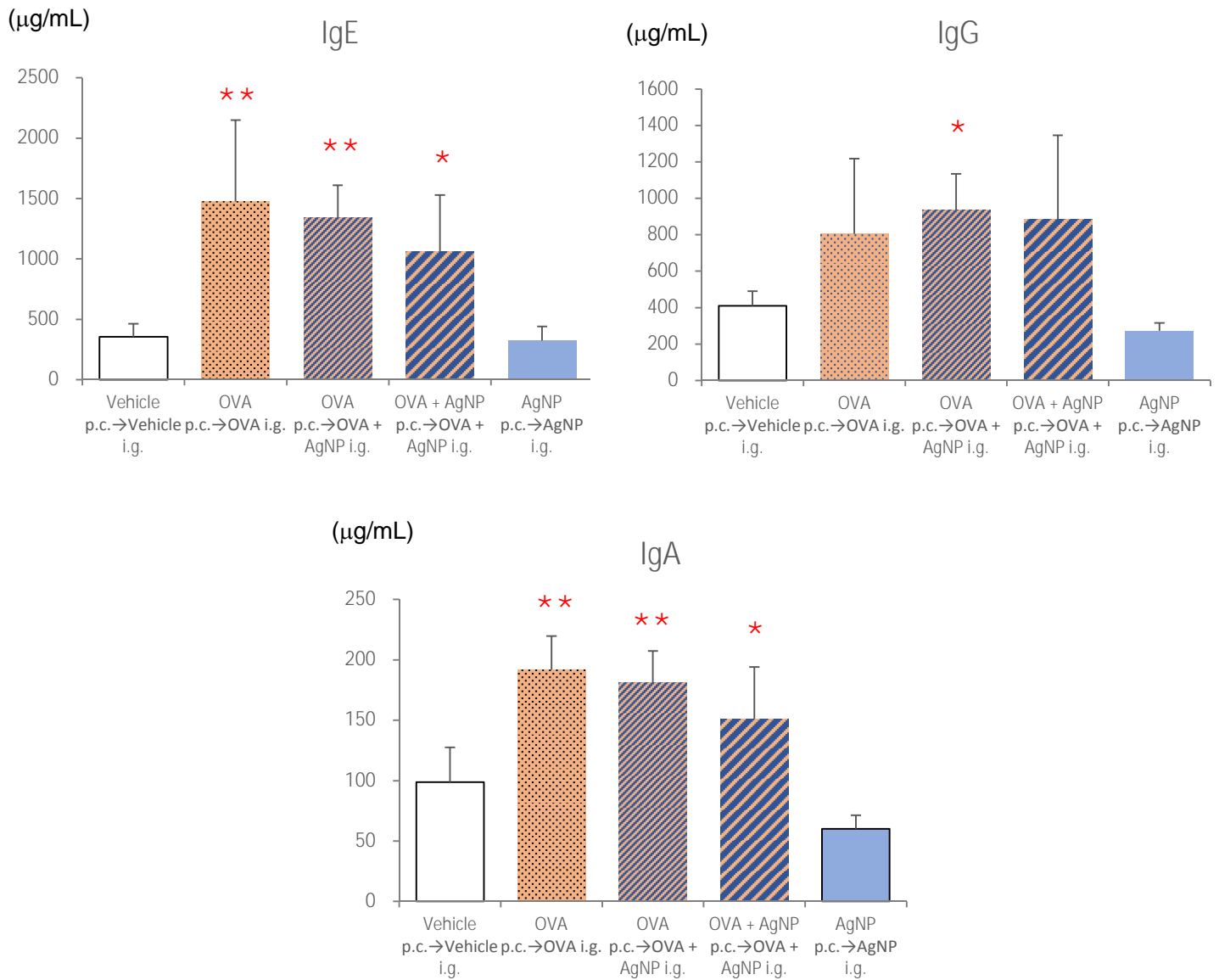


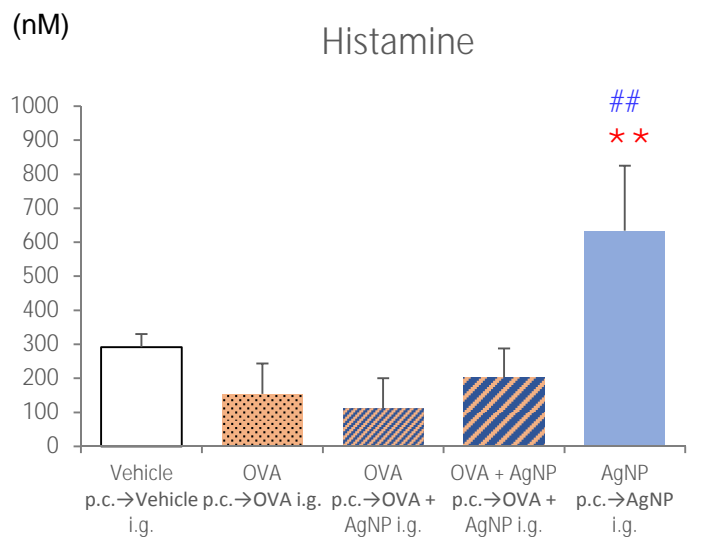
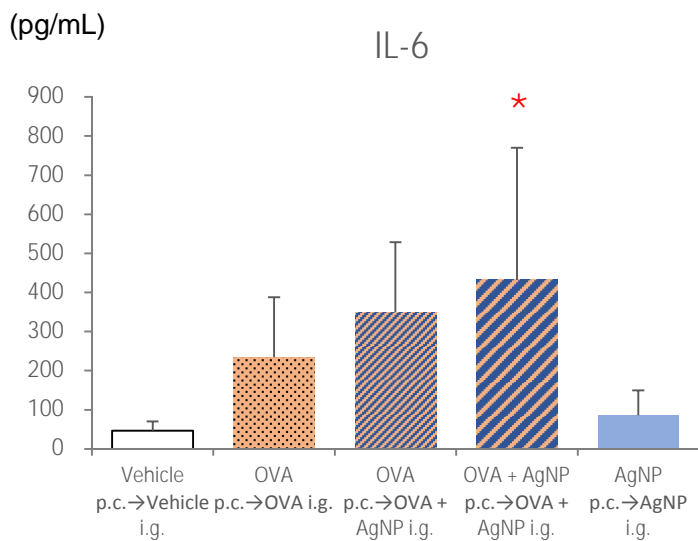
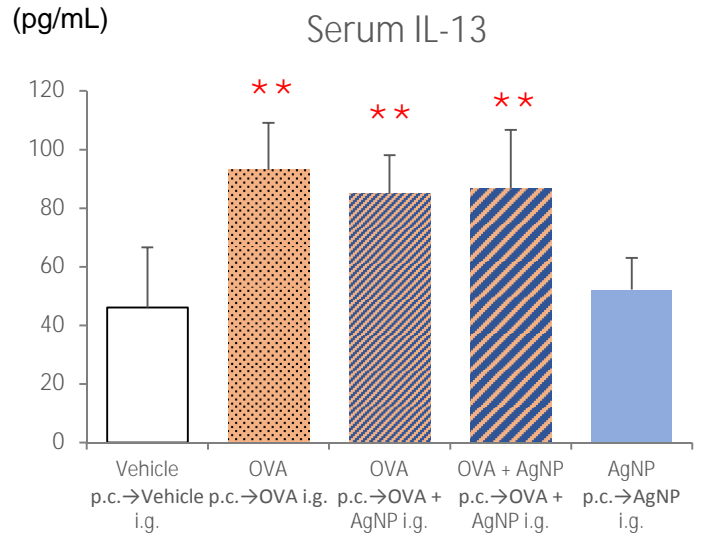
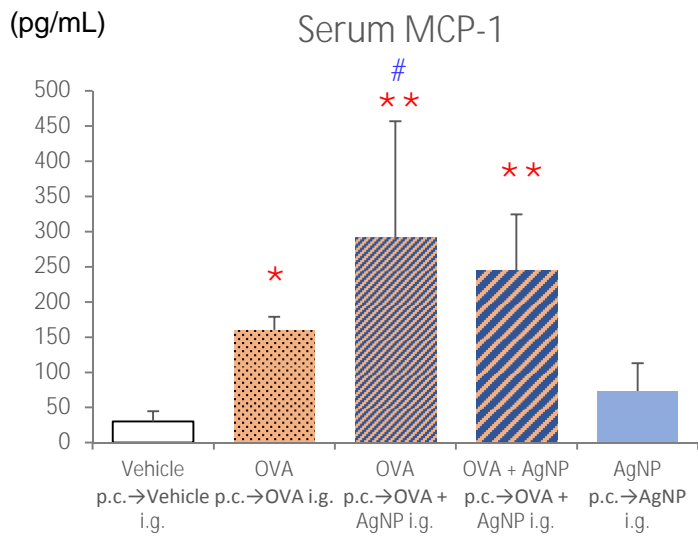
Figure 5. 血清中 OVA 特異抗体の経時的変化【実験 A5】



** , * : p<0.01, 0.05 vs. Vehicle p.c.→Vehicle i.g.

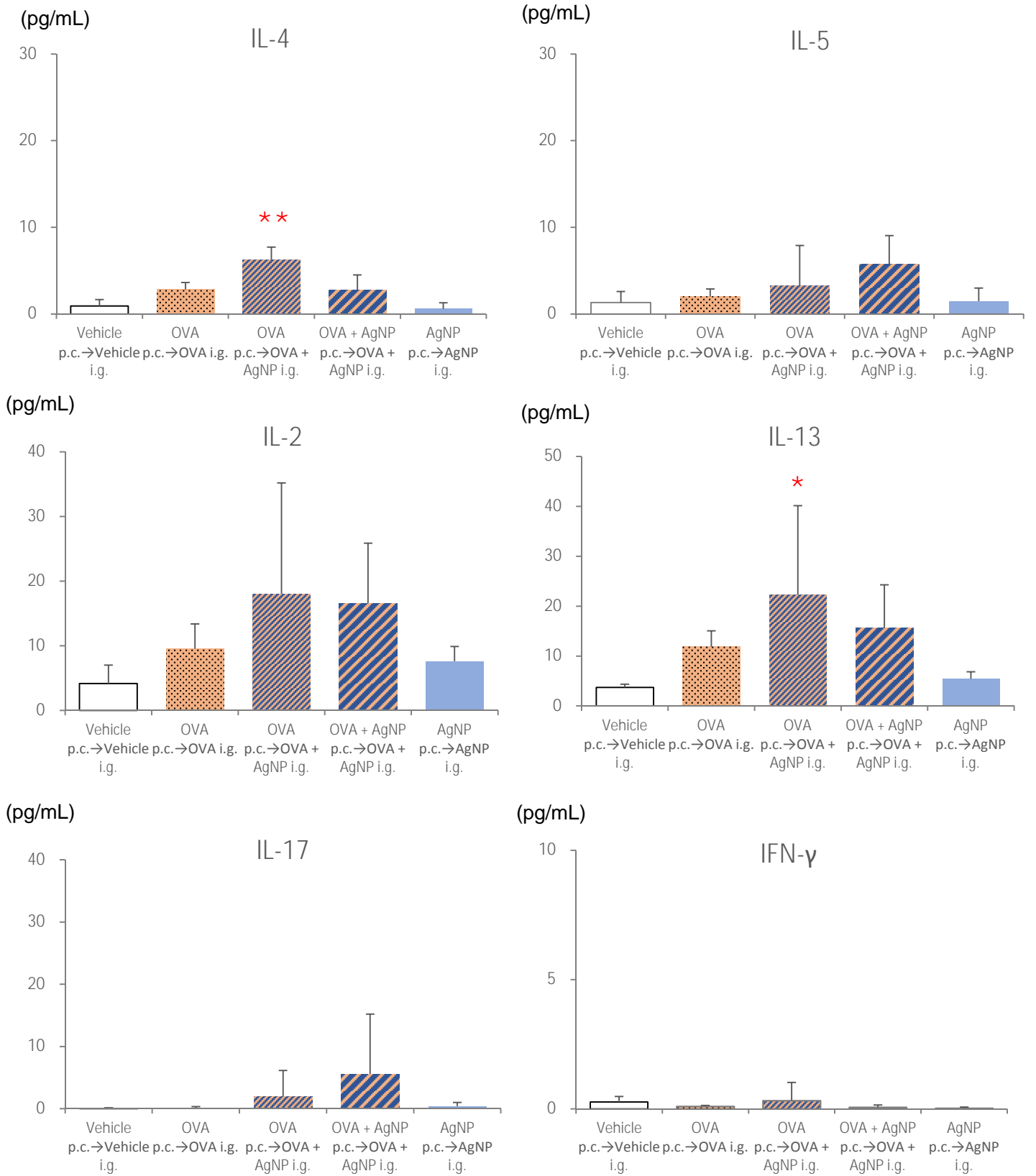
Figure 6. 血清中非特異抗体量

【実験 A5】



** , * : p<0.01, 0.05 vs. Vehicle p.c.→Vehicle i.g.
##, # : p<0.01, 0.05 vs. OVA p.c.→OVA i.g.

Figure 7. 血清中サイトカイン濃度 **【実験 A5】**



** , * : p<0.01, 0.05 vs. Vehicle p.c.→Vehicle i.g.

Figure 8. 脾臓細胞再抗原暴露誘導サイトカイン濃度 **【実験 A5】**